

# **Antifúngicos: Mecanismos de ação e de Resistência**

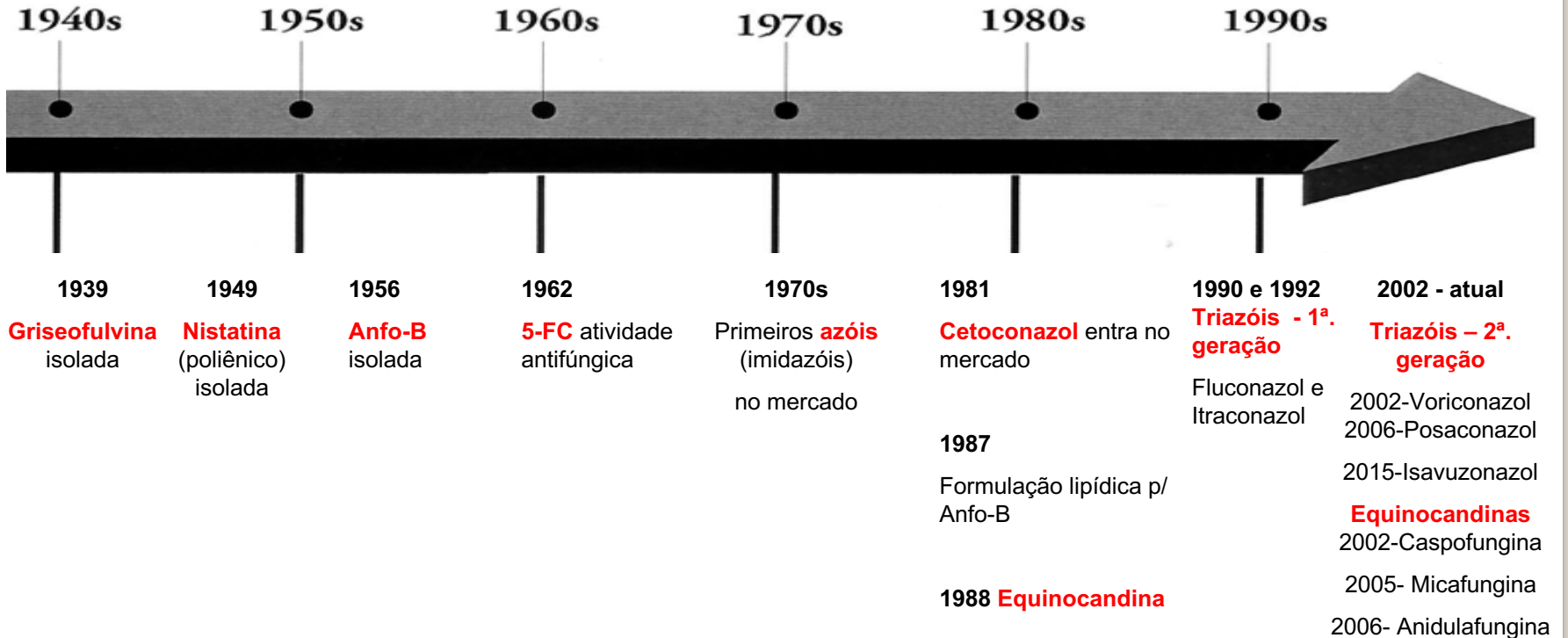
**Profa. Dra. Kelly Ishida**

Universidade de São Paulo  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Departamento de Microbiologia

# Classificação das micoses

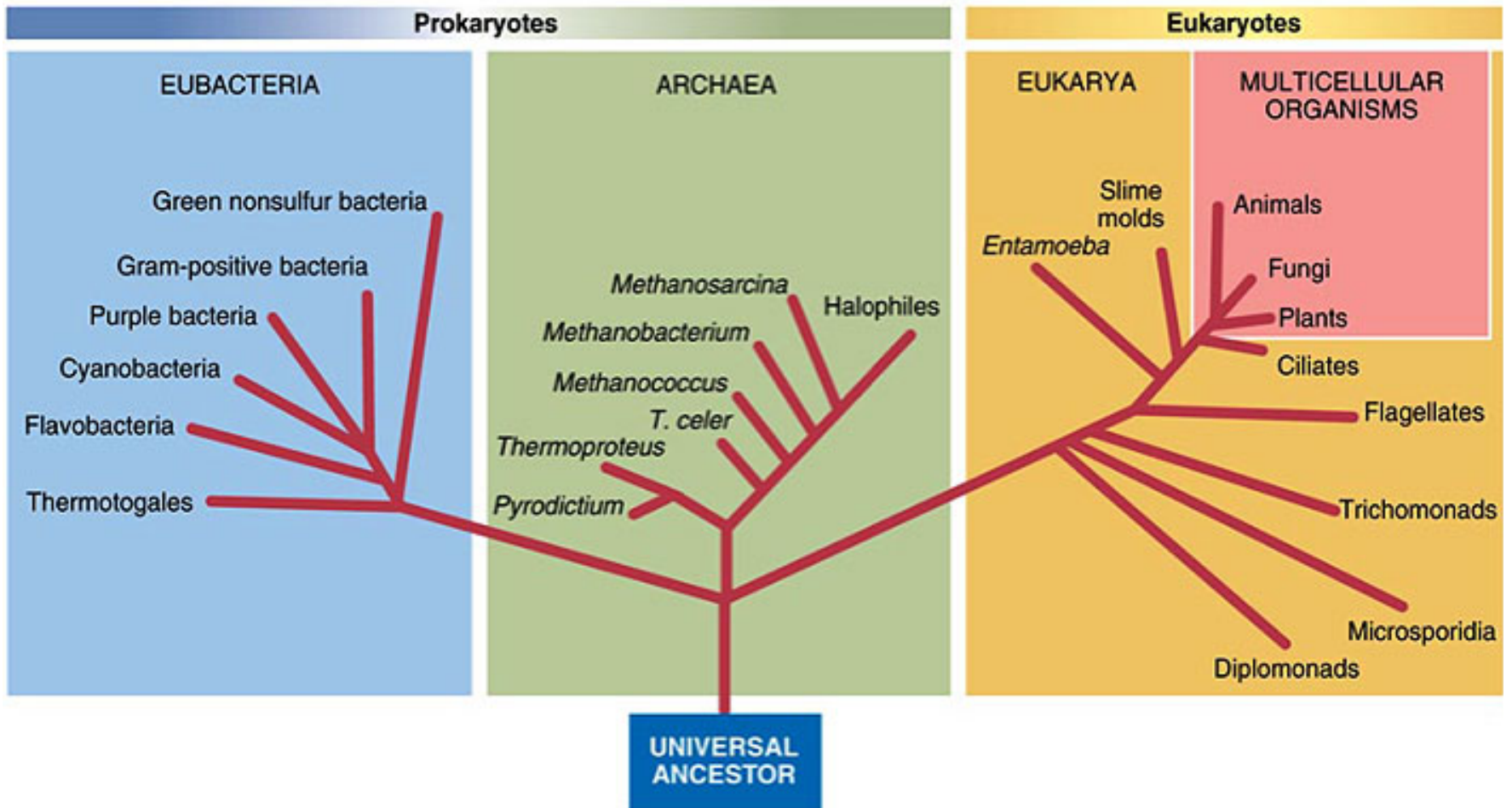
Micose	Tecido	Espécies
<b>Superficial</b>	Extrato córneo do tecido epitelial, pelo e cabelo	<i>Malassezia furfur</i> <i>Hortaea werneckii</i> <i>Piedraia hortae</i> <i>Trichosporon beigeli</i>
<b>Cutâneo</b>	Porções queratinizadas da pele, pelo e cabelo	<i>Trichophyton</i> spp. <i>Microsporum</i> spp. <i>Epidermophyton floccosum</i>
<b>Subcutâneo</b>	Derme, músculos e tecido conjuntivo	<i>Sporothrix</i> spp. <i>Fonsecaea pedrosoi</i>
<b>Sistêmico endêmico</b>	Inicia-se com uma infecção pulmonar podendo atingir qualquer órgão	<i>Paracoccidioides</i> spp. <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Coccidioides immitis</i>
<b>Sistêmico</b>	Qualquer tecido	<i>Candida</i> spp. <i>Cryptococcus</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Fusarium</i> spp. <i>Zigomycetes-Rhizopus</i> spp.

# Histórico – antifúngicos

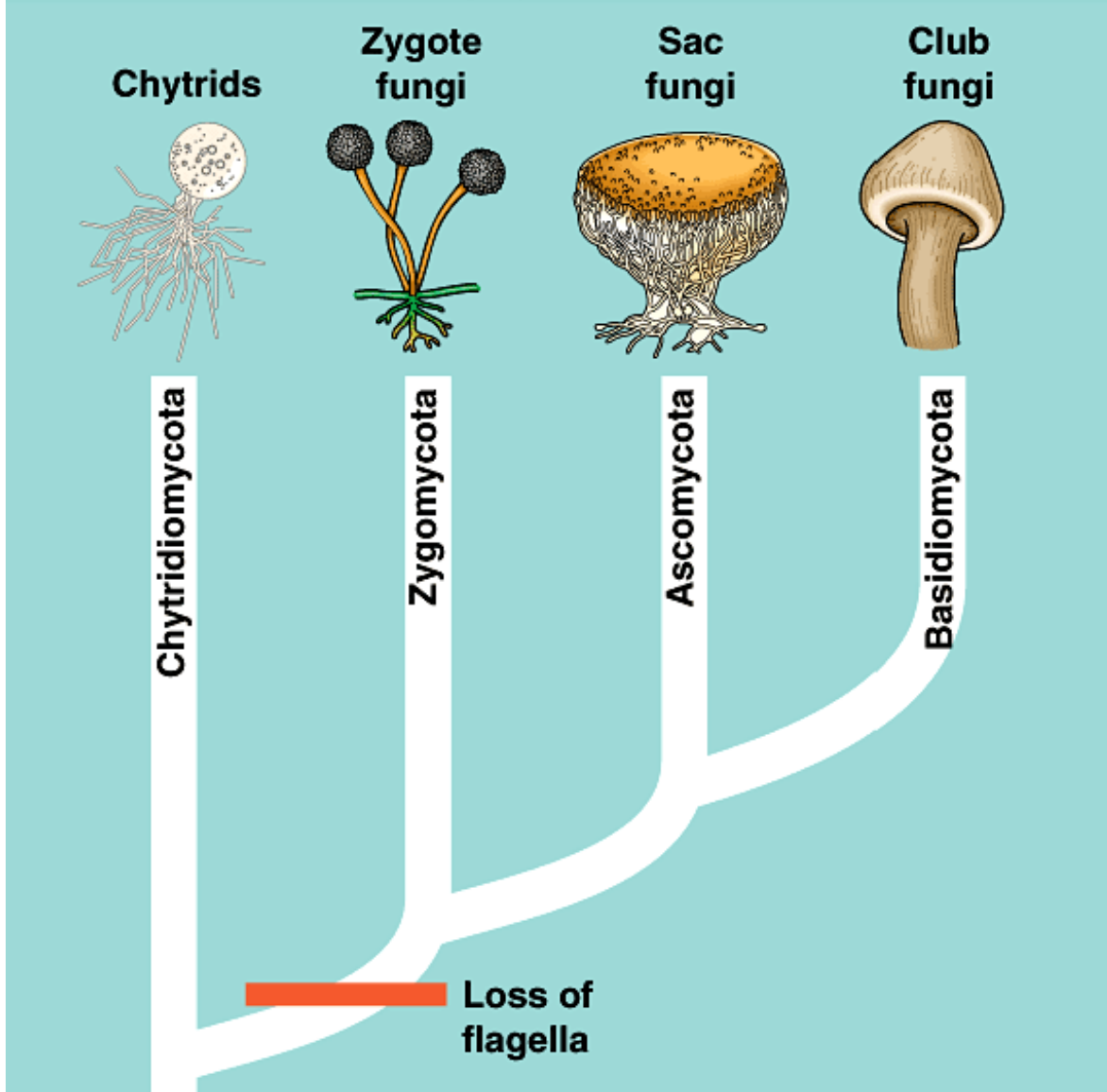


1903 – KI (iodeto de potássio)

# Domínio dos seres vivos



# Filos



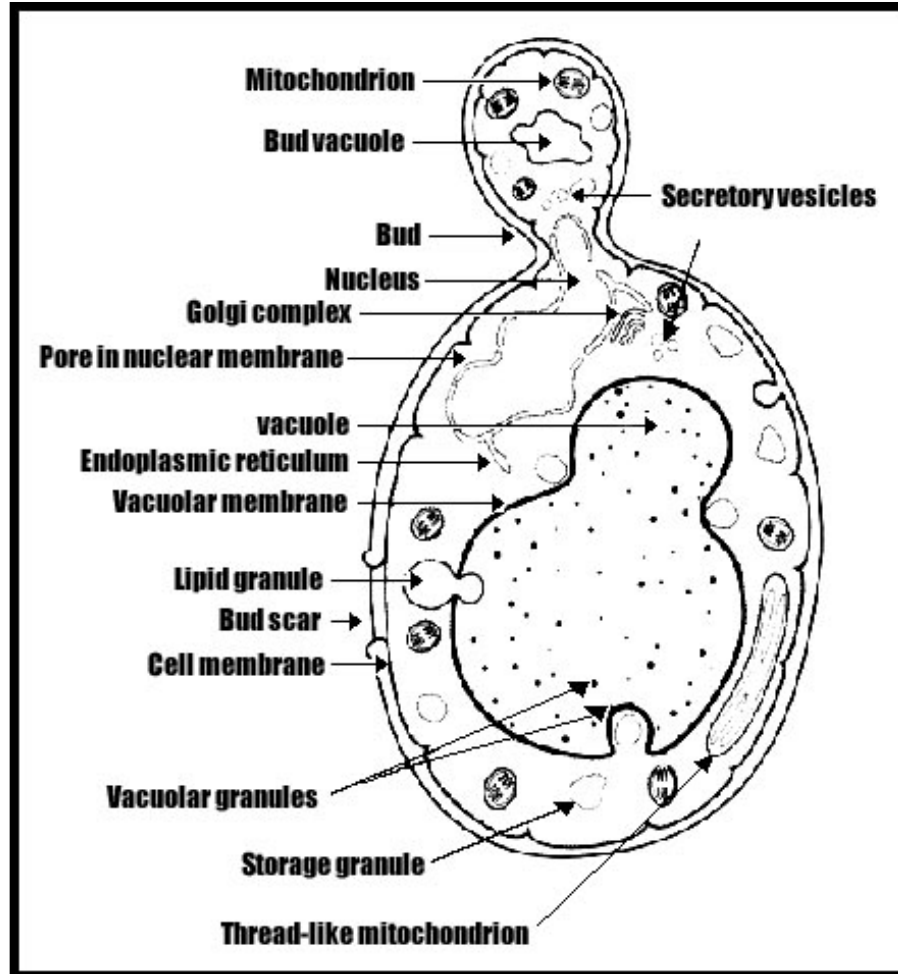
Originados de um único ancestral



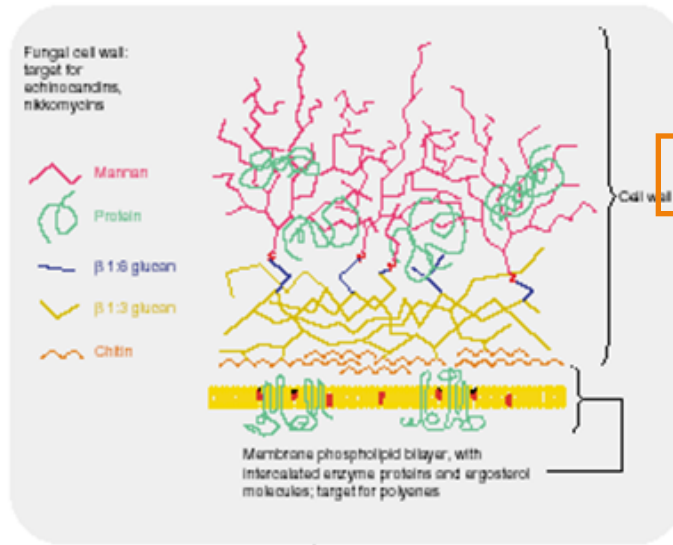
Grupo monofilogenético

“Fungos verdadeiros”

