



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

MARIA GABRIELA MARTINS DOS REIS

**NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS E  
SINVASTATINA: AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA E  
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTRA  
*Sporothrix brasiliensis* E FUNGOS DE IMPORTÂNCIA  
MÉDICA**

---

Londrina  
2025

MARIA GABRIELA MARTINS DOS REIS

**NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS E  
SINVASTATINA: AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA E  
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTRA  
*Sporothrix brasiliensis* E FUNGOS DE IMPORTÂNCIA  
MÉDICA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Aparecido Panagio

Londrina  
2025

MARIA GABRIELA MARTINS DOS REIS

“(...) talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito (...) não somos o que deveríamos ser, mas somos o que iremos ser. Mas graças a Deus, não somos o que éramos.”

(Martin Luther King)

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

R311 Reis, Maria Gabriela Martins .  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS E SINVASTATINA:  
AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA E DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO  
CONTRA *Sporothrix brasiliensis* E FUNGOS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA /  
Maria Gabriela Martins Reis. - Londrina, 2025.  
108 f. : il.

Orientador: Luciano Aparecido Panagio.  
Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina,  
Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia,  
2025.  
Inclui bibliografia.

1. infecções fúngicas - Tese. 2. resistência microbiana - Tese. 3. nanotecnologia  
- Tese. 4. reposicionamento de fármacos - Tese. I. Aparecido Panagio, Luciano .  
II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de  
Pós-Graduação em Microbiologia. III. Título.

CDU 579

**BANCA EXAMINADORA**

**NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS E  
SINVASTATINA: AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA E  
DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTRA  
*Sporothrix brasiliensis* E FUNGOS DE IMPORTÂNCIA  
MÉDICA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

---

Prof. Dr. Luciano Aparecido Panagio  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dra. Sueli Fumie Yamada Ogatta  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Doumit Camilios Neto  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Londrina, 17 de junho de 2025.

## **AGRADECIMENTOS**

A conclusão desta dissertação foi possível graças ao apoio e contribuição de diversas pessoas e instituições. Agradeço, primeiramente, a Deus, por me dar força e sabedoria ao longo dessa jornada acadêmica.

Ao meu esposo, Guilherme, que esteve ao meu lado desde antes mesmo de eu iniciar o mestrado. Sua paciência, suporte e amor foram essenciais para que eu pudesse enfrentar os desafios desse caminho com confiança e determinação. Agradeço por acreditar em mim em todos os momentos.

À minha mãe, sogros e avós, por todo o amor, paciência e incentivo. Vocês sempre estiveram presentes, oferecendo apoio e encorajamento ao longo dessa jornada.

Ao meu orientador, Dr. Luciano Aparecido Panagio, por sua orientação, dedicação e conselhos valiosos. Agradeço por acreditar no potencial do meu trabalho e por me guiar em cada etapa, desde as primeiras ideias até a conclusão desta dissertação.

Aos professores Dra. Audrey Lonni, Dra. Sueli Fumie Yamada Ogatta, Dra. Renata Kobayashi, Dr. Gerson Nakazato, Dr. Ricardo Almeida e a todos os outros do programa, por seu apoio, ensinamentos e inspiração ao longo dessa jornada. Vocês foram fundamentais no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus amigos Guilherme Reis, Diego Morandi, Isabela Mazarim, Victor Montini, Sara Scandorieiro, Nathalia Fraile, Gislaine Silva e Eduarda Martin pelo suporte nas experiências e pelas discussões científicas que tanto contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Bacteriologia (NIP 3) e ao Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos (NIP 5), pela parceria em ceder os equipamentos para as análises realizadas neste trabalho.

À Universidade Estadual de Londrina (UEL), por fornecer o ambiente de aprendizado e recursos necessários para a realização deste trabalho.

À CAPES, pela concessão do financiamento que possibilitou o desenvolvimento desta pesquisa.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Suas presenças foram indispensáveis, e levo comigo a gratidão por todo o apoio recebido.

## RESUMO

REIS, Maria Gabriela Martins. **NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOGÊNICAS E SINVASTATINA: AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA E DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTRA *Sporothrix brasiliensis* E FUNGOS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA**

2025. **108 p.** Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

O crescente número de casos de resistência fúngica às terapias convencionais tem impulsionado a busca por novas estratégias terapêuticas. Dentre as infecções fúngicas, a esporotricose destaca-se por sua ampla distribuição, crescente incidência e dificuldade de tratamento. Outras infecções fúngicas superficiais abordadas neste trabalho também têm despertado preocupação na saúde pública. O objetivo desse estudo consiste em produzir, caracterizar e avaliar a atividade antifúngica de nanopartículas de prata biogênicas e da sinvastatina frente a fungos causadores de infecções subcutâneas e superficiais, bem como desenvolver uma formulação dermatológica tópica voltada para uso veterinário. Neste estudo, avaliou-se a atividade antifúngica de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do fungo *Lichtheimia ornata*, bem como de AgNPs extraídas da catuaba, obtidas da empresa GRAL bioativos, além da sinvastatina (SIM), isolada e em combinação com as AgNPs, frente a espécies de importância clínica como *Sporothrix brasiliensis*, *Malassezia pachydermatis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* e *Nannizzia gypsea*. Inicialmente, as AgNPs produzidas a partir de *L. ornata* foram caracterizadas por espectroscopia UV-Vis, FTIR, fluorescência de raios X por dispersão em energia (EDXRF), espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial zeta, revelando tamanho médio de 70 nm, morfologia predominantemente esférica e estabilidade coloidal. A atividade antifúngica foi avaliada por microdiluição em caldo, determinando-se a concentração inibitória mínima (CIM), concentração fungicida mínima (CFM) e a interação entre compostos por meio do ensaio *checkerboard*. Os resultados demonstraram efeito sinérgico entre as AgNPs e a sinvastatina frente à maioria das espécies testadas. Adicionalmente, avaliou-se a ação dos compostos isolados sobre biofilmes previamente formados por *S. brasiliensis* e *M. pachydermatis*. Todos os tratamentos apresentaram eficácia, promovendo redução da viabilidade fúngica. As formulações tópicas desenvolvidas foram analisadas quanto à estabilidade físico-química e às características organolépticas, demonstrando-se adequadas para aplicação tópica. Após o desenvolvimento das formulações, realizou-se o ensaio de curva de crescimento e morte para avaliação da eficácia antifúngica ao longo do tempo. Dentre as formulações testadas, F5 (AgNP de *L. ornata* + sinvastatina) e F6 (AgNP de catuaba + sinvastatina) apresentaram os melhores resultados, mantendo a viabilidade fúngica reduzida durante o período de 48 horas. A formulação F6 apresentou desempenho superior, mantendo a carga fúngica de *S. brasiliensis* e *M. pachydermatis* praticamente indetectável em todos os tempos avaliados. Os dados obtidos indicam que a associação de AgNPs biogênicas com sinvastatina é uma estratégia promissora para o desenvolvimento de terapias antifúngicas tópicas voltadas ao controle de infecções fúngicas.

**Palavras-chave:** infecções fúngicas; resistência microbiana; nanotecnologia;

reposicionamento de fármacos; formulação.

## ABSTRACT

REIS, MARIA GABRIELA MARTINS. **BIOGENIC SILVER NANOPARTICLES AND SIMVASTATIN: ANTIFUNGAL EVALUATION AND FORMULATION DEVELOPMENT AGAINST *Sporothrix brasiliensis*. AND MEDICALLY IMPORTANT FUNGI** 2025. 108 P. MASTER'S THESIS (MASTER'S DEGREE IN MICROBIOLOGY) – CENTER FOR BIOLOGICAL SCIENCES, STATE UNIVERSITY OF LONDRINA, LONDRINA, 2025.

The growing number of fungal resistance cases to conventional therapies has driven the search for new therapeutic strategies. Among fungal infections, sporotrichosis stands out due to its wide distribution, increasing incidence, and treatment challenges. Other superficial fungal infections addressed in this study have also raised public health concerns. The aim of this study was to produce, characterize, and evaluate the antifungal activity of biogenic silver nanoparticles (AgNPs) and simvastatin against fungi responsible for cutaneous, subcutaneous, and superficial infections, as well as to develop a topical dermatological formulation intended for veterinary use. In this work, AgNPs were synthesized using the fungus *Lichtheimia ornata*, and also obtained from *catuaba*, provided by the company GRAL Bioativos. Simvastatin (SIM) was tested alone and in combination with the AgNPs against clinically relevant fungal species: *Sporothrix brasiliensis*, *Malassezia pachydermatis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, and *Nannizzia gypsea*. Initially, the AgNPs produced from *L. ornata* were characterized by UV-Vis spectroscopy, FTIR, energy-dispersive X-ray fluorescence (EDXRF), dynamic light scattering (DLS), and zeta potential analysis, revealing an average size of 70 nm, predominantly spherical morphology, and good colloidal stability. Antifungal activity was assessed using the broth microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC), minimum fungicidal concentration (MFC), and compound interactions via checkerboard assay. The results demonstrated a synergistic effect between AgNPs and simvastatin against most of the tested species. Additionally, the activity of the isolated compounds was evaluated against preformed biofilms of *S. brasiliensis* and *M. pachydermatis*, with all treatments showing efficacy by reducing fungal viability. The topical formulations developed were analyzed for physicochemical stability and organoleptic properties, proving suitable for topical application. Following formulation development and characterization, time-kill curve assays were performed to evaluate sustained antifungal efficacy. Among the tested formulations, F5 (AgNP from *L. ornata* + simvastatin) and F6 (AgNP from *catuaba* + simvastatin) showed the most promising results, maintaining reduced fungal viability over a 48-hour period. Notably, F6 exhibited superior performance, keeping the fungal load of *S. brasiliensis* and *M. pachydermatis* virtually undetectable throughout all time points evaluated. The findings indicate that the combination of biogenic AgNPs with simvastatin represents a promising strategy for the development of topical antifungal therapies targeting resistant and emerging fungal infections.

**Key-words:** fungal infections; microbial resistance; nanotechnology; drug repositioning; formulation.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** –Imagens macroscópicas e microscópicas de *Sporothrix brasiliensis* A. macromorfologia de *sporothrix brasiliensis*; b. micromorfologia revela hifas septadas hialinas delicadas, conidióforo que origina conídios hialinos primários em arranjo de buquê (azul algodão, x400); c. corpo asteroide (grocott, x400) .....17
- Figura 2** – Histórico de eventos relacionados à esporotricose ao longo dos anos.....20
- Figura 3** – Visão macroscópica e microscópica de colônia de *Malassezia pachydermatis*. A: colônia de *M. pachydermatis*, exibindo coloração branca e aspecto cremoso. B: visão microscópica de *M. pachydermatis* com exibição de brotamentos com base ampla.....26
- Figura 4**- Imagens macroscópicas e microscópicas de *Microsporium canis*. À esquerda da imagem, observa-se uma colônia de *Microsporium canis* em meio de cultura, com aspecto algodinoso a pulverulento, coloração branca a amarelada e reverso amarelado a marrom-avermelhado. À direita, visualizam-se macroconídios fusiformes, típicos de *M. canis*, com paredes espessas, ornamentadas e contendo de 3 a 8 células (septos). .....28
- Figura 5** Imagens macroscópicas e microscópicas de *Trichophyton mentagrophytes*. (A) colônia de aspecto cotonoso e coloração branca no anverso da placa. (B) pigmentação amarela no inverso da placa. (C) microconídeos esféricos abundantes e macroconídeos multisseptados. (D) hifas espiraladas características da espécie.....28
- Figura 6** – Visão macroscópica e microscópica de colônia de *N. gypsea*. A e B: cultura de *N. gypsea* mostrando o anverso e inverso da placa. C: macroconídeos de *N. gypsea*.....29
- Figura 7** – Principais classes de antifúngicos e seus mecanismos de ação..... 30
- Figura 8** – Mecanismo de ação intracelular da flucitosina e destinos possíveis da 5-fluoro-uracila até a inibição da síntese de DNA.....33
- Figura 9** – Via metabólica do mevalonato com indicação do alvo das estatinas e produtos da reação da HMG-CoA redutase.....35
- Figura 10** – Via de biossíntese do ergosterol em fungos e alvos das principais classes de antifúngicos e estatinas.....36
- Figura 11** – Estrutura química da lovastatina e sinvastatina .....37
- Figura 12** – Via simplificada da biossíntese do colesterol demonstrando a similaridade estrutural entre o substrato da HMG-CoA redutase e o metabólito ativo da sinvastatina (em azul).....37
- Figura 13** – Mecanismos de ação antifúngica de nanopartículas.....39
- Figura 14** – Abordagens utilizadas para a síntese de nanopartículas metálicas.....42

<b>Figura 15</b>	– Diagrama esquemático do moinho de esferas.....	43
<b>Figura 16</b>	– Síntese química de nanopartículas metálicas.....	44
<b>Figura 17</b>	– Representação esquemática da biossíntese de AgNP a partir de diversos organismos.....	46
<b>Figura 18</b>	– Método de síntese extracelular de nanopartículas a partir de extrato fúngico livre de células.....	47
<b>Figura 19</b>	– Método de síntese intracelular de nanopartículas.....	48
<b>Figura 20</b>	– Síntese de AgNP envolvendo a enzima nitrato redutase....	49
<b>Figura 21</b>	– Características macroscópicas e microscópicas da cepa de <i>L.ornata</i> . A) anverso da placa demonstrando a presença de grande quantidade de hifas aéreas de coloração acinzentada. B) esporângio característico de zigomicetos e hifas espessas com ausência de septos.....	52
<b>Figura 22</b>	– Ressonância plasmônica de nanopartículas de prata (AgNPs) na faixa de 200 – 900 nanômetros produzida em Ágar Malte e observada após 4 dias de produção, com pico de absorção em 410 nm.....	65
<b>Figura 23</b>	–Alteração na tonalidade de cor das nanopartículas pelo fenômeno de ressonância plasmônica. O controle compreende o extrato enzimático fúngico filtrado, sem adição do sal metálico precursor.....	66
<b>Figura 24</b>	– Espectroscopia de infravermelho das AgNPs produzidas. A banda em 3452 cm <sup>-1</sup> corresponde ao grupo funcional álcool (O-H), 2372 cm <sup>-1</sup> ao dióxido de carbono (O=C=O) e 1643 cm <sup>-1</sup> a amida I (C=C, C=O, C=N).....	68
<b>Figura 25</b>	– Curva padrão para determinação da concentração de AgNP. A correlação das soluções padrão e a amostra contendo nanopartículas origina uma reta pelo método de regressão linear, que determinou a concentração das AgNP em 5,16 mM.....	70
<b>Figura 26</b>	– Curva de sobrevivência da cepa <i>S. brasiliensis</i> , exposta às formulações desenvolvidas (F1Fbase, F2AgNP <i>L.ornata</i> , F3AgNP catuaba, F4Sinvastatina, F5AgNP + Sinvastatina, F6AgNP catuaba + Sinvastatina).....	79
<b>Figura 27</b>	– Curva de sobrevivência da cepa <i>M. pachidermatis</i> , exposta às formulações desenvolvidas (F1Fbase, F2AgNP <i>L.ornata</i> , F3AgNP catuaba, F4Sinvastatina, F5AgNP + Sinvastatina, F6AgNP catuaba+ Sinvastatina).....	80

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Nanopartículas produzidas por diferentes espécies de fungos.....	49
<b>Tabela 2</b> – Potencial zeta ( $\zeta$ ), espalhamento dinâmico de luz (DLS) e índice de polidiversidade (IPD) das nanopartículas sintetizadas.....	67
<b>Tabela 3</b> – Leitura da intensidade das soluções padrão, $\text{AgNO}_3$ , e da amostra AgNP por EDXRF, quantificada em mM.....	69
<b>Tabela 4</b> – Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração inibitória fracionada (ICIF) de sinvastatina e AgNP, isoladas e em interação contra espécies de dermatófitos e leveduras. $\text{ICIF} \leq 0,5$ indica sinergismo entre os compostos, $0,5 < \text{ICIF} \leq 1$ indica aditismo, $1 < \text{ICIF} \leq 4$ indica indiferença e $\text{ICIF} > 4$ indica antagonismo.....	71
<b>Tabela 5</b> – CFM dos ativos individuais (Sinvastatina, AgNP <i>L.ornata</i> e AgNP GRAL - catuaba) contra <i>S. brasiliensis</i> , <i>M. pachydermatis</i> , <i>M. canis</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>N. gypsea</i> .....	74
<b>Tabela 6</b> – Análise dos dados de Biofilme.....	75
<b>Tabela 7</b> – Características organolépticas e propriedades físico-químicas observadas após 24 h de manipulação das formulações desenvolvidas.....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
Ag	Prata
AgNO <sub>3</sub>	Nitrato de prata
AgNP	Nanopartícula de prata
AZT	Azidotimidina
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
DLS	Dynamic light scattering
DNA	Deoxyribonucleic acid
D.O	Densidade óptica
EMA	European Medicines Agency
HCl	Ácido clorídrico
IFS	Infecções fúngicas superficiais
INI	Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
IPD	Índice de polidispersidade
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MEA	Malt agar
KBr	Brometo de potássio
kV	quilovolt
mg	Miligrama
mg/L	Miligrama por litro
mL	Mililitro
mM	Milimolar
NPs	Nanopartículas metálicas
MOPS	3-(n-morpholino) propanesulfonic acid

MTT	Brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio
mV	Milivolt
NaBH <sub>4</sub>	Boroidreto de sódio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NaOH	Hidróxido de sódio
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
OMS	Organização mundial da saúde
PBS	Phosphate Buffered Saline
pH	Potencial hidrogeniônico
R <sup>2</sup>	Coeficiente de determinação
ROS	Reactive oxygen species
rpm	Rotações por minuto
RPMI	Meio Roswell Park Memorial Institute
SDA	Ágar Sabouraud
SIM	Sinvastatina
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UFC	Unidade formadora de colônia
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
μA	Microampére
μg	Micrograma
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
Vis	Visível
YPD	Yeast extract peptone dextrose

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
2.1 Infecções fúngicas .....	16
2.1.1 Infecções subcutâneas por <i>Sporothrix brasiliensis</i> .....	16
2.1.1 Apresentações clínicas e fatores de virulência .....	17
2.1.2 Fungos Causadores de Infecções Superficiais .....	24
2.1.3 Malassezia spp. ....	25
2.1.4 Dermatófitos .....	26
2.2 Antifúngicos .....	29
2.3 Estratégias alternativas para a descoberta de novas terapias antifúngicas .....	34
2.3.1 Reposicionamento de Fármacos .....	34
2.3.2 Nanopartículas Metálicas .....	38
2.4 Métodos de Síntese de MNPs .....	41
2.4.1 Métodos Físicos .....	42
2.4.2 Métodos Químicos .....	44
2.4.3 Métodos Biológicos .....	45
2.5 Desenvolvimento de Formulações .....	53
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	55
3.1 Objetivo Geral .....	55
3.2 Objetivos Específicos .....	55
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	56
4.1 Biossíntese de AgNP .....	56
4.2 Sinvastatina .....	56
4.3 Caracterização das AgNP Biogênicas .....	56
4.3.1 Espectrofotometria UV-Vis .....	56
4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	57
4.3.3 Espalhamento dinâmico de luz (DLS) .....	57
4.3.4 Potencial Zeta .....	57
4.3.5 Fluorescência de raios X por dispersão em energia (EDXRF) .....	58
4.4 Atividade Antifúngica de AgNP e SIM .....	58
4.4.1 Concentração inibitória mínima (CIM) .....	59
4.4.2 Avaliação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos Antimicrobianos individualmente .....	60
4.4.3 Avaliação da interação dos agentes antifúngicos (Checkerboard) .....	60

4.4.5 Biofilme de <i>S. brasiliensis</i> e <i>M. pachydermatis</i> .....	61
4.4.6 Desenvolvimento das formulações .....	61
4.4.7 Caracterização farmacotécnica das formulações .....	62
4.4.8 Análise de pré-estabilidade (centrifugação) .....	62
4.4.9 Avaliação da estabilidade preliminar das formulações .....	62
4.4.10 Análise organoléptica .....	63
4.4.11 Ensaios físicos-químicos .....	63
4.4.12 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH).....	63
4.4.13 Determinação da Densidade .....	63
4.5 Avaliação da Eficácia Antifúngica das formulações .....	64
4.5.1 Curva de Crescimento e Morte .....	64
4.6 Análise Estatística .....	64
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>65</b>
5.1 Caracterização das AgNP .....	65
5.1.1 Espectrofotometria UV-Vis .....	65
5.1.2 DLS e Potencial Zeta.....	66
5.1.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	68
5.1.4 Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia (EDXRF).....	69
5.2 Atividade Antifúngica de AgNP.....	71
5.2.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Interação Entre os Compostos (Checkerboard) .....	71
5.2.2 Concentração Fúngica Mínima (CFM).....	74
5.2.3 Atividade antifúngica sobre Biofilmes formados .....	75
5.3 Caracterização farmacotécnica das formulações .....	76
5.3.1 Teste de Pré-estabilidade, Ensaios Organolépticos e Físico-químicos .....	76
5.4 Avaliação Antifúngica da Formulação .....	78
5.4.1 Curva de Crescimento e Morte .....	78
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>82</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>83</b>

## 1 1 INTRODUÇÃO

2 A esporotricose, causada principalmente pelo fungo *Sporothrix brasiliensis*, é uma  
3 infecção fúngica de crescente importância em regiões tropicais e subtropicais,  
4 especialmente no Brasil (GUTIÉRREZ-GALVIS et al., 2021).

5 Esse patógeno emergente é uma das principais causas de infecções subcutâneas em  
6 humanos e animais, principalmente em gatos e cães. A esporotricose felina é  
7 particularmente preocupante, pois gatos atuam como reservatórios e amplificadores  
8 da transmissão zoonótica (GUTIÉRREZ-GALVIS et al., 2021).

9 *Sporothrix brasiliensis* pertence ao complexo *Sporothrix schenckii*, sendo a variante  
10 mais virulenta, associada a quadros clínicos graves, como lesões cutâneas ulcerativas  
11 em humanos e infecções profundas em animais (RODRIGUES et al., 2020). Sua  
12 disseminação tem trazido novos desafios, uma vez que o tratamento convencional,  
13 baseado em antifúngicos como o itraconazol, enfrenta limitações devido à resistência  
14 crescente e aos efeitos colaterais em pacientes imunocomprometidos (LYRA et al.,  
15 2021).

16 Além disso, infecções fúngicas superficiais (IFS) causadas por dermatófitos, como  
17 *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Nannizia gypsea*, e leveduras  
18 como *Malassezia pachydermatis*, afetam gravemente a saúde de cães e gatos. Essas  
19 infecções, embora menos graves que a esporotricose, são altamente prevalentes na  
20 prática clínica e requerem abordagens terapêuticas inovadoras, especialmente devido  
21 ao aumento da resistência antifúngica (CORZO-LEÓN et al., 2022).

22 A demanda por novos antifúngicos é impulsionada pela necessidade de encontrar  
23 terapias que combatam patógenos multirresistentes com menor toxicidade e maior  
24 eficácia. Nesse contexto, o uso de nanopartículas de prata biogênicas (*bioAgNP*),  
25 sintetizadas a partir do fungo *Lichtheimia ornata* e a planta *Trichilia catigua*, emerge  
26 como uma estratégia promissora. Essas nanopartículas apresentam propriedades  
27 antifúngicas robustas, com menor toxicidade e maior estabilidade em comparação aos  
28 tratamentos tradicionais (PRABHU e POULOSE, 2012).

29 Além das nanopartículas, o reposicionamento de fármacos tem se mostrado uma  
30 alternativa viável no combate a infecções fúngicas resistentes. As estatinas,  
31 amplamente utilizadas para reduzir os níveis de colesterol LDL, têm despertado  
32 interesse por suas propriedades antifúngicas, destacando-se a sinvastatina (MORAES  
33 e PEREIRA, 2019). Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da HMG-CoA  
34 redutase, enzima essencial na síntese do colesterol (SULAIMAN et al., 2015;

1 FONSECA, 2020). A sinvastatina, derivada semissintética da lovastatina, foi  
2 inicialmente isolada de *Aspergillus terreus* e introduzida no mercado em 1988  
3 (BOCATE et al., 2019; PEDERSEN e TOBERT, 2004). Além de seu efeito  
4 hipolipemiante, estudos demonstram que esse fármaco possui atividade antifúngica  
5 contra uma ampla gama de patógenos, incluindo *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* e  
6 dermatófitos, muitas vezes apresentando sinergia com antifúngicos convencionais  
7 (HAERI et al., 2015; TAVAKKOLI et al., 2020; BRILHANTE et al., 2015; NYILASI et  
8 al., 2013).

9 Portanto, esta pesquisa tem como objetivo a síntese e caracterização de  
10 nanopartículas de prata biogênicas, associadas à sinvastatina, bem como o  
11 desenvolvimento de uma formulação tópica. A eficácia desse composto será avaliada  
12 no tratamento da esporotricose causada por *Sporothrix brasiliensis* e de outras  
13 infecções fúngicas que acometem cães e gatos.

## 1 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2 2.1 INFECÇÕES FÚNGICAS

3 Os fungos constituem um dos grupos mais diversos de organismos eucarióticos,  
4 podendo ser unicelulares, como as leveduras, ou multicelulares, como os fungos  
5 filamentosos. Apresentam parede celular característica e membrana citoplasmática  
6 rica em esteróis, principalmente ergosterol. Estima-se que, das mais de dois milhões  
7 de espécies conhecidas, cerca de 600 sejam patogênicas para humanos, sendo que  
8 apenas 3 a 4% dessas são responsáveis por mais de 99% das infecções fúngicas  
9 invasivas. Tais infecções, especialmente aquelas causadas pelos gêneros *Candida*,  
10 *Cryptococcus* e *Aspergillus*, apresentam elevada taxa de mortalidade devido à  
11 dificuldade de erradicação, mesmo com a existência de terapias antifúngicas  
12 (SHAFIEI et al., 2020; IVANOV et al., 2022).

13 Apesar de sua relevância clínica, as infecções fúngicas ainda são uma área  
14 historicamente negligenciada na pesquisa biomédica, embora sejam responsáveis por  
15 mais de 1,5 milhão de mortes anuais. Apenas uma pequena fração dos fungos  
16 apresenta capacidade de infectar humanos, sendo que essa habilidade evoluiu de  
17 forma independente em diversos filos. A emergência de novos patógenos fúngicos e  
18 o aumento da resistência aos antifúngicos têm sido impulsionados tanto por mudanças  
19 ambientais quanto por uma maior exposição de indivíduos imunocomprometidos a  
20 esses organismos (BROWN et al., 2024).

21

#### 22 2.1.1 Infecções subcutâneas por *Sporothrix brasiliensis*

23 As infecções subcutâneas ocorrem quando há inoculação do fungo na pele por meio  
24 de lesões ou traumas causados por materiais contaminados, como madeira, plantas  
25 em decomposição ou solo. A partir daí, o fungo atravessa a pele e invade camadas  
26 mais profundas, como a derme (ARAÚJO, L.F., 2018).

27 Essas micoses subcutâneas são causadas por um grupo diverso de fungos que  
28 podem infectar tanto humanos quanto animais. As principais classificações dessas  
29 micoses incluem esporotricose, lobomicose, micetoma, feohifomicose,  
30 cromoblastomicose e zigomicose (FILHO, M.A.A., et al., 2020).

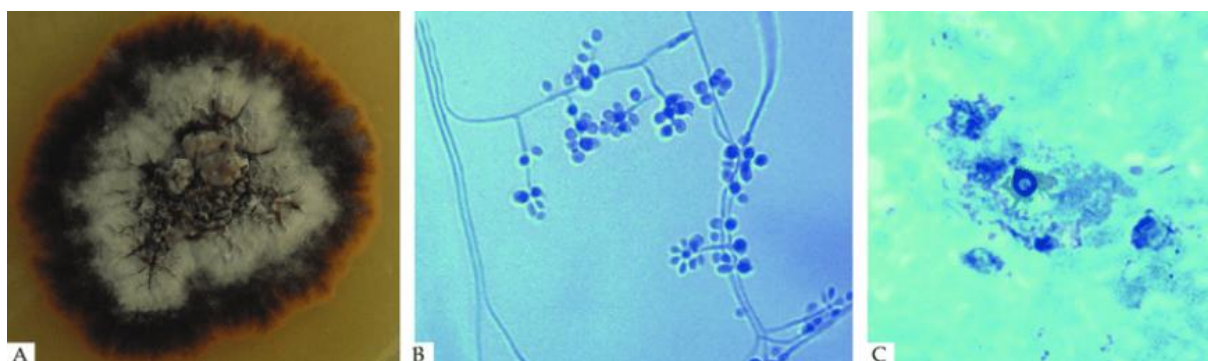
31 A esporotricose é uma infecção fúngica crônica causada por fungos dimórficos do  
32 gênero *Sporothrix*, que inclui diversas espécies, como *S. brasiliensis*, *S. schenk*, *S.*  
33 *globosa*, *S. luriei*, *S. mexicana* e *S. pallida* (MARIMON et al., 2006; ZHANG et al.,  
34 2015; DE BEER et al., 2016).

1 Essas espécies apresentam morfologia distinta de acordo com a fase de vida. Na  
2 forma saprofítica filamentosa, eles vivem em solos ricos em matéria orgânica, sob  
3 condições de aproximadamente 25 °C e alta umidade; já na forma parasitária, como  
4 leveduras, infectam humanos e outros animais em temperaturas em torno de 37 °C  
5 (LACAZ et al., 2002; CABAÑES, 2020).

6 Na figura 1, pode-se observar a fase saprofítica filamentosa, que é caracterizada por  
7 estruturas como hifas hialinas, septadas e ramificadas, com conídios unicelulares que  
8 não formam cadeias (SIGLER et al., 1990; ST-GERMAIN e SUMMERBELL, 1996;  
9 OLIVEIRA, 2009). Por outro lado, na fase parasitária, os fungos assumem a forma de  
10 leveduras unicelulares globosas, ovaladas ou em formato de charuto, podendo  
11 apresentar um ou mais brotamentos (CHANDLER et al., 1980; RAMOS e SILVA et al.,  
12 2007; OLIVEIRA, 2009).

13

14 **Figura 1:** A. macromorfologia de *sporothrix brasiliensis*; b. micromorfologia revela  
15 hifas septadas hialinas delicadas, conidióforo que origina conídios hialinos primários  
16 em arranjo de buquê (azul algodão, x400); c. corpo asteroide (grocott, x400)  
17



18

19 **Fonte:** Rosane Orofino Costa, 2017

20

### 21 2.1.1 Apresentações clínicas e fatores de virulência

22

23 As apresentações clínicas da esporotricose podem variar em função do estado  
24 imunológico do hospedeiro, da patogenicidade do fungo, da tolerância térmica das  
25 cepas, entre outros fatores. Entre os aspectos relacionados ao fungo, como o tamanho  
26 do inóculo e a virulência, estudos têm mostrado diferenças marcantes entre as  
27 principais espécies patogênicas do gênero *Sporothrix*. A espécie *S. brasiliensis* é  
28 amplamente reconhecida como a mais virulenta, enquanto *S. globosa* apresenta  
29 menor virulência. Já *S. schenckii* possui um fenótipo de virulência intermediária

1 (ETCHECOPAZ et al., 2021; ARRILLAGA-MONCRIEFF et al., 2009).  
2 Um dos fatores de virulência mais estudados no gênero *Sporothrix* é a produção de  
3 melanina, que proporciona proteção contra antifúngicos e processos de fagocitose  
4 (ALMEIDA-PAES et al., 2016). A investigação contínua desses fatores é fundamental,  
5 já que o aumento da virulência fúngica representa uma ameaça crescente à saúde  
6 humana (CASADEVALL, 2017).

7 A parede celular, um componente essencial da estrutura fúngica, desempenha  
8 funções biológicas fundamentais, incluindo manutenção da morfologia, integridade,  
9 patogenicidade e virulência (READ e SPERLING, 1982). Essa estrutura multicamada,  
10 dinâmica e complexa, localizada externamente à membrana plasmática, atua como  
11 barreira permeável, participando da nutrição e proteção contra danos físicos ou  
12 osmóticos (LATGÉ, 2010). Além de quitina e  $\beta$ -glucanas, proteínas e outros  
13 carboidratos compõem a parede celular fúngica (ARANA et al., 2009). Estudos  
14 comparativos entre as paredes celulares de *S. schenckii* e *S. brasiliensis* revelaram  
15 uma estrutura bicamada: a camada externa é composta por peptidoramnomano  
16 fibrilar, enquanto quitina,  $\beta$ -1,3 e  $\beta$ -1,6-glucanas, além de partículas de glicogênio,  
17 predominam na camada interna (VILLALOBOS-DUNO et al., 2021). Observou-se  
18 também que *S. brasiliensis* apresenta maior quantidade de polímeros de quitina e  
19 ramnomano (LOPES-BEZERRA et al., 2018).

20 A composição da parede celular varia entre cepas de *S. schenckii* e *S. brasiliensis*,  
21 especialmente em resposta a condições de cultivo, que podem influenciar tanto a  
22 composição quanto a estrutura da parede e a virulência, embora esse efeito não tenha  
23 sido observado em *S. globosa* (LOZOYA-PÉREZ et al., 2021). A produção de trealose  
24 por *S. brasiliensis*, um dissacarídeo associado à resistência ao estresse osmótico e à  
25 remodelação da parede celular, reflete sua adaptação ambiental e pode estar  
26 relacionada à virulência (HOUNSA et al., 1998). Diferenças quantitativas na  
27 composição da parede celular de *S. brasiliensis* e *S. schenckii* também dependem do  
28 tempo de incubação e do morfotipo, com níveis ligeiramente superiores de N-  
29 acetilglucosamina, unidade básica da quitina, em células leveduriformes de *S.*  
30 *schenckii* (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2017; SILVA-BAILÃO et al., 2021).