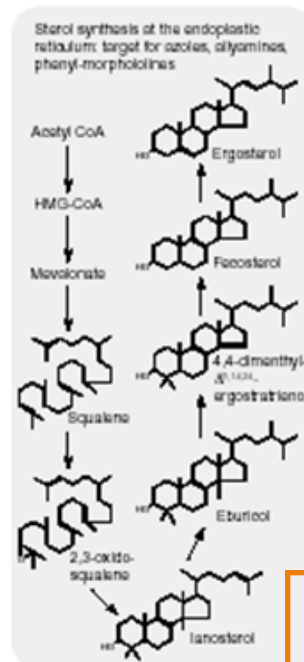
# A célula fúngica



# Alvos para a quimioterapia antifúngica



Equinocandinas



Poliênicos  
Azóis



DNA and RNA synthesis: targets for flucytosina

5-Fluorocitosina

Microtubulo assembly: target for griseofulvina

Griseofulvina

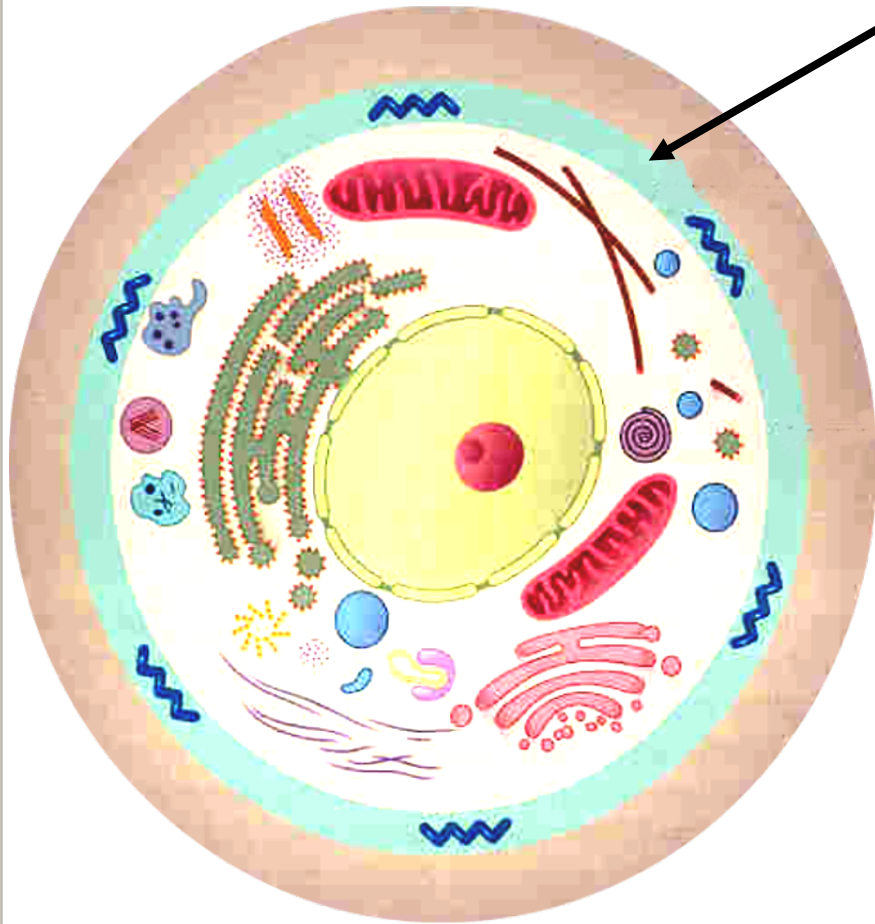
# O antifúngico ideal...

- Toxicidade seletiva  $\Rightarrow$   $\downarrow$  efeitos colaterais
- Amplo espectro de ação
- Não permita a seleção de amostras resistentes
- Não ser alérgeno (Efeito antigênico)
- Solúvel em água
- Boa estabilidade
- Boa farmacocinética (Absorção, distribuição, metabolismo e excreção)
- Baixo custo



# **Antifúngicos e Mecanismos de ação**

# Antifúngicos que agem na membrana celular

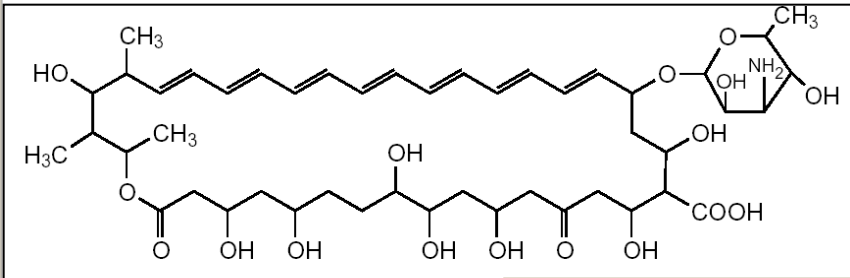


## Membrana celular

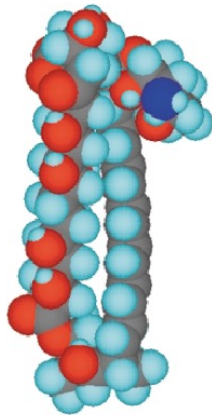
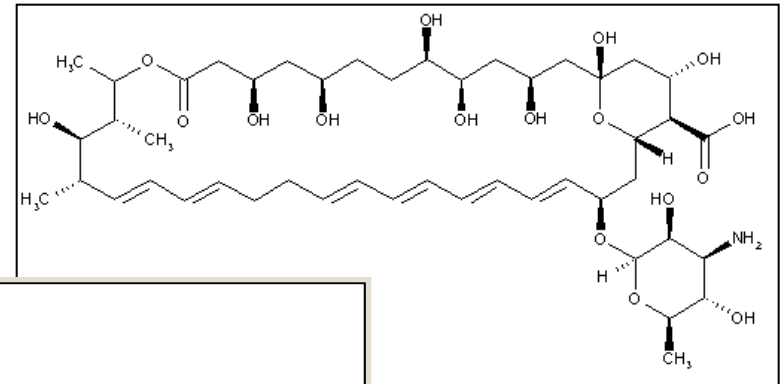
- **Poliênicos**
  - Anfotericina B e formulações lipídicas
  - Nistatina
- **Azóis**
  - Cetoconazol, Miconazol,
  - Fluconazol, Itraconazol
  - Voriconazol, Posaconazol
  - Albacozazol, Ravuconazol, Isavuconazol
- **Alilamina** (Terbinafina, butenafina)
- **Amorolfina**

# Ação sobre o ergosterol- agentes poliênicos

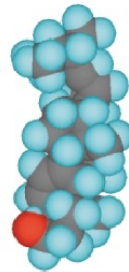
Anfotericina B



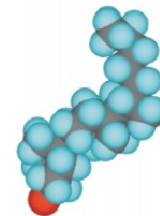
Nistatina



Anfotericina B



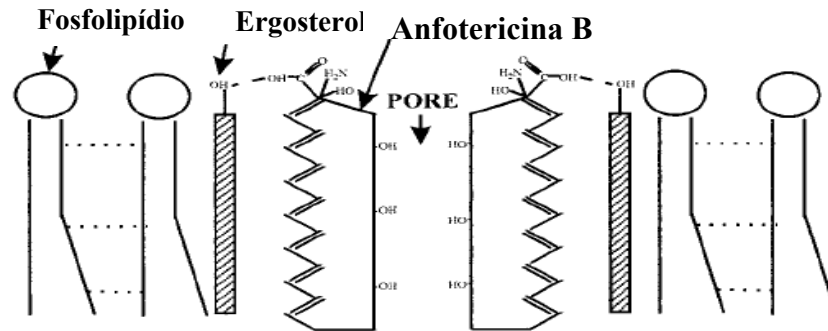
Ergosterol



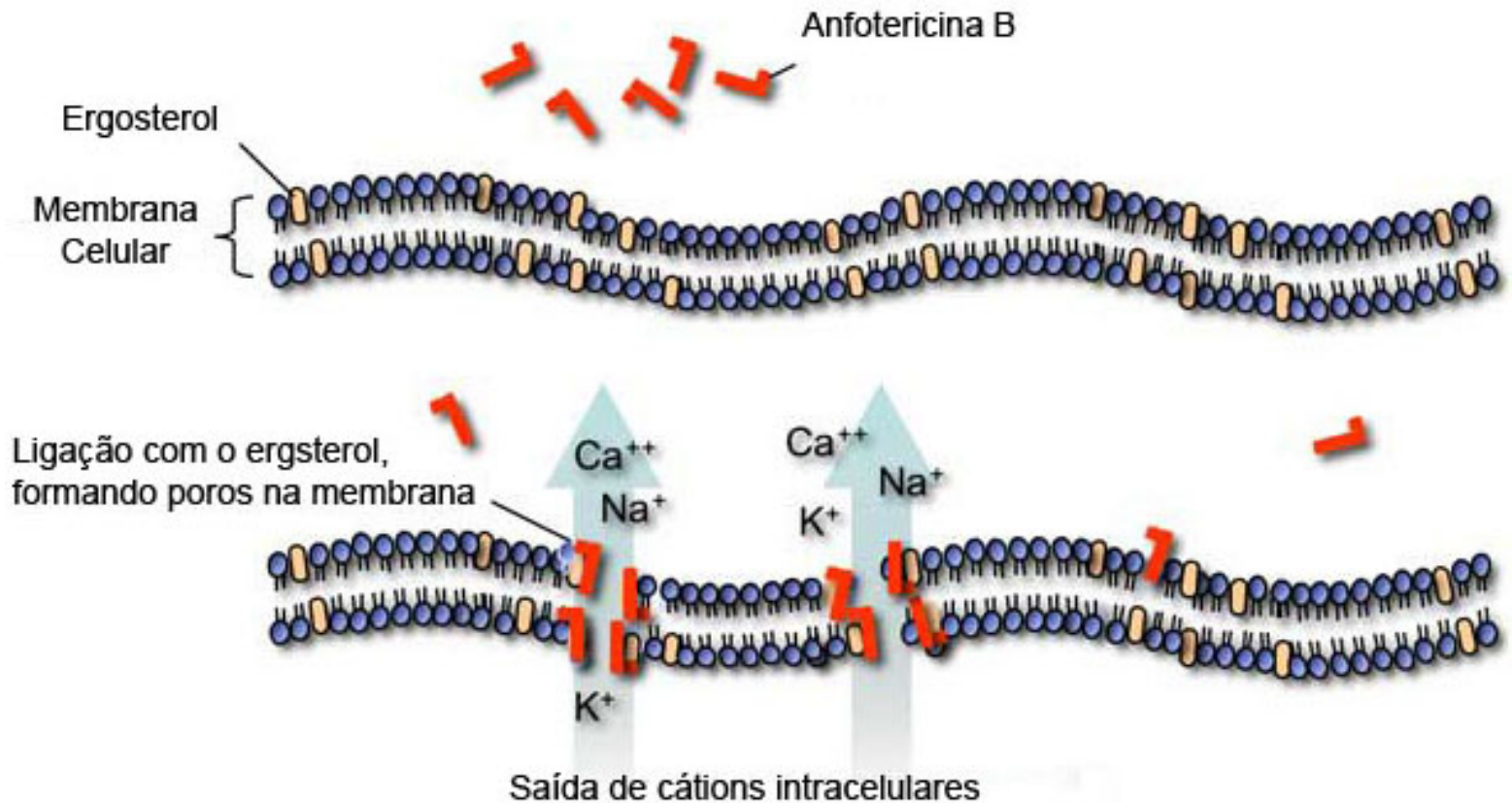
Colesterol

*TRENDS in Microbiology*

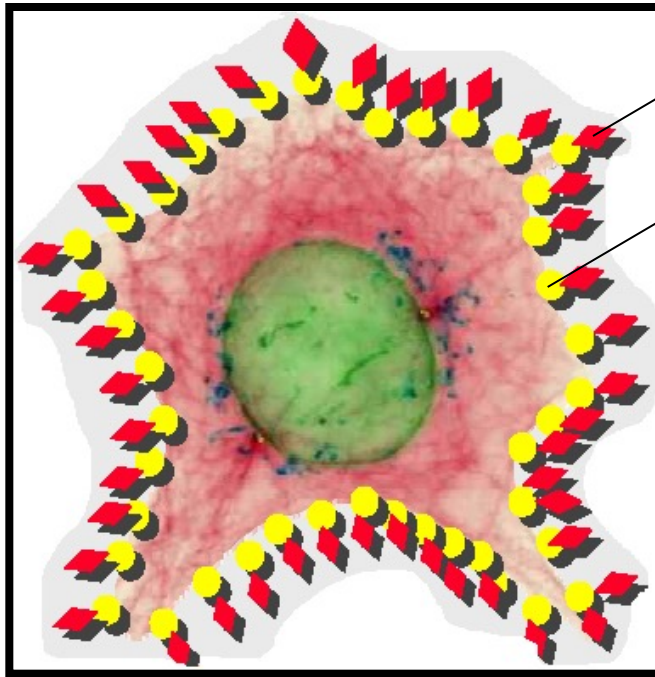
Odds *et al.* *TRENDS in Microbiology*, 11: 272-279, 2003.



Adaptado de White, 1998.

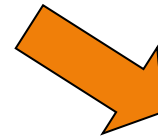


# Interações com células de mamíferos



Anfotericina B/Nistatina

Colesterol



**Nefrotoxicidade**

**Hepatotoxicidade**

**Cardiotoxicidade**

**Anemia hemolítica**

# Nistatina

- 1º poliênico (1949)
- Isolado de *Streptomyces noursei*
- Uso somente tópico – suspensão, pastilhas, pomadas, cremes
- Tratamento de dermatófitos e infecções mucocutâneas por *Candida*
- Altamente tóxico
- Má absorção mucocutânea
- Usado no tratamento de infecções mucocutâneas (Ex. lavagem bucal, SGI)
- Efeitos colaterais: Náuseas, vômito, diarreia com dose elevada

# Anfotericina B desoxicolato

- Isolado de *Streptomyces nodosus* (1956)

## - Desvantagem:

Muito tóxica, < nistatina

## - Vantagens

Amplo espectro de ação

Fungicida

Baixo custo

espectro de ação:

- *Candida* spp. (exceto *C. lusitaniae*)
- *Cryptococcus* spp.
- Fungos dimórficos
- *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp.
- Fungos negros, Zigomicetos

Não tem espectro para:

- *Trichosporon* spp.
- *Fusarium* spp.

- Formulação Tópica e Endovenosa

- Efeitos adversos:

Agudos - febre, calafrio, vômito, náusea, cefaléia

Crônicos - Nefrotoxicidade (50% dos pacientes), anemia, efeito neurotóxico.

Nistatina - Uso tópico e altamente tóxico  
Anfotericina B desoxicolato - tópico e IV

Nistatina lipossomal (Nyotran)

Anfotericina B lipossomal (L-AMB, Ambissome)

Anfotericina B dispersão coloidal (ABCD –  
Amphocil ou Amphotec)

Anfotericina B Complexo lipídico (ABLCL, Abelcet)



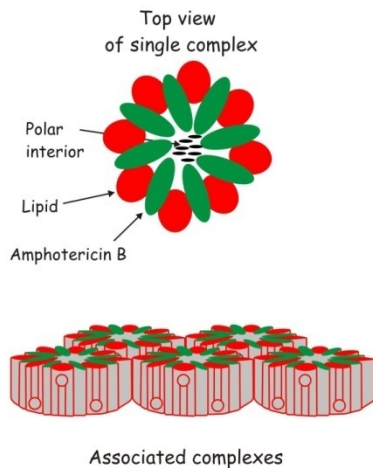
**Eficácia semelhante a  
AMB desoxicolato**

**↓↓ Efeitos colaterais**



# Formulações lipídicas da AMB desoxicolato

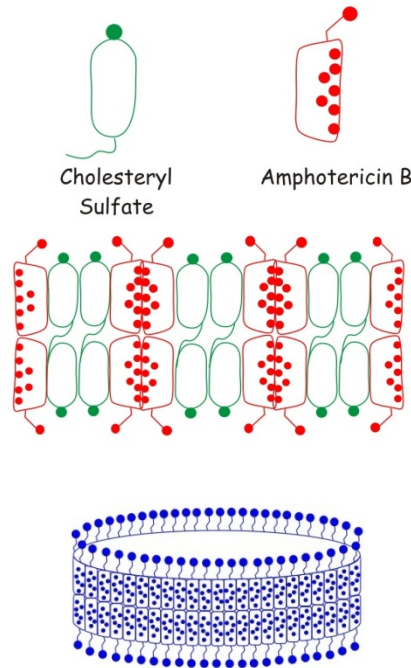
## Abelcet<sup>®</sup> ABLC Complexo lipídico



**Ribbon-like particles**  
Carrier lipids: DMPC, DMPG  
Particle size (µm): 1.6-11

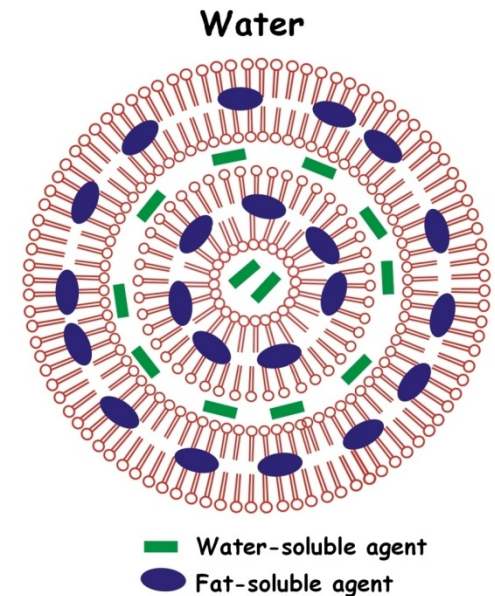
DMPC-Dimyristoyl phosphatidylcholine  
DMPG- Dimyristoyl phosphatidylglycerol

## Amphotec<sup>®</sup> ABCD Dispersão coloidal



**Disk-like particles**  
Carrier lipids: Cholesteryl sulfate  
Particle size (µm): 0.12-0.14

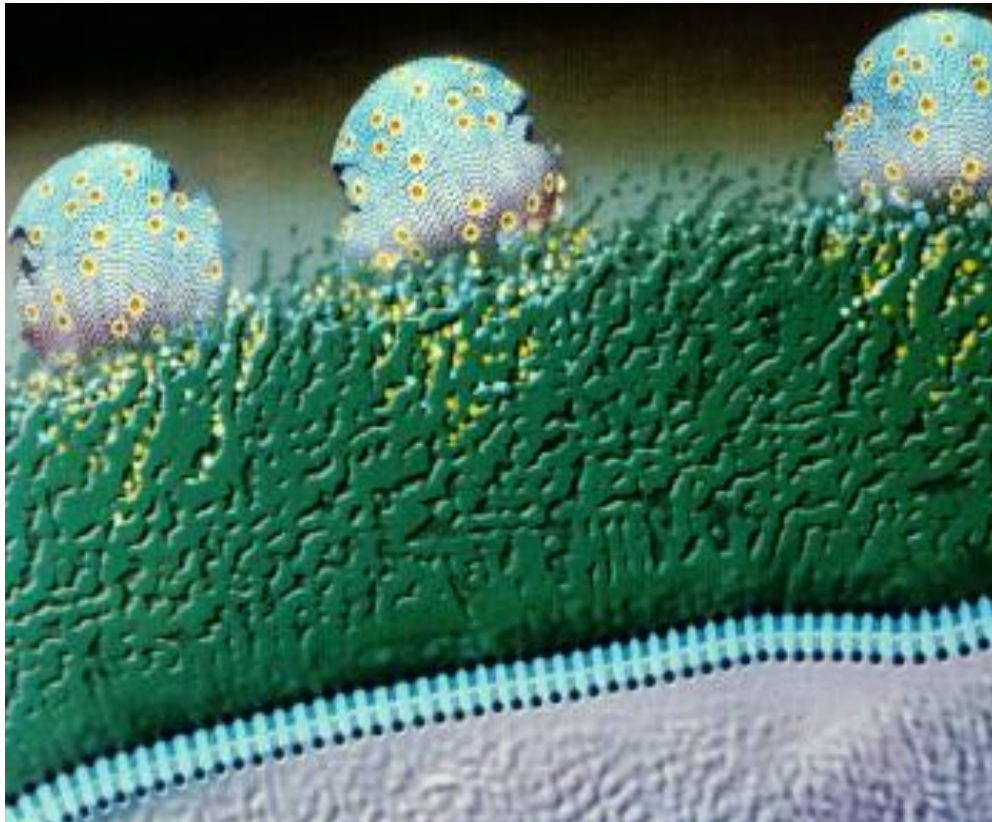
## Ambisome<sup>®</sup> L-AMB AMB lipossomal



**Unilaminar liposome**  
Carrier lipids: HSPC, DSPG, cholesterol  
Particle size (µm) : 0.08

HSPC-Hydrogenated soy phosphatidylcholine  
DSPG-Distearoyl phosphatidylcholine

## AMB lipossomal - Ambissome®



- Maior afinidade pela célula fúngica
- Menor toxicidade, por impedir liberação nas células do hospedeiro
  - Permite maiores dosagens
- Custo muito elevado (~100 x a mais que a AMB desoxicolato)

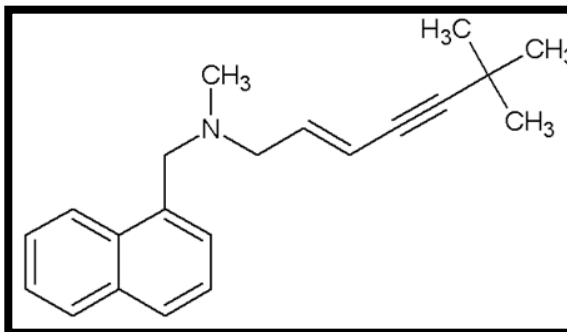
# Inibição da síntese do ergosterol



Adaptado de Shea e Del Poeta. *Current Opinion in Microbiology*, 9: 352-358, 2006.

# Alilaminas: terbinafina e butenafina

## Terbinafina



Inibe a enzima esqualeno epoxidase

Efeito antifúngico devido o acúmulo de esqualeno e falta de ergosterol

Onicomioses causadas por dermatófitos

Efetivo em 90 % dos casos

Uso tópico (1% em creme) e oral

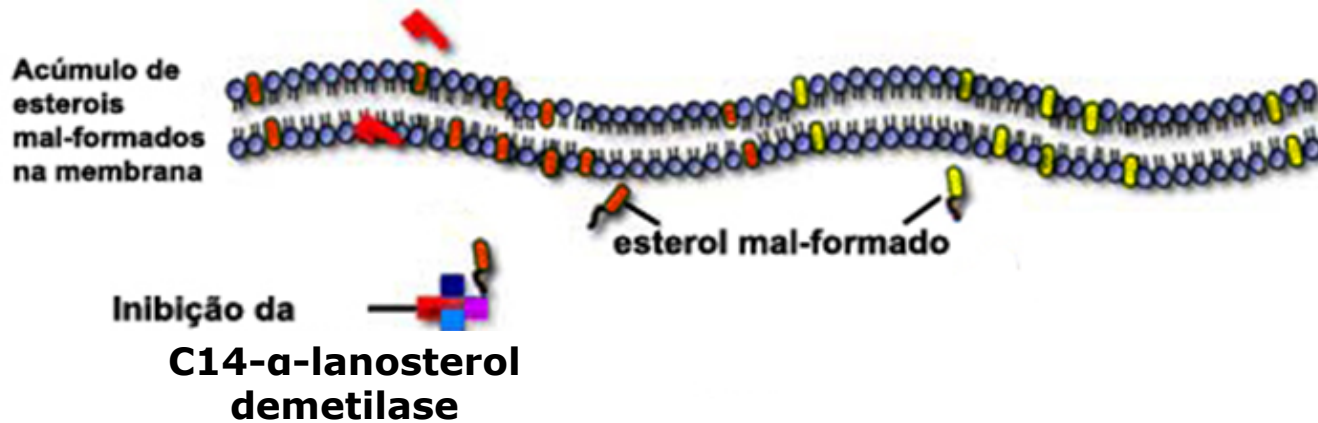
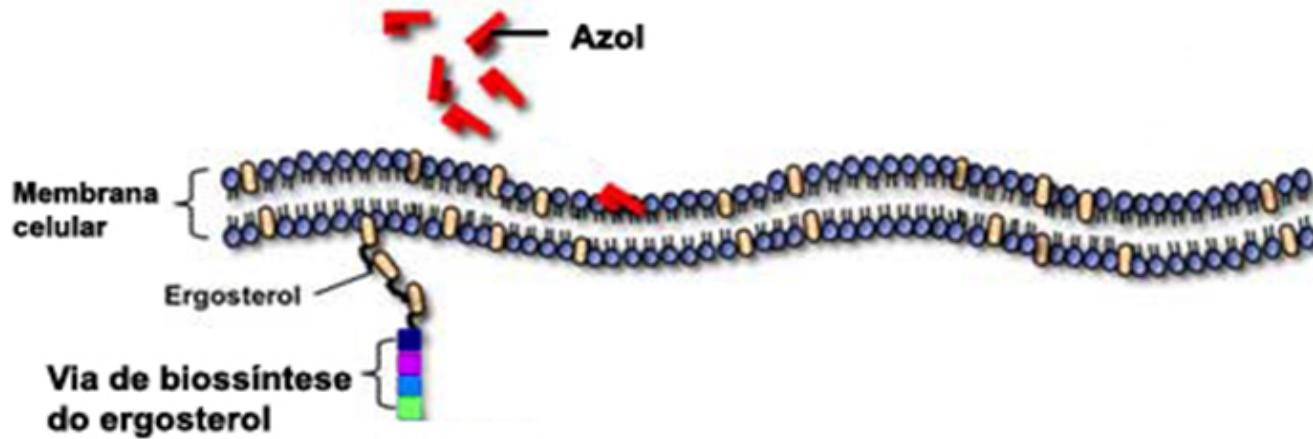
Acumula na pele, unha e tecido adiposo

Reações adversas: diarreia, náuseas, erupções cutâneas, urticária e fotossensibilidade.

# Azóis: imidazóis e trizóis

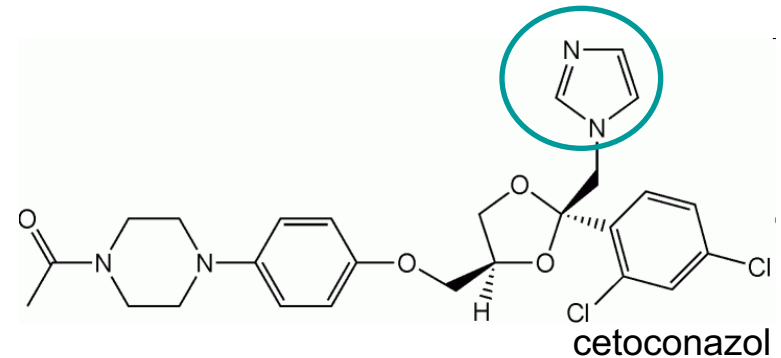
- Imidazóis
  - 1ª. Geração
  - 2ª. Geração
- Triazóis
  - 1ª. Geração
  - 2ª. Geração
  - 3ª. Geração

# Azóis: imidazóis e trizóis



# Agentes azólicos: imidazóis

- Econazol
  - Miconazol
  - Clotrimazol
- } Tópico



- Cetoconazol (tópico e sistêmico)
  - (Nizoral, Jassen Pharmaceutica)

São Fungistáticos

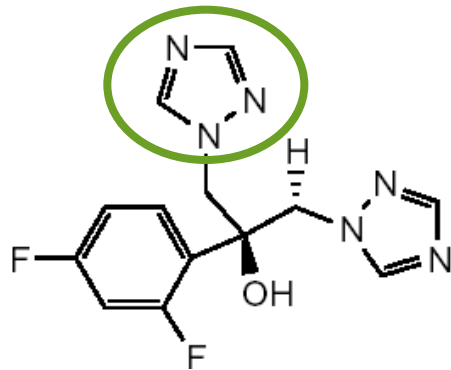
Dermatofitoses, candidíasis cutânea/mucocutânea

Uso tópico (creme, loção, shampoo) e sistêmico (comprimido)