31 Outro fator crítico de virulência é a capacidade de formação de biofilmes, que permite  
32 aos microrganismos sobreviverem em condições adversas. Os biofilmes fornecem  
33 proteção contra defesas do hospedeiro e aumentam a resistência a medicamentos,  
34 características atribuídas à presença de uma matriz extracelular que dificulta a

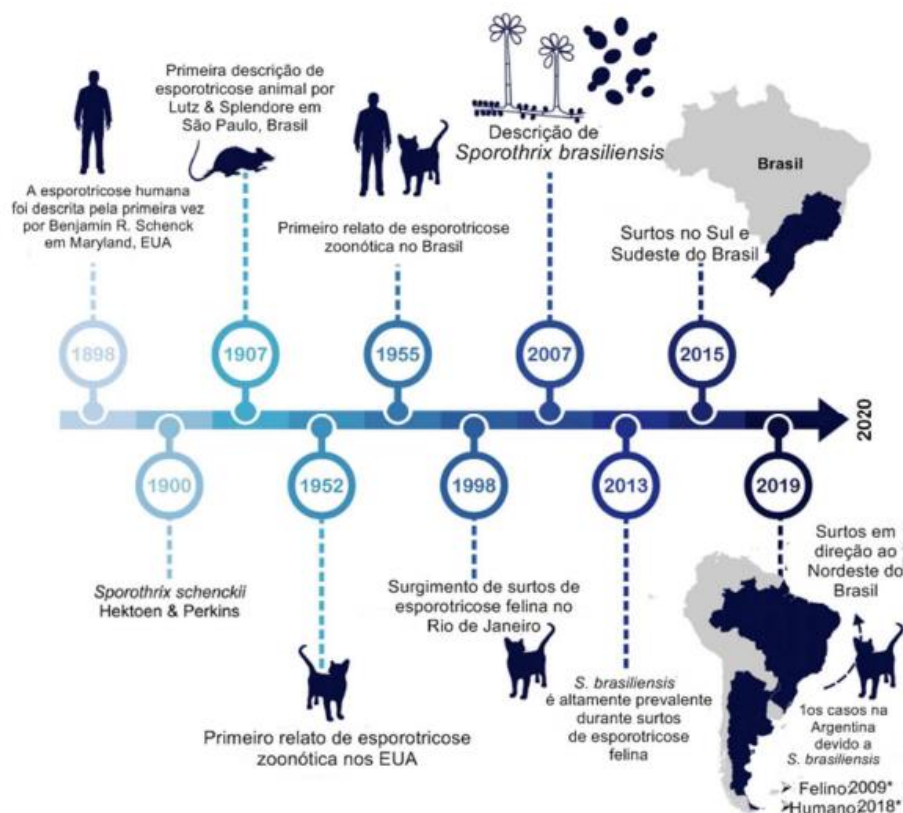
1 penetração de agentes antimicrobianos e moléculas do sistema imune (JONES et al.,  
2 2010; PERCIVAL et al., 2012; RAMAGE et al., 2012). Espécies de *Sporothrix* são  
3 conhecidas por formar biofilmes, o que pode contribuir para sua patogenicidade  
4 (BRILHANTE et al., 2018; BRILHANTE et al., 2021). Embora *S. brasiliensis* e *S.*  
5 *globosa* formem biofilmes robustos, os biofilmes de *S. schenckii* possuem menos  
6 matriz extracelular, composta principalmente de carboidratos e proteínas, similar à de  
7 *Candida* e *Aspergillus* (BRILHANTE et al., 2021).

8 Apesar dos avanços no conhecimento sobre *Sporothrix*, ainda são necessários  
9 estudos que aprofundem a comparação dos aspectos morfoestruturais dessas  
10 espécies, especialmente aquelas isoladas de diferentes hospedeiros.

11 Conforme mostra a figura 2, as primeiras menções à possível ocorrência de  
12 esporotricose foram feitas por Linck, em 1809, e por Lutz, em 1889. No entanto, em  
13 ambos os casos, não foi possível isolar o patógeno para confirmar a doença (KWON-  
14 CHUNG e BENNETT, 1992). Em 1898, Benjamin Schenck confirmou o primeiro caso  
15 de esporotricose nos Estados Unidos. O paciente, um homem de 36 anos,  
16 apresentava lesões na mão e no braço direito. As secreções dos abscessos foram  
17 analisadas pelo micologista Erwin Smith, que concluiu que o fungo responsável  
18 pertencia ao gênero *Sporotrichum* (SCHENCK, 1898).

19 O segundo caso de esporotricose registrado também ocorreu nos Estados Unidos,  
20 descrito por Hektoen e Perkins em 1900. O paciente apresentou uma lesão no dedo  
21 após ferir-se com um martelo, mas a lesão regrediu espontaneamente. Nesse estudo,  
22 os autores foram os responsáveis por denominar o fungo como *Sporothrix schenckii*  
23 (HEKTOEN e PERKINS, 1900).

24 No Brasil, o primeiro caso de infecção natural foi relatado por Lutz e Splendore em  
25 1907, considerando-se a possibilidade de transmissão para humanos através da  
26 mordedura de ratos (LUTZ e SPLENDORE, 1907). Desde então, casos isolados e  
27 surtos têm sido relatados em diversos continentes, com destaque para a elevada  
28 incidência no Rio de Janeiro (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015).



1  
2 **Figura 2:** Histórico de eventos relacionados à esporotricose ao longo dos anos.  
3 (Rodrigues et al., 2020. Adaptado).

4  
5 Atualmente, os fungos *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* e *Sporothrix*  
6 *humicola* são os principais agentes associados à esporotricose em gatos (GREMIÃO  
7 et al., 2020). Sendo a primeira a principal responsável pelos casos de esporotricose  
8 no Brasil e a segunda caracterizada por sua ampla distribuição geográfica  
9 (FERREIRA, 2016; CABAÑES, 2020).

10 Essa doença, de distribuição global, é considerada a micose subcutânea mais  
11 prevalente na América Latina e no Brasil, sendo favorecida por ambientes quentes e  
12 úmidos (GONDIM e LEITE, 2020). A negligência em relação à esporotricose contribui  
13 para dificuldades diagnósticas e terapias ineficazes. Embora formas extracutâneas  
14 sejam raras, elas podem ocorrer em pacientes imunossuprimidos, como diabéticos e  
15 portadores de HIV (ASSIS et al., 2022).

16 Gatos desempenham papel central na transmissão zoonótica devido à alta carga  
17 fúngica nas lesões, ao hábito de arranhar árvores, percorrer grandes distâncias e se  
18 envolver em brigas, especialmente os machos (ALMEIDA et al., 2018). Estudos  
19 mostram que gatos machos não castrados, com acesso à rua, apresentam maior

1 prevalência da doença.

2 Apesar de sua distribuição global, a esporotricose é mais comum em regiões tropicais,  
3 subtropicais e temperadas, com áreas de hiperendemicidade. No Brasil, destaca-se a  
4 alta prevalência nas regiões Sul e Sudeste, especialmente na área metropolitana do  
5 Rio de Janeiro (BRILHANTE et al., 2017).

6 Embora a prevalência exata da esporotricose seja desconhecida, casos têm sido  
7 descritos nos cinco continentes, com maior frequência em zonas tropicais e  
8 temperadas. Relatos incluem países das Américas, como Estados Unidos, Brasil,  
9 Colômbia e México; da Europa, como Portugal, França e Alemanha; da Ásia, como  
10 China e Índia; além de África do Sul e Austrália (ALBERICI et al., 1989; MAGAND et  
11 al., 2009; BARROS et al., 2011; ZHANG et al., 2015).

12 Diversos surtos foram registrados ao longo do tempo. Na África do Sul, entre 1938 e  
13 1947, cerca de 3.300 mineradores foram infectados por *Sporothrix schenckii* através  
14 de madeira contaminada (GOVENDER et al., 2015). Na Austrália, um surto foi  
15 associado ao contato com feno contaminado (MCGUINNESS et al., 2016), enquanto  
16 nos Estados Unidos, surtos ocorreram no Vale do Mississippi, relacionados ao  
17 manuseio de galhos de pinheiro e musgo (POWELL e HODGES, 1971).

18 Na América Latina, três áreas de alta incidência foram identificadas. No Brasil, as  
19 regiões Sul e Sudeste apresentam predominância da transmissão zoonótica,  
20 especialmente por gatos infectados, com *S. brasiliensis* como principal agente  
21 (BARROS et al., 2011; GREMIÃO et al., 2015). No Peru, a região montanhosa de  
22 Abancay registra casos associados à espécie *S. schenckii*, em um contexto de  
23 economia agrícola (PAPPAS et al., 2000; RAMÍREZ Soto, 2015). Já no México, as  
24 áreas montanhosas concentram infecções causadas por *S. schenckii* e, raramente, *S.*  
25 *globosa*, afetando principalmente mulheres e crianças (CHAKRABARTI et al., 2015;  
26 ESTRADA-CASTAÑÓN et al., 2018).

27 No Brasil, desde 1998, o Rio de Janeiro tem registrado inúmeros casos de  
28 esporotricose transmitida por gatos, configurando a primeira epidemia zoonótica  
29 documentada. O Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz)  
30 tornou-se referência no diagnóstico da doença em humanos e animais na região.  
31 Entre 1998 e 2015, foram diagnosticados aproximadamente 5.000 casos humanos e  
32 247 casos caninos. Já os casos felinos somaram 5.113 no período de 1998 a 2018  
33 (GREMIÃO et al., 2020). A região metropolitana do Rio de Janeiro é considerada uma  
34 área hiperendêmica de transmissão zoonótica de *Sporothrix* sp. (BARROS et al.,

1 2011; GREMIÃO et al., 2017).

2 As manifestações clínicas da esporotricose felina podem ser facilmente confundidas  
3 com outras doenças infecto-parasitárias, como criptococose e leishmaniose, além de  
4 condições cutâneas como atopia e até mesmo neoplasias. Isso ressalta a relevância  
5 do diagnóstico laboratorial para garantir a identificação correta da doença (MACÊDO-  
6 SALES PA et al., 2018).

7 O diagnóstico de esporotricose pode ser baseado em informações obtidas durante a  
8 anamnese, incluindo a localização das lesões, que geralmente apresentam  
9 ulcerações. Além disso, a evolução da condição e a exposição a possíveis fontes de  
10 infecção devem ser avaliadas em conjunto com um exame físico detalhado das lesões.  
11 No entanto, a confirmação definitiva do diagnóstico requer exames laboratoriais  
12 (OLIVEIRA NA et al., 2021).

13 Outras metodologias diagnósticas incluem histopatologia, sorologia, isolamento  
14 fúngico e citologia de bloco celular (GONSALES FF et al., 2020). Em casos de  
15 apresentação extracutânea, amostras de sangue, líquido cefalorraquidiano, líquido  
16 sinovial e secreções broncopulmonares podem ser utilizadas para análise  
17 (GAGLIARDI PC et al., 2023).

18 A citopatologia é uma técnica acessível, de baixo custo, fácil execução e que oferece  
19 resultados rápidos. Apesar de não exigir infraestrutura laboratorial complexa ou  
20 treinamento técnico avançado, a precisão na identificação de *Sporothrix spp.* depende  
21 da experiência do avaliador. É importante ressaltar que um resultado negativo na  
22 citopatologia não exclui a possibilidade da presença do fungo (GREMIÃO IDF et al.,  
23 2021).

24 A cultura micológica é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico da esporotricose,  
25 pois permite o isolamento e a identificação definitiva do agente causador (MACÊDO-  
26 SALES PA et al., 2018). Outros métodos, como o PCR, têm mostrado potencial e  
27 estão validados principalmente para uso em pesquisas na área de medicina  
28 veterinária (GREMIÃO IDF et al., 2021).

29 O tratamento da esporotricose apresenta diversos desafios, incluindo o custo elevado,  
30 a dificuldade na administração dos medicamentos, a longa duração necessária e a  
31 falta de conscientização sobre a doença. Além disso, o potencial zoonótico da  
32 esporotricose exige cuidados específicos dos tutores ao manipular os animais  
33 infectados (FORLANI GS et al., 2018).

34 O tratamento é realizado principalmente com antifúngicos, sendo o itraconazol o

1 medicamento de escolha para gatos. Outras opções incluem cetoconazol, fluconazol,  
2 terbinafina, termoterapia local, anfotericina B e, em alguns casos, a ressecção  
3 cirúrgica das lesões (ROCHA RFDB et al., 2018).

4 O itraconazol é o antifúngico mais utilizado por apresentar menos efeitos colaterais,  
5 sendo indicado por até 30 dias após a cura clínica (ARAÚJO et al., 2020). A terbinafina  
6 pode ser usada em casos localizados ou disseminados, exceto em presença de sepse  
7 (ANTUNES et al., 2009). Ambos atuam inibindo a síntese de ergosterol. O iodeto de  
8 potássio, eficaz em formas localizadas de esporotricose, estimula a fagocitose de  
9 células do gênero *Sporothrix* (XUE et al., 2009). Em casos graves, utiliza-se a  
10 anfotericina B lipossomal, que altera a permeabilidade da membrana fúngica (MARIO  
11 et al., 2016). A duração do tratamento varia conforme a gravidade e a localização das  
12 lesões (SILVA et al., 2020).

13 A interrupção precoce do tratamento é um desafio frequente, ocorrendo quando os  
14 tutores percebem melhora nas lesões ou nos sintomas clínicos, deixando de retornar  
15 para acompanhamento médico e continuidade da terapia (ROCHA RFDB, 2014).  
16 Embora a esporotricose não esteja diretamente relacionada a parâmetros  
17 socioeconômicos, o custo do tratamento diário por longos períodos podem ser  
18 significativo. Isso é especialmente desafiador em áreas de baixa renda, onde a  
19 vulnerabilidade econômica muitas vezes impossibilita a aquisição de medicamentos  
20 comerciais. Nesses casos, antifúngicos manipulados podem ser uma alternativa viável  
21 (NAKASU CCT et al., 2020).

22 Animais infectados devem ser mantidos em isolamento até a cura completa. Nos  
23 casos em que a eutanásia for indicada, o procedimento deve ser realizado por um  
24 médico veterinário, e as carcaças devem ser incineradas para evitar novas  
25 contaminações (GREMIÃO IDF et al., 2021).

26 A castração de gatos, especialmente machos, é uma medida importante, pois esses  
27 animais apresentam maior tendência a circular próximo a residências e a se envolver  
28 em brigas territoriais. Essas brigas podem resultar em feridas que, acidentalmente, se  
29 tornam portas de entrada para o fungo causador da esporotricose (SOBRAL FES et  
30 al., 2019).

31 No âmbito das políticas públicas, a distribuição gratuita de medicamentos e serviços  
32 veterinários seria ideal para prevenir novos casos em áreas afetadas. Além disso, a  
33 obrigatoriedade de notificação de casos positivos em todo o território brasileiro  
34 permitiria o diagnóstico, rastreamento e tratamento precoce, contribuindo para a

1 redução da disseminação da doença (REZNIK AU, 2022). A ausência ou a vigilância  
2 inadequada em saúde pode levar ao surgimento de novos casos não detectados,  
3 potencialmente resultando em surtos. Portanto, é essencial implementar estratégias  
4 de saúde pública para o controle efetivo da esporotricose (DUARTE TL e Carvalho  
5 GD, 2021).

6

### 7 2.1.2 Fungos Causadores de Infecções Superficiais

8

9 As infecções fúngicas superficiais (IFS) englobam um grupo de doenças que afetam  
10 mucosas, pele e anexos cutâneos, incluindo dermatofitoses, pitiríase versicolor,  
11 dermatite seborreica, candidíase oral e vulvovaginal, entre outras (SHIVAPRAKASH  
12 e SHAW, 2020). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que  
13 entre 20% e 25% da população global seja acometida por essas infecções, sendo que  
14 30% a 70% dos adultos podem atuar como portadores assintomáticos (PETRUCCELLI,  
15 2020).

16 Com distribuição cosmopolita, as IFS são mais prevalentes em regiões tropicais e  
17 subtropicais, devido às altas temperaturas e umidade que favorecem o crescimento e  
18 disseminação dos fungos causadores (SHARMA e NONZOM, 2021). A manifestação  
19 clínica dessas infecções pode variar em função de fatores relacionados ao  
20 hospedeiro, como idade, sexo, hábitos de higiene, presença de comorbidades e  
21 atividades ocupacionais (MARTINS et al., 2007).

22 Historicamente, acreditava-se que a alta temperatura corporal dos mamíferos limitava  
23 o potencial patogênico dos fungos (CASADEVALL, 2020). Contudo, mudanças  
24 climáticas induzidas por ações antropogênicas exerceram pressão seletiva sobre  
25 microrganismos termotolerantes, permitindo que algumas espécies anteriormente  
26 inofensivas se tornassem patogênicas devido à adaptação a condições térmicas  
27 humanas e animais (CASADEVALL et al., 2019).

28 Os agentes causadores das infecções fúngicas superficiais (IFS) incluem fungos  
29 leveduriformes, como aqueles do gênero *Malassezia*, e fungos dermatófitos (ABU-  
30 ELTEEN e HAMAD, 2012). As leveduras do gênero *Malassezia* são amplamente  
31 reconhecidas por provocar diversas infecções de pele em humanos e animais  
32 (SHARMA e NONZOM, 2021). Esses microrganismos eucariotos representam entre  
33 50% e 80% da microbiota total da pele, sendo os fungos mais abundantes nesse órgão  
34 (THEELEN et al., 2017).

1 Uma característica marcante de *Malassezia* é sua lipofilia, decorrente da incapacidade  
2 de sintetizar ácidos graxos, uma peculiaridade exclusiva do gênero. Para superar essa  
3 limitação, *Malassezia* secreta enzimas como lipases e fosfolipases, permitindo a  
4 obtenção de ácidos graxos do hospedeiro (WHITE et al., 2014).  
5 Entre os dermatófitos, que são os principais responsáveis por micoses superficiais,  
6 destacam-se os gêneros *Epidermophyton*, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Nannizzia*,  
7 *Arthroderma* e *Lophophyton*. Os três primeiros são mais frequentemente associados  
8 a infecções em humanos e/ou animais (BEGUM et al., 2020). Por serem  
9 queratinofílicos, os dermatófitos utilizam a queratina como fonte de energia, causando  
10 infecções na pele, cabelos e unhas, conhecidas como "tineas". Esses fungos podem  
11 ser classificados como geofílicos, antropofílicos ou zoofílicos, dependendo do habitat  
12 e do tipo de hospedeiro ao qual estão associados (MEDEIROS et al., 2009).

13

#### 14 2.1.3 *Malassezia* spp.

15 Os fungos do gênero *Malassezia*, conforme ilustrado na figura 3, são leveduras  
16 basidiomicetas, atualmente representadas por 18 espécies identificadas e  
17 frequentemente isoladas tanto de pele saudável quanto de lesões em humanos e  
18 animais (KURNIADI et al., 2022). No entanto, sua epidemiologia ainda é pouco  
19 estudada (RHIMI et al., 2020). Entre as espécies, *M. globosa*, *M. sympodialis* e *M.*  
20 *furfur* são as mais associadas a lesões de pele em humanos, enquanto *M.*  
21 *pachydermatis* é zoonótica, sendo encontrada em animais domésticos e selvagens,  
22 especialmente relacionada a casos de otite e lesões cutâneas em cães (SHARMA e  
23 NONZOM, 2021; DANIEL et al., 2022).

24 As infecções superficiais causadas por *Malassezia* afetam até 50% da população  
25 mundial, podendo, em indivíduos imunocomprometidos, progredir para quadros  
26 sistêmicos graves (LEONG et al., 2021).

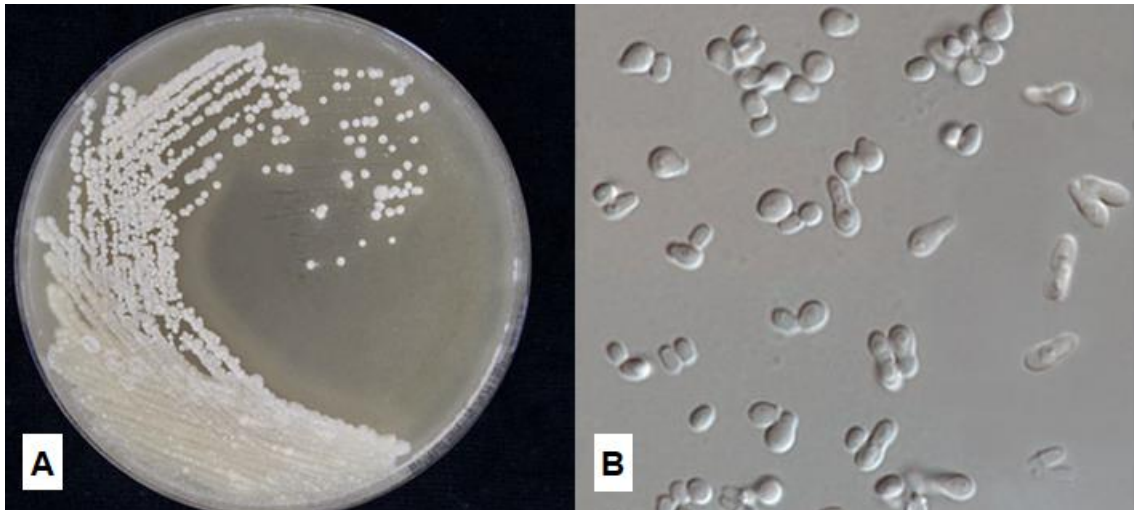
27 Em outro estudo, Silvestre et al. (2021) avaliaram doenças cutâneas em cães e gatos  
28 atendidos pela Clínica Veterinária da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)  
29 entre 2015 e 2019. A otite por *Malassezia* foi a infecção fúngica mais prevalente,  
30 correspondendo a 83,3% dos casos em cães e 54,5% em gatos.

31 Embora os azóis sejam amplamente utilizados no tratamento dessas infecções, falhas  
32 terapêuticas são comuns, e os mecanismos de resistência em *Malassezia* ainda não  
33 estão totalmente esclarecidos (PEANO et al., 2020). Ademais, não há consenso na  
34 comunidade científica sobre protocolos padronizados para testes de suscetibilidade

1 antifúngica em *Malassezia*, diferentemente do que ocorre para bactérias e outros  
2 fungos (PEANO et al., 2020).

3

4 **Figura 3:** Visão macroscópica e microscópica de colônia de *Malassezia*  
5 *pachydermatis*. A: colônia de *M. pachydermatis*, exibindo coloração branca e aspecto  
6 cremoso, cultivada em meio YPD (Yeast extract Peptone Dextrose). B: visão  
7 microscópica de *M. pachydermatis* com exibição de brotamentos com base ampla.  
8



9

10

Fonte: Hoog et al (2023 – adaptado)

11

12

#### 13 2.1.4 Dermatófitos

14

15 A dermatofitose canina, também conhecida como "tínea", é uma infecção fúngica que  
16 afeta a pele e o pelo dos cães e é causada por fungos dermatófitos. Esses organismos  
17 utilizam a queratina presente no pelo, unhas e pele do animal como fonte de  
18 nutrientes, podendo provocar lesões como descamação, alopecia e eritema (OSAKI  
19 et al., 2018).

20 Os dermatófitos pertencem aos gêneros *Microsporum*, *Epidermophyton* e  
21 *Trichophyton*, sendo 27 espécies reconhecidas como patogênicas para humanos. No  
22 Brasil, 15 dessas espécies são identificadas, podendo ser classificadas de acordo com  
23 seu habitat em zoofílicos, geofílicos e antropofílicos. Dessa forma, a dermatofitose é  
24 altamente contagiosa, com fácil transmissão entre animais que convivem em  
25 proximidade (SOARES e SÉRVIO, 2022).

26 Esses fungos predominam em climas temperados e tropicais, com maior incidência  
27 durante o outono e inverno. Por sua natureza zoonótica, a dermatofitose é

1 considerada uma importante antropozoonose, transmitida de animais para humanos,  
2 o que a torna relevante para a saúde pública (VASCONCELOS, 2018).

3 Os sintomas variam de leves a graves, incluindo prurido, descamação, alopecia,  
4 formação de crostas e lesões cutâneas. Além disso, cães acometidos podem  
5 desenvolver infecções secundárias bacterianas ou fúngicas. O diagnóstico baseia-se  
6 na observação clínica das lesões e em exames como cultura fúngica. Apesar de o  
7 exame citológico ser suficiente para identificar a infecção, a tipificação do dermatófito  
8 requer o cultivo dos pelos em meio seletivo DTM (Dermatophyte Test Medium)  
9 (MORIELLO, 2019).

10 O tratamento envolve antifúngicos tópicos e orais, banhos medicamentosos e medidas  
11 de controle para evitar a disseminação da infecção, como a limpeza regular de objetos  
12 e superfícies em contato com o animal infectado. A intervenção precoce é essencial  
13 para conter a propagação e garantir a recuperação do animal (SOARES e SÉRVIO,  
14 2022).

15 As lesões manifestam-se principalmente na pele, nos pelos e nas unhas. Os gêneros  
16 *Trichophyton* e *Microsporum* são os principais agentes etiológicos em cães e gatos,  
17 destacando-se as espécies *Microsporum canis*, *Nannizzia gypsea* e *Trichophyton*  
18 *mentagrophytes* (CAFARCHIA et al., 2010; ASSIS et al., 2022). As características  
19 morfológicas dessas espécies podem ser observadas nas Figuras 4, 5 e 6.

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

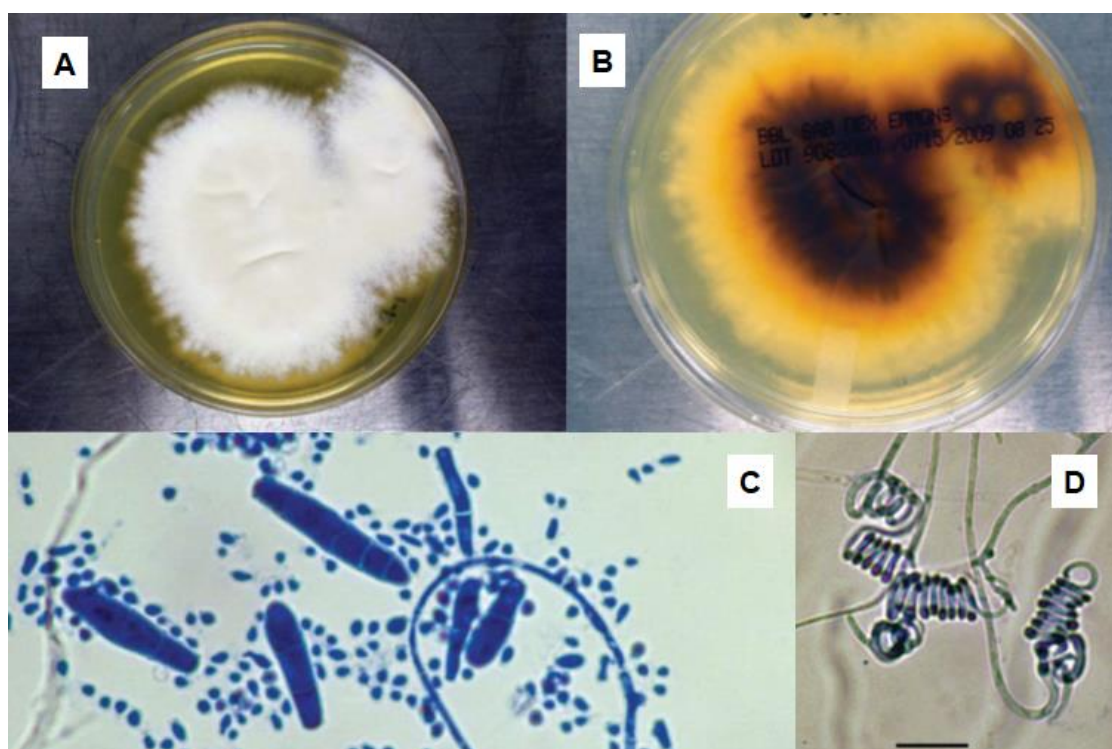
40

1 **Figura 4:** Imagens macroscópicas e microscópicas de *Microsporium canis*. À esquerda  
 2 da imagem, observa-se uma colônia de *Microsporium canis*, cultivada em ágar  
 3 sabouraud dextrose, com aspecto algodinoso a pulverulento, coloração branca a  
 4 amarelada e reverso amarelado a marrom-avermelhado. À direita, visualizam-se  
 5 macroconídios fusiformes, multicelulares e com paredes espessas, ornamentadas e  
 6 contendo de 3 a 8 células (septos). Coloração azul de lactofenol, em um aumento  
 7 microscópico de aproximadamente 400x.  
 8



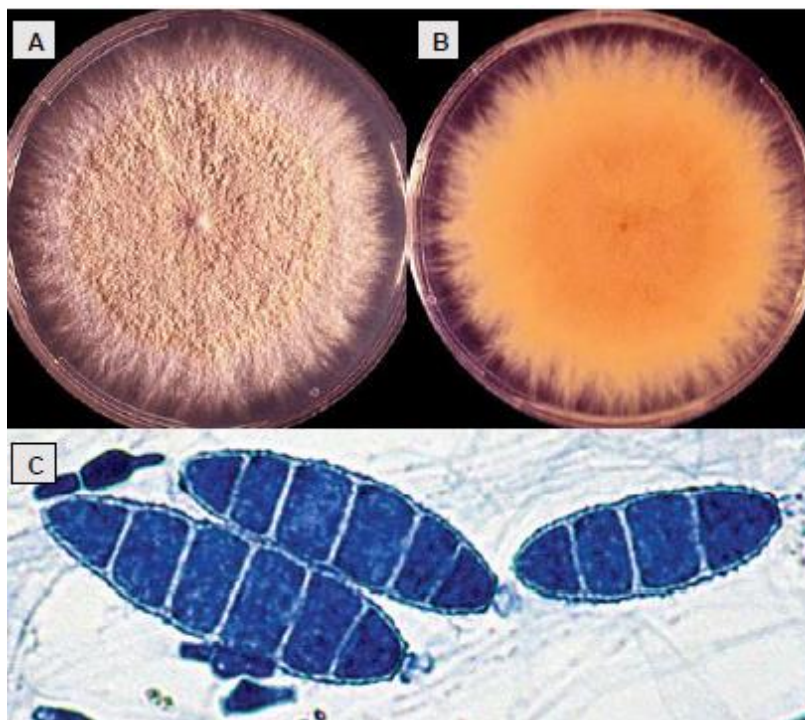
9  
 10 **Fonte:** Carlos Roehe (2014 – adaptado)

11 **Figura 5:** Imagens macroscópicas e microscópicas de *Trichophyton mentagrophytes*,  
 12 cultivadas em ágar sabouraud dextrose. (A) colônia de aspecto algodinoso e  
 13 coloração branca no anverso da placa. (B) pigmentação amarela no inverso da placa.  
 14 (C) microconídeos esféricos, com coloração azul de lactofenol, aumento microscópico  
 15 de aproximadamente 400-1000x. (D) Hifas espiraladas, com colaração azul de  
 16 lactofenol e aumento de aproximadamente 400-1000x.  
 17



18  
 19 **Fonte:** Ellis et al (2023 – adaptado)

1 **Figura 6:** (A): Visão macroscópica de *N. gypsea* cultivada em ágar sabouraud  
2 dextrose, com aspecto pulverulento e coloração branco-amarronzada na face  
3 superior. (B): Face inferior da colônia, com coloração amarelada. (C): Imagem  
4 microscópica com coloração azul de lactofenol, evidenciando macroconídeos  
5 fusiformes, com paredes espessas de *N. gypsea*. Aumento microscópico de  
6 aproximadamente 400x.



7

8 **Fonte:** Ellis et al (2007 – Adaptado)

9

10 

## 2.2 ANTIFÚNGICOS

11 Comparado com os antibacterianos, o desenvolvimento de antifúngicos se torna mais  
12 desafiador devido aos fungos serem organismos eucariotos. Desse modo, muitos  
13 alvos terapêuticos destes fármacos também são encontrados em humanos, com risco  
14 potencial de toxicidade para o hospedeiro (ROEMER e KRYSAN, 2014).

15 Os fármacos mais comumente utilizados para o tratamento das infecções fúngicas  
16 pertencem as classes dos polienos, azóis, alilaninas, equinocandinas e flucitosina,  
17 tanto em aplicações tópicas, como sistêmicas (Figura 7) (IVANOV et al, 2022).

18

19

20

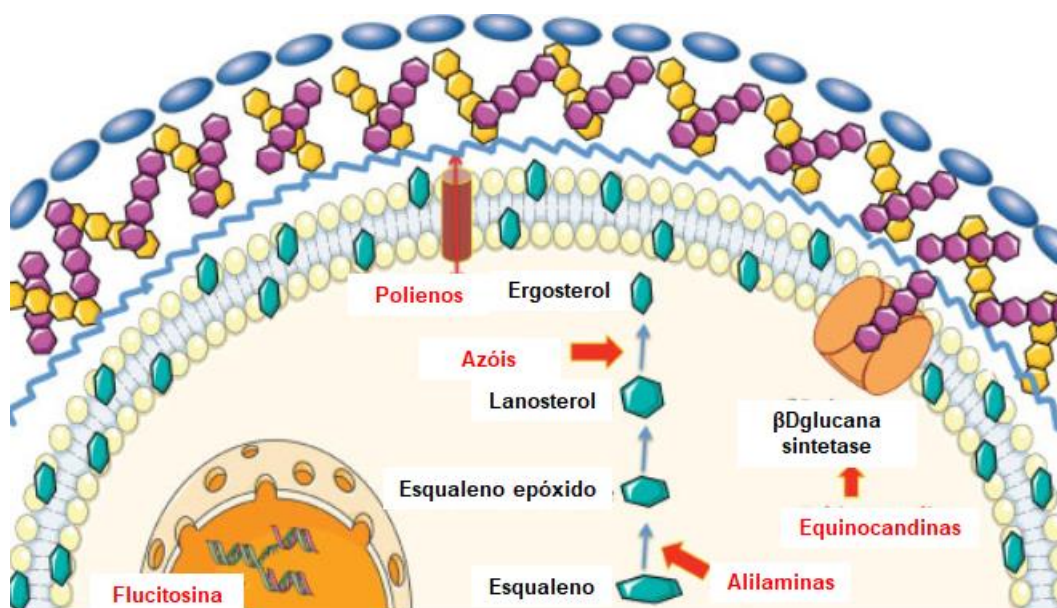
21

22

23

24

1 **Figura 7:** Principais classes de antifúngicos e seus alvos de ação.  
2



Fonte: Nivoix et al (2020 – adaptado).

Os polienos foram descobertos em 1949 pelas cientistas Elizabeth L. Hazen e Rachel F. Brown, que isolaram a primeira molécula dessa classe, a fungicidina, posteriormente chamada de nistatina (CAROLUS et al., 2020). Essa classe inclui os primeiros antimicrobianos específicos para fungos desde a griseofulvina (CAROLUS et al., 2020) e os primeiros antifúngicos de uso clínico. Atualmente, os polienos são representados pela nistatina, natamicina e anfotericina B, todos derivados de produtos naturais isolados de *Streptomyces noursei*, *S. natalensis* e *S. nodosum*, respectivamente (CAMPOY e ADRIO, 2016).