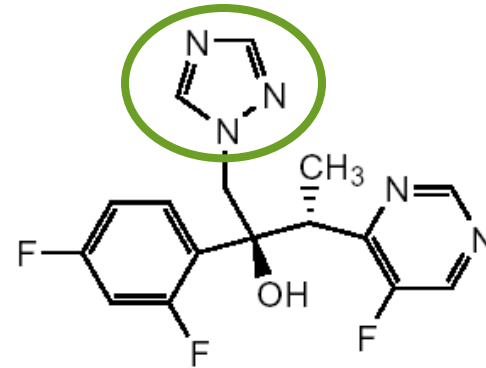
Absorção do cetoconazol – pH ácido

São hepatotóxicos, altera níveis de testosterona e cortisol

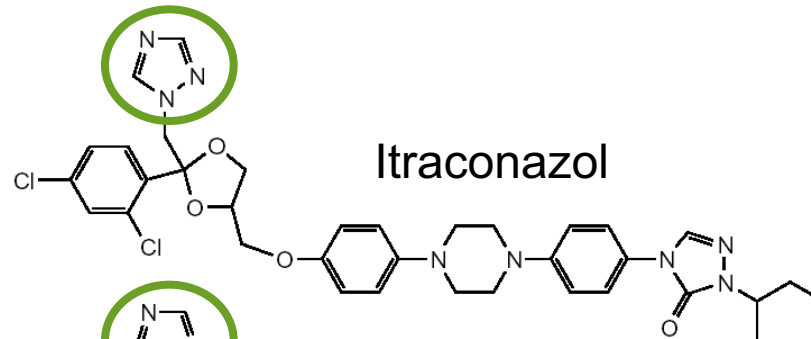
# Agentes azólicos: triazóis



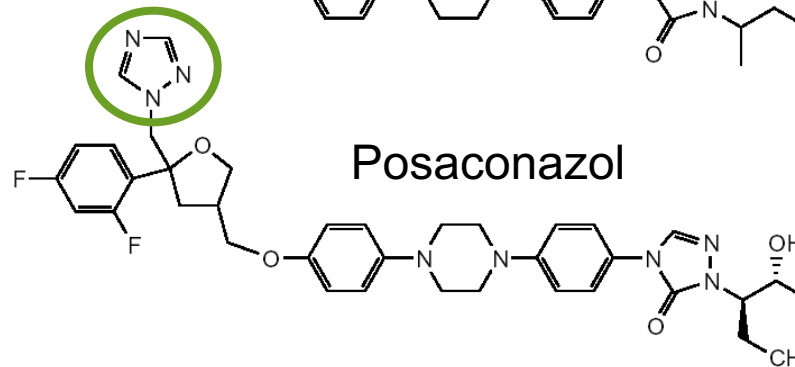
Fluconazol



Voriconazol



Itraconazol



Posaconazol

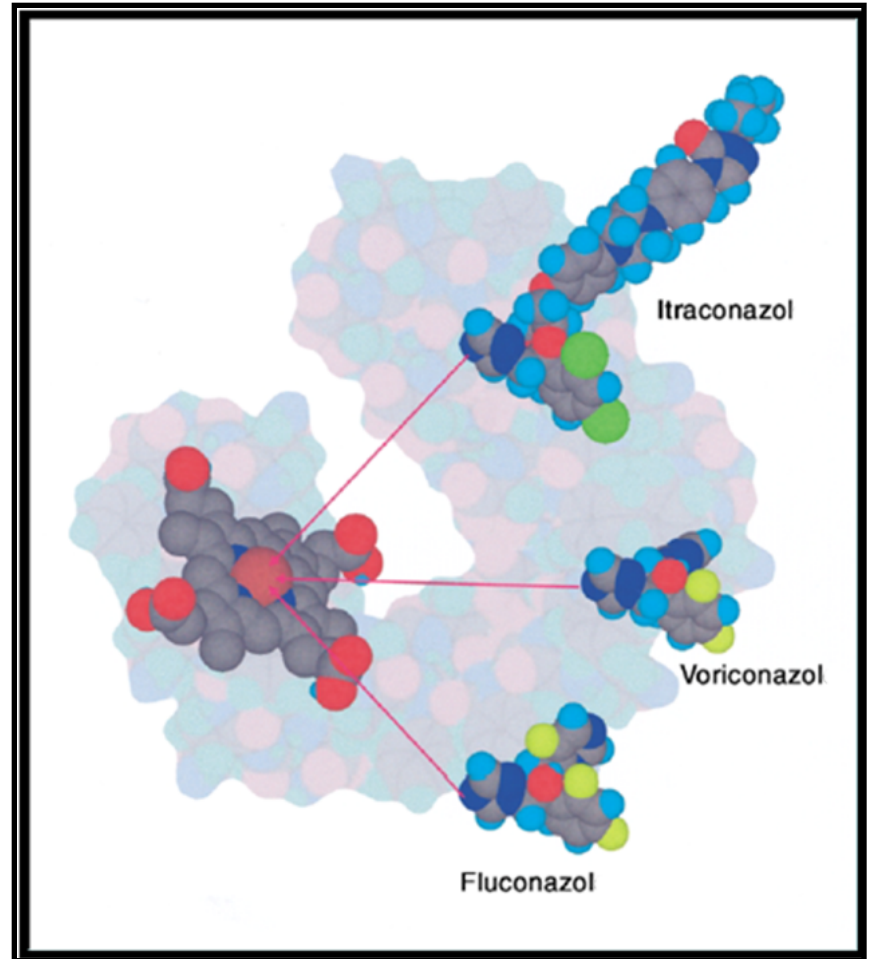
**No tratamento de Infecções sistêmicas.**



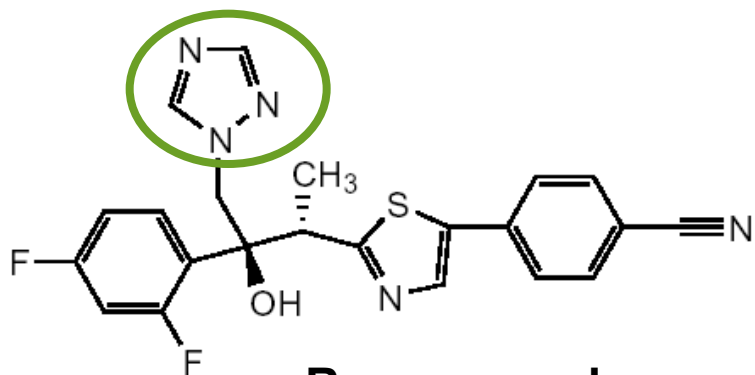
## Alta afinidade pela C14- $\alpha$ demetilase – ↓efeitos colaterais

São mais específicos para a  
enzima do citocromo P450

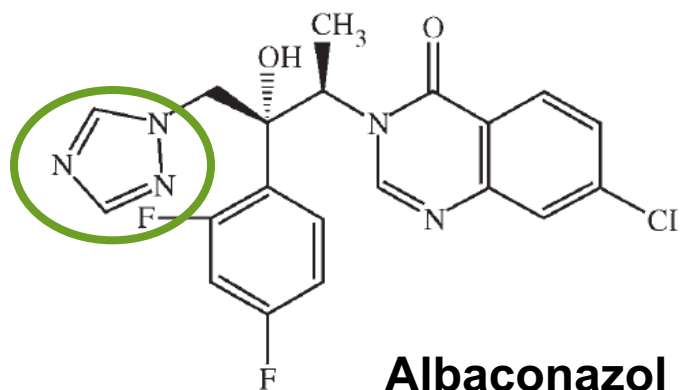
Espectro de ação ampliado:  
dermatófitos, fungos  
filamentosos, leveduras e  
fungos dimórficos



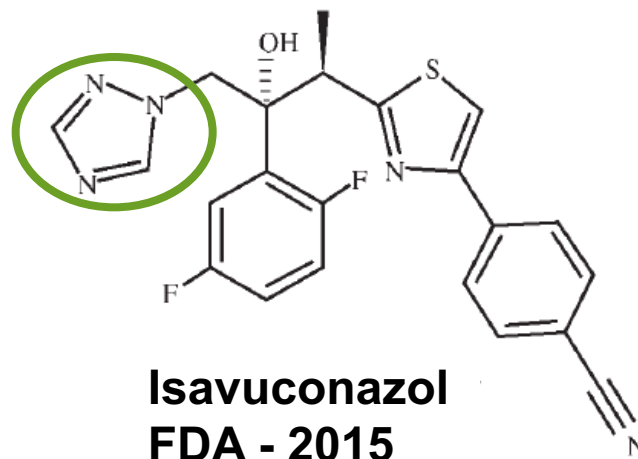
	<b>Fluconazol (Pfizer)</b>	<b>Voriconazol (Pfizer)</b>	<b>Itraconazol (Janssen Pharmaceuticals)</b>	<b>Posaconazol (Schering-Plough) – 2006 (FDA)</b>
<b>Indicação</b>	-Candidíase ( <i>C. krusei</i> e <i>C. glabrata</i> baixa susceptibilidade) -Criptococose. -Profilaxia	Ampla espectro, exceto Zígomíctos	- Paracoccidiodomicose (PCM) - Esporotricose Candidíase Criptococose	- Candidíase esofágica, - Infecção fúngica refratária e profilaxia
<b>Efeito antifúngico</b>	Fungistático	-Fungistático: <i>Candida</i> spp. e <i>Cryptococcus</i> spp. -Fungicida: <i>Aspergillus</i> spp.	Fungistático	Fungicida para: - <i>Candida</i> spp., - <i>Cryptococcus</i> spp., - <i>Aspergillus</i> spp.
<b>Características relevantes</b>	-Bem tolerada -Possível hepatotoxicidade	Farmacocinética semelhante ao fluconazol	- pH estomacal – influencia na absorção - Não passa pela barreira hematoencefálica	- pH estomacal – influencia na absorção - Não passa pela barreira hematoencefálica



**Ravuconazol**



**Albaconazol**



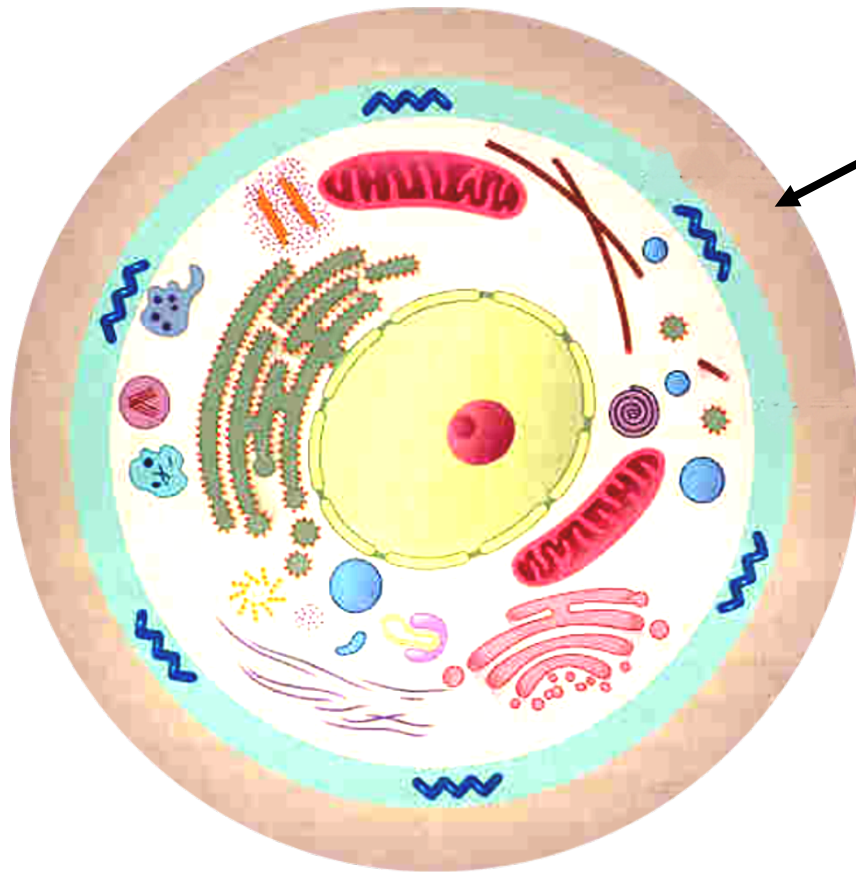
**Isavuconazol**  
FDA - 2015

**Novos triazóis**

## Espectro de ação dos triazóis

	<i>Candida</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Zigomicetos</i>
Flu	++	+++	-	-	-
Itra	++	++	+++	-	-
Vori	+++	+++	+++	++	-
Posa	+++	+++	+++	++	++
Isav	+++	+++	+++	+	+

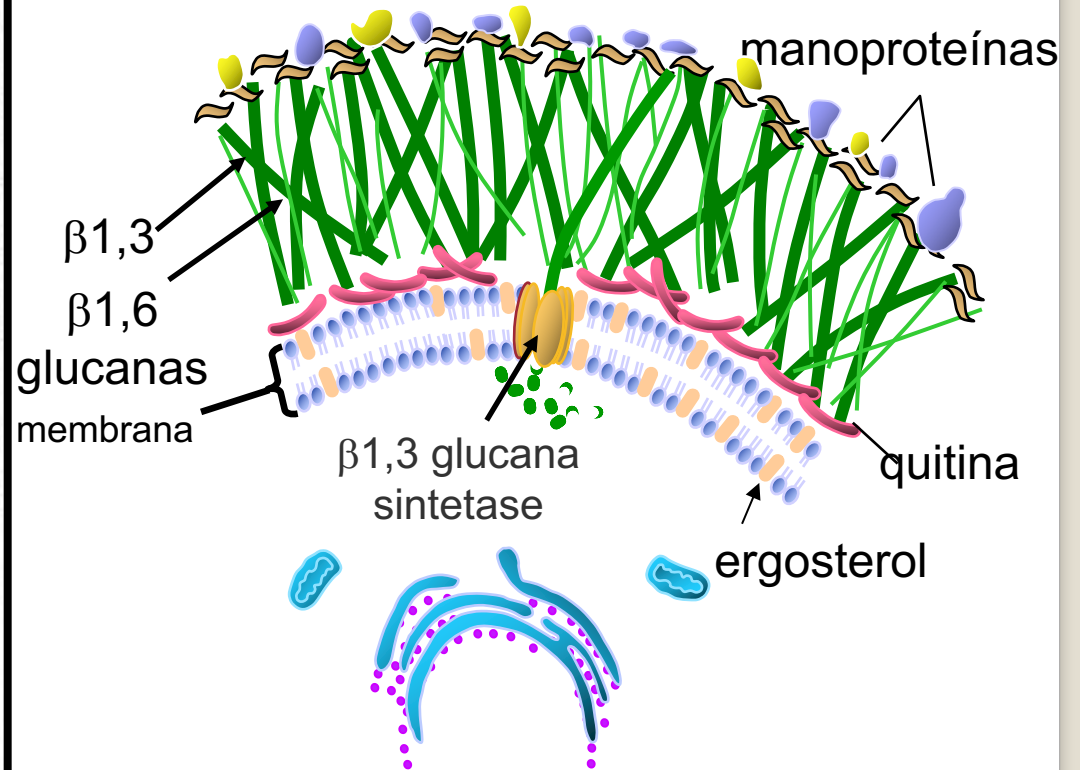
# Antifúngicos que agem na síntese da parede celular



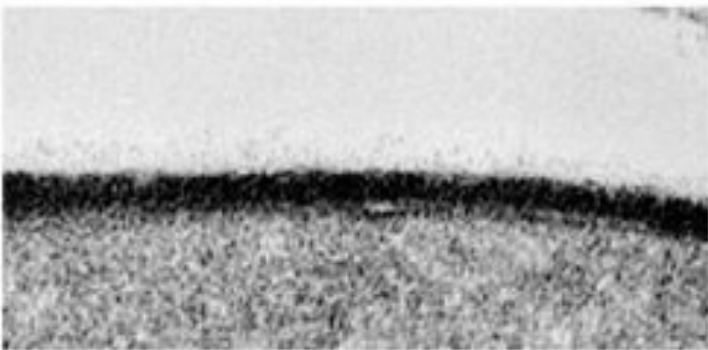
Parede celular

- Equinocandinas
  - Caspofungina
  - Micafungina
  - Anidulafungina
  - Aminocandina

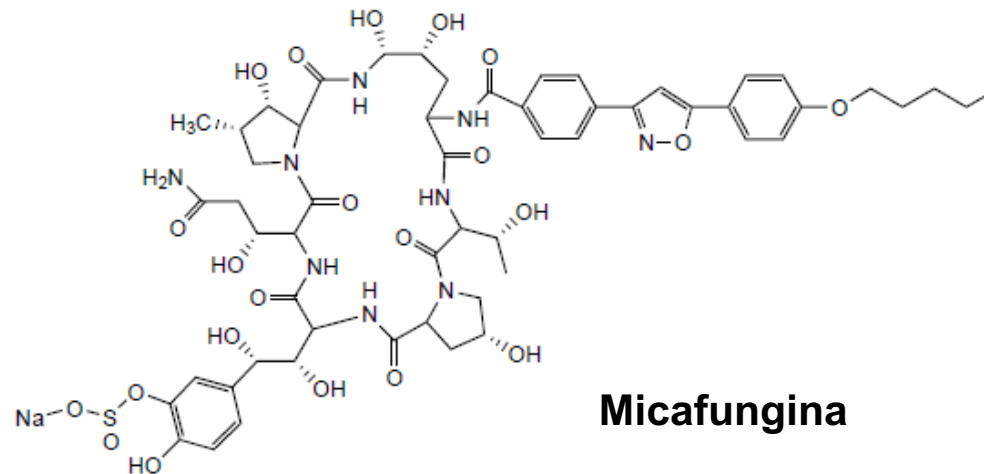
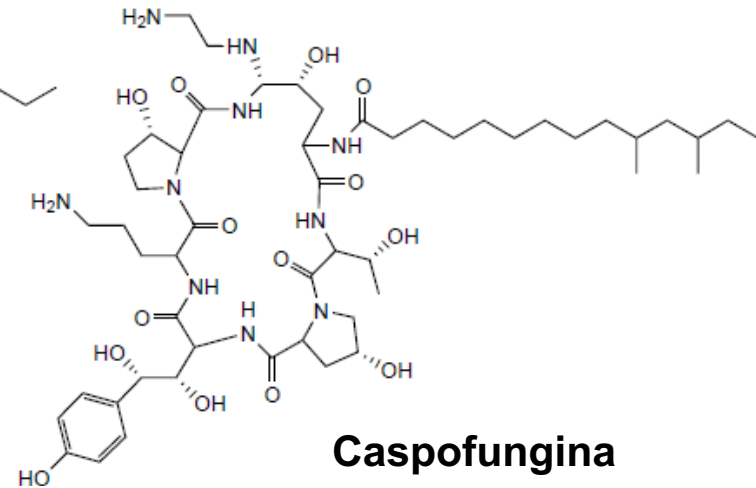
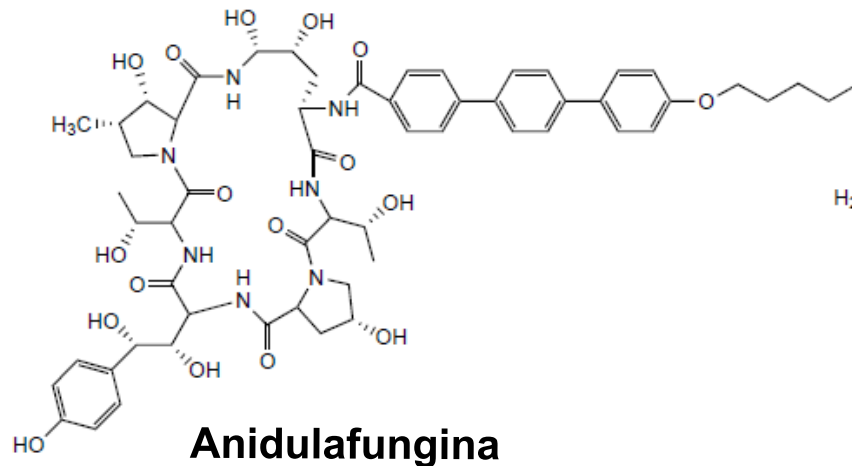
# Pared celular fúngica



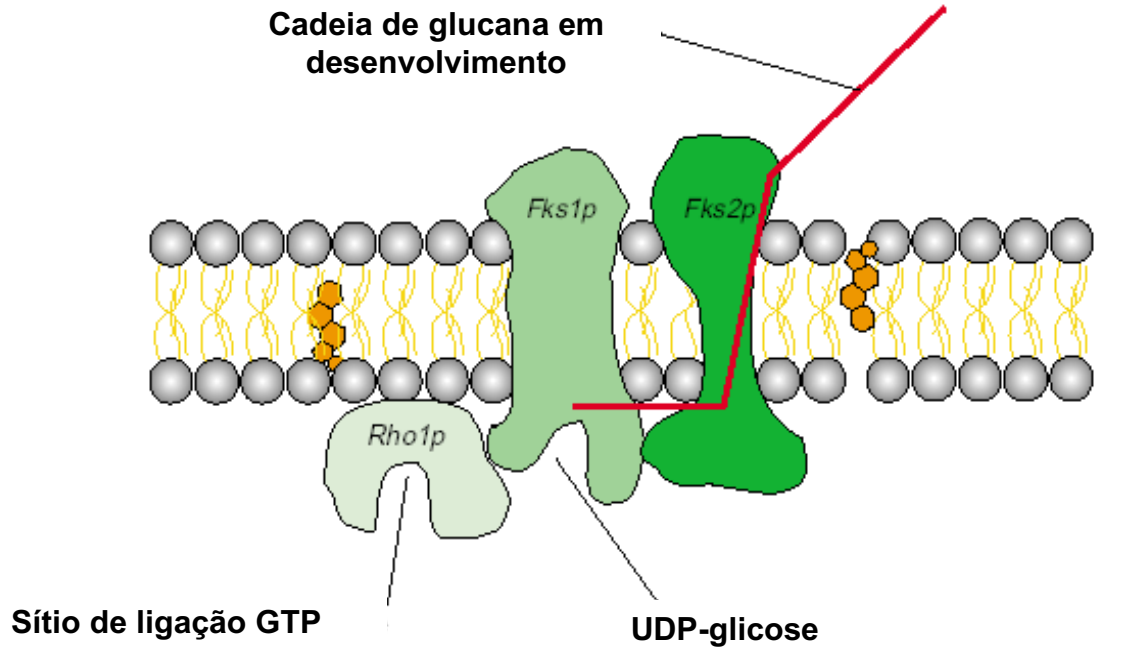
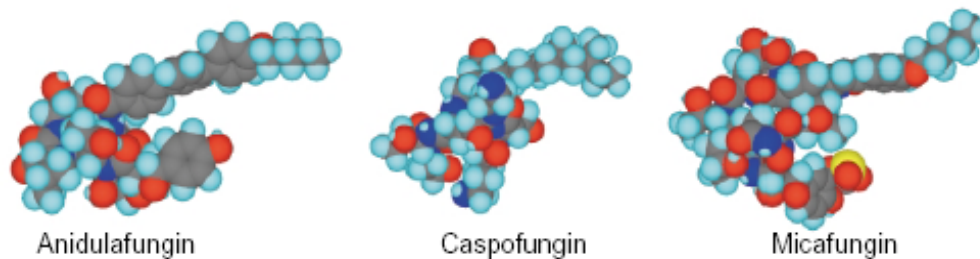
A



## Agentes lipopeptídico: peptídio cíclico + cadeia de ácido graxo

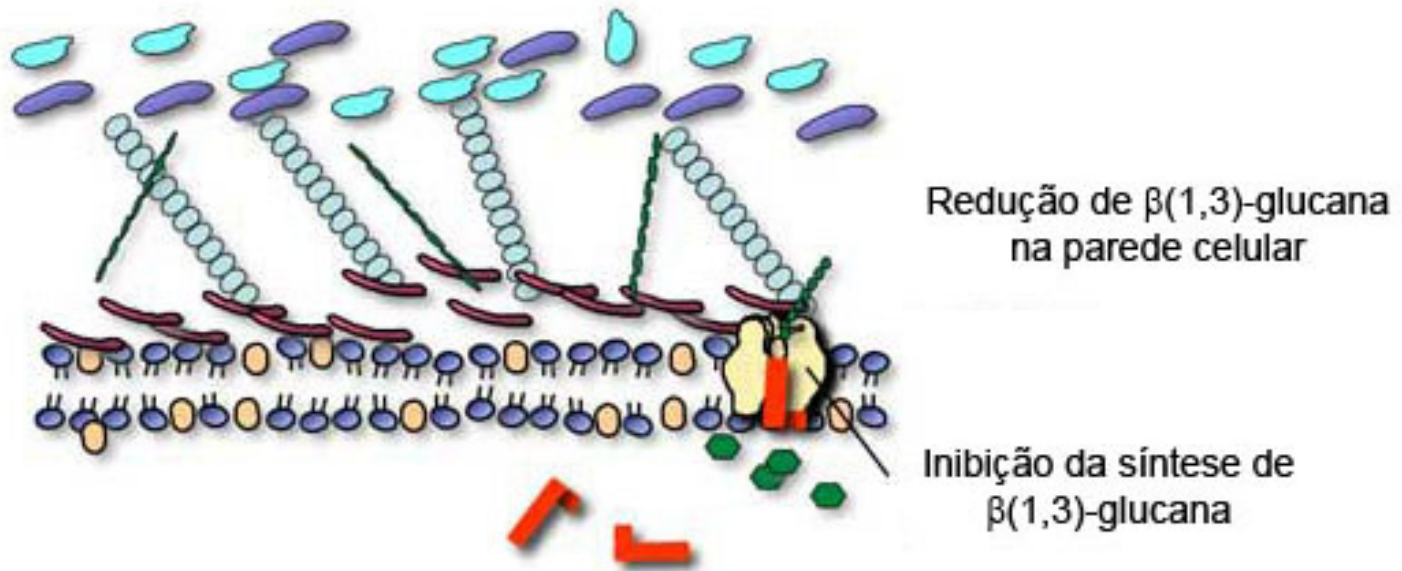


## Inibidores não-competitivos



*TRENDS in Microbiology*





Perda da integridade da parede celular

Fragilidade Osmótica

Efeito fungicida

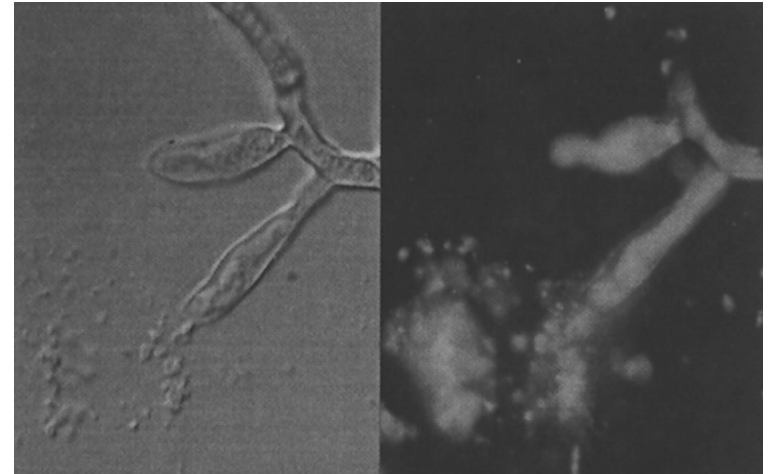
**Ativos contra:**

***Candida* spp. - fungicida**

**e *Aspergillus* spp. - fungistático**

**Indicação:** candidíase esofágica,  
candidemia, candidíase invasiva,  
Aspergilose invasiva refratária a outros  
antifúngicos

*Aspergillus*



Bowman et al. *Antimicrob Agent Chemother*  
2002;46:3001-12

Via de administração IV uma vez por dia.

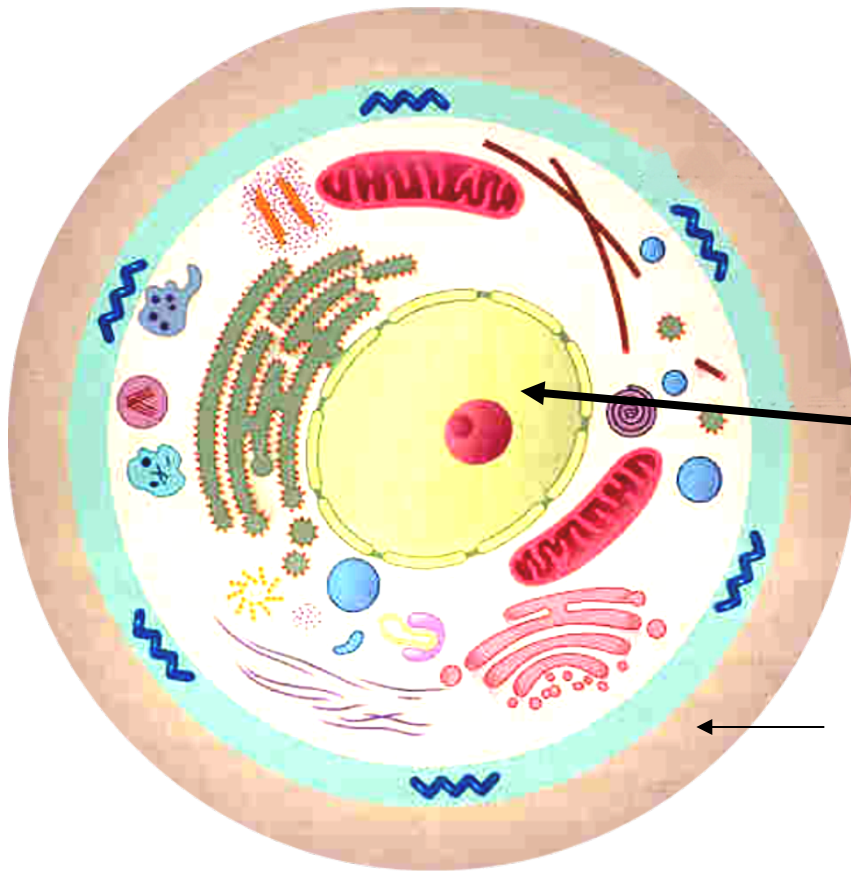
Pouca interação com outras drogas

Efeitos adversos: gastrointestinais

Não apresenta resistência cruzada os agentes azólicos

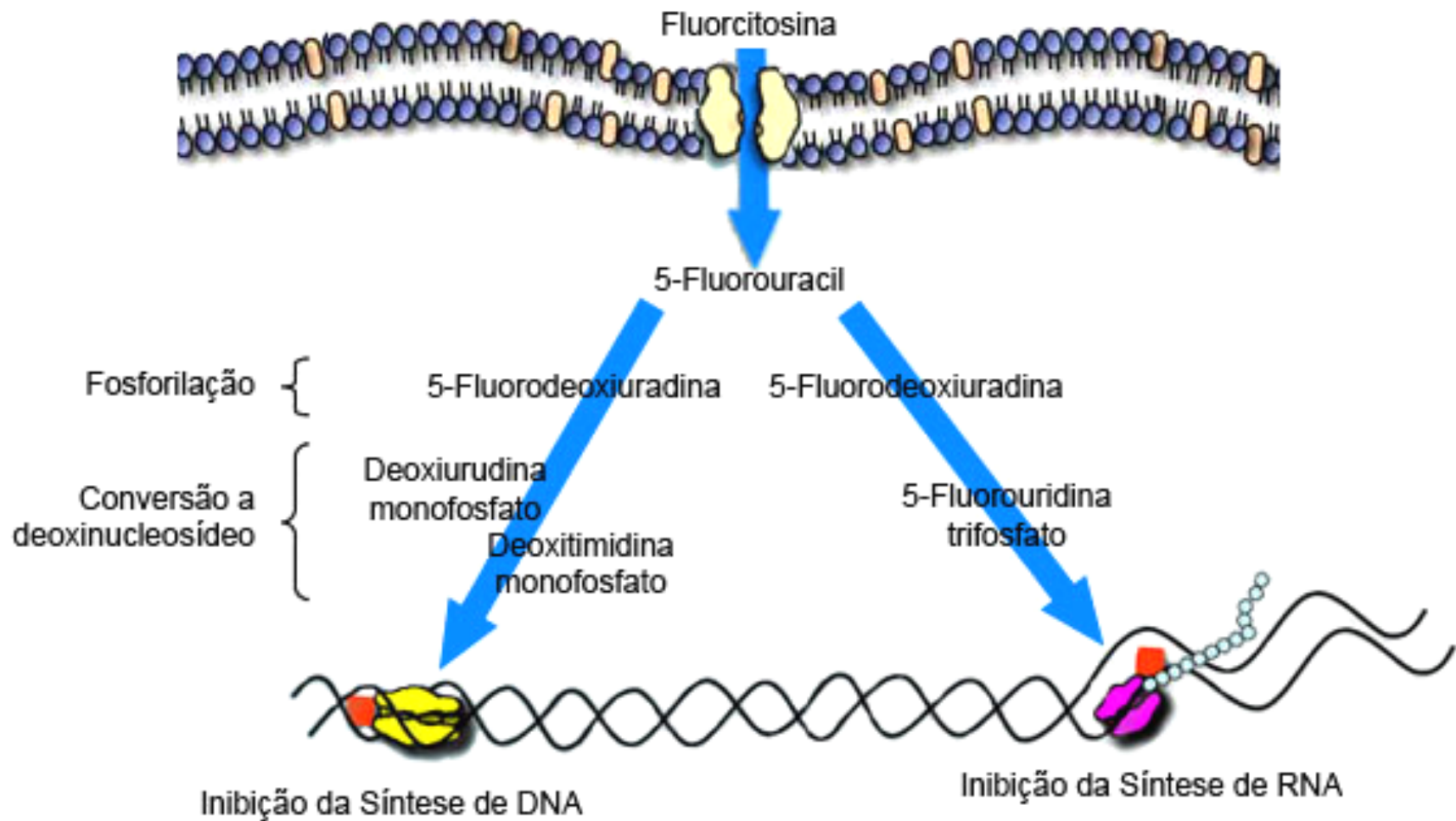
Caspofungina, Anidulafungina e Micafungina - São  
similares - eficácia e segurança