O mecanismo de ação dos polienos envolve ligação à bicamada lipídica das membranas celulares dos fungos, formando complexos com o ergosterol. Esse processo cria poros que causam o extravasamento do conteúdo citoplasmático e danos oxidativos, levando à morte celular (CAMPOY e ADRIO, 2016). Além disso, a anfotericina B promove a extração do ergosterol da membrana fúngica, essencial para sua integridade estrutural. Apesar de ser altamente tóxica, especialmente nefrotóxica, a anfotericina B é amplamente utilizada no tratamento de micoses sistêmicas, pois seus benefícios superam os riscos da toxicidade (CAMPOY e ADRIO, 2016). Formulações lipídicas foram desenvolvidas para reduzir a toxicidade, permitindo o uso de doses mais altas no tratamento de infecções fúngicas (MOORE e PROFFITT, 2008).

1 Os azóis são a classe de antifúngicos mais amplamente utilizada na prática clínica,  
2 com formulações orais e intravenosas disponíveis para o tratamento de micoses  
3 superficiais e sistêmicas (VAN DAELE et al., 2019). O efeito antifúngico do  
4 benzimidazol foi relatado pela primeira vez em 1944, por Woolley, levando ao  
5 desenvolvimento de diversas moléculas, como fenetilimidazol e benzimidazóis  
6 substituídos. Em 1958, surgiu o clormidazol, o primeiro fármaco azólico (SHAFIEI et  
7 al., 2020).

8 O mecanismo de ação dos azóis baseia-se na inibição da enzima 14 $\alpha$ -lanosterol  
9 demetilase, dependente do citocromo P450 (CYP51), codificada pelo gene *ERG11*.  
10 Essa enzima converte lanosterol em ergosterol, e a sua inibição causa alterações na  
11 permeabilidade e fluidez da membrana fúngica, comprometendo sua integridade  
12 (SHUKLA et al., 2016; ODDS, 2003). Os azóis se dividem em dois grupos: imidazóis  
13 (clotrimazol, miconazol e cetoconazol) e triazóis, subdivididos em triazóis de primeira  
14 geração (itraconazol e fluconazol) e segunda geração (voriconazol e posaconazol)  
15 (SHUKLA et al., 2016).

16 Os imidazóis apresentam alta eficácia contra fungos responsáveis por infecções  
17 superficiais, como dermatófitos, *Candida spp.* e *Malassezia spp.*. Enquanto miconazol  
18 e cetoconazol são fungicidas, o clotrimazol exibe atividade dependente da dose  
19 (IVANOV et al., 2022). O fluconazol tem boa atividade contra *Candida spp.* e  
20 *Cryptococcus*, mas é ineficaz contra fungos filamentosos. Por outro lado, o itraconazol  
21 apresenta um espectro mais amplo, incluindo dermatófitos, leveduras, fungos  
22 dimórficos e fungos filamentosos, como *Aspergillus spp.* (NIVOIX et al., 2020).

23 Os triazóis de primeira geração são fungistáticos, o que pode favorecer o  
24 desenvolvimento de resistência fúngica (SHUKLA et al., 2016). Em contraste, os  
25 triazóis de segunda geração, como voriconazol e posaconazol, têm ação fungicida e  
26 um espectro mais amplo (PEYTON et al., 2015).

27 As alilaminas, como a naftifina e a terbinafina, são usadas no tratamento de infecções  
28 fúngicas superficiais. Elas inibem a enzima esqualeno epoxidase, essencial na  
29 biossíntese do ergosterol, sem afetar significativamente a síntese de colesterol nas  
30 células de mamíferos (BIRNBAUM, 1990; NOWOSIELSKI et al., 2011). A naftifina,  
31 isolada por Berney em 1974, foi o primeiro composto dessa classe a ser  
32 comercializado, em 1985 (STÜTZ, 1987). Já a terbinafina, o principal representante  
33 da classe, possui atividade fungicida ampla, sendo eficaz contra dermatófitos  
34 (*Trichophyton spp.*, *Microsporum spp.*, *Epidermophyton spp.*) e leveduras (*Candida*

1 spp.)

2 As equinocandinas (caspofungina, micafungina e anidulafungina) são antifúngicos  
3 eficazes contra *Candida* spp. e *Aspergillus* spp. com menos efeitos colaterais em  
4 comparação aos polienos e azóis (Szymansk et al., 2022). Derivadas de metabólitos  
5 secundários de fungos, sua descoberta começou na década de 1970 com compostos  
6 naturais como equinocandina B e anidulafungina, e evoluiu para versões  
7 semissintéticas como a caspofungina (1989) e micafungina (1990) (Mroczynska e  
8 Dabrowska, 2020).

9 Seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da síntese da parede celular fúngica,  
10 especialmente do  $\beta$ -1,3-D-glucano, um dos principais componentes estruturais da  
11 parede. Esse polissacarídeo é sintetizado por uma enzima de membrana chamada  $\beta$ -  
12 1,3-D-glucana sintase, codificada pelos genes *FKS1* e *FKS2* (Rubio et al., 2020;  
13 Mroczynska e Dabrowska, 2020). Como esses componentes não existem em células  
14 humanas, representam alvos seletivos promissores. A inibição dessa via causa  
15 alterações estruturais que podem levar à interrupção do crescimento do fungo ou  
16 morte celular por desequilíbrio osmótico (Gamaletou et al., 2018).

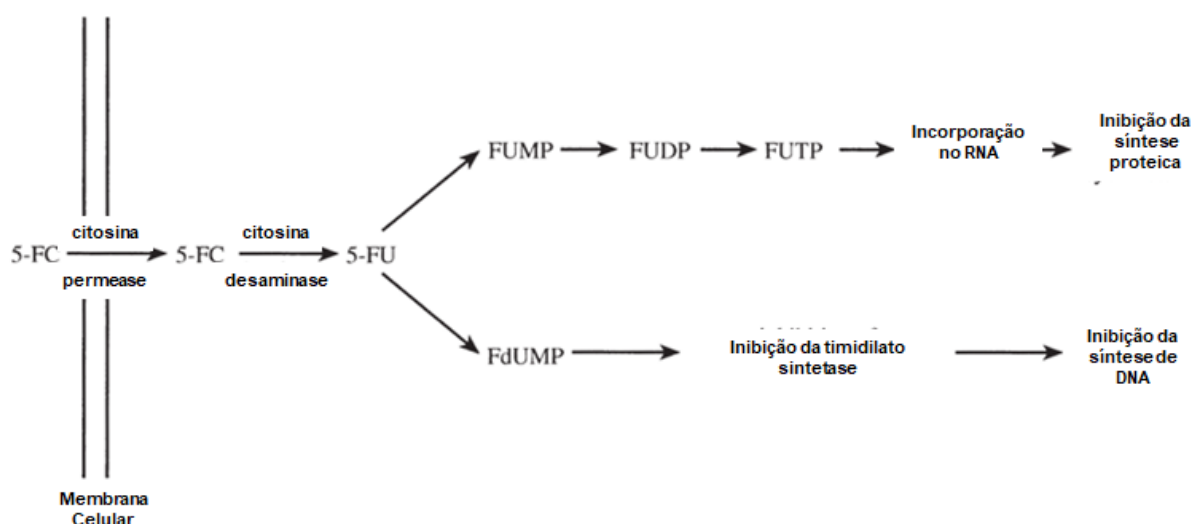
17 A flucitosina é um antifúngico de uso sistêmico, desenvolvido em 1957 e aprovado  
18 pelo FDA em 1971 (Padda e Parmar, 2023). Seu mecanismo de ação baseia-se na  
19 inibição da síntese de ácidos nucleicos, principalmente por meio do bloqueio da  
20 enzima timidilato sintetase (Nivoix et al., 2020). Esse processo está ilustrado na Figura  
21 8.

22 No interior da célula fúngica, a flucitosina (5-FC) é convertida em 5-fluorouracila (5-  
23 FU) pela ação de uma citosina desaminase. Posteriormente, é metabolizada por uma  
24 uridina monofosfato (FUMP) pirofosforilase, permitindo sua incorporação no RNA  
25 fúngico. Além disso, a 5-FU pode ser transformada em 5-fluorodeoksiuridilato (FdUMP),  
26 que inibe diretamente a timidilato sintetase, bloqueando a síntese de DNA (NIVOIX et  
27 al., 2020).

28 A flucitosina é eficaz contra *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans* e outras  
29 espécies não-albicans de *Candida*. Contudo, seu uso isolado é desaconselhado  
30 devido ao risco de desenvolvimento de resistência durante o tratamento, sendo  
31 frequentemente empregada em combinação com outros antifúngicos para maximizar  
32 a eficácia terapêutica (OLDFIELD, 2020).

33  
34

1 **Figura 8:** Mecanismo de ação da flucitosina e destinos possíveis da 5-fluoro-uracila  
 2 (5-FU) até a inibição da síntese de DNA. A 5-FU pode ser convertida em FUMP (5-  
 3 fluorouridina monofosfato), FUDP (difosfato), e FUTP (trifosfato), que se incorpora ao  
 4 RNA, inibindo a síntese proteica; ou em FdUMP (5-fluoro-2'-desoxiuridina  
 5 monofosfato), que inibe a timidilato sintetase, bloqueando a síntese de DNA.  
 6



7

8 **Fonte:** Vermes et al (2000 – adaptado).

9

10 Nas últimas décadas, o desenvolvimento de formulações menos tóxicas dentro das  
 11 classes já existentes de antifúngicos ampliou significativamente o uso desses  
 12 medicamentos na profilaxia e no tratamento de infecções fúngicas. No entanto, esse  
 13 avanço também contribuiu para o aumento da resistência aos antifúngicos, limitando  
 14 as opções terapêuticas disponíveis (PERLIN et al., 2017).

15 A resistência antifúngica pode estar associada tanto a fatores relacionados ao  
 16 hospedeiro quanto aos microrganismos causadores da infecção. Falhas terapêuticas  
 17 ocorrem frequentemente em pacientes que não respondem às doses padrão dos  
 18 fármacos ou que estão imunossuprimidos, onde a ausência de uma resposta imune  
 19 eficiente compromete a capacidade do medicamento de controlar a infecção (BROWN  
 20 e NETEA, 2012).

21 Nos microrganismos, os fatores relacionados à resistência incluem mutações  
 22 genéticas nos sítios de ligação dos fármacos, que reduzem a eficácia do tratamento,  
 23 a superexpressão de bombas de efluxo que eliminam os medicamentos das células,  
 24 a inibição da ativação de pró-fármacos e a redução na captação dos fármacos pelo  
 25 fungo (FISHER et al., 2022).

26 Esses mecanismos destacam a complexidade da resistência antifúngica e a

1 necessidade de estratégias inovadoras para superar esse desafio crescente.  
2 Recursos de origem natural e sintética têm historicamente desempenhado um papel  
3 fundamental no desenvolvimento de antifúngicos e continuam sendo uma base valiosa  
4 para a descoberta de novos medicamentos.

5

## 6 2.3 ESTRATÉGIAS ALTERNATIVAS PARA A DESCOBERTA DE NOVAS TERAPIAS ANTIFÚNGICAS

7

### 8 2.3.1 Reposicionamento de Fármacos

9 O modelo de negócios da indústria farmacêutica prioriza o rápido retorno do capital  
10 investido no desenvolvimento de medicamentos (DIMASI et al., 2003). Por isso, há  
11 um desinteresse em direcionar recursos para a pesquisa e desenvolvimento de novos  
12 antimicrobianos, devido aos elevados custos associados ao processo e às rigorosas  
13 exigências regulatórias para aprovação de novos fármacos, que dificultam a obtenção  
14 de retorno financeiro rápido. Isso ocorre porque os antimicrobianos, em geral, são  
15 utilizados por períodos curtos, o que limita a lucratividade (LIMA et al., 2019).

16 Nesse contexto, o reposicionamento de fármacos surge como uma estratégia  
17 promissora, pois utiliza medicamentos já aprovados e, em muitos casos,  
18 comercialmente disponíveis ou em desenvolvimento para outras indicações. O  
19 conhecimento prévio sobre a farmacologia e toxicologia desses compostos permite  
20 acelerar os ensaios clínicos e os processos regulatórios, reduzindo custos e riscos  
21 (HARRISON, 2020).

22 A popularidade dessa abordagem aumentou significativamente durante a pandemia  
23 de COVID-19, quando foi necessário buscar tratamentos em tempo hábil, algo inviável  
24 pelo método tradicional de desenvolvimento de medicamentos (GRANDO et al.,  
25 2020). Enquanto o modelo convencional é demorado, caro e arriscado, o  
26 reposicionamento oferece maior eficiência e economia, pois já conta com testes pré-  
27 clínicos e clínicos, além de processos de formulação e produção estabelecidos (XUE  
28 et al., 2018).

29 Exemplos de sucesso incluem o sildenafil (VIAGRA®), originalmente desenvolvido  
30 para tratar angina, que foi reposicionado para o tratamento de disfunção erétil, e a  
31 zidovudina (AZT), inicialmente investigada para o tratamento do câncer, que se tornou  
32 o primeiro medicamento aprovado para a AIDS. Além disso, o cetoconazol,  
33 amplamente utilizado contra infecções fúngicas, foi aprovado pela EMA em 2014 para  
34 o tratamento da síndrome de Cushing (PUSHPAKOM et al., 2019).

1

## 2 2.3.1.1 Sinvastatina

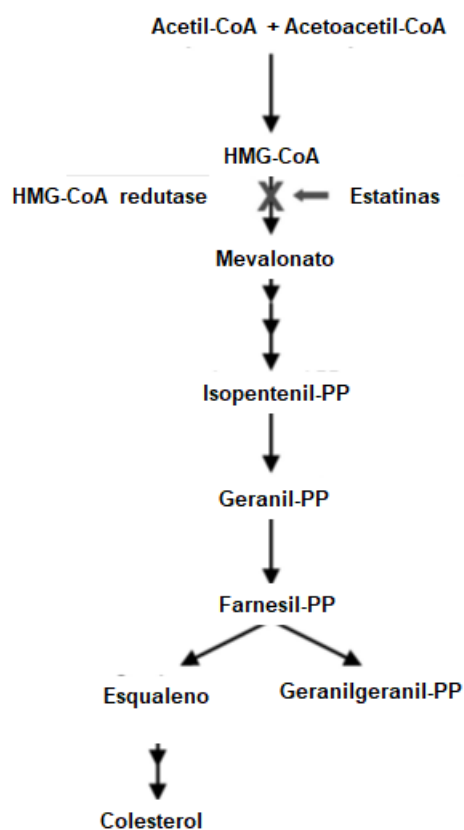
3 As estatinas são amplamente utilizadas em todo o mundo para reduzir os níveis de  
4 colesterol LDL no sangue, com a sinvastatina sendo uma das mais prescritas entre  
5 elas (MORAES e PEREIRA, 2019).

6 O mecanismo de ação das estatinas, ilustrado na Figura 9, baseia-se na inibição da  
7 enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), essencial  
8 para a conversão do HMG-CoA em ácido mevalônico, etapa precursora na síntese de  
9 colesterol (SULAIMAN et al., 2015).

10 A interação ocorre por competição reversível entre as estatinas e o HMG-CoA pelo  
11 sítio ativo da redutase. As estatinas possuem maior afinidade de ligação à enzima, o  
12 que inibe sua função, impedindo a interação com o HMG-CoA, que tem afinidade  
13 menor (FONSECA, 2020).

14 **Figura 9:** Via metabólica do mevalonato com indicação do alvo das estatinas e  
15 produtos da reação da HMG-CoA redutase.

16



17

18

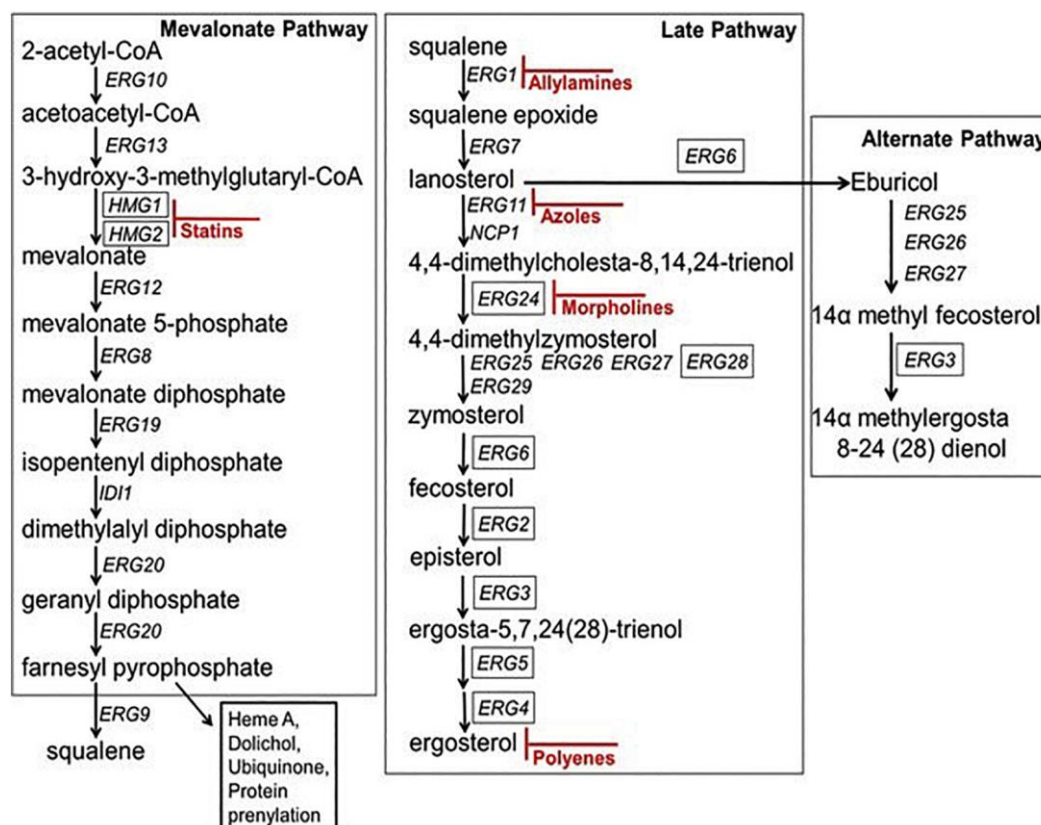
19 **Fonte:** Sirtori (2014 – adaptado).

20 A HMG-CoA redutase é encontrada no retículo endoplasmático de eucariotos e, por  
21 isso, desempenha um papel fundamental na biossíntese do ergosterol em fungos,

1 sendo um potencial alvo terapêutico para contornar o problema da resistência aos  
2 antifúngicos tradicionais (PAVÓN et al., 2014), conforme ilustrado na Figura 10.

3 **Figura 10:** Via de biossíntese do ergosterol em fungos e alvos das principais classes  
4 de antifúngicos e estatinas.

5



9 **Fonte:** Bhattacharya et al (2018 – adaptado).

10 A sinvastatina é um composto semissintético derivado da lovastatina, isolada  
11 inicialmente de *Aspergillus terreus* (BOCATE et al., 2019), cuja única diferença  
12 estrutural é a adição de um grupo metil na cadeia lateral, como ilustrado na Figura 11.  
13 Ambas foram desenvolvidas pela Merck & Co., Inc.; a sinvastatina foi inicialmente  
14 introduzida na Suécia em 1988 e, posteriormente, no restante do mundo (PEDERSEN  
15 e TOBERT, 2004).

16

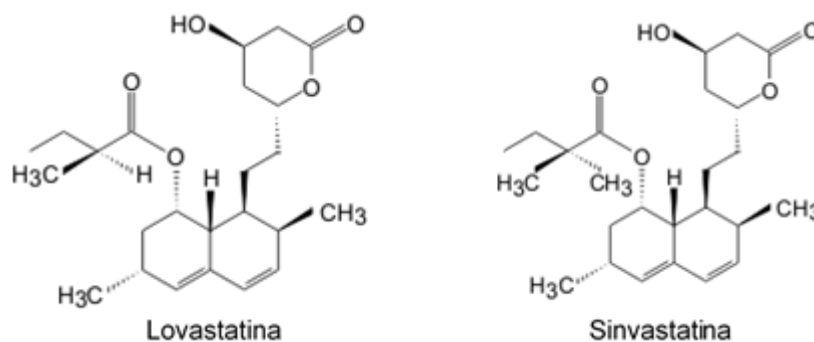
17

18

19

20

**Figura 11:** Estrutura química da lovastatina e sinvastatina.



1

2

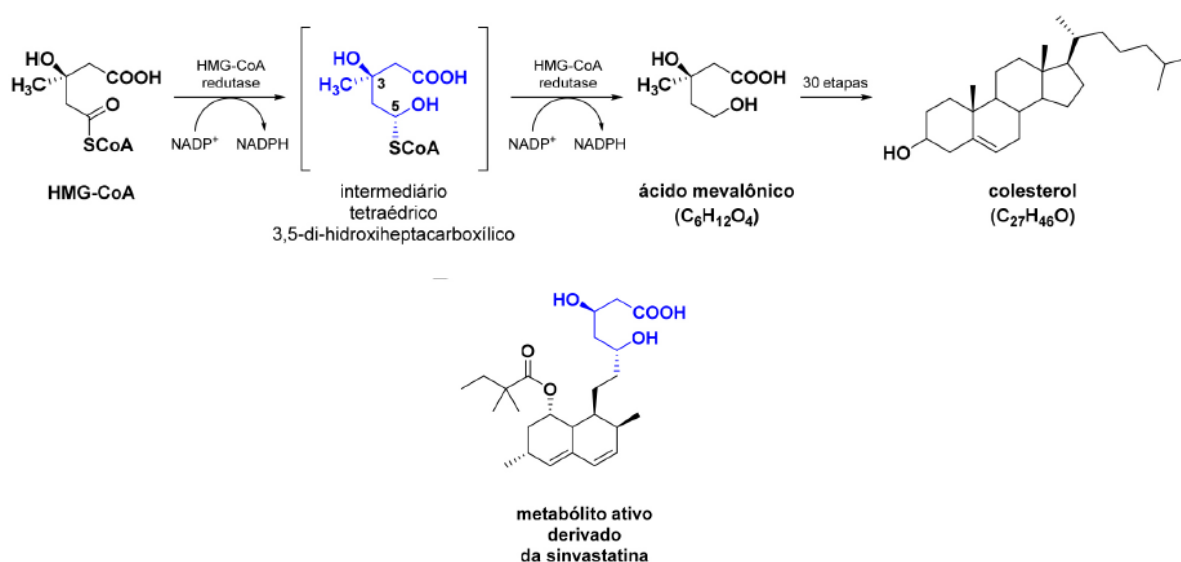
3 **Fonte:** the statins

4 A sinvastatina possui um anel lactônico em sua estrutura, que sofre hidrólise  
 5 enzimática *in vivo*. Desse modo, é classificada como um pró-fármaco, já que a lactona  
 6 precisa ser clivada para que o metabólito ativo seja capaz de inibir a HMG-CoA  
 7 redutase. O metabólito é um análogo do substrato natural da enzima devido à  
 8 similaridade estrutural, como ilustrado na Figura 12. Dessa forma, ele é capaz de se  
 9 ligar ao sítio ativo da enzima, impedindo a clivagem do substrato e sua conversão em  
 10 ácido mevalônico (TAVARES et al., 2016).

11

12 **Figura 12:** Via simplificada da biossíntese do colesterol demonstrando a similaridade  
 13 estrutural entre o substrato da HMG-CoA redutase e o metabólito ativo da sinvastatina  
 14 (em azul).

15



16

17

18 **Fonte:** Tavares et al (2016 – adaptado).

19

20

21 Estudos conduzidos por Brilhante et al. (2015) demonstraram que a sinvastatina

1 apresenta atividade antifúngica contra células planctônicas e biofilmes de *Candida*  
2 spp. e *Cryptococcus* spp. Testes de combinação com itraconazol ou fluconazol  
3 evidenciaram um efeito sinérgico, promovendo maior inibição tanto de células  
4 planctônicas quanto de biofilmes em formação e já maduros.

5

### 6 2.3.2 Nanopartículas Metálicas

7 A nanotecnologia é uma área de estudo que explora materiais na escala de 1 a 100  
8 nm, com propriedades únicas que tornam esses materiais aplicáveis em diversos  
9 setores, como agricultura, medicina e outras áreas tecnológicas (YASSIN et al., 2021).  
10 O termo "nano" deriva da palavra grega que significa "anão", especificando a  
11 multiplicação de uma grandeza por um fator de  $10^{-9}$ , ou seja, uma bilionésima parte  
12 de um metro (SCANDORIEIRO, 2020).

13 O conceito de "nanômetro" foi introduzido por Richard Zsigmondy, que recebeu o  
14 Prêmio Nobel de Química em 1925 por seu trabalho sobre partículas em coloides de  
15 ouro, utilizando um microscópio. Richard Feynman, em 1959, propôs a manipulação  
16 da matéria na escala atômica, sendo considerado o pai da nanotecnologia moderna  
17 (HULLA et al., 2015). Embora a nanotecnologia seja uma área recente, há registros  
18 de exposições humanas a nanopartículas ao longo da história, como as cores  
19 incomuns em objetos antigos, que foram associadas à presença de nanopartículas  
20 metálicas, especialmente de cobre, usado no Egito e na Mesopotâmia para criar vidros  
21 vermelhos, por volta do século XIV a.C (SCHAMING e REMITA, 2015).

22 Os metais, como a prata, são conhecidos por suas propriedades físicas excepcionais,  
23 como brilho intenso, boa condutividade elétrica e térmica, altos pontos de fusão e  
24 plasticidade, permitindo sua manipulação em diferentes formas (BLABER, 2016). A  
25 prata, especificamente, possui o peso atômico de 107,87 e número atômico 47. Além  
26 disso, é o metal com maior condutividade elétrica e térmica (MARX e BARILLO, 2014).

27 Os compostos de prata ionizam em água e podem exibir três estados de oxidação:  
28  $Ag^+$ ,  $Ag^{2+}$ ,  $Ag^{3+}$  além da prata metálica  $Ag^0$ , sendo o  $Ag^+$  o único estável o suficiente  
29 para aplicações médicas, já que os outros cátions são altamente reativos e têm  
30 atividade de curta duração (LANSDOWN, 2006). A prata tem sido usada desde a  
31 antiguidade, com registros de sua extração e uso em moedas, joias e outros objetos,  
32 como evidenciado em 3000 a.C (BARILLO e MARX, 2014).

33 Na medicina, o uso de prata como nitrato de prata remonta a 69 a.C., sendo  
34 empregado para tratar oftalmia neonatal, conhecido como método de Credé

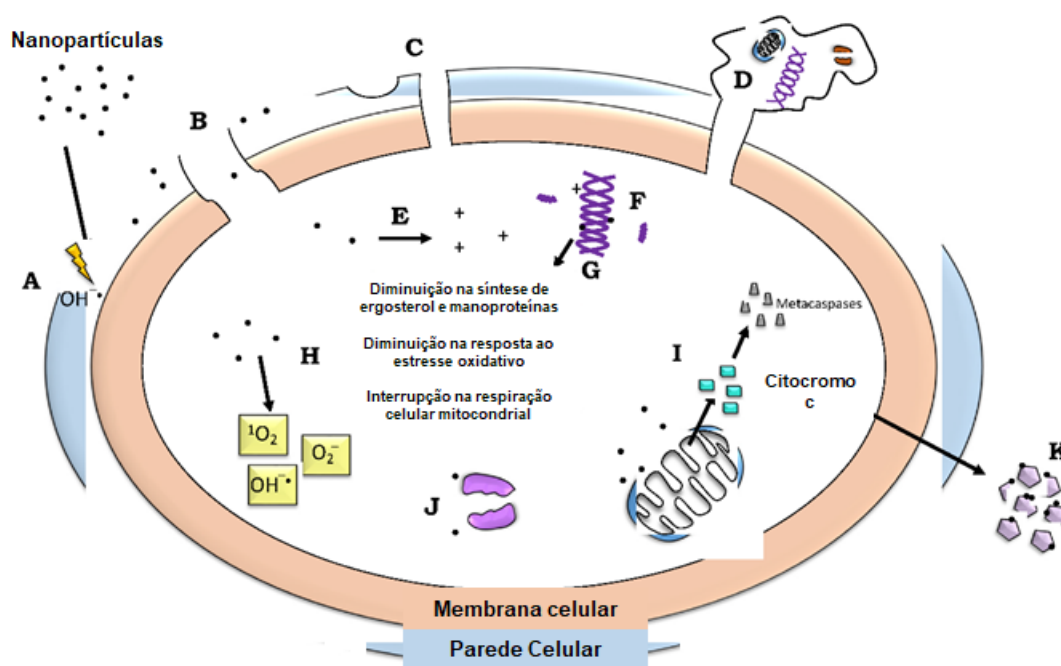
1 (SCHALLER e KLAUSS, 2001; MÉDICI et al., 2016). Após o advento dos antibióticos,  
 2 o uso da prata diminuiu, mas a forma de sulfadiazina de prata ainda é empregada em  
 3 curativos e pomadas. Seu uso como agente terapêutico foi renovado na década de  
 4 1990 (MÉDICI et al., 2016).

5 A redução do tamanho de metais para a escala nanométrica potencializa suas  
 6 propriedades e amplia suas aplicações terapêuticas, como exemplificado pela prata e  
 7 pelo selênio, que, quando manipulados na forma de nanopartículas, podem oferecer  
 8 novos mecanismos de ação antimicrobiana, com destaque para a sua utilização em  
 9 tratamentos médicos e ambientais.

10 A Figura 13 ilustra os mecanismos de ação antifúngica das nanopartículas de prata.

11 **Figura 13:** Mecanismos de ação antifúngica de nanopartículas de prata. (A)  
 12 peroxidação lipídica e indução da produção de ROS, (B) comprimento da parede  
 13 celular e membrana, (C) formação de poros, (D) extravasamento de material celular,  
 14 (E) liberação de íons, (F) condensação e fragmentação de DNA, (G) alterações na  
 15 expressão gênica, (H) geração de ROS, (I) indução da cascata de apoptose, (J)  
 16 despolarização ribossomal e (K) inibição na formação de biofilme.

17



18

19

20 **Fonte:** Slavine e Bach (2022 – Adaptado).

21

22

23

24 Embora as AgNPs possam causar danos à parede celular, partículas muito pequenas  
 25 podem entrar nas células sem causar danos superficiais evidentes. Contudo, os

1 efeitos nocivos mais significativos ocorrem intracelularmente, onde interagem com  
2 estruturas como mitocôndrias, ribossomos e o material genético (XIA et al., 2016).  
3 Quando há interação com o DNA, pode ocorrer agregação ou extravasamento do  
4 material genético, além de fragmentação devido a danos na membrana nuclear ou  
5 pela liberação de íons que afetam a membrana celular a distância (SLAVINE e BACH,  
6 2022).

7 Estudos sugerem que os íons metálicos, devido ao seu tamanho, podem ser mais  
8 tóxicos para as células do que as nanopartículas em si, pois penetram mais facilmente  
9 nas células e formam complexos com biomoléculas celulares, como proteínas, ácidos  
10 nucleicos e lipídios carregados negativamente (LUSHCHAK, 2011; MARTÍNEZ et al.,  
11 2021). Além disso, de modo geral, foi demonstrado que as AgNPs podem inibir a  
12 formação de biofilmes, principalmente ao impedir a filamentação por meio do  
13 rompimento da parede celular, sendo que as hifas desempenham um papel crucial no  
14 processo de adesão e colonização. Biofilmes pré-formados também podem ser  
15 inibidos pela deposição de nanopartículas na matriz polimérica extracelular, a qual  
16 mantém a integridade estrutural (LARA et al., 2015).

17 As nanopartículas de prata também podem induzir a formação de espécies reativas  
18 de oxigênio (ROS), que são compostos oxidantes formados como produtos  
19 metabólicos das células, como o peróxido de hidrogênio, ânion superóxido e radicais  
20 hidroxila. Essas ROS são letais e causam danos às proteínas e ao DNA, afetando o  
21 funcionamento normal das células (DAS e ROYCHOUDHURY, 2014). Elas são  
22 produzidas em excesso quando as células se encontram em condições ambientais  
23 adversas (LEE et al., 2014). O impacto das ROS nas células fúngicas é crítico,  
24 particularmente nas mitocôndrias (SLAVINE e BACH, 2022). As AgNPs aumentam os  
25 níveis de cálcio mitocondrial ( $Ca^{2+}$ ), o que leva à disfunção da mitocôndria. O excesso  
26 de  $Ca^{2+}$  mitocondrial contribui para a indução da apoptose ao promover a abertura de  
27 canais que alteram a permeabilidade mitocondrial. Esse distúrbio resulta na queda do  
28 potencial de membrana mitocondrial, conduzindo à morte celular (SEONG e LEE,  
29 2018).

30 Além disso, a exposição à nanopartículas também eleva os níveis citosólicos de  
31 citocromo C (SEONG e LEE, 2018). O citocromo C é responsável pela transferência  
32 de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial. Quando a permeabilidade mitocondrial  
33 é alterada, o citocromo C é liberado no citosol, iniciando a cascata de reações que  
34 culminam no processo de apoptose (TOTH et al., 2020). Nos fungos, que não

1 possuem caspases (enzimas-chave no processo de apoptose), as metacaspases,  
2 compostos semelhantes, têm seus níveis aumentados quando ocorre exposição a  
3 nanopartículas que afetam as mitocôndrias. Nesse contexto, o estresse oxidativo  
4 gerado pelas ROS é reduzido, o que contribui para a diminuição do processo  
5 apoptótico (HWANG et al., 2012).

6 A nanotecnologia tem se mostrado uma ferramenta poderosa para combater  
7 microrganismos patogênicos, e diversos estudos destacam sua importância. As  
8 nanopartículas estão presentes em uma variedade de produtos, como revestimentos  
9 de dispositivos médicos, embalagens, cosméticos e têxteis (KAMAT e KUMARI,  
10 2023). No entanto, estudos recentes apontam que a versatilidade das nanopartículas  
11 metálicas também está associada ao surgimento de resistência microbiana aos  
12 metais, embora esse fenômeno ainda seja observado de forma pontual (TERZIOGLU  
13 et al., 2022; KAMAT e KUMARI, 2023).

14 Os mecanismos de resistência microbiana às nanopartículas metálicas e seus efeitos  
15 nos ecossistemas ainda precisam ser mais bem compreendidos, o que é fundamental  
16 para o desenvolvimento de nanomateriais mais eficazes e seguros para futuras  
17 aplicações (TERZIOGLU et al., 2022).

18

#### 19 2.4 MÉTODOS DE SÍNTESE DE MNPs

20 A síntese de nanopartículas metálicas, como as AgNPs (nanopartículas de prata),  
21 pode ocorrer por processos químicos, físicos ou biológicos, baseando-se em duas  
22 abordagens principais para a manipulação dos metais: "top-down" e "bottom-up".  
23 Esses métodos serão representados na Figura 14.

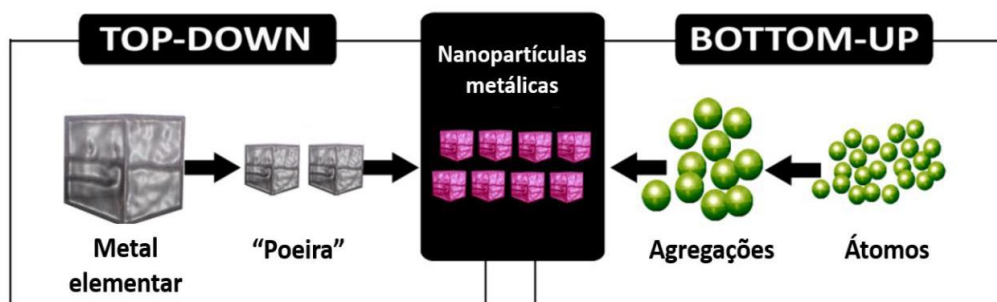
24 Na abordagem "**top-down**", o processo começa com a fragmentação sucessiva do  
25 material metálico a partir de um tamanho maior até atingir a escala nanométrica  
26 desejada. Isso pode ser feito por métodos como moagem, litografia ou outros  
27 processos que quebram o material em partículas menores, mantendo a estrutura do  
28 metal, mas diminuindo seu tamanho.

29 Já na abordagem "**bottom-up**", as nanopartículas são formadas a partir do  
30 agrupamento de átomos ou moléculas que se organizam espontaneamente para  
31 formar partículas de tamanho nanométrico. Esse processo pode ocorrer por reações  
32 químicas ou pela auto-organização de componentes, sendo mais eficiente para a  
33 obtenção de nanopartículas com características bem definidas, como tamanho, forma  
34 e distribuição.

1 Ambas as abordagens têm suas vantagens e limitações, e a escolha do método  
 2 depende da aplicação desejada, das propriedades das nanopartículas e dos recursos  
 3 disponíveis.

4

5 **Figura 14:** Abordagens utilizadas para a síntese de nanopartículas metálicas.



6

7 Fonte: <https://nanotechnologyjd.weebly.com> – adaptado.

8

9 A seleção do método de síntese das nanopartículas é uma etapa crucial, pois, durante  
 10 a produção, diversos fatores influenciam diretamente as características finais do  
 11 nanomaterial. A interação dos íons metálicos com o agente redutor, a adsorção dos  
 12 agentes estabilizadores na superfície das nanopartículas e as condições  
 13 experimentais adotadas são determinantes na definição da forma, tamanho,  
 14 estabilidade e propriedades físico-químicas das nanopartículas. Esses fatores podem  
 15 afetar o comportamento do material, como a sua capacidade de dispersão, a  
 16 reatividade, a durabilidade e a performance nas diferentes aplicações, como em áreas  
 17 biomédicas, ambientais e industriais (VIJAYAKUMAR et al, 2013).

18

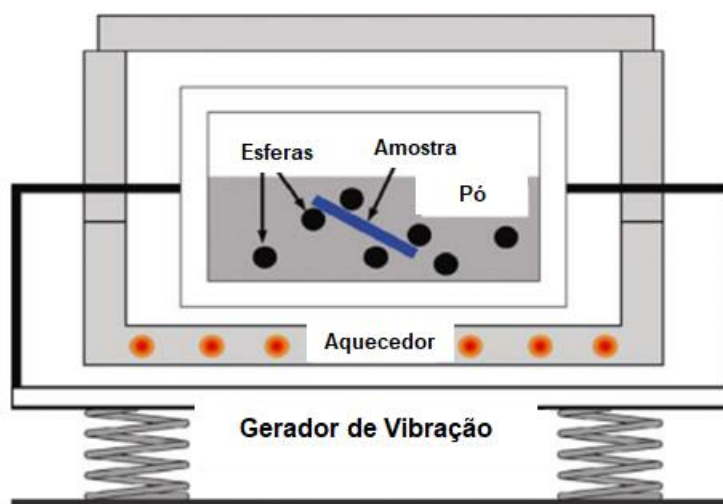
#### 19 2.4.1 Métodos Físicos

20 A maioria dos métodos físicos de síntese de nanopartículas adota a abordagem "top-  
 21 down", que envolve a fragmentação de partículas maiores para alcançar o tamanho  
 22 nanométrico desejado. Embora essa abordagem seja relativamente simples de  
 23 executar, ela não é recomendada para a produção de nanopartículas com formato  
 24 irregular ou de tamanho extremamente pequeno, uma vez que pode levar a alterações  
 25 nas propriedades químicas da superfície e nas características físico-químicas do  
 26 material (JAMKHANDE et al, 2019).

27 A moagem mecânica é um exemplo de técnica física utilizada para reduzir o tamanho  
 28 das partículas. Esse processo se baseia na aplicação de esferas de alta energia, que  
 29 impactam o material e promovem sua redução. O pó metálico é colocado em um

1 recipiente com várias esferas pesadas, e a alta rotatividade do sistema gera a energia  
2 necessária para a redução das partículas. Esse processo pode ser realizado em  
3 diferentes tipos de moinhos, como moinhos de alta energia, moinhos centrífugos,  
4 moinhos rotativos e moinhos vibratórios (ZHAN et al, 2006). Este método está  
5 representado na Figura 15.

6 **Figura 15:** Diagrama esquemático do moinho de esferas.



7

8 **Fonte:** Zhan et al (2006 – Adaptado).

9

10 O processo de moagem mecânica resulta na deposição de partículas finas a partir do  
11 pó metálico mais grosso, sendo útil para a produção em larga escala de  
12 nanopartículas. Entre as vantagens dessa técnica, destaca-se a alta solubilidade das  
13 nanopartículas geradas. No entanto, o processo de moagem tende a ser demorado,  
14 requerendo alta energia e, eventualmente, podendo causar contaminação do pó a  
15 granel pelas esferas usadas no processo (TAVAKOLI et al, 2007).

16 Outro método físico importante é a ablação a laser, que envolve a irradiação de um  
17 laser sobre um material sólido imerso em meio líquido. O laser promove a  
18 fragmentação do material, resultando na formação de nanopartículas que  
19 permanecem suspensas no líquido, originando uma solução coloidal. A eficiência do  
20 processo e as características das nanopartículas formadas dependem de vários  
21 parâmetros, como a duração e energia do pulso do laser, o comprimento de onda, o  
22 tempo de ablação, e as características do meio líquido (JAMKHANDE et al, 2019).

23 As vantagens da ablação a laser incluem sua simplicidade, alta eficácia na produção  
24 de nanopartículas em suspensão e a possibilidade de ajustar os parâmetros do  
25 processo para obter características específicas nas nanopartículas formadas. A

1 principal desvantagem desse método está no alto custo operacional associado à  
2 técnica (GOMES, 2019).

3

#### 4 2.4.2 Métodos Químicos

5 A síntese química é amplamente utilizada para a produção de nanopartículas  
6 metálicas devido ao seu baixo custo e alto rendimento. Esse método envolve a  
7 utilização de um agente redutor e um agente estabilizante, que será ilustrado na Figura  
8 16 (KHAN et al., 2018).

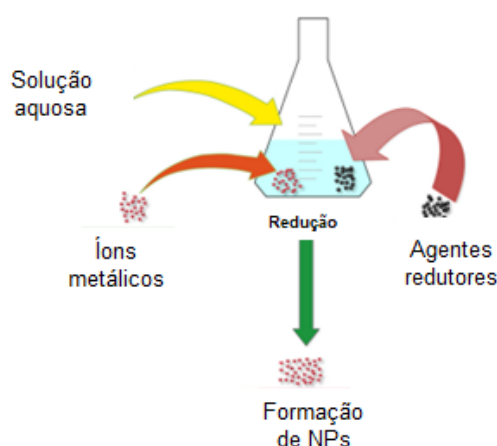
9 O processo de síntese química baseia-se em reações de redução de um sal metálico  
10 por meio de um agente redutor, que pode ser orgânico ou inorgânico, como citrato de  
11 sódio, ascorbato, boroidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) ou hidrogênio elementar, além da  
12 utilização de diferentes agentes estabilizantes (SHNOUDEH et al, 2021). A escolha  
13 dos íons metálicos e do agente redutor influencia diretamente na morfologia final das  
14 nanopartículas produzidas, impactando suas propriedades físico-químicas (RAZAK et  
15 al, 2021).

16

17 **Figura 16:** Síntese química de nanopartículas metálicas.

18 Esquema representando a síntese de nanopartículas (NPs) metálicas por meio de um  
19 processo de redução. Inicialmente, íons metálicos são adicionados a uma solução  
20 aquosa contendo agentes redutores, que podem ser de origem biológica ou química.  
21 Esses agentes reduzem os íons metálicos, promovendo sua conversão em átomos  
22 metálicos neutros. Como resultado, ocorre a nucleação e crescimento das  
23 nanopartículas, levando à formação de NPs metálicas

24



25

26 **Fonte:** Khan et al (2018 – Adaptado).

27

28 Tióis, aminas, ácidos e álcoois são exemplos de agentes estabilizantes comumente  
29 usados na síntese de nanopartículas. Estes agentes desempenham um papel

1 fundamental, pois se ligam à superfície das nanopartículas, evitando a aglomeração,  
2 sedimentação e a perda das suas propriedades (KHAN et al, 2017; RAZAK et al,  
3 2021).

4 Contudo, a síntese química apresenta desvantagens, especialmente devido ao uso  
5 de substâncias tóxicas que representam riscos biológicos, o que pode dificultar sua  
6 aplicação em áreas como a medicina. Muitas dessas substâncias podem ser  
7 absorvidas pelo organismo, gerando preocupações com a segurança (PARASHAR et  
8 al, 2009; PRABHU e POULOSE, 2012).

9 Em resposta a essas limitações, houve uma crescente busca por tecnologias mais  
10 sustentáveis e economicamente viáveis, o que levou ao desenvolvimento de métodos  
11 biológicos para a síntese de nanopartículas (KALISHWARALAL et al, 2008).

12

### 13 2.4.3 Métodos Biológicos

14 Como representa a figura 17, na síntese biológica de nanopartículas, compostos  
15 bioativos presentes em fungos, bactérias, plantas e algas desempenham um papel  
16 crucial como agentes redutores (PRABHU e POULOSE, 2012). Flavonoides,  
17 compostos fenólicos, terpenóides, enzimas, co-enzimas, proteínas e açúcares são  
18 alguns dos compostos responsáveis pela redução dos cátions metálicos ao estado de  
19 oxidação zero.

20 A reação de redução na biossíntese tende a ser mais lenta quando comparada à  
21 síntese química, mas as biomoléculas envolvidas também atuam como agentes  
22 estabilizadores, revestindo as partículas. Esse revestimento protege as  
23 nanopartículas, evitando sua agregação e preservando sua atividade biológica  
24 (RAZAK et al, 2021).

25

26

27

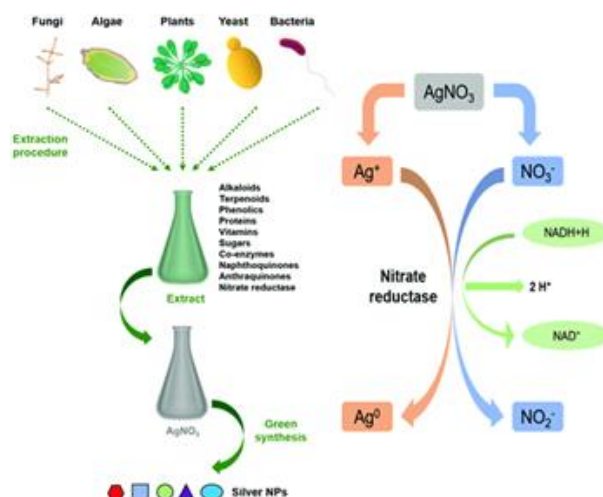
28

29

30

31

32 **Figura 17:** Representação esquemática da biossíntese de AgNP a partir de diversos  
33 organismos.



1  
2 **Fonte:** Roy et al (2019 – Adaptado).  
3

4 De modo geral, na síntese biológica de nanopartículas, o extrato biológico contendo  
5 biomoléculas é misturado com soluções de sais metálicos para promover a redução.  
6 Parâmetros como a concentração do extrato e do sal, temperatura, pH, tempo de  
7 incubação e radiação são estudados para otimizar as condições experimentais e  
8 influenciam diretamente a eficácia do processo (ROY et al, 2019).

9 A relação entre microrganismos e metais é caracterizada por uma variedade de  
10 habilidades que ajudam a contornar os efeitos dessa interação, como toxicidade,  
11 mobilidade e danos celulares. A produção de nanopartículas, por exemplo, pode ser  
12 um resultado do metabolismo microbiano, da reatividade com componentes  
13 estruturais da célula ou até mesmo de um mecanismo de resistência ao metal (LI et  
14 al, 2022).

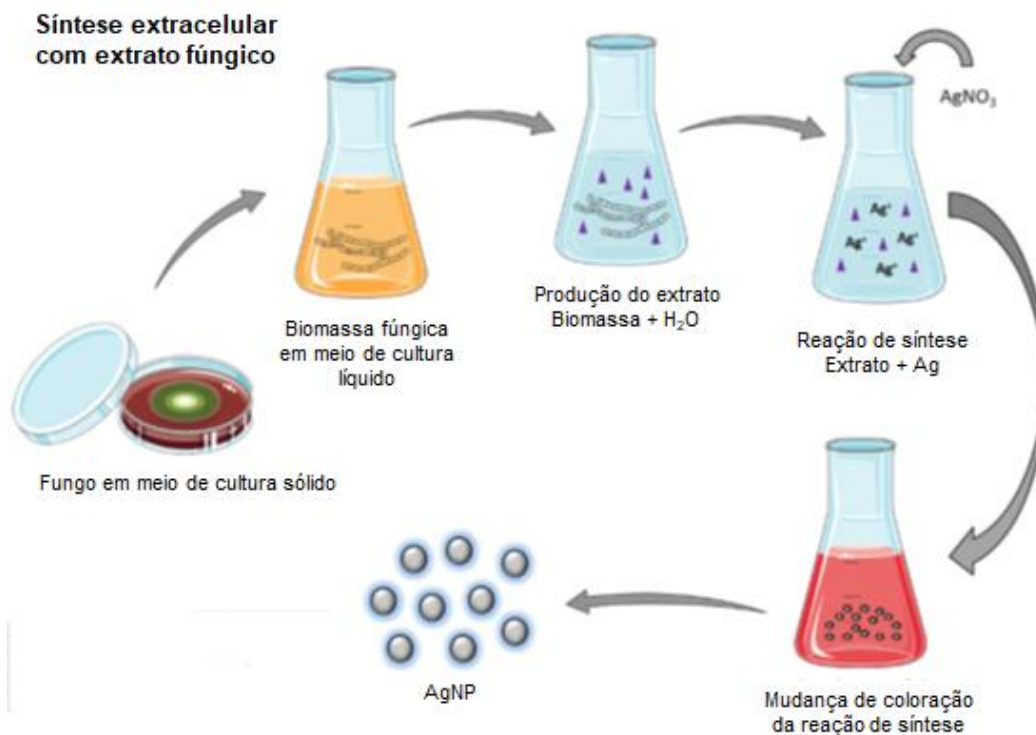
15 Comparados às bactérias, os fungos apresentam maior eficiência na biossíntese de  
16 nanopartículas devido à sua alta tolerância aos metais e à secreção de proteínas, o  
17 que resulta em maior quantidade de nanopartículas produzidas (PRABHU e  
18 POULOSE, 2012; CASAGRANDE e LIMA, 2019). Além disso, a síntese fúngica  
19 oferece vantagens sobre os sistemas bacterianos, como uma boa produção de  
20 biomassa e a facilidade de obtenção do filtrado. Quando comparada à síntese por  
21 plantas, o micélio dos fungos é mais resistente a agitação e pressão (CASAGRANDE  
22 e LIMA, 2019).

23 A síntese de nanopartículas metálicas por fungos pode ocorrer de dois modos:  
24 extracelular e intracelular. No método extracelular, precursores metálicos são  
25 adicionados ao filtrado de cultura fúngica, que contém enzimas e metabólitos capazes  
26 de reduzir os íons metálicos à forma metálica elementar (QAMAR e AHMAD, 2021).  
27 A Figura 18 ilustra esse processo, destacando a interação entre os íons metálicos,

1 agentes redutores e a formação das nanopartículas (NPs).

2 **Figura 18:** Método de síntese extracelular de nanopartículas a partir de extrato fúngico  
3 livre de células.

4



5

6 **Fonte:** Santos et al (2021 – Adaptado).

7

8 No método intracelular, os precursores metálicos são adicionados à cultura do micélio  
9 fúngico, uma vez que é necessário que o microrganismo entre em contato direto com  
10 os íons metálicos para que eles sejam absorvidos e metabolizados dentro das células.  
11 A produção intracelular de nanopartículas tende a resultar em partículas pequenas e  
12 estáveis. No entanto, este método exige etapas adicionais para a separação das  
13 nanopartículas das estruturas celulares remanescentes, o que pode ser uma  
14 desvantagem em relação ao método extracelular (SANTOS et al., 2021). A Figura 19  
15 representa esse mecanismo intracelular de síntese.

16

17

18

19

20

21

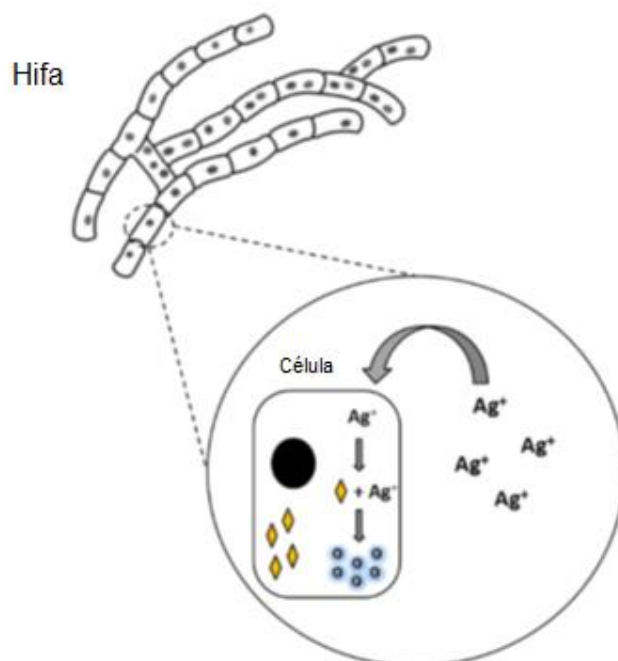
22

23 **Figura 19:** Método de síntese intracelular de nanopartículas.

24 Íons metálicos (Ag<sup>+</sup>) presentes no meio extracelular são absorvidos pelas hifas  
25 fúngicas e internalizados pelas células. No interior celular, enzimas e metabólitos

1 reduzem os íons  $\text{Ag}^+$  à forma metálica ( $\text{Ag}^0$ ), resultando na formação de  
 2 nanopartículas de prata (representadas pelos círculos azuis). Esse processo ocorre  
 3 no citoplasma, e as nanopartículas permanecem dentro das células, exigindo etapas  
 4 posteriores de separação para sua recuperação.

### Síntese intracelular



5  
 6 **Fonte:** Santos et al (2021 – Adaptado).  
 7

8 Diversas biomoléculas podem reagir com íons metálicos e atuar na síntese de  
 9 nanopartículas metálicas, sendo que NADPH, NADH e enzimas redutases são  
 10 consideradas as mais importantes nesse processo (CASAGRANDE e LIMA, 2019).  
 11 Durán et al. (2005) realizaram a biossíntese de nanopartículas de prata (AgNP) a partir  
 12 de cepas de *Fusarium oxysporum* e sugeriram o envolvimento de redutases  
 13 relacionadas ao transporte de elétrons durante o processo de síntese (Figura 20).

14

15

16

17

18

19

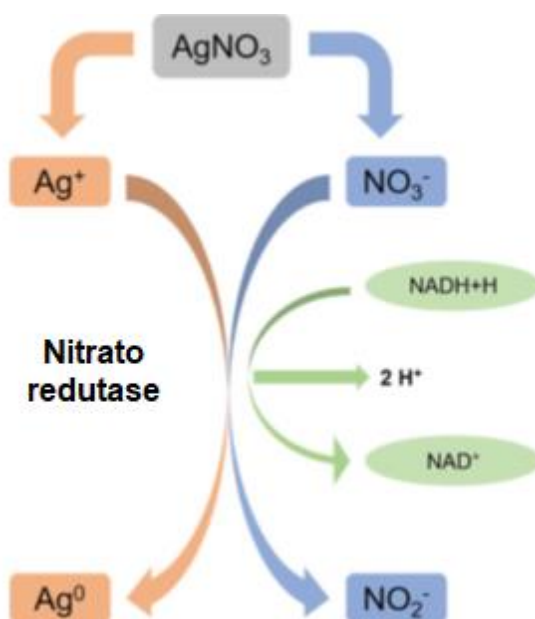
20

21

22

23

**Figura 20:** Síntese de AgNP envolvendo a enzima nitrato redutase.



1  
2 **Fonte:** Roy et al (2019 – Adaptado).  
3

4 A lista de espécies fúngicas que são capazes de sintetizar nanomateriais tem  
5 aumentado nos últimos anos, bem como a quantidade de elementos da tabela  
6 periódica que são transformados em nanopartículas, que incluem desde os metais  
7 como a prata, ouro, ferro, cobre, níquel, entre outros, até os não metais, como o  
8 selênio (Tabela 1) (LI et al., 2022).

9  
10 **Tabela 1:** Nanopartículas produzidas por diferentes espécies de fungos.  
11

Nanopartículas	Tamanho (nm)	Espécies	Referências
Ag	--	<i>A. pullulans</i> , <i>D. hansenii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>R. rubra</i>	Kierans et al. (1991)
Ag	2.0–13.8	<i>A. terreus</i>	Velhal et al. (2016)
Ag	50–200	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Vigneshwaran et al. (2007)
Ag	3.4–26.8	<i>F. oxysporum</i>	Ishida et al. (2014)
Ag	2–20	<i>S. cerevisiae</i>	Korbekandi et al. (2016)
Ag	5–25	<i>A. fumigatus</i>	Basavaraja et al. (2008)
Ag	5–200	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Balaji et al. (2009)
Ag	8.92	<i>A. flavus</i>	Sanghi and Verma (2009a)
Ag	20	<i>A. niger</i>	Gade et al. (2008)
Ag	10–60	<i>F. semitectum</i>	Ingle et al. (2008)
Ag	15	<i>Vovariella volvacea</i>	Shaligram et al. (2009)
Ag	16 ± 6	<i>P. cyclopium</i>	Wanarska and

Ag	20–60	<i>Alternaria alternata</i>	Maliszewska (2019)
Au	20 ± 2.0	<i>Rhizopus oryzae</i>	Bansal et al. (2005)
Au	43–63	<i>A. niger</i>	Das et al. (2012a)
Au	20	<i>A. niger</i>	
Au	8.7 ± 6	<i>A. niger</i>	
Au	6–37	<i>A. oryzae</i>	
Au	3.5 ± 3	<i>A. tamarii</i>	
Au	5	<i>F. oxysporum</i>	
Au	7.7 ± 4.3	<i>Penicillium ochrochloron</i>	
Au	75	<i>Penicillium sp.</i>	
Au	15–20	<i>S. cerevisiae</i>	Sen et al. (2011)
BaTiO <sub>3</sub>	20–30	<i>F. oxysporum</i>	Riddin et al. (2006)
Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	5–8	<i>F. oxysporum</i>	Uddin et al. (2008)
BiMnO <sub>3</sub>	50	<i>Humicola sp.</i>	Mazumder et al. (2007)
CdCO <sub>3</sub>	55–870	<i>Neurospora crassa</i>	Li et al. (2014)
CdS	5–20	<i>F. oxysporum</i>	Sanghi and Verma (2009b)
CdTe	15–20	<i>F. oxysporum</i>	Syed and Ahmad (2013)
CeO <sub>2</sub>	5–20	<i>A. niger</i>	Gopinath et al. (2015)
CeO <sub>2</sub>	12–20	<i>Humicola sp.</i>	Khan and Ahmad (2013)
CePO <sub>4</sub>	100–200, 500	<i>S. cerevisiae</i>	Jiang et al. (2010)
Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	54.85	<i>S. cerevisiae</i>	Li et al. (2018)
Cu <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (OH) <sub>2</sub> , Cu <sub>3</sub> (OH) <sub>2</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10–20	<i>Neurospora crassa</i>	Li and Gadd (2017a)
Cu, CuO	5–20	<i>Stereum hirsutum</i>	Cuevas et al. (2015)
CuS	2–5	<i>F. oxysporum</i>	Hosseini et al. (2012)
CuS	10–40	<i>F. oxysporum</i>	Schaffie and Hosseini (2014)
CuAlO <sub>2</sub>	5	<i>Humicola sp.</i>	Ahmad et al. (2007)
FeCO <sub>3</sub> , Fe	~80	<i>Neurospora crassa</i>	Li et al. (2020)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	20–50	<i>F. oxysporum</i>	Vainshtein et al. (2014)
FePO <sub>4</sub>	50–200	<i>S. cerevisiae</i>	He et al. (2009)
LaCO <sub>3</sub>	~80	<i>Neurospora crassa</i>	Li and Gadd (2017b)
LiFePO <sub>4</sub>	--	<i>S. cerevisiae</i>	Cao et al. (2018)
LiFePO <sub>4</sub>	--	<i>S. cerevisiae</i>	Zhang et al. (2012)
LiFePO <sub>4</sub>	--	<i>S. cerevisiae</i>	Zhang et al. (2013)
MgO	45.12–95.37	<i>Trichoderma viride</i>	Alrabadi et al. (2017)
MnCO <sub>3</sub> /Mn <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	20	<i>Neurospora crassa</i>	Li et al. (2016)
NiCO <sub>3</sub>	60	<i>Neurospora crassa</i>	Li et al. (2019)
Ni oxide	1.25–3.8	<i>Hypoxea lixii</i>	Salvadori et al. (2015)
PbSe	20–160	<i>A. terreus</i>	Jacob et al. (2014)
Pt	10–100	<i>F. oxysporum</i>	Riddin et al. (2006)
Pd	10–14	<i>P. chrysosporium</i>	Tarver et al. (2019)
Pd	10–20	<i>S. cerevisiae</i>	Saitoh et al. (2020)
Se	70–90	<i>Magnusiomyces ingens</i>	Lian et al. (2019)
Se, Te	48–78	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Mortierella humilis</i> , <i>Trichoderma</i>	Liang et al. (2019)

Se-Te	50-600	<i>harzianum</i> , <i>Phoma glomerata</i> <i>P. chrysosporium</i>	Espinosa-Ortiz et al. (2017) Bansal et al. (2005)
SiO <sub>2</sub> /TiO <sub>2</sub>	5-15	<i>F. oxysporum</i>	Jiang et al. (2018)
SmPO <sub>4</sub>	50-200	<i>S. cerevisiae</i>	Rautaray et al. (2004)
SrCO <sub>3</sub>	10-50	<i>Fusarium oxysporum</i>	Espinosa-Ortiz et al. (2017)
Te	20-465	<i>P. chrysosporium</i>	Jayaseelan et al. (2013)
Ti/TiO <sub>2</sub>	2-16	<i>Trichoderma harzianum</i>	Peiris et al. (2018)
TiO <sub>2</sub>	6.7 ± 2.2	<i>S. cerevisiae</i>	Cui et al. (2009)
TiO <sub>2</sub>	4.7, 11.3	<i>S. cerevisiae</i>	He et al. (2011a)
TiO <sub>2</sub>	10	<i>S. cerevisiae</i>	Zhao et al. (2016)
U(VI)	50-100	<i>Geotrichum sp.</i>	Chauhan et al. (2015)
ZnO	--	<i>Pichia fermentans</i>	Mirzadeh et al. (2013)
ZnS	42	<i>F. oxysporum</i>	Bansal et al. (2004)
ZrO <sub>2</sub>	7-8	<i>F. oxysporum</i>	

1

2 **Fonte:** Li et al, 2022 (adaptado).

3

4 Os zigomicetos são fungos ecologicamente diversos e cosmopolitas, sendo altamente  
5 bem-sucedidos em diversos ambientes (MOORE et al., 2020). São conhecidos por  
6 seu crescimento rápido, o que confere uma vantagem seletiva sobre outros fungos,  
7 além de uma alta produção de esporos. Além disso, são oligotróficos, ou seja,  
8 conseguem se desenvolver em condições de baixa diversidade de nutrientes (PITT e  
9 HOCKING, 2009; REIS, 2019).

10 Em termos fisiológicos, esse grupo apresenta uma alta produção enzimática, o que os  
11 torna altamente competitivos, tanto entre os fungos quanto com outros organismos do  
12 solo em que habitam (RICHARDSON, 2009).

13 O gênero *Lichtheimia*, anteriormente denominado *Absidia* e *Mycocladius*, pertence à  
14 família Lichtheimiaceae, da ordem Mucorales (Mucoromycotina) (SCHWARTZE e  
15 JACOBSEN, 2014). Esses fungos são saprófitos e onipresentes no ambiente  
16 (HOFFMANN et al., 2013). Atualmente, o gênero contém seis espécies aceitas: *L.*  
17 *ornata*, *L. ramosa*, *L. sphaerocystis*, *L. blakesleeana*, *L. brasiliensis* e *L. corymbifera*,  
18 todas consideradas oportunistas emergentes e reconhecidas como clinicamente e  
19 biotecnologicamente importantes (PAN et al., 2020).

20 Em relação à morfologia, *L. ornata* apresenta colônias de aspecto aveludado e  
21 coloração acinzentada, com pigmentação bege no reverso da placa.  
22 Microscopicamente, as hifas são espessas, hialinas, com ausência ou pouca

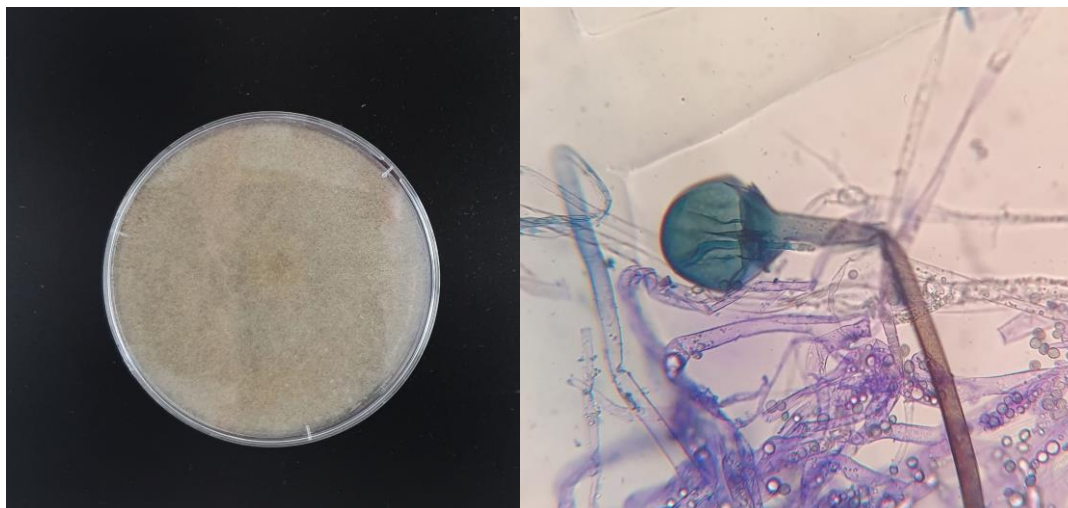
1 formação de septos, podendo conter ramificações em ângulo de 90°, além da  
2 formação de esporângios (Figura 21) (MORANDI, 2021).

3 *L. ornata*, assim como outras espécies do gênero, apresenta crescimento em meios  
4 de cultura artificiais (SCHWARTZE e JACOBSEN, 2014). São fungos mesófilos, mas  
5 podem ser termotolerantes, com crescimento ótimo entre 30 °C e 37 °C (IZQUIERDO  
6 et al., 2010; SANTIAGO et al., 2013).

7

8 **Figura 21:** Características macroscópicas e microscópicas da cepa de *L.ornata*. A)  
9 anverso da placa demonstrando a presença de grande quantidade de hifas aéreas de  
10 coloração acinzentada. B) esporângio característico de zigomicetos e hifas espessas  
11 com ausência de septos.

12



13

14

15

16

**Fonte:** Diego Morandi, 2023

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

Os fungos despertam grande interesse na indústria devido à sua plasticidade metabólica, que lhes permite utilizar uma variedade de substratos e, conseqüentemente, produzir e secretar uma ampla gama de compostos com diversas aplicações biotecnológicas. No entanto, fungos como os zigomicetos foram negligenciados por um longo período em relação ao seu potencial biotecnológico. Devido às suas características de crescimento rápido e capacidade de acumulação e secreção de diferentes compostos, esses fungos têm sido cada vez mais reconhecidos como potenciais "fábricas" para a produção de produtos aplicáveis em áreas como medicina humana e veterinária, agricultura e outros setores industriais (DZURENOVA et al., 2022).

## 1 2.5 DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES

2 O mercado pet apresenta particularidades que impõem desafios específicos ao  
3 desenvolvimento de formulações cosméticas. Diferentemente do mercado humano,  
4 onde a variedade de produtos é vasta, as opções para animais são mais restritas.  
5 Essa limitação exige que as formulações sejam cuidadosamente elaboradas para  
6 atender às necessidades específicas dos animais, proporcionando limpeza, cuidado  
7 e embelezamento de forma suave e prática.

8 A pele e o pelo de cães e gatos apresentam características distintas que as  
9 diferenciam da pele humana e que exigem atenção especial no desenvolvimento de  
10 formulações dermatológicas veterinárias. A epiderme, embora varie em espessura de  
11 acordo com a região do corpo, é geralmente mais fina em cães e, principalmente, em  
12 gatos, chegando a ser três vezes mais delgada que a dos humanos (CAMPBELL,  
13 2006). Essa característica confere maior permeabilidade à pele dos animais, tornando-  
14 os mais susceptíveis à absorção de substâncias e, conseqüentemente, mais  
15 vulneráveis a reações adversas.