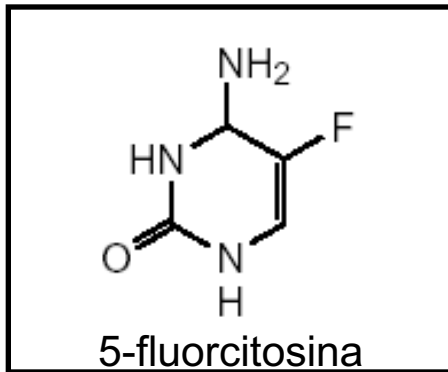
# Antifúngico que inibe a síntese de ácidos nucleicos



## Síntese DNA/RNA

- Análogos de Pirimidina
- 5- Flucitosina (5-FC)





Sintetizada em 1957 como agente anti-tumoral

1962 – atividade antifúngica

- Administração oral e intravenosa
- Espectro de ação restrito (*C. neoformans* e *Candida* sp.)  
Monoterapia Limitada  
Usada em combinação com Anfotericina B e fluconazol
- Resistência desenvolvida rapidamente durante o tratamento
- Resistência: Mutação da citosina permease e citosina deaminase



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos  
Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos

## Relação Nacional de Medicamentos Essenciais Rename 2006

### *PARECER DE EXCLUSÃO*

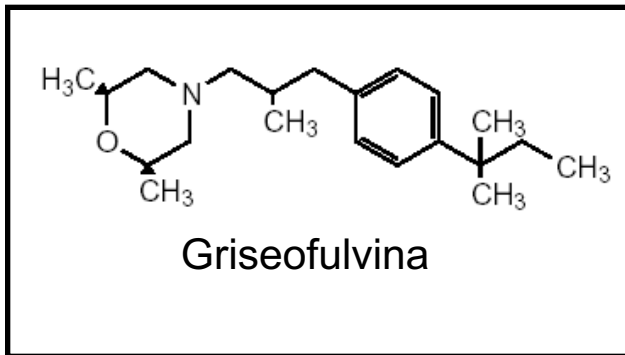
Comissão Técnica e Multidisciplinar de Atualização da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais - Comare

#### FLUCITOSINA

Resistência primária ocorre em cerca de 10% das cepas de *C. albicans*. Resistência secundária é muito comum, tendo sido observada em até 30% dos pacientes,<sup>1</sup> pelo que a monoterapia com flucitosina foi abandonada. O uso deste fármaco justifica-se em associação com anfotericina B, com a qual apresenta sinergismo da ação, em infecções fúngicas graves causadas por *Cryptococcus neoformans*, *Candida sp* e algumas cepas de *Aspergillus*<sup>2</sup>. No entanto, itraconazol apresenta eficácia para as mesmas indicações.

Entre os efeitos adversos destacam-se náuseas, vômitos, diarreia, sonolência e depressão medular que ocasiona anemia, leucopenia e trombocitopenia<sup>3</sup>. Oitenta por cento do fármaco são excretados em forma inalterada na urina, onde se atingem elevadas concentrações. Por isso, é preciso reajuste de esquema em insuficiência renal. Flucitosina foi retirada do mercado brasileiro pelo fabricante há mais de 12 anos. Por tais motivos, recomendou-se exclusão de flucitosina.

# Ação sobre a organização dos microtúbulos



- Isolado de *Penicillium griseofulvum*
- 1º antifúngico descoberto (1939)
- Recomendação: tratamento das dermatofitoses
- Não é efetivo em infecções causadas por *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia* spp., *Aspergillus*, e outros

Inibe a função microtubular  
(interfere na polimerização da tubulina)



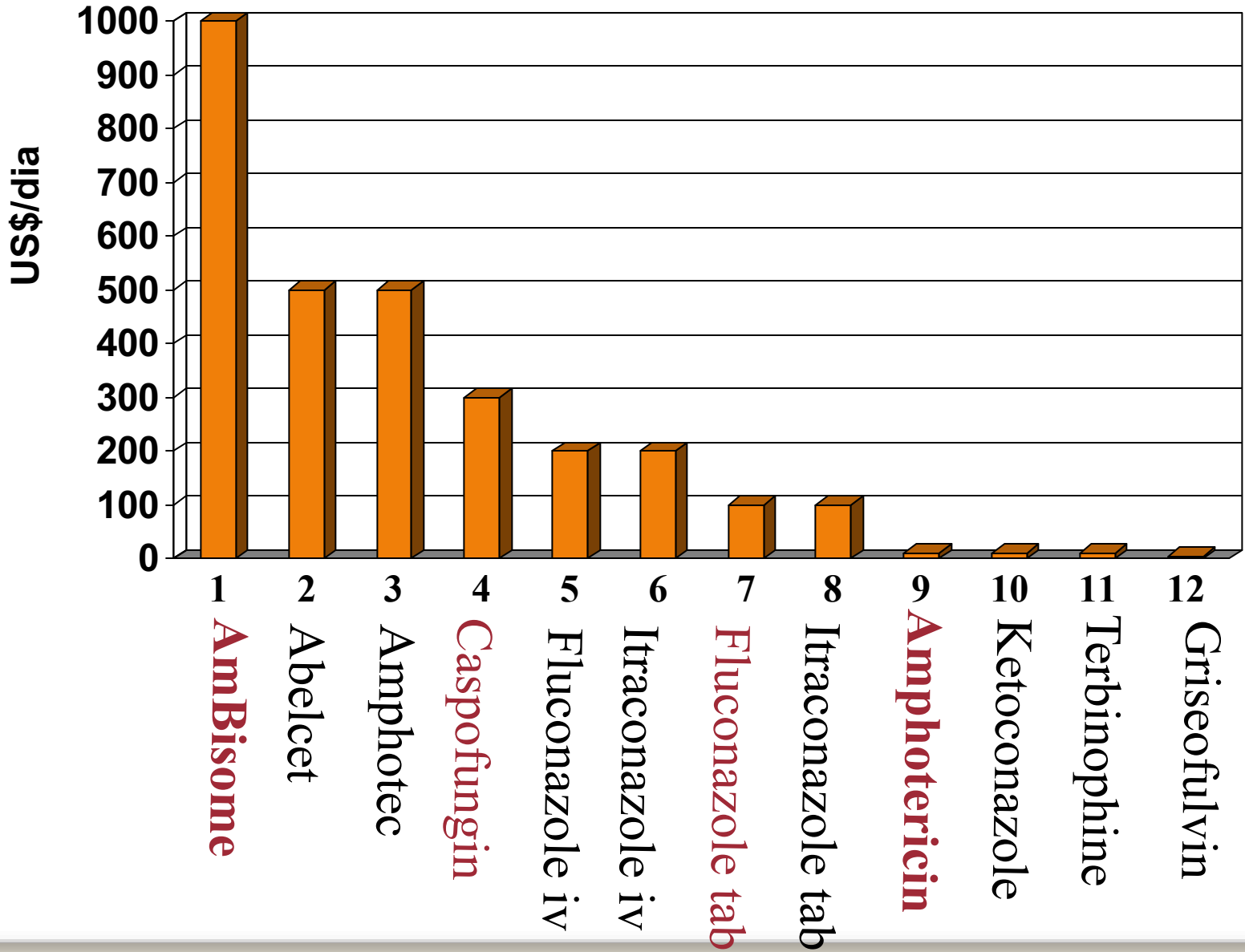
Inibe a divisão celular



Inibe o crescimento



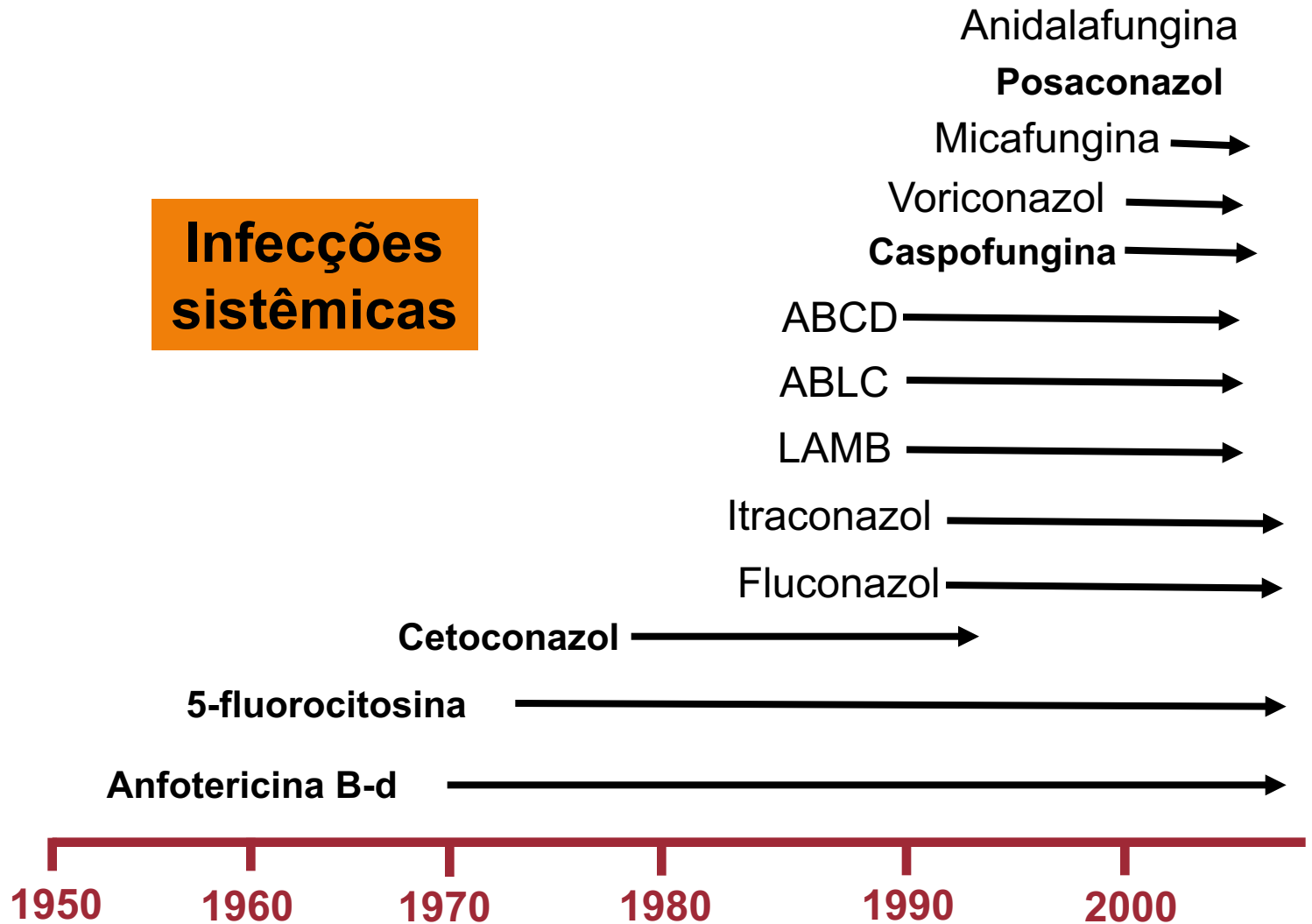
# Custo da terapia antifúngica



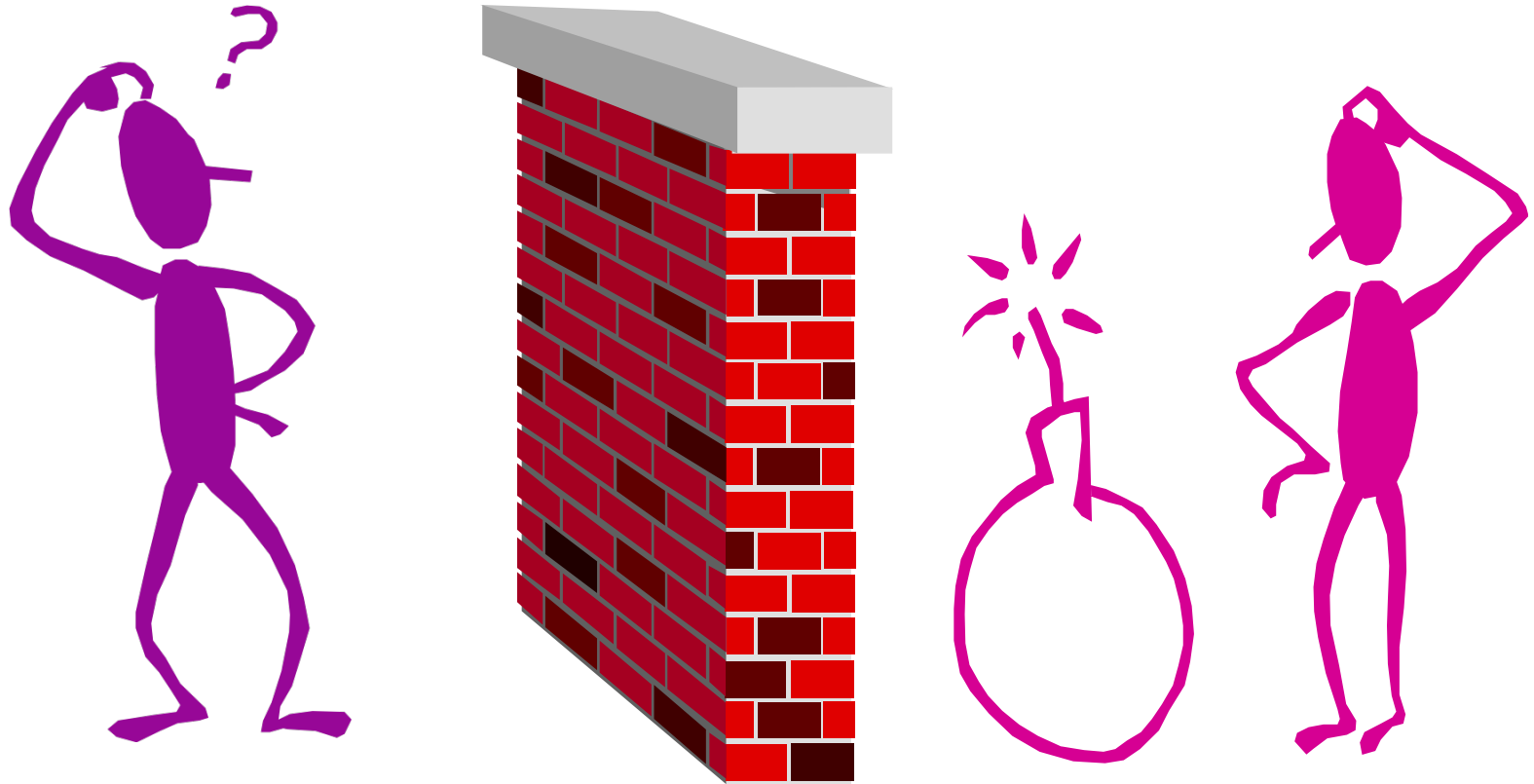


# Evolução dos antifúngicos sistêmicos

**Infecções sistêmicas**



# Resistência aos agentes antifúngicos



# Resistência e sensibilidade aos antifúngicos

- **Resistência:** capacidade do micro-organismo em crescer em concentrações plasmáticas da droga.
- **Sensibilidade:** quando não crescem nessas concentrações.
- **CIM:** menor concentração do antifúngico necessária para inibir o crescimento fúngico ( $\mu\text{g/mL}$ )
- **CFM:** menor concentração do antifúngico necessária para matar o fungo ( $\mu\text{g/mL}$ )
  - Fungicida x Fungistático