16 A renovação celular da pele de cães e gatos também se distingue pela lentidão  
17 (CAMPBELL, 2006). Esse processo, mais demorado do que em humanos, implica que  
18 os efeitos de produtos aplicados topicamente, tanto os benéficos quanto os  
19 prejudiciais, podem ser mais prolongados. Desse modo, a seleção e, sobretudo, a  
20 concentração de ingredientes ativos e excipientes em formulações dermatológicas  
21 veterinárias requerem cautela redobrada, considerando a maior permeabilidade  
22 cutânea e a possibilidade de efeitos prolongados (CAMPBELL, 2006).

23 Outro fator relevante é a menor quantidade de ceramidas presente na pele de cães e  
24 gatos (HENDRIKS et al., 1997). As ceramidas desempenham um papel crucial na  
25 manutenção da integridade da barreira cutânea, promovendo a coesão entre os  
26 queratinócitos. A deficiência dessas moléculas torna a pele dos animais mais  
27 propensa à descamação, um problema comum em dermatologia veterinária  
28 (HENDRIKS et al., 1997).

29 As glândulas sebáceas, responsáveis pela produção de sebo, estão distribuídas por  
30 toda a pele de cães e gatos, com maior concentração nas junções mucocutâneas,  
31 espaços interdigitais, face dorsal do pescoço, região mentoniana, região lombossacra  
32 e face dorsal da cauda (SOUZA et al., 2009). Nos gatos, essas glândulas são  
33 particularmente abundantes na face (SOUZA et al., 2009). O sebo, além de conferir

1 oleosidade à pele e ao pelo, desempenha um papel importante na proteção da barreira  
2 cutânea e na lubrificação dos pelos.

3 Em áreas desprovidas de pelo, como as junções mucocutâneas (margem labial e  
4 ânus), pálpebras e canal auditivo externo, os ductos sebáceos se abrem diretamente  
5 na superfície da pele. Por outro lado, os coxins de cães e gatos, assim como o plano  
6 nasal, não possuem glândulas sebáceas. Essa distribuição específica das glândulas  
7 sebáceas influencia a oleosidade regional da pele e do pelo, o que deve ser  
8 considerado na escolha de produtos de higiene e tratamento (SOUZA et al., 2009).

9 O pH da pele de cães e gatos é um tema que gera controvérsia na literatura, com  
10 valores discrepantes devido a diferentes métodos de mensuração e variações  
11 fenotípicas entre raças. Campbell reporta um pH de aproximadamente 6,7 para gatos  
12 e 7,5 para cães, enquanto outras referências indicam valores entre 4,84 e 9,95  
13 (MATOUSEK e CAMPBELL, 2002). A determinação precisa do pH cutâneo em  
14 diferentes raças e condições clínicas é fundamental para o desenvolvimento de  
15 formulações dermatológicas adequadas, que respeitem as características fisiológicas  
16 da pele dos animais (MATOUSEK e CAMPBELL, 2002)

17 Em suma, a pele e o pelo de cães e gatos exibem particularidades que exigem atenção  
18 especial na formulação e avaliação de produtos dermatológicos veterinários. A maior  
19 permeabilidade cutânea, a renovação celular mais lenta, a menor quantidade de  
20 ceramidas, a distribuição específica das glândulas sebáceas e a controvérsia em  
21 relação ao pH são fatores que influenciam a segurança e a eficácia de produtos  
22 tópicos (MATOUSEK e CAMPBELL, 2002). A compreensão dessas especificidades é  
23 essencial para garantir a saúde e o bem-estar da pele e do pelo dos animais.

24

### 1 3 OBJETIVOS

#### 2 3.1 OBJETIVO GERAL

3 Produzir, caracterizar e avaliar a atividade antifúngica de nanopartículas de prata  
4 biogênicas e do fármaco sinvastatina contra fungos causadores de infecções  
5 subcutâneas, superficiais e cutâneas, e desenvolver uma formulação dermatológica  
6 de uso tópico para pet.

7

#### 8 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 9 • Produzir nanopartículas de prata (AgNP) utilizando o sobrenadante de cultura  
10 do fungo filamentoso *Lichtheimia ornata*.
- 11 • Caracterizar as nanopartículas de prata biogênicas.
- 12 • Avaliar a atividade antifúngica de Nanopartícula de prata e Sinvastatina, contra  
13 fungos filamentosos (*Trichophyton mentagrophytes*, *Nannizzia gypsea* e  
14 *Microsporum canis*) e fungos leveduriformes (*Sporothrix brasiliensis* e  
15 *Malassezia pachydermatis*), e determinar o efeito antifúngico após combinação  
16 entre as nanopartículas e SIM (AgNP-SIM).
- 17 • Desenvolver uma formulação dermatológica de uso tópico para pet.
- 18 • Avaliar atividade antifúngica da formulação.

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

## 1 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2 4.1 BIODISSÍNTESE DE AGNP

3 A linhagem de *Lichtheimia ornata* foi obtida da micoteca do Laboratório de Micologia  
4 (LaMic) da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e cultivada em Ágar Malte (MEA)  
5 (Acumedia, Michigan, EUA), enriquecido com 0,5% (p/v) de extrato de levedura  
6 (Himedia, Mumbai, Índia). As culturas foram incubadas a 28 °C por 72 h. Após o  
7 período de crescimento, o micélio foi separado do meio de cultura e suspenso na  
8 proporção de 1 g de micélio para 10 mL de água destilada autoclavada em frascos  
9 Erlenmeyer, que foram incubados por 72 h a 28 °C com agitação constante a 150  
10 rotações por minuto (rpm). Após a incubação, o sobrenadante foi separado da  
11 biomassa micelial por centrifugação. Para a síntese das nanopartículas de prata  
12 (AgNP), o sobrenadante foi tratado com nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) a uma concentração  
13 final de 10 mM (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA). A solução foi incubada por 4  
14 dias a 28 °C. As nanopartículas formadas foram lavadas e centrifugadas a 15.000 rpm,  
15 sendo ressuspensas em água ultrapura. Esse processo de lavagem e centrifugação  
16 foi repetido três vezes. As nanopartículas de prata derivadas da catuaba (*Trichilia*  
17 *catigua*) foram fornecidas pela GRAL Bioativos LTDA. Essas nanopartículas foram  
18 obtidas por meio de um processo biológico que utiliza extratos aquosos da planta para  
19 a redução do nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>), promovendo a síntese de nanopartículas com  
20 características estáveis, tamanho controlado e propriedades bioativas, adequadas  
21 para aplicações em biotecnologia.

### 22 4.2 SINVASTATINA

23 A sinvastatina (FAGRON®, Rotterdam, SH, Países Baixos) foi adquirida  
24 comercialmente na forma de pró-fármaco, que necessita de ativação prévia para uso.  
25 Para isso, foram adicionados 5 mL de solução de NaOH 0,25 M a 50 mg do pró-  
26 fármaco, e a mistura foi incubada a 37 °C por 1 hora. Após a incubação, o pH da  
27 solução foi ajustado para 7,4 utilizando solução de HCl 0,25 M, e o volume total foi  
28 completado com água destilada até 10 mL. Alíquotas da solução ativada, com  
29 concentração final de 5000 µg/mL, foram distribuídas em microtubos e armazenadas  
30 sob refrigeração a -20 °C até o momento do uso.

31

### 32 4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AGNP BIOGÊNICAS

#### 33 4.3.1 Espectrofotometria UV-Vis

1 Foram coletadas alíquotas da solução contendo as nanopartículas metálicas para  
2 análise espectrofotométrica, utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (BioTek Synergy  
3 HT). Este procedimento teve como objetivo monitorar a síntese e a evolução das  
4 nanopartículas pela mensuração da absorbância em diferentes etapas do processo.  
5 Para a caracterização inicial, foram retirados 100  $\mu\text{L}$  da solução contendo as  
6 nanopartículas de prata (AgNP), e os espectros de absorbância foram registrados em  
7 um intervalo de comprimento de onda entre 200 e 900 nm, permitindo a identificação  
8 das bandas características associadas à formação e estabilidade das nanopartículas.

9

#### 10 4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

11

12 As análises por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)  
13 foram realizadas em soluções coloidais de nanopartículas de prata (AgNP) para  
14 identificar as bandas características das ligações químicas presentes na superfície  
15 das partículas. Para isso, foram retirados 100  $\mu\text{L}$  da solução utilizando uma pipeta  
16 volumétrica tipo Pasteur e depositados sobre pastilhas de brometo de potássio (KBr).  
17 A análise foi conduzida no equipamento Bruker Vertex 70, equipado com acessório  
18 de reflectância total atenuada (ATR) contendo cristal de germânio (Ge) a  $45^\circ$ , com  
19 resolução espectral de  $2\text{ cm}^{-1}$ , na faixa de 400 a  $4000\text{ cm}^{-1}$ . As medições foram  
20 realizadas no Laboratório de Química Prebiótica da Universidade Estadual de  
21 Londrina (UEL).

22

#### 23 4.3.3 Espalhamento dinâmico de luz (DLS)

24 O tamanho das nanopartículas foi determinado por espalhamento dinâmico de luz  
25 (DLS) utilizando o equipamento ZetaSizer Nano-ZS (Malvern Instruments,  
26 Southborough, Reino Unido). Essa técnica baseia-se na espectroscopia de correlação  
27 de fótons (PCS) para medir a distribuição do tamanho das partículas em suspensão.  
28 O movimento browniano das nanopartículas provoca variações temporais na  
29 intensidade da luz espalhada; partículas maiores apresentam movimentos mais  
30 lentos, enquanto partículas menores apresentam movimentos mais rápidos. Essas  
31 diferenças são correlacionadas para calcular a distribuição do tamanho das partículas  
32 na amostra.

33

#### 34 4.3.4 Potencial Zeta

1 O potencial Zeta ( $\zeta$ ) foi utilizado para avaliar a estabilidade coloidal da solução  
2 contendo as nanopartículas. As medidas foram realizadas utilizando o equipamento  
3 Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Southborough, Reino Unido). A  
4 determinação do potencial Zeta baseia-se no espalhamento dinâmico de luz (DLS),  
5 combinando a direção e a velocidade do movimento das partículas sob a influência de  
6 um campo elétrico aplicado, permitindo a mensuração do potencial elétrico na  
7 interface sólido-líquido.

8 As amostras foram diluídas até uma concentração de 1  $\mu\text{g/mL}$  em água destilada e  
9 acondicionadas em células capilares equipadas com eletrodos de ouro para as  
10 medições.

11

#### 12 4.3.5 Fluorescência de raios X por dispersão em energia (EDXRF)

13 A espectrometria de raios X por dispersão em energia (EDX) foi utilizada para  
14 quantificar as concentrações de nanopartículas biogênicas presentes nas amostras.  
15 Essa técnica não destrutiva baseia-se na emissão de raios X característicos por  
16 átomos previamente excitados, permitindo análises qualitativas e quantitativas das  
17 amostras.

18 As medidas foram realizadas no espectrômetro EDX-720 (SHIMADZU), pertencente  
19 ao Laboratório de Análises por Técnicas de Raios X (LARX) da Universidade Estadual  
20 de Londrina (UEL). O tubo de raios X foi submetido a uma tensão de 50 kV e corrente  
21 de 30  $\mu\text{A}$  durante as análises.

22 Para calibração e dosagem da concentração de nanopartículas de prata (AgNP),  
23 foram preparadas amostras padrão de 5 mL contendo diferentes concentrações de  
24 nitrato de prata  $\text{AgNO}_3$  (1 mM, 2,5 mM, 5,0 mM, 7,5 mM, 10 mM, 15 mM e 20 mM).  
25 Todas as amostras foram depositadas em células descartáveis com dupla abertura,  
26 contendo uma película de poliéster (MYLAR®) com espessura de 2,5  $\mu\text{m}$  (Chemplex®  
27 Industries INC, Palm City, FL, EUA), e analisadas durante 5 minutos cada.

28 A intensidade do sinal de prata nas amostras foi avaliada e correlacionada com as  
29 intensidades obtidas a partir dos padrões, permitindo a determinação das  
30 concentrações por meio da equação da reta de calibração.

31

#### 32 4.4 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE AGNP, E SIM

33 Para os ensaios microbiológicos, foram utilizadas cepas de fungos filamentosos  
34 dermatófitos: *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 18748), *Microsporum canis*

1 (isolado clínico) e *Nannizzia gypsea* (ATCC 28249); e fungos leveduriformes:  
2 *Malassezia pachydermatis* e *Sporothrix brasiliensis* (ambos isolados clínicos). As  
3 cepas foram estocadas em glicerol 50% a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento do cultivo.  
4 Os fungos filamentosos (*T. mentagrophytes*, *M. canis* e *N. gypsea*) foram cultivados  
5 em tubos inclinados contendo Ágar Sabouraud (SDA) (Sigma Aldrich®, St. Louis, MO,  
6 EUA) e incubados a  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  por um período de 10 a 14 dias. As leveduras (*M.*  
7 *pachydermatis* e *S. brasiliensis*) foram cultivadas em placas de Petri (90 × 15 mm)  
8 contendo meio YPD (Yeast extract Peptone Dextrose) e incubadas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 48  
9 horas para *M. pachydermatis* e por 96 horas para *S. brasiliensis*.  
10 Todos os experimentos foram realizados em triplicata para cada cepa fúngica testada,  
11 garantindo a reprodutibilidade dos resultados.

12

#### 13 4.4.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

14 A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada em triplicata por meio do teste  
15 de microdiluição em caldo, em microplaca de 96 poços, conforme o documento M38-  
16 A2 do CLSI (2008), com adaptações para fungos filamentosos, e o documento M27-  
17 A2 do CLSI (2008) para leveduras. Foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de meio RPMI 1640  
18 (com glutamina e vermelho de fenol, sem bicarbonato – Gibco™, ThermoFisher  
19 Scientific), acrescido de tampão MOPS (INLAB, São Paulo, BR), pH 7,2 a 7,4. Em  
20 seguida, adicionaram-se 100  $\mu\text{L}$  de nanopartículas de prata (AgNP) ou sinvastatina  
21 (SIM) em diferentes concentrações. Os poços 11 e 12 foram reservados para os  
22 controles positivo (ausência de AgNP ou SIM) e negativo (ausência de  
23 microrganismos, AgNP ou SIM), respectivamente.

24 A suspensão fúngica foi preparada em solução PBS (Phosphate Buffered Saline –  
25 NaCl 8 g/L, KCl 0,2 g/L,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2,68 g/L e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,24 g/L), previamente  
26 esterilizada. A raspagem do micélio foi realizada com auxílio de alça bacteriológica,  
27 promovendo a extração de conídios ou células. Após a contagem em câmara de  
28 Neubauer, o inóculo foi ajustado para  $10^4$  UFC mL para fungos filamentosos e  $10^3$   
29 UFC mL para leveduras, sendo então diluído em meio RPMI 1640. Alíquotas de 100  
30  $\mu\text{L}$  da suspensão fúngica foram adicionadas a cada poço.

31 As placas foram incubadas por 72 horas a  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  para fungos filamentosos e por 48  
32 horas a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  para leveduras. Após o período de incubação, a leitura foi realizada  
33 visualmente, a fim de observar a inibição do crescimento fúngico.

#### 1 4.4.2 Avaliação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos Antimicrobianos 2 individualmente

3 A avaliação da concentração fungicida mínima (CFM) foi realizada segundo protocolo  
4 descrito por Espinel-Ingroff et al. (2002), com modificações. Após a leitura visual da  
5 concentração inibitória mínima (CIM), foram retiradas alíquotas de 10 µL de cada poço  
6 que não apresentou crescimento visível e semeadas em placas de ágar YPD.

7 As cepas leveduriformes foram incubadas por 48 horas a 37 °C, e os fungos  
8 filamentosos por 72 horas a 25 °C. Ao final do período de incubação, a CFM foi  
9 determinada como a menor concentração da substância testada em que não houve  
10 crescimento de colônias viáveis.

11

#### 12 4.4.3 Avaliação da interação dos agentes antifúngicos (Checkerboard)

13 O teste de interação entre AgNP – SIM, foi elaborado similarmente ao teste de  
14 microdiluição em caldo. Foi utilizado meio RPMI 1640 (com glutamina e vermelho  
15 fenol, sem bicarbonato - Gibco™, ThermoFisher Scientific) acrescido de tampão MOPS  
16 (INLAB, São Paulo, BR), pH 7,2 – 7,4, com ajuste de inóculo para 10<sup>4</sup> UFC/ml, para  
17 fungos filamentosos e 10<sup>3</sup> UFC/ml para leveduras.

18 O experimento foi realizado seguindo a metodologia de Bocate e colaboradores  
19 (2019), com adaptações.

20 Em uma placa de 96 poços, foi adicionado 100 µL de meio RPMI 1640 em cada poço.  
21 Um dos compostos foi diluído seriadamente, da primeira à última coluna na direção  
22 horizontal, e o outro composto da primeira à última linha na direção vertical,  
23 reservando os dois últimos poços da última linha para os controles positivo e negativo  
24 respectivamente. As placas foram incubadas por 72h a 28°C para fungos filamentosos  
25 e 48h a 37°C para leveduras, seguido de análise visual.

26 Para estimar a interação entre os compostos, o índice de concentração inibitória  
27 fracionada foi determinado (ICIF), de acordo com a equação:

28

$$29 \quad ICIF = \frac{CIMa \text{ em combinação}}{CIMa \text{ isolada}} + \frac{CIMb \text{ em combinação}}{CIMb \text{ isolada}}$$

30

31 Onde  $ICIF \leq 0,5$  indica sinergismo entre os compostos,  $0,5 < ICIF \leq 1$  indica aditismo,  
32  $1 < ICIF \leq 4$  indica indiferença e  $ICIF > 4$  indica antagonismo (SILVA, 2019).

33

#### 1 4.4.5 Biofilme de *S. brasiliensis* e *M. pachydermatis*

2 A formação de biofilme foi realizada conforme o protocolo descrito por Brilhante et al.  
3 (2017). Inicialmente, culturas fúngicas foram cultivadas em ágar batata dextrose a  
4 35°C por 5 dias. Em seguida, o inóculo foi ajustado para 1 McFarland ( $2 \times 10^5$   
5 conídios/mL), e 200 µL da suspensão foram adicionados a cada poço de uma placa  
6 de 96 poços. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas para permitir a adesão  
7 celular. Após esse período, o sobrenadante foi removido e substituído por 200 µL de  
8 meio RPMI, e a incubação prosseguiu a 35°C por 120 horas. Decorrido esse tempo,  
9 o sobrenadante foi cuidadosamente retirado e os poços foram lavados duas vezes  
10 com PBS estéril para remoção das células planctônicas. Em seguida, foram  
11 adicionados 100 µL dos compostos testados, previamente diluídos em meio RPMI na  
12 concentração duas vezes superior ao valor da MIC previamente determinada para  
13 cada cepa.

14 A quantificação do biofilme foi realizada utilizando o corante Cristal Violeta. Para isso,  
15 os poços foram lavados três vezes com solução salina esterilizada a 0,9% e,  
16 posteriormente, secos em estufa a 37°C por 20 minutos. A fixação foi feita com 100  
17 µL de metanol absoluto por 15 minutos, seguida da remoção do metanol e nova  
18 secagem na estufa por mais 20 minutos. Em seguida, foram adicionados 100 µL de  
19 cristal violeta a 0,3%, e a placa foi incubada a 35°C por 20 minutos. Após a incubação,  
20 o excesso de corante foi removido e os poços foram lavados duas vezes com 200 µL  
21 de água destilada esterilizada, sendo novamente secos em estufa a 37°C por 20  
22 minutos. A eluição do corante foi realizada com a adição de 150 µL de ácido acético  
23 a 33%, mantendo a placa à temperatura ambiente por 30 segundos. O conteúdo dos  
24 poços foi então transferido para uma nova placa limpa, e a absorbância foi lida  
25 imediatamente a 570 nm.

26 A categorização do biofilme foi realizada com base nos valores de densidade óptica  
27 (DO). Amostras com DO igual ou inferior à DO do controle foram classificadas como  
28 sem formação de biofilme. Quando a DO foi superior ao controle, mas até duas vezes  
29 seu valor, o biofilme foi considerado fraco. Valores entre duas e quatro vezes a DO do  
30 controle indicaram biofilme moderado, enquanto valores superiores a quatro vezes a  
31 DO do controle foram classificados como biofilme forte. O teste foi realizado com duas  
32 espécies de fungos leveduriformes: *Sporothrix brasiliensis* e *Malassezia*  
33 *pachydermatis*.

#### 34 4.4.6 Desenvolvimento das formulações

1 Foram desenvolvidas seis formulações aquosas de uso tópico, das quais cinco  
2 continham os compostos ativos (AgNPs e/ou SIM), e uma correspondia à formulação  
3 base, utilizada como controle. A escolha das concentrações dos ativos foi baseada  
4 nos valores da concentração inibitória mínima (CIM) previamente determinada frente  
5 às cepas fúngicas *Sporothrix brasiliensis* e *Malassezia pachydermatis*, além de  
6 revisão da literatura especializada.

7 A formulação base foi composta por água destilada (veículo), glicerina (umectante),  
8 pantenol (agente hidratante e cicatrizante) e Olivem® 300 (emulsionante e umectante  
9 de origem natural, derivado do óleo de oliva), com o objetivo de garantir estabilidade  
10 físico-química, boa espalhabilidade e compatibilidade com a pele dos animais.

11 Todas as formulações foram preparadas em condições assépticas, homogeneizadas  
12 por agitação magnética, e armazenadas sob refrigeração até o momento do uso  
13 experimental.

14

15

#### 16 4.4.7 Caracterização farmacotécnica das formulações

17 As formulações foram avaliadas quanto às características organolépticas (aspecto,  
18 cor e odor) e ensaios físico-químicos (centrifugação, pH e densidade). (Brasil, 2008).

19

#### 20 4.4.8 Análise de pré-estabilidade (centrifugação)

21 As amostras foram submetidas ao teste da centrifugação, em triplicata, onde 5 ml de  
22 cada formulação foi acondicionada em tubo de ensaio cônico, graduado e  
23 centrifugadas (Centrífuga Baby I Fanem 206-BL, São Paulo, Brasil) a 3200 rpm por  
24 30 min à temperatura ambiente, para detectar visíveis modificações ou instabilidades  
25 como separação de fases, formação de sedimento compacto e coalescência. Em  
26 seguida, realizou-se a avaliação visual das formulações (Brasil, 2004).

27

#### 28 4.4.9 Avaliação da estabilidade preliminar das formulações

29 Os ensaios de Estabilidade Preliminar das formulações desenvolvidas foram  
30 realizados de acordo com o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Brasil,  
31 2004). O período de duração do teste foi de 15 dias (7 ciclos), sendo as análises  
32 realizadas no tempo zero (24 h) e após 15 dias no ciclo gelo-degelo. As condições de  
33 armazenamento das amostras foram 24 h em estufa ( $40 \pm 2$  °C) e 24 h em geladeira  
34 ( $5 \pm 2$  °C). Os parâmetros organolépticos e físico-químicos foram avaliados no tempo

1 zero e após 15 dias de cada amostra. O ensaio foi realizado em triplicata.

2

#### 3 4.4.10 Análise organoléptica

4 As formulações foram avaliadas macroscopicamente após 24 horas em repouso, a fim  
5 de verificar a estabilidade física inicial. Foram observadas, visualmente, possíveis  
6 alterações como separação de fases, precipitação ou turvação, em comparação à  
7 formulação base (Fbase).

8 Em seguida, foi realizada a análise de cor das formulações por colorimetria visual, sob  
9 luz branca, em triplicata. A coloração das amostras contendo ativos (F2, F3, F4, F5,  
10 F6) foi comparada à da formulação padrão (Fbase), armazenada sob as mesmas  
11 condições e na mesma embalagem.

12 A avaliação do odor foi conduzida por análise olfativa direta, comparando-se cada  
13 formulação à Fbase.

14 As alterações de cor e odor foram classificadas segundo os seguintes critérios: normal  
15 (sem alteração), levemente modificada, modificada ou intensamente modificada.

16

#### 17 4.4.11 Ensaio físico-químico

18 Para as análises das características físico-químicas, verificou-se, em triplicata, os  
19 valores de Ph e densidade.

20

#### 21 4.4.12 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)

22 Para cada formulação, determinou-se o pH utilizando o phmetro digital (pH 21 pH/mV  
23 meter- HANNA, Brasil) em temperatura ambiente ( $25 \pm 5^\circ\text{C}$ ), calibrado com solução  
24 tampão (pH 4,0 e 7,0). O eletrodo foi inserido na amostra diluída 1:10 com água  
25 purificada (Brasil, 2008).

26

#### 27 4.4.13 Determinação da Densidade

28 A densidade foi avaliada utilizando-se picnômetro de vidro, com capacidade de 10 mL.  
29 As formulações foram diluídas 1:10 em água purificada. Primeiramente, determinou a  
30 massa do picnômetro vazio com tampa e anotou-se o valor da massa. Depois, foi  
31 determinada a massa do picnômetro somente com água purificada e o valor foi  
32 anotado. Por último, pesou-se o picnômetro com a formulação diluída 1:10 e anotou-  
33 se o valor da massa. O valor relação entre a massa da amostra e a massa da água

1 representa a densidade específica da amostra ensaiada. Para o cálculo foi utilizado a  
2 equação 1:

$$3 \quad d = \frac{M2 - M0}{M1 - M0} \text{ (Equação 1)}$$

4 Onde,  $d$  é a densidade (g/cm<sup>3</sup>),  $M0$  a massa do picnômetro vazio (g),  $M1$  a massa do  
5 picnômetro com água (g), e  $M2$  a massa do picnômetro com a formulação (g).

6

#### 7 4.5 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIFÚNGICA DAS FORMULAÇÕES

##### 8 4.5.1 Curva de Crescimento e Morte

9 O ensaio de tempo de morte foi realizado para avaliar o efeito antifúngico das  
10 formulações desenvolvidas, seguindo a metodologia descrita por Scandorieiro et al.  
11 (2023), com adaptações.

12 Para a análise da atividade antifúngica, 0,5 mL de cada formulação foram adicionados  
13 a placas de Petri (diâmetro de 100 mm) e espalhados por toda a superfície com auxílio  
14 de alça de Drigalski, formando uma camada homogênea. Posteriormente, preparou-  
15 se um inóculo de *M. pachydermatis* e *S. brasiliensis*, com concentração ajustada para  
16 aproximadamente  $1 \times 10^5$  UFC/mL em PBS a 1%, e uma alíquota de 100  $\mu$ L dessa  
17 suspensão foi inoculada nas placas contendo as formulações. As amostras foram  
18 incubadas a  $37 \pm 2$  °C e a atividade antifúngica foi avaliada em cinco tempos distintos:  
19 30 minutos, 2 horas, 8 horas, 24 horas e 48 horas. O teste foi realizado em duplicata.

20

##### 21 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

22 Os dados de controle de biofilme foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ( $p =$   
23 0,05) para verificar diferença entre os tratamentos em relação ao biofilme de cada  
24 fungo. Já para verificar diferença significativa no controle de biofilme entre *M.*  
25 *pachidermatis* e *S. brasiliensis* de um mesmo tratamento, os dados foram submetidos  
26 ao teste t de Student ( $p = 0,05$ ). Para análise gráfica dos dados referentes às curvas  
27 de crescimento foi utilizado o pacote ggplot2 (WICKHAM, 2016). Toda a análise foi  
28 conduzida no software R (v4.2.2).

29

30

31

32

## 1 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2 5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AGNP

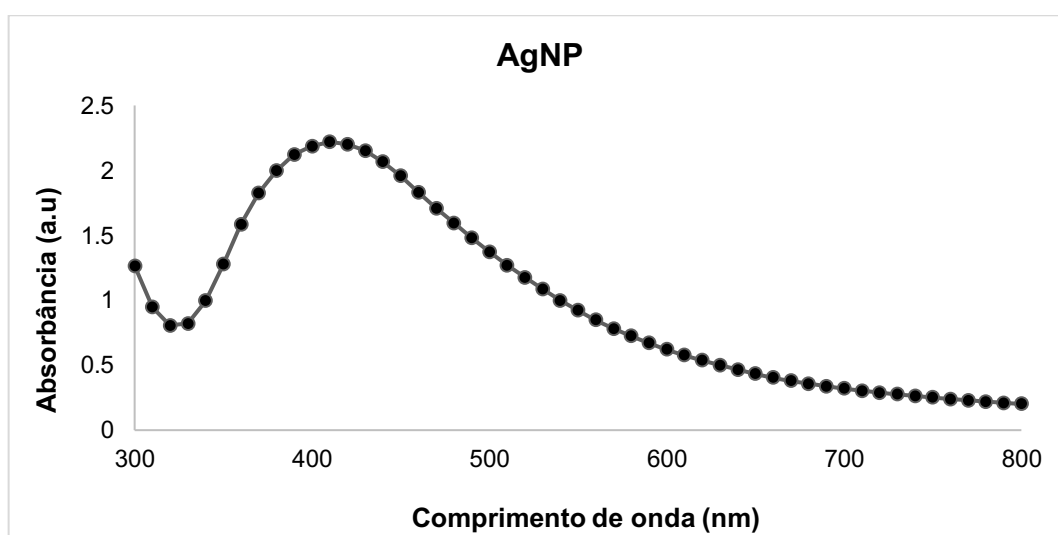
#### 3 5.1.1 Espectrofotometria UV-Vis

4 A espectrofotometria UV-Vis é amplamente utilizada para caracterizar e monitorar a  
5 síntese de nanopartículas metálicas (AWASTHI et al., 2013). Metais como ouro,  
6 selênio, prata e ferro, em escala nanométrica, são analisados por essa técnica devido  
7 à mudança de cor da solução após a reação de redução, sendo que cada metal  
8 apresenta uma cor específica associada às suas propriedades ópticas (SHNOUDEH  
9 et al., 2021).

10 Essa alteração na tonalidade ocorre devido ao fenômeno de ressonância plasmônica,  
11 que consiste na excitação coletiva dos elétrons ao interagirem com fótons de luz  
12 incidente, promovendo sua transição para um estado de energia mais elevado. Além  
13 disso, as nanopartículas apresentam diferentes tonalidades de cor conforme varia o  
14 seu tamanho (BERNI e NETO, 2010; ZHU e GAO, 2019; SARAVANAN et al., 2021).  
15 A interação entre os elétrons e a luz permite identificar as nanopartículas presentes  
16 na solução coloidal por meio dos espectros de absorção, os quais variam conforme o  
17 metal analisado (SARAVANAN et al., 2021).

18 No presente estudo, observou-se um pico de absorção em 410 nm para as AgNPs,  
19 conforme apresentado na Figura 22, acompanhado de uma mudança na coloração da  
20 solução, que passou de amarelo para marrom, como evidenciado na Figura 23.

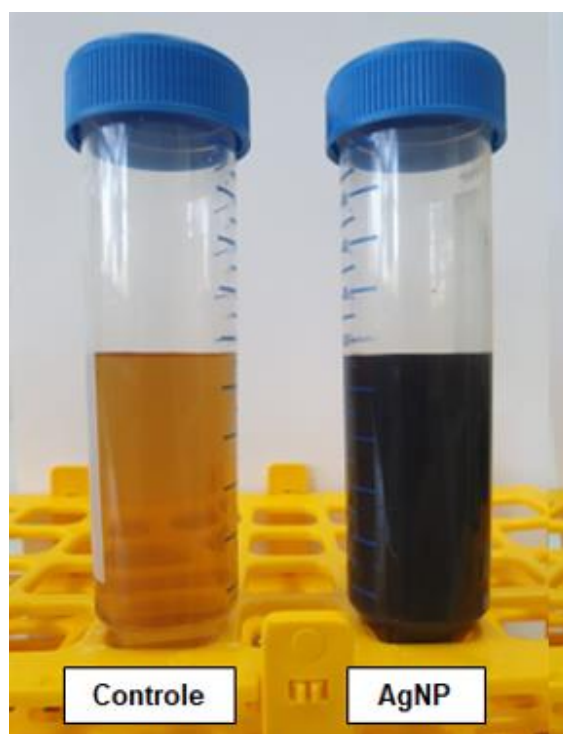
21  
22 **Figura 22:** Ressonância plasmônica de nanopartículas de prata (AgNPs) na faixa de  
23 300 – 800 nanômetros produzida em Ágar Malte e observada após 4 dias de produção,  
24 com pico de absorção em 410 nm.  
25



26

27 Fonte: o próprio autor.

1 **Figura 23:** Alteração na tonalidade de cor das nanopartículas pelo fenômeno de  
2 ressonância plasmônica. O controle compreende o extrato enzimático fúngico filtrado,  
3 sem adição do sal metálico precursor.  
4



5  
6 **Fonte:** o próprio autor.

7

#### 8 5.1.2 DLS e Potencial Zeta

9 O espalhamento dinâmico de luz (DLS), também conhecido como espectroscopia de  
10 correlação de fótons (PCS), é amplamente utilizado para determinar o tamanho de  
11 nanopartículas metálicas. Essa técnica baseia-se na medição da luz espalhada por  
12 um laser que atravessa uma solução coloidal. A intensidade da luz espalhada é  
13 analisada em função do tempo e da velocidade das partículas, permitindo calcular o  
14 tamanho hidrodinâmico médio (KUMARI et al., 2019).

15 O método aproveita o movimento Browniano das partículas, onde flutuações na  
16 intensidade da luz espalhada variam conforme o tamanho das partículas irradiadas.  
17 Partículas menores apresentam difusão mais rápida, enquanto partículas maiores  
18 movimentam-se de forma mais lenta (MISONO, 2019).

19 No presente estudo, a análise da distribuição de tamanhos revelou um tamanho médio  
20 de 31,82 nm para as nanopartículas de prata (AgNPs), conforme apresentado na  
21 Tabela 2.

22

23

1 **Tabela 2:** Espalhamento dinâmico de luz (DLS), índice de polidispersidade (IPD) e  
 2 potencial zeta das nanopartículas sintetizadas. Potencial zeta na faixa de -20 mV a  
 3 +30 mV indica estabilidade moderada.  
 4

Nanopartícula	Tamanho (nm)	IPD	Potencial Zeta (mV)
AgNP	31,82	0,48	- 9,36

5  
 6 **Fonte:** o próprio autor.  
 7

8 A biossíntese realizada utilizando extrato metabólito da cepa de *L. ornata* resultou em  
 9 um índice de 0,48 para as nanopartículas de prata (AgNPs), indicando uma  
 10 monodispersividade moderada e a presença de variações no tamanho das partículas.  
 11 Esses dados corroboram as análises descritas na literatura, que também destacam  
 12 variações de tamanho em produções realizadas por sistemas biológicos (BONATTO  
 13 e SILVA, 2014).