# O que pode levar à resistência ?

“ O antimicrobiano não induz à resistência”  
O que ocorre é a seleção natural de  
microorganismos resistentes ao  
antimicrobiano”

“A resistência microbiana reflete o princípio  
evolutivo de que os organismos se  
adaptam geneticamente a mudanças no  
seu meio ambiente”

- **Resistência clínica**

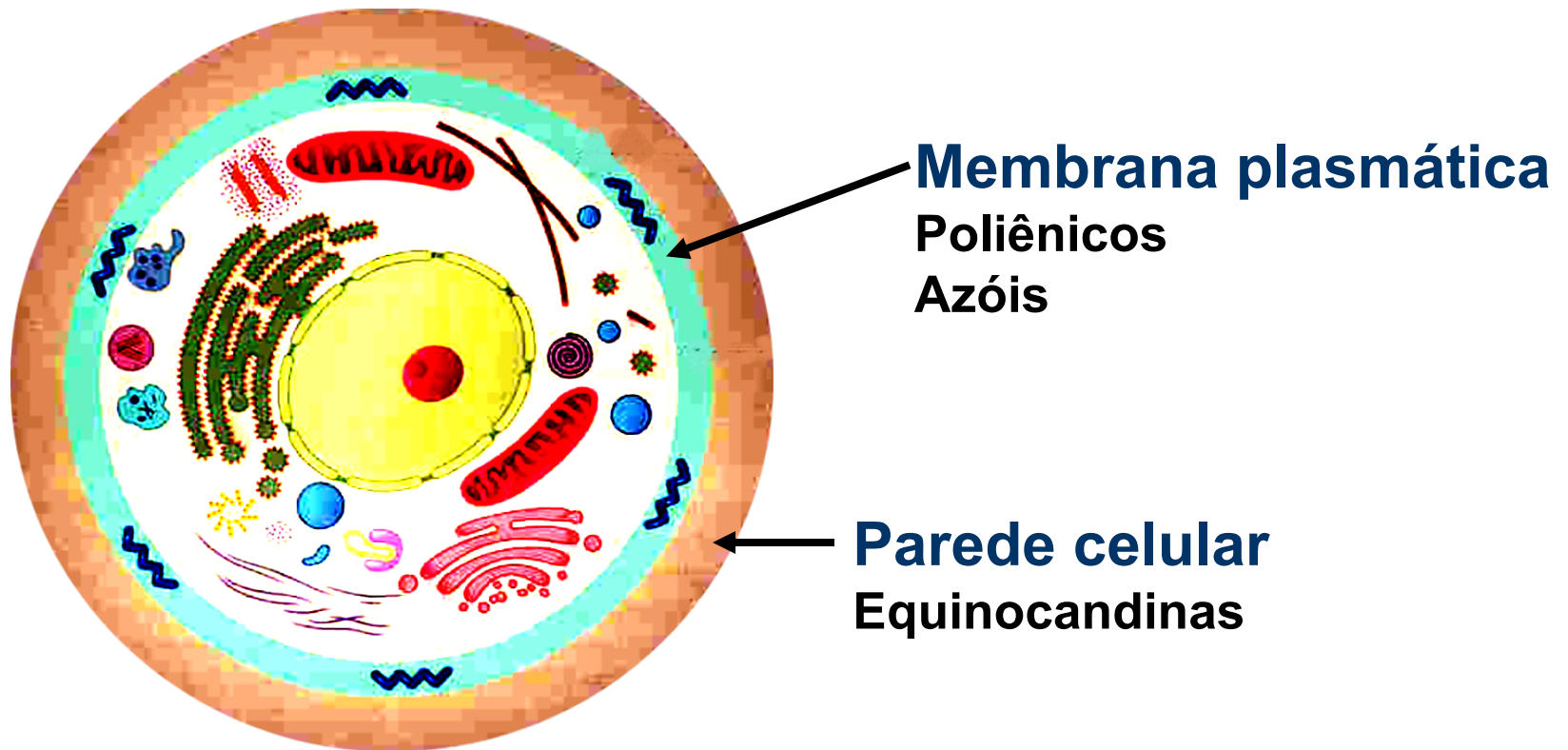
- Local da infecção
- Diagnóstico errado da doença
- Tratamento errado
- Farmacocinética desfavorável
- Dificuldade do paciente de se aderir ao tratamento

- **Resistência microbiológica** – relacionada com características do fungo

- Primária = Intrínscica (*C. krusei* ao fluconazol)
- Secundária = Extrínscica (*C. albicans* ao fluconazol)

# **Mecanismos de resistência aos antifúngicos**

# Antifúngicos



# Mecanismos de resistência aos agentes poliênicos

- Diminuição da quantidade de ergosterol
- Acúmulo de outro esterol, diferente de ergosterol, com baixa afinidade pelos poliênicos.

Resistência intrínseca: *C. lusitaniae* e *C. guilhiermondii*

Resistência secundária: *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. krusei*

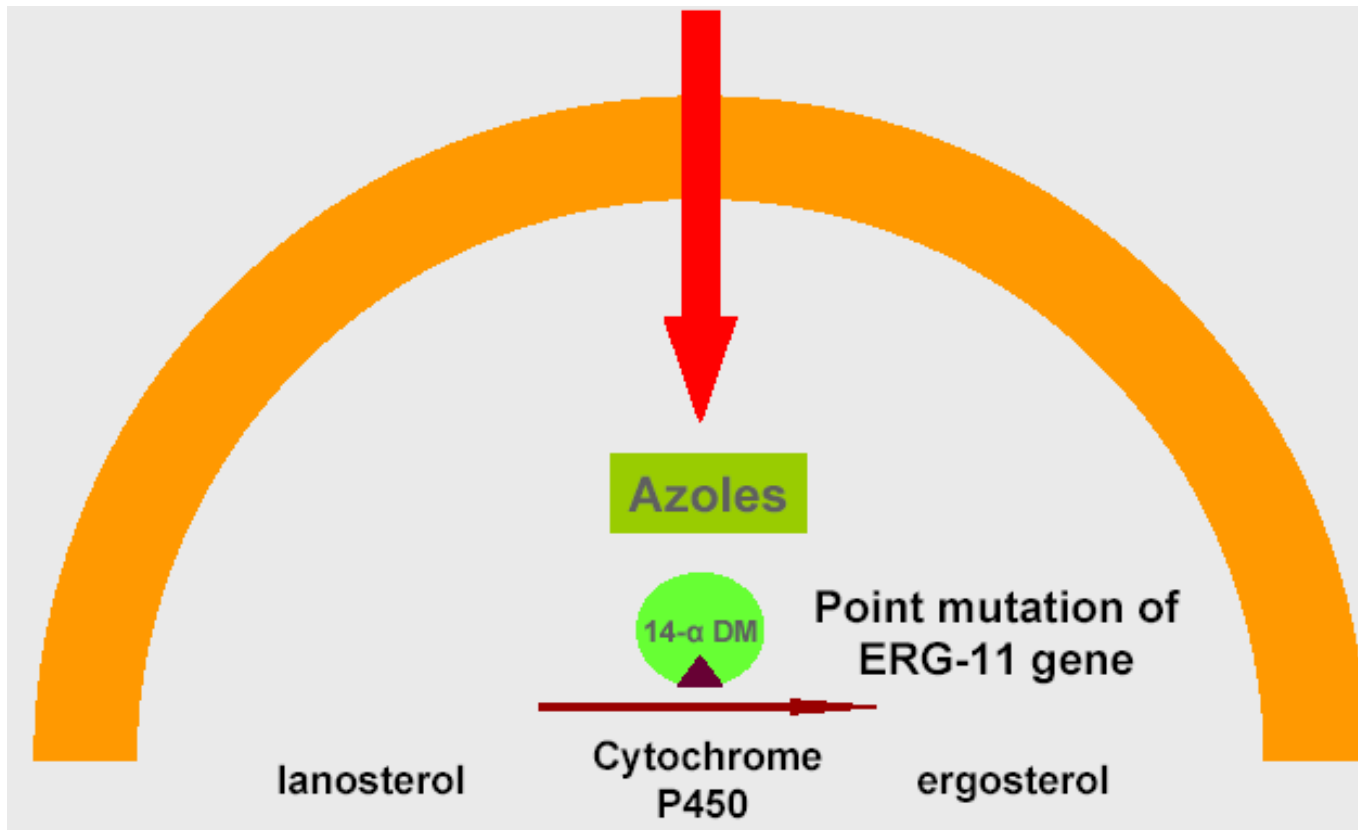
**Resistência é rara.**

**Resistência *Candida* spp. CIM>1µg/mL**

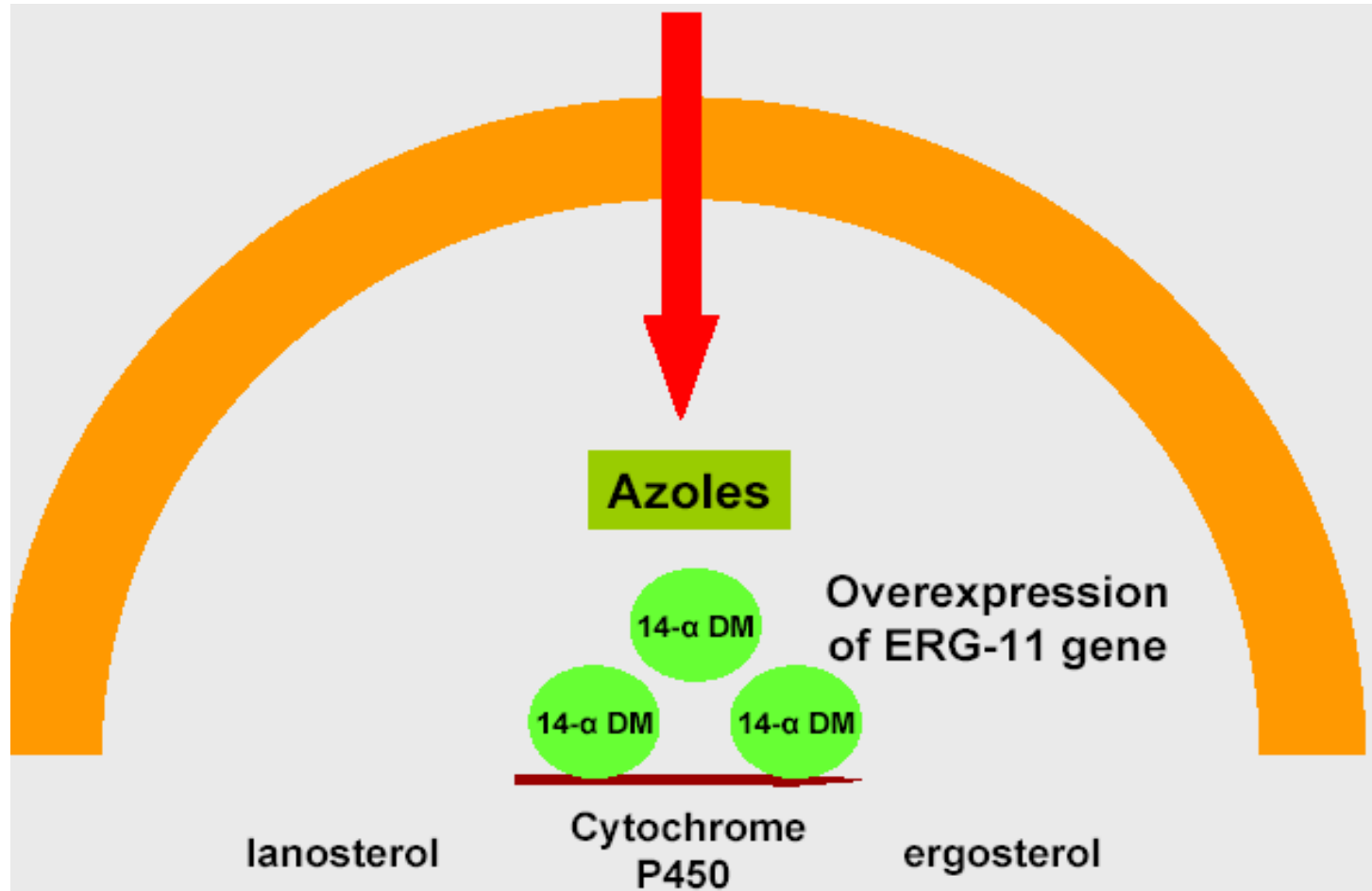


# Mecanismos de resistência aos azóis

Mutação do gene *ERG 11* (C14- $\alpha$ - lanosterol demetilase)

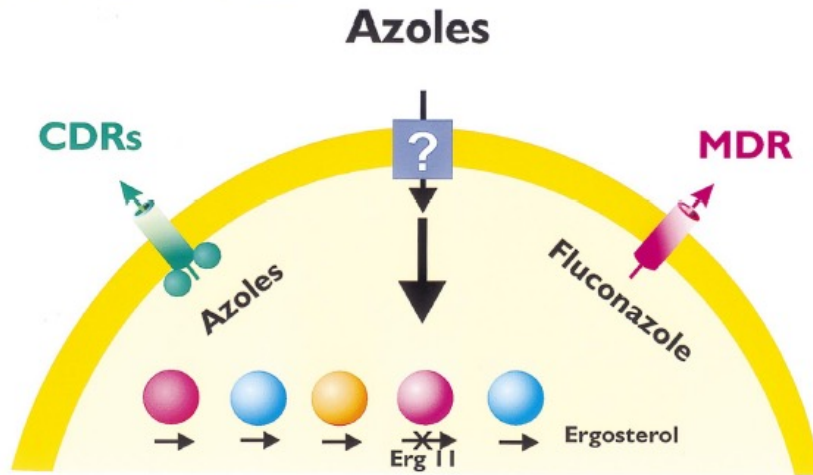


## Aumento da expressão da C14- $\alpha$ - lanosterol demetilase

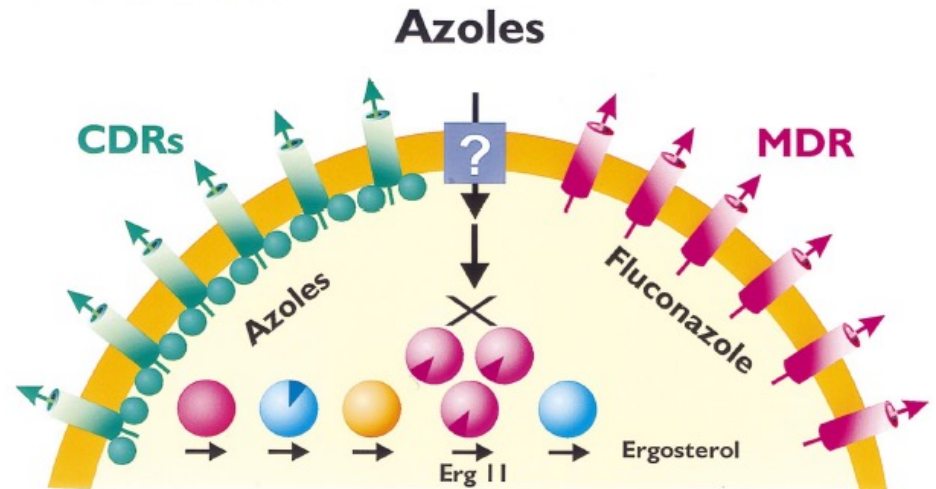


# Aumento de bombas de eflujo

SUSCEPTIBLE

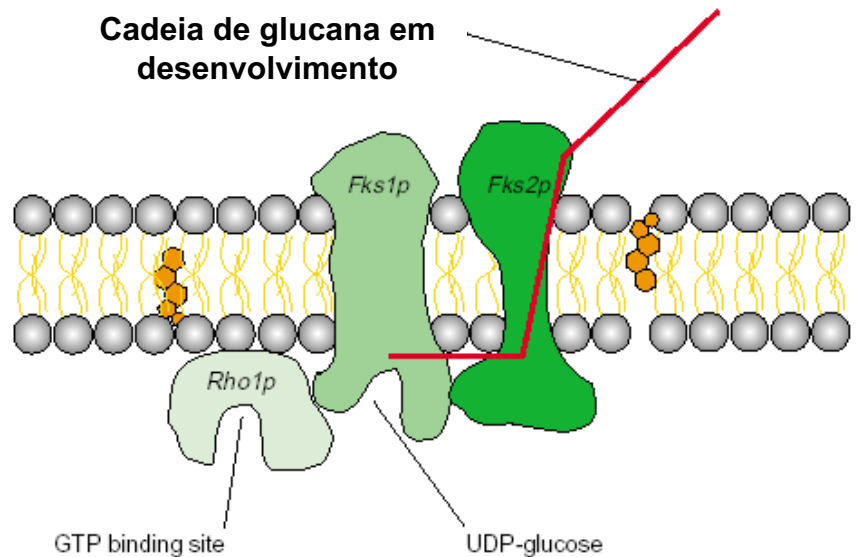


RESISTANT



# Resistência às equinocandinas

- Raros casos de resistência
  - Aumento em *C. glabrata*
- Mecanismos:
  - Mutação no gene FKS1 ( $\beta$  1,3 glucana sintetase)
  - Bomba de efluxo CDR1 e CDR2 (*C. glabrata*)



# Como saber se um microrganismo é resistente ou sensível a uma droga?

M27-A3  
Vol. 28 No. 14  
Replaces M27-A2  
Vol. 22 No. 15

Reference Method for Broth Dilution  
Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts;  
Approved Standard—Third Edition

This document addresses the selection and preparation of antifungal agents; implementation and interpretation of test procedures; and quality control requirements for susceptibility testing of yeasts that cause invasive fungal infections.

A standard for global application developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process.



(Formerly NCCLS)

## Comitês

- Organizações internacionais, interdisciplinares e educacionais que promovem o desenvolvimento e a ampla utilização de normas e procedimentos laboratoriais padronizados.

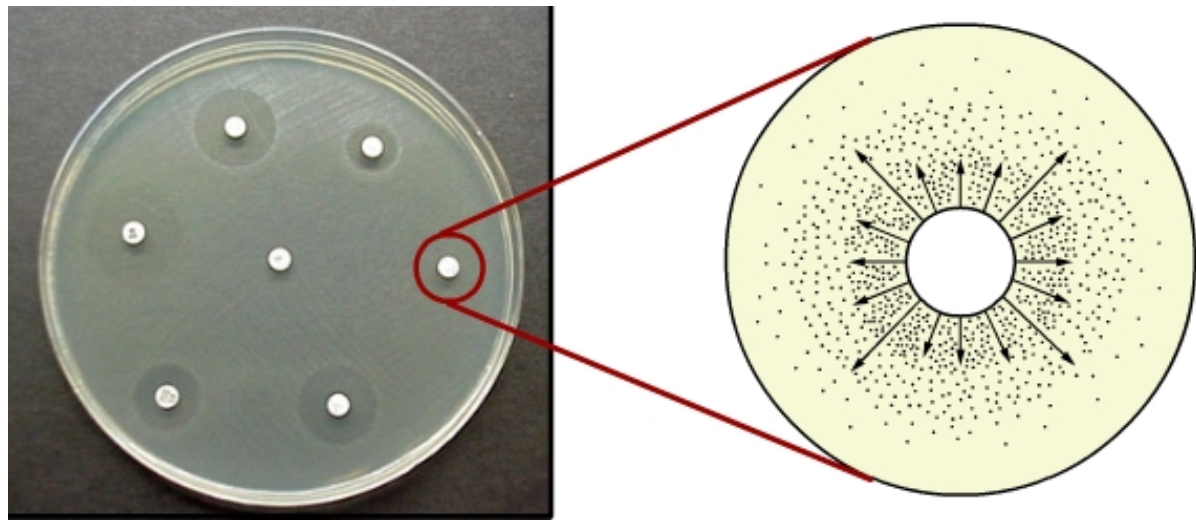
1. Padronização das técnicas
2. Critérios para interpretação dos resultados
3. Parâmetros para o controle qualidade

- Testes de susceptibilidade “in vitro”
  - Método da difusão em ágar
  - Método de diluição em caldo
    - Macrodiluição
    - Microdiluição
  - Metodologia do E teste
  - Métodos automatizados

# Difusão em ágar

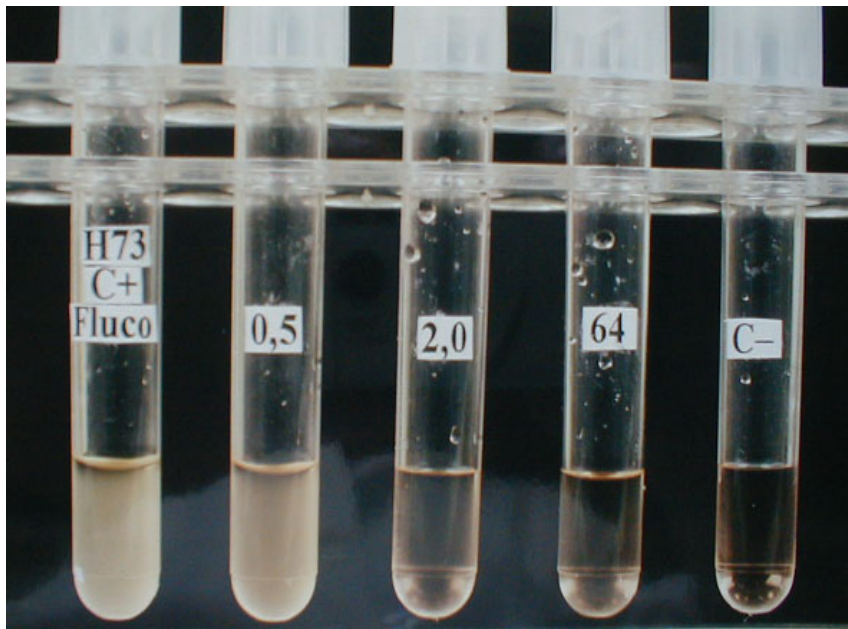
Técnica de difusão em ágar– Documento **44-A2** (CLSI, 2004).  
*Candida* spp.

1. Suspensão fúngica:  $1-5 \times 10^6$  UFC/mL
2. Ágar Muller-Hinton
2. Discos de papel impregnados com antifúngicos:  
Fluconazol – 40  $\mu$ g

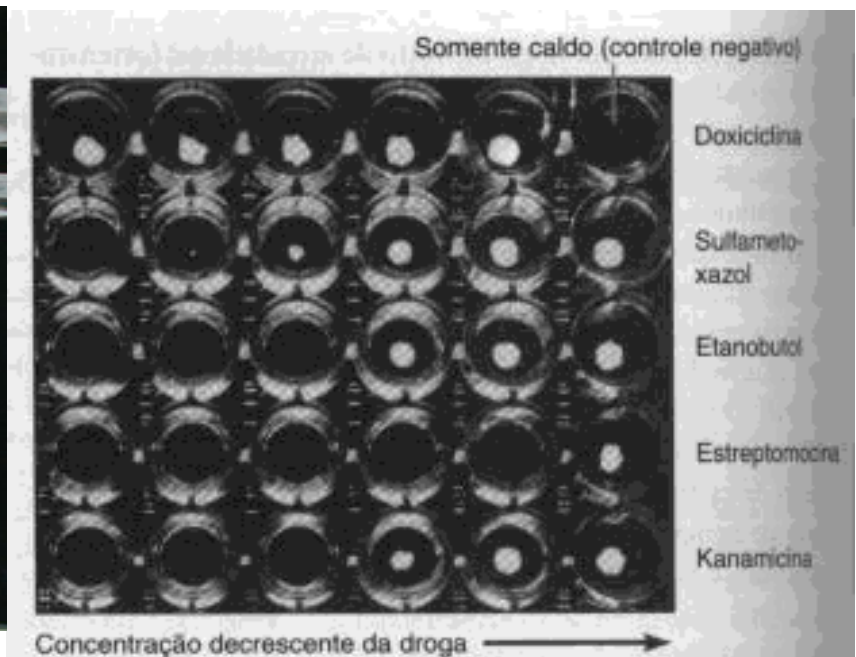


# Diluição em caldo

- Técnica de diluição em caldo
  - Leveduras - documento M27-A3 - CLSI, 2008
  - Filamentoso – documento M38-A2 – CLSI, 2008
  - CIM – inibição de 50 e 90-100% do crescimento fúngico



Macrodiluição



Microdiluição



# E teste<sup>®</sup> - bioMérieux

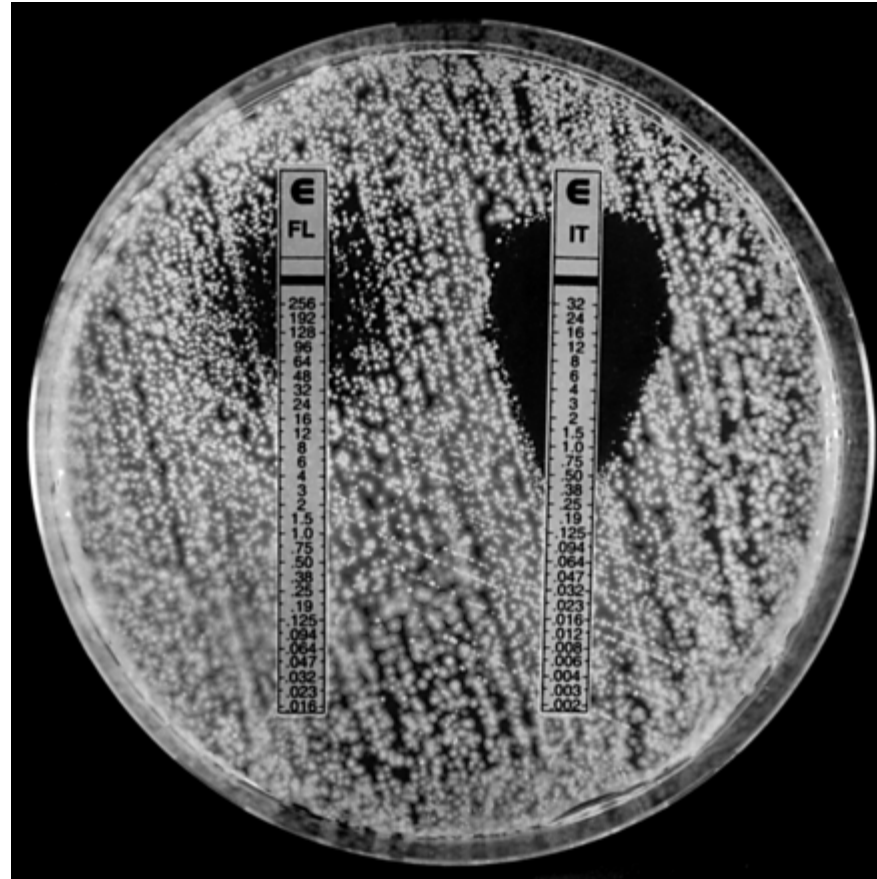
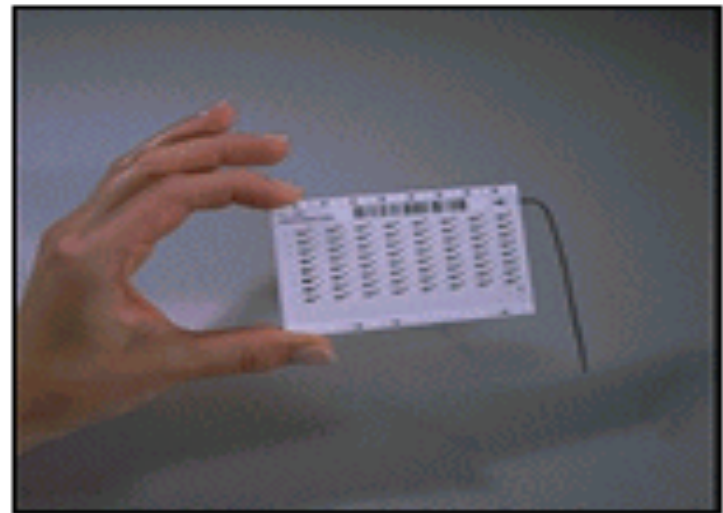


Figure 1

*Fluconazole (FL): change of morphology at endpoint. MIC, 48 mg/litre;  
itraconazole (IT): sharp end point. MIC, 0.5 mg/litre.*

# Automação

Identificação e testes de susceptibilidade e resistência



**Vitek 2** bioMérieux

<http://www.biomerieux.com.br/>

# Sensititre YeastOne (TREK Diagnostic Systems)