14 O potencial zeta é uma técnica amplamente utilizada para medir a carga superficial  
 15 das nanopartículas em soluções coloidais, servindo como indicador de sua  
 16 estabilidade. Os valores do potencial zeta variam entre +100 mV e -100 mV, sendo  
 17 que valores superiores a +25 mV ou inferiores a -25 mV geralmente indicam alta  
 18 estabilidade (SHNOUDEH et al., 2021). Contudo, algumas diretrizes classificam a  
 19 faixa entre -20 mV e +30 mV como indicativa de estabilidade moderada  
 20 (BHATTACHARJEE, 2016).

21 De acordo com a Tabela 2, o potencial zeta das amostras analisadas foi de -9,36 mV  
 22 para AgNPs, sugerindo estabilidade moderada. Embora o potencial zeta forneça  
 23 informações sobre a estabilidade coloidal por meio da repulsão eletrostática na  
 24 solução, ele não avalia as forças de Van der Waals, fundamentais na teoria da  
 25 estabilidade coloidal, que considera a soma das forças atrativas de Van der Waals e  
 26 das forças repulsivas eletrostáticas. Assim, é possível observar colóides estáveis  
 27 mesmo com valores reduzidos de potencial zeta (BHATTACHARJEE, 2016).

28 Na biossíntese de nanopartículas metálicas, os componentes do extrato biológico  
 29 atuam como agentes de revestimento, anexando grupos funcionais específicos às  
 30 nanopartículas. Esse revestimento confere estabilidade ao material, evitando a  
 31 aglomeração das partículas em suspensão (RESTREPO e VILLA, 2021).

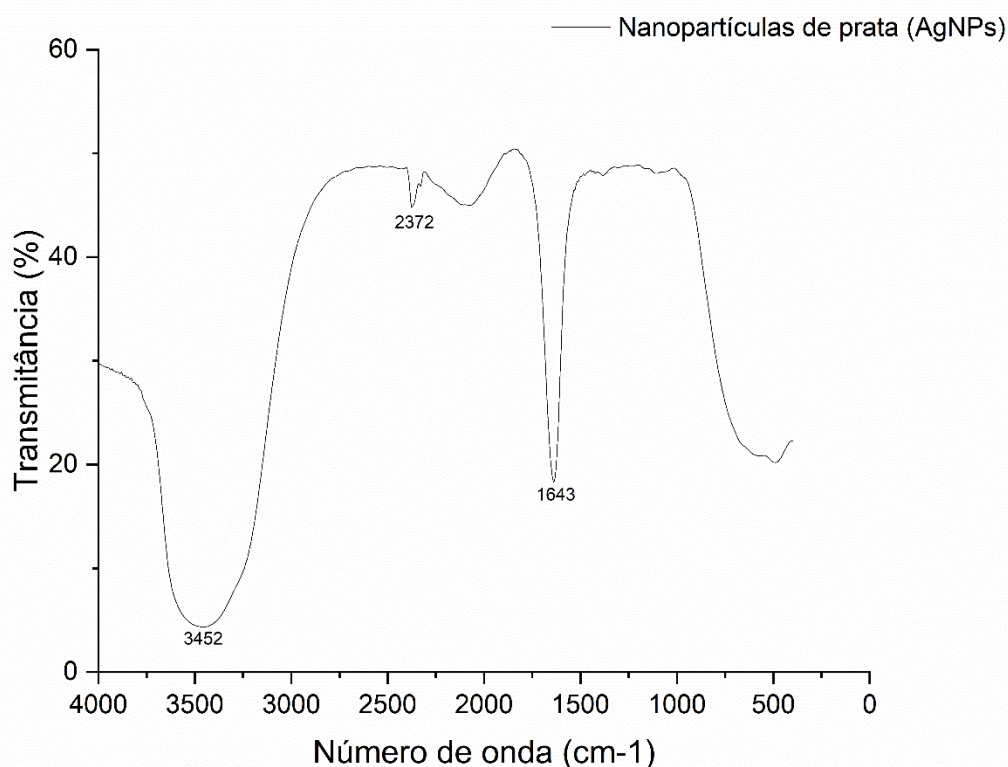
32  
 33  
 34

### 1 5.1.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier 2 (FTIR)

3 O FTIR é uma técnica não destrutiva amplamente utilizada para identificar os grupos  
4 funcionais presentes na superfície das nanopartículas, os quais desempenham um  
5 papel essencial na síntese e estabilidade dessas estruturas. Esses grupos funcionais  
6 são detectados com base nas vibrações moleculares que ocorrem ao absorverem  
7 comprimentos de onda específicos, dentro da faixa de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  (KUMAR e  
8 PRASAD, 2021; SHNOUDEH et al., 2021).

9 Na análise das nanopartículas de prata (AgNP), conforme ilustrado na Figura 24,  
10 foram identificadas bandas de absorção em  $3452$ ,  $2372$  e  $1643\text{ cm}^{-1}$ . A banda em  
11  $3452\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída ao grupo funcional álcool (O-H), enquanto a banda em  $2372$   
12  $\text{cm}^{-1}$  indicou a presença de dióxido de carbono (O=C=O). Já a banda em  $1643\text{ cm}^{-1}$   
13 foi associada a amida I, caracterizada por ligações C=C, C=O e C=N (Sigma Aldrich,  
14 2018).

15 **Figura 24:** Espectroscopia de infravermelho das AgNPs produzidas. A banda em  $3452$   
16  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao grupo funcional álcool (O-H),  $2372\text{ cm}^{-1}$  ao dióxido de carbono  
17 (O=C=O) e  $1643\text{ cm}^{-1}$  a amida I (C=C, C=O, C=N).



18

19 **Fonte:** o próprio autor.

20

1 Dekka e Sinha (2015) conduziram a biossíntese de nanopartículas de prata (AgNP)  
 2 utilizando o extrato enzimático de *Penicillium pinophilum*. As análises por FTIR  
 3 revelaram a presença de diversos grupos funcionais na amostra, incluindo ácido  
 4 carboxílico, alceno, carbonila, aldeído, álcool, amina e alceno. Durante o processo de  
 5 redução de  $\text{Ag}^+$ , foi constatado o envolvimento desses grupos no revestimento das  
 6 nanopartículas. Em particular, os grupos O-H e C=C foram os mais consumidos no  
 7 processo, evidenciando sua importância na formação das AgNP.  
 8 Embora se trate do mesmo tipo de nanopartícula, cada organismo utilizado na  
 9 biossíntese apresenta composição enzimática e proteica distinta. Assim, as  
 10 características específicas das biomoléculas presentes no meio de produção  
 11 influenciam diretamente as propriedades das AgNP, incluindo sua atividade biológica  
 12 e toxicidade (REIS, 2019).

13

#### 14 5.1.4 Fluorescência de Raios X por Dispersão em Energia (EDXRF)

15 A técnica de EDXRF (Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia) é  
 16 amplamente empregada para identificar os elementos químicos presentes em  
 17 amostras. Ela funciona por meio da geração de espectros que exibem picos  
 18 característicos de cada elemento, permitindo o mapeamento de sua distribuição. Essa  
 19 metodologia é comumente utilizada para verificar a produção de nanopartículas  
 20 metálicas (SHNOUDEH et al., 2021). Os resultados das análises realizadas nas  
 21 soluções padrão e nas amostras de nanopartículas de prata (AgNP) estão detalhados  
 22 na Tabela 3.

23

24 **Tabela 3:** A intensidade das soluções padrão, do nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) e das  
 25 amostras de nanopartículas de prata (AgNP) foi avaliada utilizando a técnica de  
 26 EDXRF, com os resultados expressos em milimolares (mM), permitindo a  
 27 quantificação precisa dos elementos presentes nas amostras.

28

Amostra	Intensidade (cps/uA)	Concentração (mM)
$\text{AgNO}_3$ 1 mM	3,38	1
$\text{AgNO}_3$ 2,5 mM	4,91	2,5
$\text{AgNO}_3$ 5 mM	7,21	5
$\text{AgNO}_3$ 7,5 mM	7,97	7,5
$\text{AgNO}_3$ 10 mM	9,46	10
$\text{AgNO}_3$ 15 mM	14,39	15
$\text{AgNO}_3$ 20 mM	16,82	20

AgNP

6,62

5,16 mM

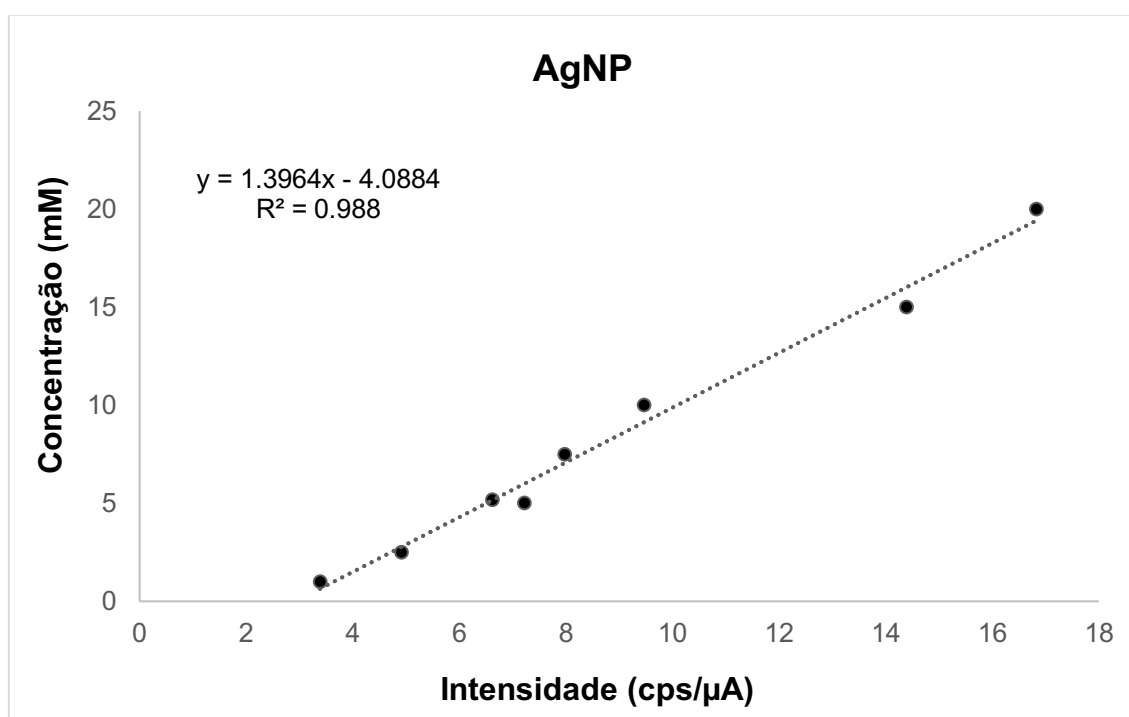
1

2 **Fonte:** o próprio autor.

3

4 A Figura 25 apresenta a regressão linear simples, demonstrando a correlação entre a  
 5 intensidade e a concentração dos padrões com as amostras. A equação da reta  
 6 obtida,  $y=1,3964x-4,0884$ , foi usada para  
 7 caracterizar as nanopartículas de prata (AgNPs), resultando em uma concentração  
 8 estimada de 5,16 Mm, segundo a análise de espectrometria de raios X comparada  
 9 com os padrões de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ).

10 **Figura 25:** Curva padrão para determinação da concentração de AgNP. A correlação  
 11 das soluções padrão e a amostra contendo nanopartículas origina uma reta pelo  
 12 método de regressão linear, que determinou a concentração das AgNP em 5,16 mM.  
 13



14

15 **Fonte:** o próprio autor.

16

17 Pode-se observar que os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variaram entre 0,98 e  
 18 0,99, indicando que mais de 98% da variabilidade dos dados pode ser explicada pelo  
 19 modelo. Esses valores elevados de  $R^2$ , próximos de 1, sugerem que a regressão linear  
 20 foi eficaz na determinação da concentração de AgNP a partir da intensidade e  
 21 concentração das soluções padronizadas. Ao converter os valores das concentrações  
 22 das AgNP para  $\mu\text{g/mL}$ , obteve-se 557  $\mu\text{g/mL}$ .

## 1 5.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE AgNP

2 5.2.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Interação Entre os Compostos  
3 (Checkerboard)

4 A CIM (Concentração Inibitória Mínima) e a concentração inibitória fracionada na  
5 interação entre AgNP e SIM foram determinadas por meio de testes de microdiluição  
6 em caldo. Todas as espécies analisadas mostraram sensibilidade tanto às AgNP  
7 quanto ao SIM (Tabela 4).

8 **Tabela 4:** Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração inibitória fracionada  
9 (ICIF) de sinvastatina e AgNP, isoladas e em combinação contra espécies de  
10 dermatófitos e leveduras.  $ICIF \leq 0,5$  indica sinergismo entre os compostos,  $0,5 < ICIF$   
11  $\leq 1$  indica aditismo,  $1 < ICIF \leq 4$  indica indiferença e  $ICIF > 4$  indica antagonismo.  
12

CIM e Checkerboard ( $\mu\text{g/mL}$ ) SIM e AgNP *Lichtemia ornata*

Espécies	Antifúngicos	Compostos isolados	Compostos combinados	ICIF
<i>S. brasiliensis</i>	SIM AgNP	156,25 8,42	39 2,1	0,49 Sinergismo
<i>T. mentagrophytes</i>	SIM AgNP	312,5 4,35	19,5 1	0,29 Sinergismo
<i>N. gypsea</i>	SIM AgNP	312,5 8,7	156 4,35	0,99 Aditismo
<i>M.canis</i>	SIM AgNP	312,5 8,7	19,5 1	0,17 Sinergismo
<i>M. pachydermatis</i>	SIM AgNP	312,5 19,5	39 4,88	0,37 Sinergismo

13 **Fonte:** o próprio autor  
14  
15  
16  
17  
18  
19

1  
2  
3

Espécies	Antifúngicos	Compostos isolados	Compostos combinados	ICIF
<i>S. brasiliensis</i>	SIM AgNP	156,25 1	39 0,25	0,49 Sinergismo
<i>T. mentagrophytes</i>	SIM AgNP	312,5 4,35	19,5 1	0,29 Sinergismo
<i>N. gypsea</i>	SIM AgNP	312,5 8,7	156 4,35	0,99 Aditismo
<i>M. canis</i>	SIM AgNP	312,5 1	312,5 0,06	1,06 Indiferença
<i>M. pachydermatis</i>	SIM AgNP	312,5 1	312,5 0,06	1,06 Indiferença

4 **Fonte:** o próprio autor

5

6 A SIM apresentou concentração mínima inibitória (CIM) isolada de 156,25 µg/mL para  
7 *S. brasiliensis* e de 312,5 µg/mL para *T. mentagrophytes*, *N. gypsea*, *M. canis* e *M.*  
8 *pachydermatis*.9 As nanopartículas de prata (AgNP), obtidas a partir do fungo *Lichtheimia ornata*,  
10 apresentaram CIMs de 8,42 µg/mL para *S. brasiliensis*, 4,35 µg/mL para *T.*  
11 *mentagrophytes*, 8,7 µg/mL para *N. gypsea*, 8,7 µg/mL para *M. canis* e 19,5 µg/mL  
12 para *M. pachydermatis*.13 As AgNPs sintetizadas com extrato de catuaba desenvolveram efeito antifúngico mais  
14 potente, com CIMs de 1 µg/mL para *S. brasiliensis*, *M. canis* e *M. pachydermatis*, 4,35

1  $\mu\text{g/mL}$  para *N. gypsea*, e  $4,35 \mu\text{g/mL}$  para *T. mentagrophytes*.

2 Na interação entre SIM e AgNP (*L. ornata*), foi sinérgica para *S. brasiliensis*, *T.*  
3 *mentagrophytes*, *M. canis* e *M. pachydermatis*, com redução de até quatro vezes na  
4 concentração inibitória da AgNP e até 16 vezes para o SIM. Para *N. gypsea*, o efeito  
5 da interação foi aditivo.

6 Com relação à interação de SIM e AgNP (catuaba), houve sinergismo também para  
7 *S. brasiliensis* e *T. mentagrophytes*. A CIM do SIM reduziu de  $156,25 \mu\text{g/mL}$  para  $39$   
8  $\mu\text{g/mL}$  em *S. brasiliensis*, e de  $312,5 \mu\text{g/mL}$  para  $19,5 \mu\text{g/mL}$  em *T. mentagrophytes*.  
9 Para AgNP, a concentração foi reduzida de  $1 \mu\text{g/mL}$  para  $0,25 \mu\text{g/mL}$  em *S.*  
10 *brasiliensis* e de  $4,35 \mu\text{g/mL}$  para  $1 \mu\text{g/mL}$  em *T. mentagrophytes*. Já para *N. gypsea*  
11 e *M. canis*, a interação foi aditiva, e para *M. pachydermatis* diferente.

12 A atividade antifúngica das AgNPs é bem documentada na literatura, com diversos  
13 estudos abordando sua ação em diferentes espécies. Essghaier et al (2023) avaliaram  
14 AgNPs produzidos a partir de extrato vegetal da planta *Achillea maritima*, obtendo  
15 CIMs de  $0,17 \mu\text{g/mL}$  para *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *Aspergillus*  
16 *niger*. Em dermatofitos, Shahram et al. (2021) informaram CIMs de  $3 \mu\text{g/mL}$  para *T.*  
17 *rubrum*,  $3,7 \mu\text{g/mL}$  para *T. interdigitale* e  $9,8 \mu\text{g/mL}$  para *E. floccosum*, utilizando  
18 AgNPs biogênicas a partir de extrato de chicória.

19 Bocate et al. (2019) avaliaram a atividade antifúngica de AgNPs e SIM, isoladas e em  
20 combinação, contra espécies toxigênicas de *Aspergillus*. As AgNPs produzidas por  
21 *Fusarium oxysporum* exibiram CIMs entre  $4$  e  $8 \mu\text{g/mL}$ , enquanto SIM apresentou  
22 CIMs de  $78 \mu\text{g/mL}$  para *A. flavus*, *A. nomius* e *A. parasiticus*, e de  $19,5 \mu\text{g/mL}$  para *A.*  
23 *melleus* e *A. ochraceus*. Foi observada atividade sinérgica para *A. flavus* e *A.*  
24 *parasiticus*.

25 Silva et al (2020) investigaram o sinergismo entre sinvastatina e os antifúngicos  
26 anfotericina B e fluconazol contra cepas de *Cryptococcus neoformans* isoladas de  
27 excrementos de aves. Todas as cepas apresentaram sensibilidade à anfotericina B e  
28 fluconazol, e resistência à sinvastatina. Observe-se efeito sinérgico na combinação  
29 com anfotericina B, onde a CIM reduziu de  $1 \mu\text{g/mL}$  para  $0,25 \mu\text{g/mL}$ .

30 O efeito sinérgico ocorre quando a ação combinada dos compostos em interação é  
31 maior do que a soma dos efeitos individuais (TOMCZYK, 2019), permitindo maior  
32 eficácia com menor dosagem (TONON, 2016). Já o efeito aditivo acontece quando as  
33 composições atuam independentemente, somando seus efeitos sem interferência  
34 mútua (TOMCZYK, 2019). Neste caso, as interações podem ser sobrepostas, atuando

1 em diferentes regiões do mesmo alvo, seja via mecanismos regulatórios ou no mesmo  
2 sítio ativo, ou independentes, agindo em locais distintos do mesmo alvo (JIA et al.,  
3 2009).

4 As interações aditivas observadas neste estudo sugerem que as AgNPs, por  
5 apresentarem múltiplos mecanismos de ação antifúngica, facilitam a entrada da  
6 sinvastatina em doses menores, permitindo que esta atue na interrupção da síntese  
7 do ergosterol.

8 A literatura traz diversos estudos com AgNPs em diferentes espécies fúngicas.  
9 Mousavi e Pourtalebi (2015) relatando CIMs mais elevados de AgNPs contra *A.*  
10 *parasiticus*. Kim et al. (2008) obtiveram CIMs de 1–7 µg/mL para AgNPs contra  
11 espécies de *Candida* e *T. mentagrophytes*. Bocate et al. (2019) também observaram  
12 efeitos aditivos ou sinérgicos, dependendo da espécie, na combinação de sinvastatina  
13 e AgNPs biogênicas contra cinco espécies de *Aspergillus*, com CIMs entre 4–8 µg/mL.

14

#### 15 5.2.2 Concentração Fúngica Mínima (CFM)

16 **Tabela 5:** CFM dos ativos individuais (Sinvastatina, AgNP *L.ornata* e AgNP catuaba)  
17 contra *S. brasiliensis*, *M. pachydermatis*, *M. canis*, *T. mentagrophytes* e *N. gypsea*.

Cepas	Ativos		
	Sinvastatina	AgNP L.	AgNP C.
<i>S. brasiliensis</i>	Fungicida	Fungicida	Fungicida
<i>M. pachidermatis</i>	Fungicida	Fungicida	Fungicida
<i>M. canis</i>	Fungioestático	Fungioestático	Fungioestático
<i>T. mentagrophytes</i>	Fungioestático	Fungioestático	Fungioestático
<i>N. gypsea</i>	Fungioestático	Fungioestático	Fungioestático

18 Legenda: Sinvastatina; AgNP L= *L.ornata* : Nanopartículas de prata biogênicas extraídas do fungo  
19 *Lichthemia ornata*; AgNP C= catuaba : Nanopartículas de prata extraída da catuaba.

20 **Fonte:** o próprio autor.

21

22 Os resultados obtidos indicaram variações no efeito antifúngico entre os compostos e  
23 as espécies avaliadas. A definição do efeito fungicida e fungistático foi baseada no  
24 crescimento observado: crescimento inferior ou igual a três colônias após a exposição  
25 foi considerado efeito fungicida, enquanto crescimento superior indicou efeito  
26 fungistático.

27 O efeito fungicida foi observado contra *Malassezia pachydermatis* e *Sporothrix*  
28 *brasiliensis* em todos os compostos testados. Já contra os fungos filamentosos

1 *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Nannizzia gypsea*, verificou-se  
 2 um efeito fungistático, evidenciado pelo crescimento contínuo de colônias. No entanto,  
 3 a visualização dessas colônias foi dificultada devido à morfologia e à forma de  
 4 expansão característica desses fungos em meio de cultura.  
 5 A ausência de dados comparativos na literatura dificulta a comparação direta dos  
 6 resultados, além das variações metodológicas entre estudos. No entanto, os dados  
 7 sugerem o potencial promissor das AgNPs, principalmente as derivadas da catuaba,  
 8 no controle de fungos patogênicos, justificando a necessidade de estudos adicionais  
 9 para elucidar seus mecanismos de ação.

10

### 11 5.2.3 Atividade antifúngica sobre Biofilmes formados

12 **Tabela 6:** Análise dos dados de Biofilme

Tratamentos	Teste t	<i>Malassezia pachidermatis</i>		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	
		Média % da redução do biofilme formado	SD	Média % da redução do biofilme formado	SD
Sinvastatina	*	99,77	0,19	99,47	0,28
AgNP L.	-	99,72	0,25	99,59	0,29
AgNP C.	*	99,79	0,20	99,48	0,42

13 Legenda: Sinvastatina; AgNP L. = *Lichtheimia ornata*: Nanopartículas de prata extraída do fungo  
 14 *Lichtheimia ornata*; AgNP C= catuaba: Nanopartículas extraídas da catuaba; SD: Desvio padrão.

15 **Fonte:** o próprio autor.

16

17 Os resultados do teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) indicaram que não houve diferença  
 18 significativa entre sinvastatina, AgNP (*Lichtheimia ornata*) e AgNP (catuaba) no  
 19 controle dos biofilmes de *Malassezia pachydermatis* ( $p = 0,7155$ ) e *Sporothrix*  
 20 *brasiliensis* ( $p = 0,2823$ ), sugerindo eficácia semelhante entre os tratamentos para cada  
 21 fungo.

22 Contudo, ao comparar a eficácia de cada tratamento entre os dois fungos (teste t,  
 23  $p < 0,05$ ), observou-se que sinvastatina ( $p = 0,0068$ ) e AgNP da GRAL Bioativos  
 24 ( $p = 0,0366$ ) foram mais eficazes contra *M. pachydermatis* do que contra *S. brasiliensis*.  
 25 Já a AgNP de *L. ornata* apresentou desempenho semelhante para ambos ( $p = 0,2937$ ),  
 26 indicando uma ação mais uniforme.

27 Essa uniformidade pode estar relacionada às características físico-químicas das  
 28 AgNPs (*L. ornata*), que talvez não favoreçam seletividade entre os biofilmes. Por outro

1 lado, a variação observada com sinvastatina e AgNPs (catuaba) pode refletir  
2 diferenças nos mecanismos de ação ou na composição dos biofilmes entre as  
3 espécies.

4 Em *S. brasiliensis*, sabe-se que as cepas formam biofilmes robustos, compostos por  
5 hifas e conídios imersos em matriz extracelular com canais de água, conforme descrito  
6 por Brilhante et al. (2017).

7 As AgNPs, por sua vez, são conhecidas por potencializar a ação de compostos  
8 antimicrobianos, promovendo a ruptura da parede celular fúngica, elevação da  
9 produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais hidroxila, o que contribui  
10 para danos estruturais e inibição do biofilme (Mohanta et al., 2023; Atriwal et al., 2021).

11

## 12 5.3 Caracterização farmacotécnica das formulações

13

### 14 5.3.1 Teste de Pré-estabilidade, Ensaio Organolépticos e Físico-químicos

15

#### 16 5.3.2 Teste de centrifugação

17 A centrifugação tem como objetivo submeter a amostra a uma condição de estresse,  
18 simulando um aumento na força gravitacional devido à alta rotação aplicada. Esse  
19 teste permite prever possíveis instabilidades que possam surgir no produto ao longo  
20 do tempo, manifestando-se por sedimentação, separação de fases ou coalescência  
21 (BRASIL, 2007).

22 Ao final do procedimento e após a análise visual, verificou-se que as formulações  
23 mantiveram um aspecto homogêneo, sem sinais de separação de fases ou  
24 precipitação. Dessa forma, todas as amostras demonstraram estabilidade e estão  
25 aptas a passar por caracterizações subsequentes.

26

#### 27 5.3.3 Características organolépticas

28 Quanto as características organolépticas, as formulações se apresentaram em uma  
29 forma aquosa, translúcida. A formulação base (F1), apresentou característica aquosa,  
30 translúcida e sem odor. A formulação contendo Nanopartícula de prata extraída do  
31 fungo *Lichtheimia ornata* (F2), apresentou característica aquosa, com coloração marrom  
32 e sem odor; já a formulação contendo nanopartícula de prata extraída da catuaba (F3),  
33 apresentou coloração mais clara, sem odor e aquosa. A formulação contendo  
34 sinvastatina (F4), se apresentou aquosa, sem cor e sem odor, algumas bolhas, mas

1 que sumiram após o repouso. As duas formulações (F5, F6) também obtiveram  
 2 característica aquosa e sem odor, a (F5) ficou com uma coloração amarelada devido  
 3 a presença da nanopartícula de prata extraída do fungo *Lichtermia ornata*, já a  
 4 formulação (F6) apresentou coloração translúcida.

5  
 6

7 **Tabela 7** – Características organolépticas e propriedades físico-químicas observadas  
 8 após 24 h de manipulação das formulações desenvolvidas.

<b>Características organolépticas e físico-químicas</b>						
<b>Formulação</b>	<b>Centrifuga</b>	<b>Cor</b>	<b>Odor</b>	<b>Aspecto</b>	<b>Ph</b>	<b>Densidade</b>
<b>F1 fbase</b>	SSF	Incolor	-	Aquoso Homogêneo	6,5	1,005
<b>F2 AgNP <i>L.ornata</i></b>	SSF	Marrom	-	Aquoso Homogêneo	6,5	1,010
<b>F3 AgNP catuaba</b>	SSF	Incolor	-	Aquoso Homogêneo	6,5	1,011
<b>F4 Sinvastatina</b>	SSF	Incolor	-	Aquoso Homogêneo	6,5	1,001
<b>F5 AgNP <i>L.ornata</i> + Sinvastatina</b>	SSF	Levemente marrom	-	Aquoso Homogêneo	6,5	1,010
<b>F6 AgNP catuaba + Sinvastatina</b>	SSF	Incolor	-	Aquoso Homogêneo	6,5	1,012

9 Legenda: SSF – Sem separação de fases. Todas as formulações mantiveram  
 10 estabilidade após 24 horas de manipulação, sem alteração de aspecto, coloração ou  
 11 odor, e com pH constante em 6,5. As densidades variaram entre 1,001 e 1,012 g/cm<sup>3</sup>,  
 12 com aspecto aquoso e homogêneo em todas as amostras testadas.

13 **Fonte:** o próprio autor.

14

15 De acordo com a Tabela 7, todas as formulações permaneceram estáveis após o teste  
 16 de centrífuga, ou seja, não houve separação de fases, além do pH permanecer na  
 17 faixa de 6,0 a 6,5, e densidade com valores próximos a densidade da água.

18 A análise da densidade foi embasada na relação entre as densidades do analito e da  
 19 água à temperatura de 20 °C (BRASIL, 2008). Realizada a determinação, os valores

1 obtidos estão listados na Tabela 7. Sabendo-se que a densidade é influenciada pela  
2 composição da amostra e que as formulações possuem a mesma base, diferenciando  
3 apenas dos ativos, verifica-se que tais ativos não influenciaram na densidade.  
4 O aspecto sensorial de um produto representa um parâmetro de avaliação de  
5 qualidade, implicando diretamente em sua aceitação pelo consumidor. As diferenças  
6 sensoriais observadas em diversos cosméticos são decorrentes do tipo de  
7 formulação, bem como de seus constituintes e embalagem usada para seu  
8 acondicionamento (VIEIRA, 2015). Sendo assim, como o produto em questão será  
9 utilizado com fim terapêutico, ao invés de estético, não há necessidade de adicionar  
10 pigmento à formulação.

11

#### 12 5.3.4. Avaliação da Estabilidade preliminar

13

14 As formulações mantiveram-se inalteradas após 15 dias de estabilidade preliminar.  
15 Esse resultado pode ser atribuído à simplicidade e à natureza básica dos ativos  
16 utilizados, bem como ao fato de os compostos serem predominantemente aquosos.

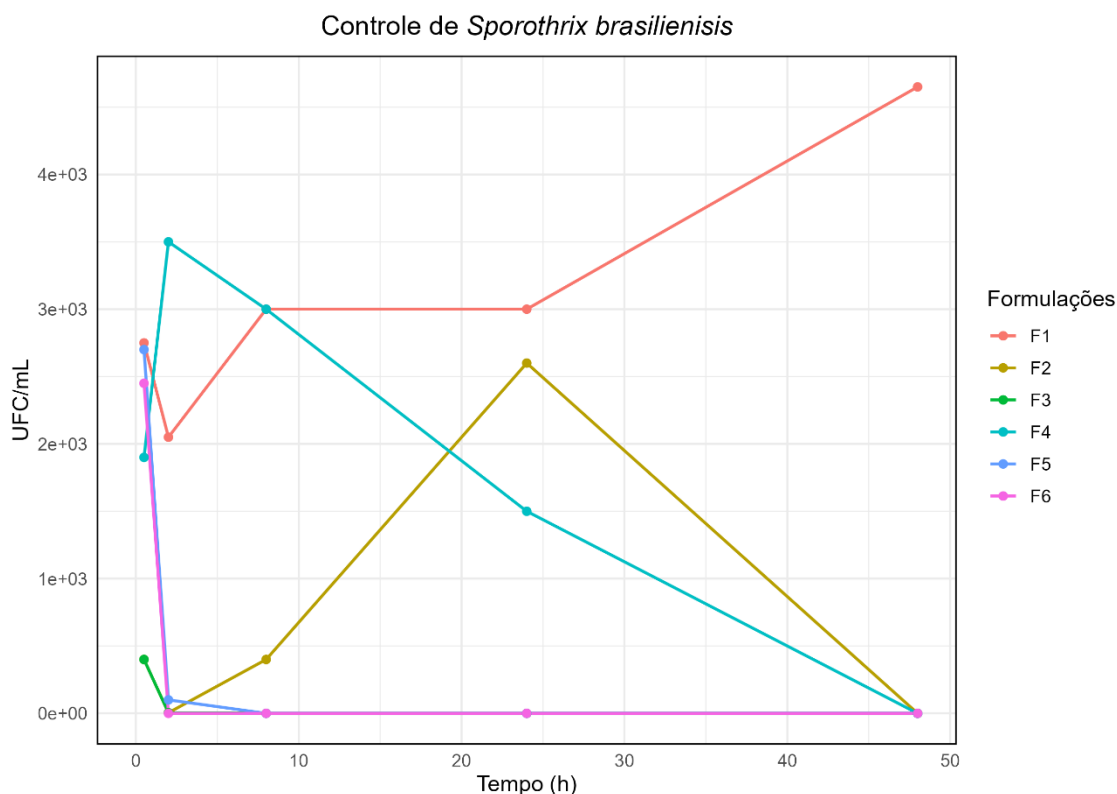
17

### 18 5.4 AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA DA FORMULAÇÃO

#### 19 5.4.1 Curva de Crescimento e Morte

20

21 **Figura 26** - Curva de sobrevivência da cepa *S. brasiliensis*, exposta às formulações  
22 desenvolvidas (F1Fbase, F2AgNP L., F3AgNP C., F4Sinvastatina, F5AgNP L.+  
23 Sinvastatina, F6AgNP C. + Sinvastatina)



1

2 Legenda: F1:Formulação base 5%; F2 AgNP *L.ornata*: Formulação contendo 5% de nanopartículas de  
 3 prata extraída do fungo *lichtemia ornata*; F3 AgNP catuaba: Formulação contendo 5% de  
 4 nanopartículas de prata extraída da catuaba; F4: Formulação contendo 5% de Sinvastatina; F5 AgNP  
 5 + Sinvastatina: Formulação contendo 2,5% de nanopartículas de prata extraída do fungo *lichtemia*  
 6 *ornata* e 2,5% do ativo sinvastatina; F6 AgNP catuaba + Sinvastatina: Formulação contendo 2,5% de  
 7 nanopartículas de prata extraída da catuaba e 2,5% do ativo sinvastatina.

8 **Fonte:** o próprio autor.

9

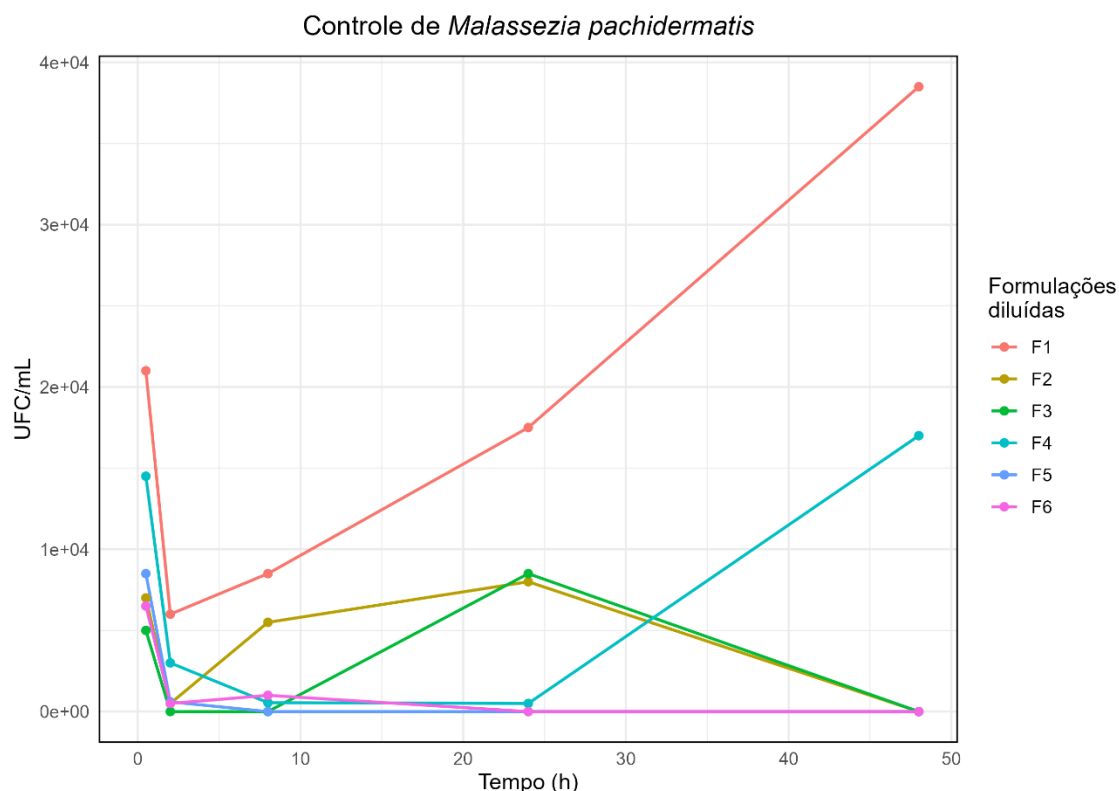
10 A avaliação do controle de *S. brasiliensis* ao longo de 48 horas mostrou diferenças  
 11 significativas entre as formulações testadas. A formulação F6 apresentou o melhor  
 12 desempenho, com eliminação total da carga fúngica logo nas primeiras horas e  
 13 manutenção desse efeito até o final do experimento. F3 também foi eficaz,  
 14 promovendo a redução completa das unidades formadoras de colônia (UFC/mL) nas  
 15 primeiras horas.

16 F5 e F4 mostraram uma redução inicial da carga fúngica, porém com posterior  
 17 crescimento, especialmente F4, que manteve níveis elevados de UFC/mL até 48  
 18 horas. F2 teve um padrão de aumento progressivo após uma leve redução inicial,  
 19 indicando possível adaptação do fungo ao tratamento. F1 (fórmula base) apresentou  
 20 o pior desempenho, com crescimento fúngico contínuo ao longo do tempo, indicando  
 21 a ausência de compostos com atividade antifúngica em sua composição.

22 Esses dados indicam que apenas as formulações F3 e F6 apresentaram atividade  
 23 antifúngica sustentada contra *S. brasiliensis*, enquanto as demais apresentaram efeito

1 parcial.

2 **Figura 27** - Curva de sobrevivência da cepa *M. pachidermatis*, exposta às formulações  
3 desenvolvidas (F1Fbase, F2AgNP L., F3AgNP C., F4Sinvastatina, F5AgNP L.+  
4 Sinvastatina, F6AgNP C.+ Sinvastatina)



5

6 Legenda: F1:Formulação base 5%; F2 AgNP *L.ornata*: Formulação contendo 5% de nanopartículas de  
7 prata extraída do fungo *lichtemia ornata*; F3 AgNP catuaba: Formulação contendo 5% de  
8 nanopartículas de prata extraída da catuaba; F4: Formulação contendo 5% de Sinvastatina; F5 AgNP  
9 + Sinvastatina: Formulação contendo 2,5% de nanopartículas de prata extraída do fungo  
10 *lichtemia ornata* e 2,5% do ativo sinvastatina; F6 AgNP catuaba + Sinvastatina: Formulação contendo 2,5% de  
11 nanopartículas de prata extraída da catuaba e 2,5% do ativo sinvastatina.

12 **Fonte:** o próprio autor.

13 Os resultados da curva de crescimento de *M. pachydermatis* mostraram que F1 (base)  
14 e F4 (sinvastatina isolada) foram pouco eficazes, com aumento da carga fúngica ao  
15 longo do tempo. F2 (AgNP *L. ornata*) e F3 (AgNP catuaba) reduziram parcialmente o  
16 crescimento, mas não sustentaram o efeito.

17 Já as formulações F5 e F6, que combinam AgNPs com sinvastatina, foram as mais  
18 eficazes, mantendo a contagem de UFC/mL próxima de zero durante todo o  
19 experimento. Esses dados indicam que F5 e F6 têm maior potencial para o controle  
20 de *M. pachydermatis*.

21 Os resultados obtidos neste estudo para *Malassezia pachydermatis* podem ser  
22 comparados com os descritos por Costa (2023), que avaliou a eficácia de formulações

1 contendo bioAgNPs e cetoconazol. Naquele trabalho, a formulação FbioAgNP 3%  
2 reduziu a população fúngica em aproximadamente 4 log de UFC/mL após 8 horas de  
3 tratamento, mas essa redução foi parcialmente revertida ao final de 48 horas,  
4 mantendo apenas cerca de 1,5 log de redução. Já no presente estudo, as formulações  
5 F5 (AgNP de *L. ornata* + sinvastatina) e F6 (AgNP catuaba + sinvastatina)  
6 apresentaram desempenho superior, mantendo a contagem de UFC/mL próxima de  
7 zero ao longo de todo o período experimental, incluindo as 48 horas finais.  
8 Esse resultado indica um efeito antifúngico mais duradouro, com atuação sustentada  
9 ao longo do tempo, o que reforça o potencial terapêutico das formulações  
10 desenvolvidas. Além disso, ao contrário da formulação com cetoconazol usada como  
11 controle por Costa, a combinação de AgNPs com sinvastatina se mostrou eficaz sem  
12 recorrer a antifúngicos convencionais, o que representa uma abordagem promissora  
13 frente à crescente resistência desses microrganismos.  
14

## 1 **6 CONCLUSÃO**

2 As AgNPs e SIM exibiram atividade antifúngica contra a maioria das espécies de  
3 fungos causadores de infecções testadas. Em combinação com a SIM, as  
4 nanopartículas exibiram efeito sinérgico ou aditivo dependendo da espécie.  
5 Além da eficácia dos compostos isolados, as formulações tópicas desenvolvidas  
6 demonstraram estabilidade físico-química e características organolépticas  
7 apropriadas para aplicação.  
8 Futuros estudos devem incluir testes *in vivo* e abordagens de biologia molecular  
9 voltadas ao esclarecimento dos mecanismos de resistência dos microrganismos  
10 estudados, especialmente de *Sporothrix brasiliensis*, contribuindo para o  
11 desenvolvimento de terapias mais eficazes e direcionadas.

## 1 7 REFERÊNCIAS

- 2 ABU-ELTEEN, Khaled H.; HAMAD, Mawieh A. Changing epidemiology of classical  
3 superficial fungal infections in Jordan. *EMHJ - Eastern Mediterranean Health*  
4 *Journal*, v. 18, n. 4, p. 337–343, 2012.
- 5 ALBERICI F, Paties CT, Lombardi G, et al. 1989. *Sporothrix schenckii* var. *luriei* as the  
6 cause of sporotrichosis in Italy. **European Journal of Epidemiology** 5: 173–177.
- 7 ALMEIDA, A. J.; REIS, N. F.; LOURENÇO, C. S.; COSTA, N. Q.; BERNARDINO, M.  
8 L. A.; VIEIRA-DA-MOTTA, O. Esporotricose em felinos domésticos (*Felis catus*  
9 *domesticus*) em Campos dos Goytacazes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.7,  
10 p.1438–1443, 2018.
- 11 ALMEIDA-PAES, R.; Figueiredo-Carvalho, MHG; Brito-Santos, F.; Almeida-Silva, F.;  
12 Oliveira, MME; Zancopé-Oliveira, RM Melaninas Protegem *Sporothrix*  
13 *brasiliensis* e *Sporothrix schenckii* dos efeitos antifúngicos da terbinafina. **PLoS**  
14 **UM** 2016.
- 15  
16 ANTUNES, T.A.; NOBRE, M.O.; FARIA, R.O.; MEINERZ, A.R.M.; MARTINS, A.A.;  
17 CLEFF, M.B.; FERNANDES, C.G.; MEIRELLES, M.C.A. Esporotricose cutânea  
18 experimental: avaliação in vivo do itraconazol e terbinafina. **Revista da Sociedade**  
19 **Brasileira de Medicina Tropical**. v. 42, n. 6, p. 706- 710, 2009.
- 20 ARANA, DM; Prieto, D.; Román, E.; Nombela, C.; Pla, J.; Alonso-Monge, R.; Pla, J. O  
21 papel da parede celular na patogênese fúngica. **Microb. Biotechnol.** 2009 , 2 , 308.  
22
- 23 ARAÚJO, Ana L. S.; et al. Spatio-temporal six-year retrospective study on  
24 dermatophytosis in Rio de Janeiro, **Southeast Brazil: A tropical tourist locality tale.**  
25 **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 4, e0010865, 2023
- 26 ARAÚJO, Larissa Ferreira. Plantas medicinais no controle de fungos patogênicos  
27 humanos. 2018. 55 f. **Curso de Graduação em biotecnologia. Universidade**  
28 **Federal de Uberlândia**
- 29 ARAUJO AKL, Gondim ALDCL, Araujo IEA. Esporotricose felina e humana–relato de  
30 um caso zoonótico. **Rev Bras Hig Sanid Anim.** 2020; 14: 237-247.
- 31 ARRILLAGA-MONCRIEFF, I.; Capilla, J.; Mayayo, E.; Marimon, R.; Mariné, M.; Gené,  
32 J.; Cano, J.; Guarro, J. Diferentes níveis de virulência das espécies de *Sporothrix* em  
33 um modelo murino. **Clin. Microbiol. Infect.** 2009.  
34
- 35 ASSIS, Gabriela Silva; ROMANI, Alana Flávia; SOUZA, Cleusely Matias de;  
36 VENTURA, Gisele Fonseca; RODRIGUES, Gilberto Aparecido; STELLA, Ariel  
37 Eurides. Esporotricose felina e saúde pública. **Veterinária e Zootecnia**, v. 29, p. 1–  
38 10, 2022. DOI: 10.35172/rvz.2022.v29.594.
- 39 ATRIAL, A., Azeem, M., Husain, S., Hussain, I., Khan, M., Alajmi, M. F., & Abid, M.  
40 (2021). Reactive Oxygen Species (ROS)-Mediated Antibiofilm Activity: Disruption of  
41 Fungal Cell Wall Integrity as a Key Mechanism. **Frontiers in Cellular and Infection**  
42 **Microbiology**, 11, 638609.

- 1 AWASTHI, Sujata; et al. Dermatophyte resistance to antifungal drugs: Mechanisms  
2 and prospectas. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 1, n. 4, p. 235–243,  
3 2013.
- 4 BARILLO, D. J; MARX, D. E. Silver in medicine: A brief history BC 335 to presente.  
5 **Science Direct**. p. 3-8. 2014.
- 6 BARROS, M.B.L.; PAES, R.A.; SCHUBACH, A.O. **Sporothrix schenckii and**  
7 **Sporotrichosis**. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 24, n. 4, p. 633-654, 2011.
- 8 BARROS, Caio Henrique Nasi. **Síntese e caracterização de nanopartículas de**  
9 **prata: estudo de interações com biomoléculas e atividade antimicrobiana**. 2017.  
10 135 fls. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas,  
11 Campinas. 2017.
- 12 BEGUM, Jubeda; MIR, Nasir A.; LINGARAJU, Madhu C.; BUYAMAYUM, Bidyarani;  
13 DEV, Kapil. Recent advances in the diagnosis of dermatophytosis. **Journal of Basic**  
14 **Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 293–303, 2020.
- 15 BERNI NETO, E. A. **Desenvolvimento de nanobiocompósitos contendo**  
16 **nanopartículas de prata para aplicações bactericidas**. 2010. 117 fls. Dissertação  
17 (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos. 2010.
- 18 BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not?.  
19 **Journal of Controlled Release**. v.235, p. 337-351. Jun 2016.
- 20 BHATTACHARYA, S; ESQUIVEL, B. D; WHITE, T. C. Overexpression or Deletion of  
21 Ergosterol Biosynthesis Genes Alters Doubling Time, Response to Stress Agents, and  
22 Drug Susceptibility in *Saccharomyces cerevisiae*. **mBIO**. v.9, n.4, p. 1-14. Jul 2018.
- 23 BIRNBAUM, J. The pharmacologic basis for the treatment of superficial fungal  
24 infections. **Journal of the American Academy of Dermatology**, New York, v. 23, n.  
25 3 Pt 2, p. 575–582, 1990. DOI: 10.1016/0190-9622(90)70296-T
- 26 BLABER, Mike. **Metals, Nonmetals ans Metalloids**. Disponível em:  
27 [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General\\_Chemistry/Map%3A\\_Chemistry\\_\\_T](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Map%3A_Chemistry__The_Central_Science_(Brown_et_al.)/07%3A_Periodic_Properties_of_the_Elements/7.06%3A_Metals_Nonmetals_and_Metalloids)  
28 [he\\_Central\\_Science\\_\(Brown\\_et\\_al.\)/07%3A\\_Periodic\\_Properties\\_of\\_the\\_Elements/7](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Map%3A_Chemistry__The_Central_Science_(Brown_et_al.)/07%3A_Periodic_Properties_of_the_Elements/7.06%3A_Metals_Nonmetals_and_Metalloids)  
29 [.06%3A\\_Metals\\_Nonmetals\\_and\\_Metalloids](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Map%3A_Chemistry__The_Central_Science_(Brown_et_al.)/07%3A_Periodic_Properties_of_the_Elements/7.06%3A_Metals_Nonmetals_and_Metalloids). Acesso em: 22 fev. 2023.
- 30 BOCATE, K. P; REIS, G. F; SOUZA, P. C; JUNIOR, A. G. O; DURÁN, N; NAKAZATO,  
31 G; FURLANETO, M. C. Antifungal activity of silver nanoparticles and simvastatin  
32 against toxigenic species of *Aspergillus*. **International Journal of Food**  
33 **Microbiology**, 291., p. 79-86, 2019.
- 34 BOCATE, K. P. et al. Antifungal activity of silver nanoparticles and simvastatin against  
35 toxigenic species of *Aspergillus*. **International journal of food microbiology**, v. 291,  
36 p. 79–86, 2019.
- 37 BONATTO, C. C; SILVA, L. P. Higher temperatures speed up the growth and control  
38 the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by  
39 cashew nutshells. **Industrial Crops and Products**. v.58, p. 46-54, abr.2014.

- 1 BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).  
2 **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. 1. ed., 2004, 1, 52.
- 3 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).  
4 **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. 2008
- 5 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de  
6 Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: **guia de bolso**. 6. ed.  
7 Brasília: Ministério da Saúde, 2007.
- 8 BRILHANTE, R. S. N. et al. Antifungal susceptibility of *Sporothrix schenckii* complex  
9 biofilms. **Medical Mycology**, Ceará, v. 56, n. 3, p. 297–306, 1 abr. 2017.
- 10 BRILHANTE, R. S. N.; CAETANO, E. P.; OLIVEIRA, J. S.; CASTELO-BRANCO, D. S.  
11 C. M.; SOUZA, E. R. Y.; ALENCAR, L. P.; CORDEIRO, R. A.; BANDEIRA, T. J. P. G.;  
12 SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Simvastatin inhibits planktonic cells and biofilms of  
13 *Candida* and *Cryptococcus* species. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**.  
14 v.19, n.15, p. 459-465. Jun 2015.
- 15 BRILHANTE, RSN; Correia, EEM; Guedes, GMDM; de Oliveira, JS; Castelo Branco,  
16 DdSCM; Cordeiro, RdA; Pinheiro, AdQ; Chaves, LJQ; Pereira Neto, WdA; Sidrim, JJC;  
17 e outros. Atividade in vitro de derivados azólicos e griseofulvina contra o crescimento  
18 planctônico e de biofilme de isolados clínicos de dermatófitos. **Micoses** 2018 , 61 ,  
19 449–454.
- 20  
21 BRILHANTE, RSN; Fernandes, MR; Pereira, VS; Costa, AdC; de Oliveira, JS; de  
22 Aguiar, L.; Rodrigues, AM; de Camargo, ZP; Pereira-Neto, WA; Sidrim, JJC; e outros.  
23 Formação de biofilme em garras de gato por espécies de *Sporothrix* : um modelo Ex  
24 Vivo. **Micróbio. Patog.** 2021 , 150 , 104670.
- 25  
26 BROWN, G; NETEA, M. G. Exciting Developments in the Immunology of Fungal  
27 Infections. **Cell Host & Microbe**. v.11, p. 422-424. Mai 2012.
- 28 BROWN, Gordon D. et al. The pathobiology of human fungal infections. **Nature**  
29 **Reviews Microbiology**, [S.l.], v. 22, p. 687–704, 2024.
- 30 BUGUM, J; MIR, N. A; LINGARAJU, M. C; BUYAMAYUM, B; DEV, K. Recent  
31 advances in the diagnosis of dermatophytosis. **Jordan Journal of Basic**  
32 **Microbiology**. p. 1-11, jan 2020.
- 33 CABAÑES, F. J.; Sporotrichosis in Brazil: Animals + humans = one health. **Revista**  
34 **Iberoamericana de Micología**. p. 1-2, 2020.
- 35 CAFARCHIA, C.; GALLI, M.; OTRANTO, D. Dermatophytes and dermatophytoses in  
36 animals: a review. **Veterinary Dermatology, Hoboken**, v. 21, n. 6, p. 456–466, 2010.  
37 DOI: 10.1111/j.1365-3164.2010.00899.x.
- 38 CAMPOY, A; ADRIO, J. L; Antifungals. **Biochemical Pharmacology**. p. 1-11. nov  
39 2016.
- 40 CAROLUS, H; PIERSON, S; LAGROU, K; VAN DIJCK, P. Amphotericin B and Other  
41 Polyenes—Discovery, Clinical Use, Mode of Action and Drug Resistance. **Journal of**

- 1 **Fungi**. v. 6, n. 321, p. 1-21. Nov 2020.
- 2 CASADEVALL, A. O potencial patogênico de um micróbio. **Mosphere** 2017 , 2 .
- 3 CASADEVALL, A. Climate change brings the specter of new infectious diseases. **The**  
4 **Journal of Clinical Investigation**. v.3, n.130, p. 553-555, jan 2020.
- 5 CASADEVALL, A; KONTOYIANNIS, D. P; ROBERT, V. On the Emergence of *Candida*  
6 *auris*: Climate Change, Azoles, Swamps, and Birds. **American Society for**  
7 **Microbiology**. v.10, n.4, p. 1-7, jul 2019.
- 8 CASAGRANDE, M. G; LIMA, R. Synthesis of Silver Nanoparticles Mediated by Fungi:  
9 A Review. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**. v.7, n. 287, p. 1-16. Out  
10 2019.
- 11 CHAKRABARTI, A. et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**,  
12 India, v. 53, n. 1, p. 3–14, 18 ago. 2015.
- 13 CHANDLER, F. W.; KAPLAN, W.; AJELLO, L.; **A Colour Atlas and Textbook of**  
14 **Histopathology of Mycotic Diseases**. Wolfe Medical Publications Ltd, pp. 112-115,  
15 1980.
- 16 CLSI. **Reference method for broth microdilution antifungal susceptibility test of**  
17 **yeasts**; aproved standard. 3 ed. Documento M27-A3. CLSI, Wayne, 2008.
- 18 CORZO-LEÓN, D.E, MUNRO, C.A; MACCALLUM, D.M. An ex vivo Human Skin Model  
19 to Study Superficial Fungal Infections. **Frontiers in Microbiology**, v.10, jun 2019.
- 20 COSTA, Isabela Mazarim da. *Desenvolvimento e caracterização de emulsão contendo*  
21 *nanopartículas de prata biogênicas e óleos essenciais de *Origanum vulgare* e*  
22 *Melaleuca alternifolia, como potencial tratamento para a pitiríase versicolor*. 2023. 112  
23 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de  
24 Londrina, Londrina, 2023.
- 25 DAS, K; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of  
26 antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in**  
27 **Environmental Science**. v.2; n. 13; p. 1-13; dez 2014.
- 28 DEKA, A. C; SINHA, S. K. Mycogenic Silver Nanoparticle Biosynthesis And Its  
29 Pesticide Degradation Potentials. **International Journal of Technology**  
30 **Enhancements and Emerging Engineering Research**. v.3, n. 5, p. 108-113. Mai  
31 2015.
- 32 DIMASI, J. A; HANSEN, R. W; GRABOWSKI, H. G. The price of innovation: new  
33 estimates of drug development costs. **Journal of Health Economics**. v.22, p. 151-  
34 185. Mai 2003.
- 35 DUARTE, T. L.; CARVALHO G. D. Esporotricose no Contexto de Saúde Única. **Anais**  
36 **do Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia**, 2021. 7  
37 f. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Gabriel-Carvalho->
- 38 DURAN, N; MARCATO, P. D; ALVES, O. L; SOUZA, G. H; ESPOSITO, E. Mechanistic

- 1 aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains.  
2 **Journal of Nanobiotechnology**. v.3, n.8, p. 1-7. Jul 2005.
- 3 DZURENOVA, S; LOSADA, C. B; DUPUY-GALET, B. X; FJAER, K; SHAPAVAL, V.  
4 Mucoromycota fungi as powerful cell factories for modern biorefinery. **Applied**  
5 **Microbiology and Biotechnology**. v.106, p. 101-115. 2022.
- 6 ESPINEL-INGROFF, A.; FOTHERGILL, A.; PETER, J.; RINALDI, M. G.; WALSH, T.  
7 J. Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new  
8 and established antifungal agents for *Aspergillus* spp.: NCCLS collaborative study.  
9 **Journal of Clinical Microbiology**. v. 40, n. 9, p. 3204-3208, 2002.
- 10 ESSGHAIER, B; DRIDI, R; MOTTOLA, F; ROCCO, L; ZID, M. F; HANNACHI, H.  
11 Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from the Extremophile Plant  
12 *Aeonium haworthii* and Their Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Diabetic Capacities.  
13 **Nanomaterials**. v.13, n.100, p. 1-17. 2023.
- 14 ETCHECOPAZ, A.; Toscanini, MA; Gisbert, A.; Mas, J.; Scarpa, M.; Iovannitti, CA;  
15 Bendezú, K.; Nusblat, AD; Iachini, R.; Cuestas, ML *Sporothrix brasiliensis* : Uma  
16 revisão de um patógeno fúngico emergente da América do Sul, sua doença  
17 relacionada, apresentação e disseminação na Argentina. *J. Fungi* 2021 , 7 , 170.
- 18 FERREIRA, C.P. Descrição de aspectos clínicos e laboratoriais de pacientes com  
19 esporotricose e leishmaniose tegumentar americana, com ênfase em mulheres  
20 grávidas. p. 112. Tese de Dissertação, **Instituto Nacional de Infectologia Evandro**  
21 **Chagas, Fundação Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 2016.
- 22 FILHO, Marcos Adelino Almeida, et al. Epidemiologia das micoses subcutâneas em  
23 um serviço público de referência dermatológica em Fortaleza, Ceará, Brasil. 2020. 11  
24 f. SaBios: **Rev. Saúde e Biol.**, v.15, n.1, p.7-17, jan./abr., 2020,
- 25 FISHER, M.C; IZQUIERDO, A. A; BERMAN, J; BICANIC, T; BIGNELL, E. M;  
26 BOWYER, P; BROMLEY, M; BRUGGEMANN, R; GARBER, G; CORNELLY, O. A;  
27 GURR, S. J; HARRISON, T. S; KUIJPER, E; RHODES, J; SHEPPARD, D. C;  
28 WARRIS, A; WHITE, P. L; XU, J; ZWAAN, B; VERWEIJ, P. E. Tackling the emerging  
29 threat of antifungal resistance to human health. **Nature Reviews Microbiology**. v.20,  
30 p. 557-571, set 2022.
- 31 FONSECA, Xhaulla Maria Quariguasi Cunha. **EFEITO INIBITÓRIO DE ESTATINAS**  
32 **IN VITRO SOBRE CÉLULAS PLANCTÔNICAS E BIOFILMES DE ESPÉCIES DO**  
33 **COMPLEXO *Sporothrix schenckii***. 2020. 81 f. Dissertação (Mestrado em  
34 Microbiologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.
- 35 FORLANI, G. S. Thymomodulin in association with antifungal drugs in the therapy of  
36 cats with disseminated cutaneous sporotrichosis: a prospective study. **Ciência Rural**,  
37 **Santa Maria**, v.51, n. 6, 2021.
- 38 GAGLIARDI, P. C.; et al. Esporotricose Felina Disseminada: Relato de Caso,  
39 **Revista Multidisciplinar da Saúde**, v.5, n.4, p. 118–124, 2023.
- 40 GOMES, D M D. **Otimização da síntese verde de nanopartículas de prata para**  
41 **incorporação em gel antimicrobiano**. 2019. 89 fls. Dissertação (Mestrado em

- 1 Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.
- 2 GONDIM, A. L. C. L.; LEITE, A. K. A. Aspectos gerais da esporotricose em pequenos  
3 animais e sua importância como zoonose. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**.  
4 v. 10, n. 2, p. 37-44, 2020.
- 5 GONSALES, F. F.; et al. Direct PCR of lesions suggestive of sporotrichosis in felines.  
6 **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 5, p. 2001-  
7 2006. 2020.
- 8 GOVENDER NP, Maphanga TG, Zulu TG, Patel J, Walaza S, Jacobs C, Ebonwo JI,  
9 Ntuli s, Naicker SD, Thomas J. An outbreak of lymphocutaneous sporotrichosis among  
10 mine-workers in South Africa. **PLoS Negl Trop Dis**. 2015; 9:e0004096.
- 11 GRANDO, R. L; OLIVEIRA, A. C. D; FIERRO, I. M. O reposicionamento de fármacos  
12 como uma potencial estratégia para o tratamento da COVID-19. **Repositório**  
13 **Institucional da FIOCRUZ (ARCA)**. 2020.
- 14 GREMIÃO, I.D.F.; OLIVEIRA, M. M. E.; MIRANDA, L. H. M.; FREITAS, D. F. S.;  
15 PEREIRA, S. A. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerging**  
16 **Infectious Diseases**. v. 26, n. 3, 2020.
- 17 GREMIÃO, I. D. F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused  
18 by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**,  
19 [S. I.], v. 52, n. 1, p. 107–124, mar. 2021.
- 20 GUTIÉRREZ-GALVIS, M.; RAMÍREZ, C.; PÉREZ, L.; MORALES, D.; FERNÁNDEZ,  
21 A. *Sporothrix brasiliensis*: um patógeno emergente na esporotricose zoonótica no  
22 Brasil. **Mycoses**, v. 64, n. 7, p. 712–719, 2021. DOI: 10.1111/myc.13102.
- 23 GUTIERREZ-GALHARDO, M.C., FREITAS, D.F.S., DO VALLE, A.C.F., ALMEIDA-  
24 PAES, R., DE OLIVEIRA, M.M.E., ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. Epidemiological  
25 Aspects of Sporotrichosis Epidemic in Brazil. **Current Fungal Infection Reports**, v.9,  
26 n.4, p.238–245, 2015.
- 27 H. CAMPBELL K L. The pet lover's guide to cat & dog skin diseases. St Louis:  
28 **Elsevier; 2006**.  
29
- 30 HAERI, M. R; WHITE, K; QHAREBEGLOU, M; ANSAR, M. M; Cholesterol suppresses  
31 antimicrobial effect of statins. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**. v.18, n.12,  
32 p. 1253-1256. Dez 2015.
- 33 HARRISON, C. Coronavirus puts drug repurposing on the fast track. **Nature**  
34 **Biotechnology**. v.38, p. 379-391. Abr 2020.
- 35 HEKTOEN L, Perkins CF. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix*  
36 *schlenckii*. A new pathogenic fungus. *J Exp Med*. 1900; 7: 77.  
37 11. Sellera FP, Larsson CE. Etymologia: *Sporothrix schlenckii*. *Emerg Infect Dis*. 2019;  
38 25:1631.ZHANG, Xue; et al. A case of generalized superficial mycoses caused by  
39 *Trichophyton raubitschekii* in a Chinese patient. **Medical Mycology Case Reports**, v.  
40 8, p. 5–7, 2015.

- 1 HENDRIKS WH, Tartelin MF, Moughan PJ. Seasonal hair growth in the adult domestic  
2 cats (*Felis catus*). **Comp Biochem Physiol.** 1997;116A(1):29-35.  
3
- 4 HOFFMAN, K; PAWLOWSKA, J; WALTHER, G; WRZOSEK, M; HOOG, G. S; BENNY,  
5 G. L; KIRK, P.M; VOIGT, K. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision  
6 based on comprehensive multigene-genealogies. **Persoonia.** v.30, p. 57-76. Mar  
7 2013.
- 8 HOUNSA, C.-G.; Brandt, EV; Thevelein, J.; Hohmann, S.; Prior, BA Papel da Trealose  
9 na Sobrevivência de *Saccharomyces Cerevisiae* sob Estresse  
10 Osmótico. **Microbiologia** 1998 , 144 , 671–680.  
11
- 12 HULLA, J. E; SAHU, S. C; HAYES, A. W. Nanotechnology: History and future. **Human  
13 and Experimental Toxicology.** v.34, n.12, p. 1318-1321. 2015.
- 14 HWANG, I. S; LEE, J; HWANG, J. H; KIM, K. J; LEE, D. G. Silver nanoparticles induce  
15 apoptotic cell death in *Candida albicans* through the increase of hydroxyl radicals. **The  
16 FEBS Journal.** p. 1327-1338. Fev 2012.
- 17 IVANOV, M; CIRIC, A; STOJKOVIC, D. Emerging Antifungal Targets and Strategies.  
18 **International Journal of Molecular Sciences.** v.23, p. 1-26. Mar 2022.
- 19 IZQUIERDO, A A.; HOFFMANN, K.; HOOG, G S.; TUDELA, J L R.; VOIGT, K.;  
20 BIBASHI, E.; WALTHER, G. Species Recognition and Clinical Relevance of the  
21 Zygomycetous Genus *Lichtheimia* (syn. *Absidia* Pro Parte, *Mycocladius*). **Journal of  
22 Clinical Microbiology.** v.48, n.6, p.2154-2170, mar. 2010.
- 23 JAMKHANDE, P. G; GHULE, N. W; BAMER, A. H; KALASKAR, M. G. Metal  
24 nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and  
25 disadvantages, and applications. **Journal of Drug Delivery Science and  
26 Technology.** v.53, p. 1-11. Jul 2019.
- 27 JIA, J; ZHU, F; MA, X; CAO, Z. W; LI, Y. X; CHEN, Y. Z. Mechanisms of drug  
28 combinations: interaction and network perspectives. **Nature Reviews Drug  
29 Discovery.** v.8, p. 111-128. Fev 2009.
- 30 JONES, DS; Tobler, DJ; Schaperdoth, I.; Mainiero, M.; Macalady, JL Estrutura da  
31 comunidade de biofilmes subterrâneos nas cavernas termais sulfídicas de Acguasanta  
32 Terme, **Itália.** 2010 , 76 , 5902–5910.  
33
- 34 KALISHWARALAL, K; DEEPAK, V; RAMKUMARPANDIAN, S; NELLAIAH, H;  
35 SANGILIYANDI, G. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the culture  
36 supernatant of *Bacillus licheniformis*. **Materials Letters.** v.62, n.29, p. 4411-4413. Nov  
37 2008.
- 38 KAMAT, S; KUMARI, M. Emergence of microbial resistance against nanoparticles:  
39 Mechanisms and strategies. **Frontiers in Microbiology.** v.14. p. 1-9. Jan 2023.
- 40 KHAN, I; SAEED, K; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities.  
41 **Arabian Journal of Chemistry.** v. 12, n. 7, p. 908-931. 2017.
- 42 KHAN, S. U. SALEH, T. A; WAHAB, A; KHAN, M. H. U; KHAN, D; KHAN, W. U;

- 1 RAHIM, A; KAMAL, S; KHAN, F.U; FAHAD, S. Nanosilver: new ageless and versatile  
2 biomedical therapeutic scaffold. **International Journal of Nanomedicine**. v.13, p.  
3 733-762. 2018.
- 4 KWON-CHUNG, K.J.; BENNETT, J. E. Sporotrichosis In: **Medical Mycology**.  
5 **Philadelphia**: Lea & Febiger. p. 707-729, 1992
- 6 KUMAR, A; PRASAD, K. S. Role of nano-selenium in health and environment. **Journal**  
7 **of Biotechnology**. v.325, p. 152-163. Jan 2021.
- 8 KUMARI, Y; KAUR, G; KUMAR, R; SINGH, S. K; GULATI, M; KHURSHEED, R;  
9 CLARISSE, A; GOWTHAMARAJAN, K; KARRI, V. V. S; MAHALINGAM, R; GLOSH,  
10 D; AWASTHI, A; KUMAR, R; YADAV, A. K; KAPOOR, B; SINGH, P. K; PORWAL, K.  
11 D. O. Gold nanoparticles: New routes across old boundaries. **Advances in Colloid**  
12 **and Interface Science**. v.274, dez 2019.
- 13 KURNIADI, I.; WIJAYA, W. H.; TIMOTIUS, K. H. Malassezia virulence factors and their  
14 role in dermatological disorders. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et*  
15 *Adriatica*, v. 31, n. 2, p. 65–70, 2022.
- 16 LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS-VACCAR, E.M.; TAKAHASHI,  
17 N.; Tratado de Micologia Médica. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São**  
18 **Paulo**. v. 44, n. 04, 2002.
- 19 LANSDOWN, A. B. G. Silver in Health Care: Antimicrobial Effects and Safety in Use.  
20 **Current Problems in Dermatology**. v.33, p. 17-34. 2006.
- 21 LARA, H. H; URBINA, D. G. R; PIERCE, C; RIBOT, J. L. L; JIMENEZ, M. J. A,  
22 YACAMAN, M. J. Effect of silver nanoparticles on *Candida albicans* biofilms: an  
23 ultrastructural study. **Journal of Nanobiotechnology**. v.13, n.91. p. 1-12. 2015.
- 24 LATGÉ, JP Degustação da parede celular fúngica. **Microbiol celular**. 2010 , 12 ,  
25 863–872.  
26
- 27 LEE, Y.H; CHENG, F. Y; CHIU, H. W; TSAI, J. C; FANG, C. Y; CHEN, C. W; WANG,  
28 Y. J. Cytotoxicity, oxidative stress, apoptosis and the autophagic effects of silver  
29 nanoparticles in mouse embryonic fibroblasts. **Biomaterials**. v.35, p. 4706-4715. Mar  
30 2014.
- 31 LEONG, C; CHAN, J. W. K; LEE, S. M; LAM, Y. I; GOH, J. P. Z; IANIRI, G; DAWSON,  
32 T. L. Azole Resistance Mechanisms in Pathogenic *Malassezia furfur*. **Antimicrobial**  
33 **Agents and Chemotherapy**. v.65, p. 1-15. Abr 2021.
- 34 LI, Q; LIU, F; LI, M; CHEN, C; GADD, G. M. Nanoparticle and nanomineral production  
35 by fungi. **Fungal Biology Reviews**. v.41, p. 31-44. 2022.
- 36 LIMA, W. G; RAMOS-ALVES, M. C; SOARES, A. C. Dos distúrbios psiquiátricos à  
37 antibioticoterapia: reposicionamento da clorpromazina como agente antibacteriano.  
38 **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacêuticas**. v.48, n.5, p. 5-28. 2019.
- 39 LOPES-BEZERRA, LM; Walker, LA; Niño-Vega, G.; Mora-Montes, HM; Neves,  
40 GWPP; Villalobos-Duno, H.; Barreto, L.; Garcia, K.; Franco, B.; Martínez-Álvarez, JA;

- 1 et al. Paredes celulares dos fungos patogênicos dimórficos *Sporothrix*  
2 *schenckii* e *Sporothrix brasiliensis* exibem estruturas bilaminadas e descamação de  
3 camadas extensas e intactas. **PLoS Negl. Trop. Dis.** 2018 , 12 , e0006169.
- 4
- 5 LOZOYA-PÉREZ, NE; Garcia-Carnero, LC; Martínez-Álvarez, JA; Martínez-Duncker,  
6 I.; Mora-Montes, HM *Tenebrio molitor* como modelo alternativo para análise da  
7 virulência de espécies de *Sporothrix* . **Infectar. Resistência às Drogas.** 2021 , 14 ,  
8 2059–2072.
- 9
- 10 LUSHCHAK, V. I. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and  
11 animals. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C.** v.153. p. 175-190.  
12 2011.
- 13 LUTZ, A.; SPLENDORE, A. Sobre uma micose observada em homens e ratos.  
14 **Revista de Medicina.** v. 21, p. 433–50, 1907.
- 15 LYRA, G. M. de M.; NUNES, J. M. de C.; PESTANA, E. M. dos S.; MATOS, J. C. G.  
16 de; CAIRES, T. A.; JESUS, P. B. de; COSTA, E. da S.; OLIVEIRA, M. C. Diversity of  
17 Gracilariaceae (Rhodophyta) in Brazil: integrating morphological and molecular data.  
18 **Phytotaxa**, v. 496, n. 1, p. 1–53, 9 abr. 2021.
- 19 MACÊDO-SALES, P. A. et al. Domestic feline contribution in the transmission of  
20 *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-  
21 infected populations. **BMC Veterinary Research**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 19,  
22 dez. 2018.
- 23 MARIMON, R., GENÉ, J., CANO, J., TRILLES, L., DOS SANTOS, L.M., GUARRO J.  
24 Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*. **Journal of Clinical Microbiology.** v.44,  
25 n.9, p.3251-3256, 2006.
- 26 MÁRIO, DAN, Santos, RCV, Denardi, LB, et al. (2016) Interferência da melanina no  
27 perfil de suscetibilidade de espécies de *Sporothrix* à anfotericina B. **Revista**  
28 **Iberoamericana de Micología.** 33(1), 21–25.
- 29 MARTINS, E. A; GUERRER, L. V; CUNHA, K. C; SOARES, M. M. C. N; ALMEIDA, T. G.  
30 Onicomiose: estudo clínico, epidemiológico e micológico no município de São José  
31 do Rio Preto. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v.40, n.5, p.  
32 596-598, out 2007.
- 33 MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, JA; Pérez-García, LA; Mellado-Mojica, E.; López, MG;  
34 Martínez-Duncker, I.; López-Bezerra, LM; Mora-Montes, HM *Sporothrix*  
35 *schenckii* Sensu Stricto e *Sporothrix brasiliensis* são reconhecidos diferencialmente  
36 por células mononucleares do sangue periférico humano. **Frente.**  
37 **Microbiol.** 2017 , 8 , 843.
- 38
- 39 MARX, D. E; BARILLO, D. J. Silver in medicine: The basic Science. **Science Direct.**  
40 p. 9-18. 2014.
- 41 MATOUSEK JL, CAMPBELL KL. A comparative review of cutaneous pH. **Vet**  
42 **Dermatol.** 2002; 13:293-300.

- 1 MCGUINNESS, S. L. et al. Epidemiological investigation of an outbreak of cutaneous  
2 sporotrichosis, Northern Territory, Australia. **BMC Infectious Diseases**, [S. l.], v. 16,  
3 n. 1, p. 16, dez. 2016.
- 4 MEDEIROS, F; CREPALDI, N; TOGNOLI, L; PEREIRA, R. E. P. Dermatofitos –  
5 Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v.7,  
6 n.12, jan 2009.
- 7 MÉDICI, S; PEANA, M; CRISPONI, G; NURCHI, V. M; LACHOWICZ, J. I; REMELLI,  
8 M; ZORODDU, M. A. Silver coordination compounds: a new horizon in medicine.  
9 **Coordination Chemistry Reviews**. p. 1-23. Mai 2016.
- 10 MISONO, Takeshi. Dynamic Light Scattering (DLS). In: ABE, Masahiko.  
11 **Measurement Techniques and Practices of Colloid and Interface Phenomena**. 1ª  
12 Edição. Springer, 2019. p. 65-69,2019.
- 13 MOHANTA, Manas Ranjan; et al. Dermatophyte infection: From pathogenesis to host-  
14 pathogen interaction. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 2, p. 123, 2023.
- 15 MOORE, David; ROBSON, Geoffrey D; TRINCI, Anthony P. J. **21 St Century**  
16 **Guidebook to Fungi International Edition**. 2ª Edição. Cambridge: Cambridge  
17 University Press, 2020.
- 18 MOORE, J. P. A; PROFFITT, R. T; Amphotericin B lipid preparations: what are the  
19 differences? **Clinical Microbiology and Infection**. v.14, n. 4, p. 25-36,2008.
- 20 MORAES, D. C; PEREIRA, A. F. Insights on the anticandidal activity of non-antifungal  
21 drugs. **Journal de Mycologie Médicale**, 29., p. 253-259, jul 2019.
- 22 MORANDI, Diego Henrique. **Síntese, caracterização e potencial antifúngico de**  
23 **nanopartículas de prata biogênicas produzidas por *Lichtheimia ornata* contra**  
24 **fungos dermatofitos**. 2021. 46 fls. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em  
25 Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2021.
- 26 MORIELLO, K. Dermatophytosis in cats and dogs: a practical guide to diagnosis and  
27 treatment. **In Practice**, v. 41, n. 4, p. 138–147. 2019.
- 28 MOUSAVI, S. A. A., PhD; POURTALEBI, S., MSc. Inhibitory effects of silver  
29 nanoparticles on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus parasiticus*. **Iranian**  
30 **journal of medical sciences**, v. 40, n. 6, p. 501–506, 2015.
- 31 NAKASU, C. C. T.; et al. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-  
32 resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52.  
33 p. 163-171, 2020
- 34 NANOTECHNOLOGY JD. Disponível em: <https://nanotechnologyjd.weebly.com>.
- 35 NIVOIX, Y; LEDOUX, M. P; HERBRECHT, R. Antifungal Therapy: New and Evolving  
36 Therapies. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**. v.41, n.1, p. 158-  
37 174. 2020.
- 38 NOWOSIELSKI, M.; et al. Detailed mechanism of squalene epoxidase inhibition by

- 1 terbinafine. **Journal of Chemical Information and Modeling, New York**, v. 51, n. 2,  
2 p. 455–462, 2011. DOI: 10.1021/ci100403b.
- 3 NYILASI, I; KOCSUBÉ, S; KRIZSAN, K; GALGOCZY, L; PAPP, T; PESTI, M; NAGY,  
4 K; VAGVOLGYI, C. Susceptibility of clinically important dermatophytes against statins  
5 and different statin-antifungal combinations. **Medical Mycology**. p. 1-9. Jul 2013.
- 6 OLDFIELD, E. C. Treatment of Systemic Mycoses. **The Mycoses**. p. 689-695. 2020.
- 7 OLIVEIRA, V. M. L. de; PIMENTEL, K. G. B.; SILVA, J. O. da; CUNHA, A. C. da;  
8 GUIMARÃES, N. E. de S.; FERNANDES, F. H. A. Aplicação do método checkerboard  
9 para avaliação de sinergismo antibacteriano em óleos essenciais: Uma revisão.  
10 **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Managment**. v. 17, n. 4, p. 881 -  
11 907, 2021.
- 12 OROFINO-COSTA, Rosane; et al. Human sporotrichosis: recommendations from the  
13 Brazilian Society of Dermatology for the clinical, diagnostic and therapeutic  
14 management. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, n. 6, p. 757–777, 2022.
- 15 OSAKI, S.C.; SNAK, A.; PEREIRA, P. Considerações sobre zoonoses em cães e  
16 gatos. In: Doenças Infecciosas na Rotina de Cães e Gatos no Brasil. 1ª ed. Curitiba:  
17 Medvep, p. 303, 2018.
- 18 PADDA, Inderbir. S; PARMAR, Mayur. **Flucytosine**. Disponível em:  
19 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557607/> Acesso em: 02 abr. 2023.
- 20 PAPPAS, P. G. et al. Sporotrichosis in Peru: Description of an Area of  
21 Hyperendemicity. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 65–70, 2000.
- 22 PAN, J; TSUI, C; LI, M; XIAO, K; HOOG, S; VERWEIJ, P. E. First Case of  
23 Rhinocerebral Mucormycosis Caused by *Lichtheimia ornata*, with a Review of  
24 *Lichtheimia* Infections. **Mycopathologia**. v.185, p. 555-567. Mai 2020.
- 25 PARASHAR, U. K; SAXENA, P. S; SRIVASTAVA, A. Bioinspired Synthesis Of Silver  
26 Nanoparticles. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**. v.4, n.1, p. 159-  
27 166. mar 2009.
- 28 PAVÓN, D. A; SANDOVAL, E. S; ACOSTA, B. R; IBARRA, J. A; TAMARIZ, J;  
29 RODRIGUES, C. H; TANACA, L. V. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A  
30 reductases from fungi: A proposal as a therapeutic target and as a study model.  
31 **Revista Iberoamericana de Micología**. v.31, n.1, p. 81-85. 2014.
- 32 PEANO, A; JOHNSON, E; CHIAVASSA, E; TIZZANI, P; GUILLOT, J. PASQUETTI, M.  
33 Antifungal Resistance Regarding *Malassezia pachydermatis*: Where Are We Now.  
34 **Journal of Fungi**. v.6, n.93. p. 1-26. Jun 2020.
- 35 PEDERSEN, T. R; TOBERT, J. A. Simvastatin: a review. **Expert Opinion**. v.5, n.12,  
36 p. 2583-2596. 2004.
- 37 PERCIVAL, SL; Emanuel, C.; Corte, KF; Williams, DW Microbiologia da pele e o papel  
38 dos biofilmes na infecção. *Int. Wound J.* 2012 , 9 , 14–32.  
39

- 1 PERLIN, D. S; RICHARDSON, R. R; IZQUIERDO, A. A. The global problem of  
2 antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. **Lancet Infectious**  
3 **Diseases**. v.17, p. 383-392. Jul 2017.
- 4 PETRUCELLI, M. F; ABREU, M. H; CANTELLI, B. A. M; SEGURA, G. G; NISHIMURA,  
5 F. G; BITENCOURT, T. A, MARINS, M; FACHIN, A. L. Epidemiology and Diagnostic  
6 Perspectives of Dermatophytoses. **Journal of Fungi**. v.6, n.310, p. 1-15, nov 2020.
- 7 PEYTON, L. R; GALLAGHER, S; HASHEMZADEH, M. Triazole Antifungals: A Review.  
8 **Drugs of Today**. v.51, n.12, p. 705-718. 2015.
- 9 PITT, John I; HOCKING, Ailsa D. **Fungi and Food Spoilage**. 3ª Edição. Nova York:  
10 Springer, 2009.
- 11 PRABHU, S.; POULOSE, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial  
12 action, synthesis, medical applications and toxicity effects. **International Nano**  
13 **Letters**, v. 2, n. 1, p. 32, 2012.
- 14 PORTUGUÊS ETCHECOPAZ, A.; Toscanini, MA; Gisbert, A.; Mas, J.; Scarpa, M.;  
15 Iovannitti, CA; Bendezú, K.; Nusblat, AD; Iachini, R.; Cuestas, ML *Sporothrix*  
16 *brasiliensis* : Uma revisão de um patógeno fúngico emergente da América do Sul, sua  
17 doença relacionada, apresentação e disseminação na Argentina. **J. Fungi 2021 , 7 ,**  
18 **170.**
- 19
- 20 POWELL, K.; HODGES, B. E. Epidemic sporotrichosis. **JAMA**, [S. l.], v. 217, n. 3, p.  
21 340, 19 jul. 1971.
- 22 PUSHPAKOM, S; IORIO, F; EYERS, P. A; ESCOTT, K. J; HOPPER, S; WELLS, A;  
23 DOIG, A; GUILLIAMS, T; LATIMER, J; MCNAMEE, C; NORRIS, A; SANSEAU, P;  
24 CAVALLA, D; PIRMOHAMED, M. Drug repurposing: progress, challenges and  
25 recommendations. **Nature Reviews Drug Discovery**. Out 2018.
- 26 QAMAR, S. U. R; AHMAD, J. N. Nanoparticles: Mechanism of biosynthesis using plant  
27 extracts, bacteria, fungi, and their applications. **Journal of Molecular Liquids**. v.334.  
28 p. 1-12. Abr 2021.
- 29 RAMAGE, G.; Rajendran, R.; Sherry, L.; Williams, C.; Ramage, G.; Rajendran, R.;  
30 Sherry, L.; Williams, C. Resistência do biofilme fúngico. **Int. J. Microbiol.** 2012 , 2012 ,  
31 528521.
- 32 RAZAK, N. H. A; MALEK, N. A. N. N; MATMIN, J; DAGANG, W. R. Z. W; ZAWAWI, N.  
33 A; CHUNDAWAT, T. S. Brief Review on Bioresources Green Synthesis of Silver  
34 Nanoparticles. **Journal of Advanced Research in Materials Science**. v.79, n.1, p. 1-  
35 10. Abr 2021.
- 36 READ, SI; Sperling, LC Esporotricose felina: transmissão ao homem. **Arch.**  
37 **Dermatol.** 1982 .
- 38 REIS, Guilherme Fonseca. **Produção, caracterização e atividade antimicrobiana**  
39 **de nanopartículas de prata biogênicas sintetizadas por *Lichtheimia ornata***. 2019.  
40 71 fls. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina,  
41 Paraná, Brasil, 2019.

- 1 RESTREPO, C. V; VILLA, C. C. Synthesis of silver nanoparticles, influence of capping  
2 agents, and dependence on size and shape: A review. **Environmental**  
3 **Nanotechnology, Monitoring & Management**. v.15, mai 2021.
- 4 REZNIK, A. U. Esporotricose felina. 2022. 21 f. Trabalho de Conclusão de Curso  
5 (Graduação em Medicina Veterinária e Zootecnia) –**Universidade Estadual**  
6 **Paulista**, Botucatu, SP, 2022.
- 7 RICHARDSON, M. The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental  
8 exposure. **Clinical Microbiology and Infection**. v.15, n.5, p. 2-9. 2009.
- 9 RHIMI, W; THEELEN, B; BOEKHOUT, T; OTRANTO, D; CAFARCHIA, C. *Malassezia*  
10 spp. Yeasts of Emerging Concern in Fungemia. **Frontiers in Cellular and Infection**  
11 **Microbiology**. v.10, p. 1-14. jul 2020.
- 12 ROCHA, R. F. D. B. Tratamento da esporotricose felina refratária com a associação  
13 de iodeto de potássio e itraconazol oral. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em  
14 Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) -**Instituto Nacional de Infectologia**  
15 **Evandro Chagas**. Rio de Janeiro, 2014.
- 16 ROCHA, L. F; BITTENCOURT, F. M; HERNANDES, K. M; GONÇALVES, S. M. B;  
17 RODRIGUES C. M. G; BERGAMO, V. Z; CALIL, L. N; MEZZARI, A. Epidemiological  
18 profile of cutaneous superficial mycoses in South, Brazil. **Scientific Electronic**  
19 **Archives**. v.11, n.2, p. 133-137. Abr 2018.
- 20 RODRIGUES, M. L; NOSANCHUK, J. D. Fungal diseases as neglected pathogens: A  
21 wake-up call to public health officials. **Plos Neglected Tropical Diseases**. v.14, n.2 p.  
22 1-9, 2020.
- 23 ROEMER, T; KRYSAN, D. J. Antifungal Drug Development: Challenges, Unmet  
24 Clinical Needs, and New Approaches. **Cold Spring Harbor Perspectives in**  
25 **Medicine**. v.4. p. 1-15. 2014.
- 26 ROY, A.; BULUT, O.; SOME, S.; MANDAL, A. K.; YILMAZ, M. D. Green synthesis of  
27 silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial  
28 activity. **Royal Society of Chemistry**. v.9, p. 2673-2702, 2019.
- 29 SANTOS, A. M. dos; et al. Perfil epidemiológico da mortalidade de pacientes  
30 internados por Covid-19 na unidade de terapia intensiva de um hospital universitário.  
31 **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 5, p. 45981–45992, maio 2021.  
32 DOI: 10.341117/bjdv7n5-155.
- 33 SANTOS, T.S; SILVA, T. M; CARDOSO, J. C; ALBUQUERQUE-JUNIOR, R. L.C;  
34 ZIELINSKA, A; SOUTO, E. B; SEVERINO, P; MENDONÇA, M. C. Biosynthesis of  
35 Silver Nanoparticles Mediated by Entomopathogenic Fungi: Antimicrobial Resistance,  
36 Nanopesticides, and Toxicity. **Antibiotics**. v.10, n.852, p. 1-13. Jul 2021.
- 37 SANTOS, Inês N.; et al. Dermatophytoses: a 16-year retrospective study in a  
38 metropolitan area in southern Brazil. **The Journal of Infection in Developing**  
39 **Countries**, v. 9, n. 8, p. 865–871, 2015..
- 40 SANTIN, R.; GIORDANI, C.; MADRID, I. M.; MATOS, C. B.; FREITAG, R. A.;

- 1 MEIRELES, M. C. A.; CLEFF, M. B.; MELLO, J. R. B. Atividade antifúngica do óleo  
2 essencial de *Origanum vulgare* frente a *Malassezia pachydermatis*. **Arquivo**  
3 **Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 66, n. 2, p. 367-373, 2014.
- 4 SARAVANAN, A; KUMAR, P. S; KARISHMA, S; VO, D. V. N; JEEVANANTHAM, S;  
5 YAASHIKAA, P. R; GEORGE, C. S. A review on biosynthesis of metal nanoparticles  
6 and its environmental applications. **Chemosphere**. v. 264, 2021.
- 7 SCANDORIEIRO, Sara. **Combinação de nanopartículas de prata biogênicas e**  
8 **derivados do *Origanum vulgare* (Orégano) no combate a bactérias**  
9 **multirresistentes e produtoras de biofilme**. 2020. 309 f. Tese (Doutorado em  
10 Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.
- 11 SCHALLER, U. C; KLAUSS, V. Is Crede's prophylaxis for ophthalmia neonatorum still  
12 valid?. **Public Health Classics**. v.79. n.3. p. 262-266. 2001.
- 13 SCHAMING, D; REMITA, H. Nanotechnology: from the ancient time to nowadays. In:  
14 NANOTECHNOLOGY: IRRATIONAL FEARS, REALISTIC EXPECTATIONS?. 2012,  
15 Local. **Anais [...]** Paris: Springer Science+Business Media, 2015.
- 16 SCHWARTZE, V. U; JACOBSEN, I. D. Mucormycoses caused by *Lichtheimia* species.  
17 **Mycoses**. v.57, n.3, p. 73-78. Fev 2014.
- 18 SEONG, M; LEE, D. G. Reactive oxygen species-independent apoptotic pathway by  
19 gold nanoparticles in *Candida albicans*. **Microbiological Research**. v.207, p. 33-40.  
20 2018.
- 21 SHAFIEI, M; PEYTON, LEE; HASHEMZADEH, M; FOROUMADI, A. History of the  
22 development of antifungal azoles: A review on structures, SAR, and mechanism of  
23 action. **Bioorganic Chemistry**. v. 104, p. 1-21. Ago 2020.
- 24
- 25 SHAHRAM, M; MAHMOUD, V; EBADOLLAH, M; ALIREZA, I; MEHRDAD, K;  
26 ALIREZA, D. In Vitro Antifungal Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles in  
27 Comparison to Conventional Antifungal Drugs Against *Trichophyton interdigitale*,  
28 *Trichophyton rubrum* and *Epidermophyton floccosum*. **Ingenta Connect**. v.21, n. 3, p.  
29 370-374. Fev 2021.
- 30 SHARMA, B; NONZOM, S. Superficial mycoses, a matter of concern: Global and  
31 Indian scenario-an updated analysis. **Mycoses**. v.64, p. 890-908, fev 2021.
- 32 SHNOUDEH, A. J; HAMAD, I; ABDO, R. W; QADUMII, L; JABER, A. Y; SURCHI, H.  
33 S; ALKELANY, S. Z. Synthesis, Characterization, and Applications of Metal  
34 Nanoparticles. In: TEKADE, Ralesh K. **Biomaterials and Bionanotechnology**. 1ª  
35 Edição. Academic Press, 2019. p. 528-585.
- 36 SCHENCK, B. R. Refractory subcutaneous abscess caused by a fungus possibly  
37 related to the Sporotricha. **Bulletin of the Johns Hopkins Hospital**. v. 9, p. 286-290,  
38 1898.
- 39 SHIVAPRAKASH, M. Rudramurthy; SHAW, Dipika; et al. MIC e limite superior de

- 1 distribuição de tipo selvagem para 13 agentes antifúngicos contra um complexo  
2 *Trichophyton mentagrophytes-Trichophyton interdigitale* de origem indiana.  
3 *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 64, n. 4, e01964-19, 2020. DOI:  
4 10.1128/AAC.01964-19.
- 5 SHUKLA, P. K; SINGH, P; YADAV, R. K; PANDEY, S; BHUNIA, S. S. Past, Present,  
6 and Future of Antifungal Drug Development. **Topics in Medicinal Chemistry**. p. 1-43.  
7 2016.
- 8 SIGLER, L.; HARRIS, J.L.; DIXON, D.M.; FLIS, A.L.; SALKN, I.F.; KEMNA, M.;  
9 DUNCAN, R.A. Microbiology and potential virulence os *Sporothrix cyanescens*, a  
10 fungus rarely isolated from blood and skin. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 28,  
11 n. 5, p. 1009-1015, 1990.
- 12 SILVA, T. H. G; FURTADO, R. X. S; ZAIAT, M; AZEVEDO, E. B. Tandem anaerobic-  
13 aerobic degradation of ranitidine, diclofenac, and simvastatin in domestic sewage.  
14 **Science of the Total Environment**. v.721, p. 1-10. Fev 2020.
- 15 SILVA, T. H. S; ARAÚJO, C. V; SANTOS, K. M. C; ALVES, N. S; GOMES, T. H. S;  
16 SILVA, A. K. F; SILVA, N. C. L. S; JÚNIOR, E. C. B. D; CARVALHO, A. M. A; MENDES,  
17 M. G. A; CAMINHA, H. B; DABOIT, T. C; FERREIRA, T. B; ANDRADE-SILVA, L. E;  
18 VERGARA, M. L. S; PAIM, K. F; FONSECA, F. M. Synergic effect of simvastatin in  
19 combination with amphotericin B against environmental strains of *Cryptococcus*  
20 *neoformans* from northeastern Brazil: a prospective experimental study. **São Paulo**  
21 **Medical Journal**. v. 138, n. 1, p. 40-46. 2020.
- 22 SILVA-BAILÃO, MG; Lima, PdS; Oliveira, MME; Oliveira, LC; Almeida-Paes, R.;  
23 Borges, CL; Bailão, AM; Coelho, ASG; Soares, CMdA; Zancopé-Oliveira, RM  
24 Proteômica Comparativa nas Três Principais Espécies Patogênicas Humanas do  
25 Gênero *Sporothrix* . **Micróbios infectam**. 2021 , 23 , 104762.  
26
- 27 SIRTORI, C. R. Pharmacology of statins: clinical relevance. **Expert Opinion on Drug**  
28 **Metabolism & Toxicology**, [S.l.], v. 10, n. 2, p. 217–227, fev. 2014. DOI:  
29 10.1517/17425255.2014.896893.  
30
- 31 SILVESTRE, G. S; GUTSCHOW, M. E. R. P; MEIRA, J; CUSTÓDIO, C. S; MOTHEO,  
32 T. F; PEREIRA, M. L. Prevalence of dermatopathies in dogs and cats in the highland  
33 of Santa Catarina State, Brazil. **Acta Veterinária Brasilica**. p. 220-224. Set 2021.
- 34 SLAVINE, A.; BACH, M. Antifungal resistance in dermatophytes: recent trends and  
35 therapeutic implications. **Current Fungal Infection Reports**, v. 16, n. 3, p. 204–212,  
36 2022.
- 37 SOARES, C. O. S.; SÉRVIO, S. M. C. Dermatofitose em cães e gatos e sua  
38 importância na saúde pública. **Revista Ibero-Americana de Humanidades**, Ciências  
39 e Educação, São Paulo, v. 8, n.10, 2022.
- 40 SOBRAL, F. E. S.; et al. Esporotricose –um problema real nos programas de  
41 controle populacional de animais domésticos. **Journal of Medicine and Health**  
42 **Promotion**. v. 4, n. 2, p. 1143 -1152, 2019.

- 1 SOUZA TM, Figuera RA, Kommers GD, Barros CSL. Aspectos histológicos da pele de  
2 cães e gatos como ferramenta para dermatopatologia. **Pesq Vet Bras**. 2009;29(2):177-  
3 90.  
4
- 5 STÜTZ, A. Allylamine Derivatives a New Class of Active Substances in Antifungal  
6 Chemotherapy. **Angewandte Chemie International Edition**. v.26, p. 320-328. 1987.
- 7 SULAIMAN, S; KHAMIS, M; NIR, S; LELARIO, F; SCRANO, L; BUFO, S. A; MECCA,  
8 G; KARAMAN, R. Stability and removal of atorvastatin, rosuvastatin and simvastatin  
9 from wastewater. **Environmental Technology**. p. 2-12. Mai 2015.
- 10 TAVAKKOLI, A; JOHNSTON, T. P; SAHEBKAR, A. Antifungal effects of statins.  
11 **Pharmacology & Therapeutics**, 208., p. 1-16, jan 2020.
- 12 TAVAKOLI, A; SOHRABI, M; KARGARI, A. A Review of Methods for Synthesis of  
13 Nanostructured Metals with Emphasis on Iron Compounds. **Chemical Papers**. v.61,  
14 n.3, p. 151-170. Jan 2007.
- 15 TAVARES, M. T; PRIMI, M. C; CARVALHO, C. F; POLLI, M. C; FILHO, R. P.  
16 ENTENDENDO O PROCESSO QUÍMICO DE BIOATIVAÇÃO DA SINVASTATINA  
17 POR MÉTODOS EXPERIMENTAIS E COMPUTACIONAIS: UMA AULA PRÁTICA.  
18 **Química Nova**. v.39, n.4, p. 502-506, fev 2016.
- 19 TERZIOGLU, E; ARSLAN, M; BALABAN, B. G; ÇAKAR, Z. P. Microbial silver  
20 resistance mechanisms: recent developments. **World Journal of Microbiology and  
21 Biotechnology**. v.38, n.158, p. 1-17. Jul 2022.
- 22 THEELEN, B; CAFARCHIA, C; GAITAINS, G; BASSUKAS, I. D; BOEKHOUT, T;  
23 DAWSON, T. L. *Malassezia* ecology, pathophysiology, and treatment. **International  
24 Society for Human and Animal Mycology**. v.56, p. 10-25, out 2017.
- 25 TOMCZYK, M. O. Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the  
26 binary mixtures. **Phytochemistry Reviews**. v. 19, p. 63-103. 2020.
- 27 TONON, Caroline Coradi. **Terpinen-4-ol: estudo do efeito sinérgico/aditivo,  
28 adesão em co cultura e alteração dos fatores de virulência em *Candida* spp.**  
29 2016.49 fls. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista,  
30 Araraquara. 2016.
- 31 TOTH, A; AUFSCHNAITER, A; FEDOTOVSKAYA, O; DAWITZ, H; ADELROTH, P;  
32 BUTTNER, S; OTT, M. Membrane-tethering of cytochrome c accelerates regulated cell  
33 death in yeast. **Cell Death & Disease**. v.11, n. 722, 2020.
- 34 VAN DAELE, R; SPRIET, I; WAUTERS, J; MAERTENS, J; MERCIER, T; VAN HECKE,  
35 S; BRUGGEMANN, R. Antifungal drugs: What brings the future?. **Medical Mycology**.  
36 v.57, p. 328-243, fev 2019.
- 37 VASCONCELOS, J. S. **Dermatopatias diagnosticadas em cães**. Tese (Doutorado  
38 em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos,  
39 2018.
- 40 VERMES, A; GUCHELAAR, H. J; DANKERT, J. Flucytosine: a Review of its

- 1 Pharmacology, Clinical Indications, Pharmacokinetics, Toxicity and Drug Interactions.  
2 **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v.46, p. 171-179. 2000.
- 3 VIEIRA, Gisely Spósito. **Análise sensorial: terminologia, desenvolvimento de**  
4 **padrões e treinamento de painelistas para avaliação de produtos cosméticos.**  
5 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- 6 VIJAYAKUMAR, R.; et al. Dermatophyte resistance to antifungal drugs: Mechanisms  
7 and prospectus. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 1, n. 4, p. 235–243,  
8 2013.
- 9 VILLALOBOS-DUNO, HL; Barreto, LA; Alvarez-Aular, Á.; Mora-Montes, HM; Lozoya-  
10 Pérez, NE; Franco, B.; Lopes-Bezerra, LM; Niño-Vega, GA Comparação da  
11 composição e estrutura do polissacarídeo da parede celular entre cepas de *Sporothrix*  
12 *schenkii* e *Sporothrix brasiliensis* . **Front. Microbiol.** 2021 , 12 , 2686.  
13
- 14 WHITE, T. C.; OLIVER, B. G.; GRASMUCK, G.; CHEN, Z. Lipolytic enzymes involved  
15 in the virulence of human pathogenic fungi. **Mycobiology**, v. 41, n. 2, p. 67–72, 2014.
- 16 WHITE, T. C.; et al. The prevalence of dermatophytes in Brazil: a systematic review.  
17 **Journal of Medical Microbiology**, v. 70, n. 3, 2021.
- 18 WICKHAM, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. **Springer-Verlag New**  
19 **York**, 2016
- 20 XIA, Z. K; MA, Q. H; LI, S. Y; ZHANG, D. Q; CONG, L; TIAN, Y. L; YANG, R. Y. The  
21 antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. **Science Direct**. p. 1-  
22 7. Abr 2014.
- 23 XIA, Jing; et al. Epidemiology and diagnosis of dermatophytosis in China. **Frontiers in**  
24 **Microbiology**, v. 7, p. 2024, 2016.
- 25 XUE, S.; Gu, R.; Que.; Zhang, M.; Wang, X. Iodeto de potássio oral para o tratamento  
26 da esporotricose. **Biblioteca Cochrane**. 2009.
- 27 XUE, F.; LI, X.; ZHANG, Y.; WANG, J. Advances in drug repurposing for the treatment  
28 of complex diseases: a comprehensive overview. **Drug Discovery Today, New York**,  
29 v. 23, n. 5, p. 1242–1250, 2018. DOI: 10.1016/j.drudis.2018.04.003.
- 30 YASSIN, Mohammed A.; et al. Advanced approaches for efficient treatment of  
31 dermatophytosis. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 9, p. 719, 2021.
- 32 ZHAN, Z; HE, Y; WANG, D; GAO, W. Low-temperature processing of Fe–Al  
33 intermetallic coatings assisted by ball milling. **Intermetallics**. v.14, p. 75-81. Ago 2005.
- 34 ZHAN, Ping; et al. Dermatophyte resistance to antifungal drugs: Mechanisms and  
35 prospectus. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 1, n. 4, p. 235–243,  
36 2013.
- 37 ZHAN, F.; OU, R.; LI, H.; ZHANG, Y. Mechanochemical synthesis of metal and alloy  
38 powders using high-energy ball milling. **Advanced Powder Technology**, v. 17, n. 2,  
39 p. 135–140, 2006.

- 1
- 2
- 3