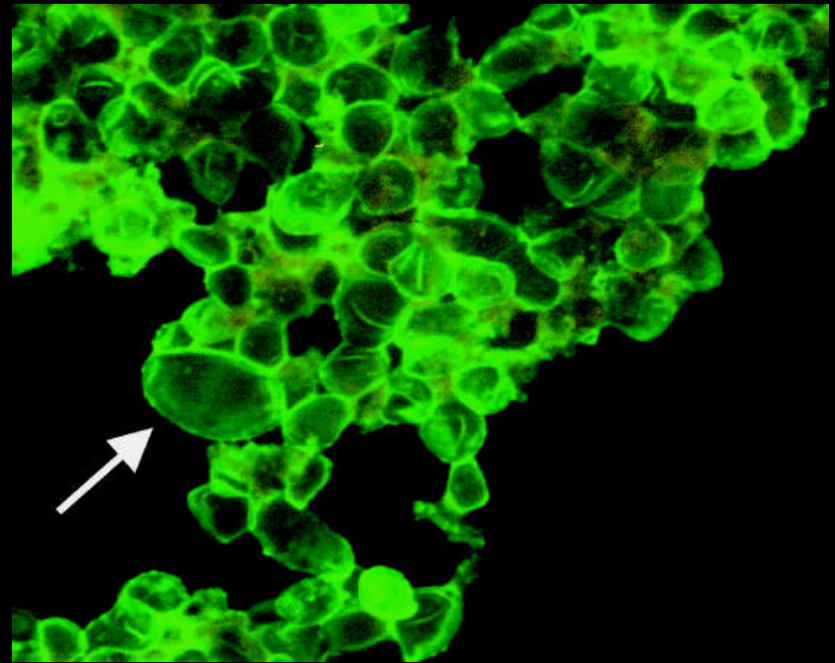
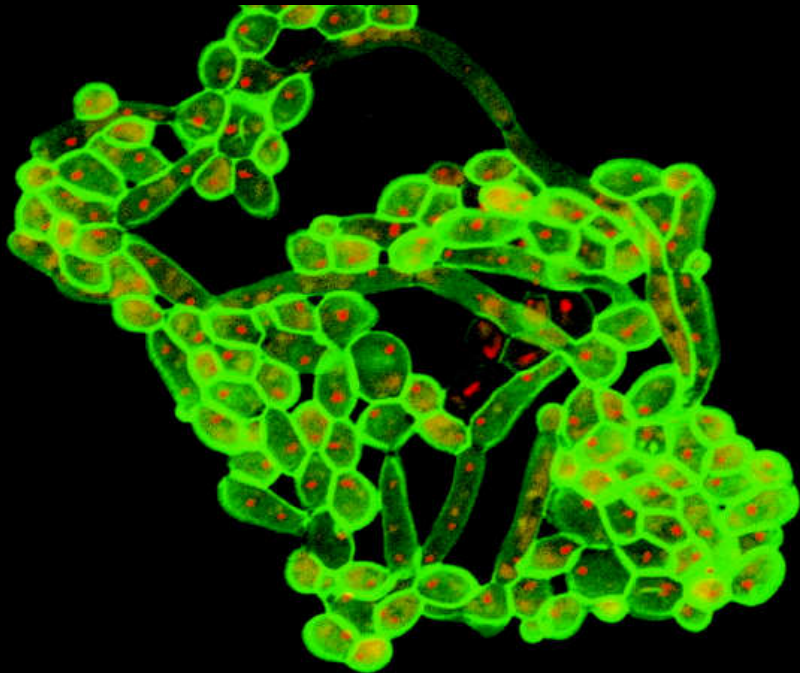


Antifúngicos



Descrição, modo de ação e precauções.

Como controlar os fungos :

Agentes Químicos: FENÓIS, ÁLCOOIS, SAIS DE METAIS PESADOS, HALOGÊNIO, OXIDANTES, REDUTORES, DETERGENTES

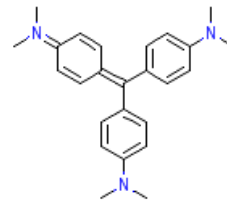
Agentes Físicos: Controle dos fatores ambientais que atuam no crescimento fúngico:

- Umidade
- Temperatura
- pH
- radiação

Tratamento das Micoses

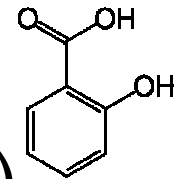
1^{as.} Drogas:

1890 - Violeta Genciana

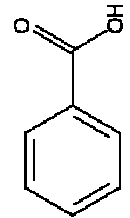


1940 - Iodo (Esporotricose)

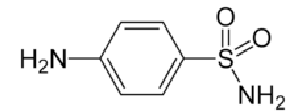
- Ác. Salicílico (Micoses cutâneas)



- Ác. Benzóico (Micoses cutâneas)



- Sulfas (Micoses sistêmicas)



Antifúngicos propriamente ditos:

1957 – Anfotericina B

1958 – Griseofulvina

1963 – Flucitosina

1967 – Miconazol

1976 – Cetoconazol

1980 – Itraconazol

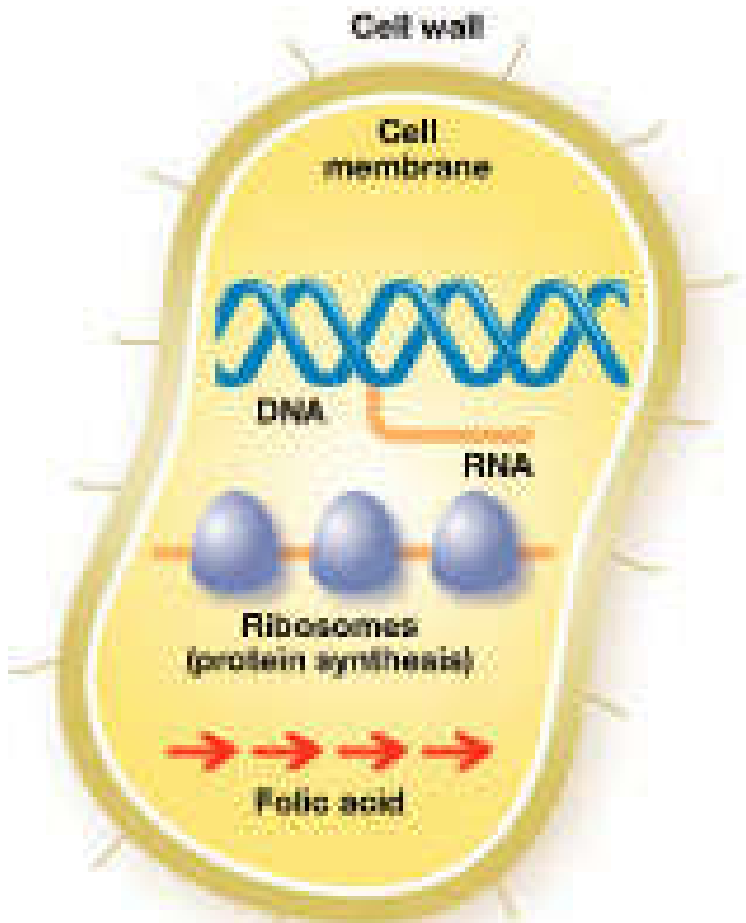
1996 – Voriconazol

1997 - Caspofungina

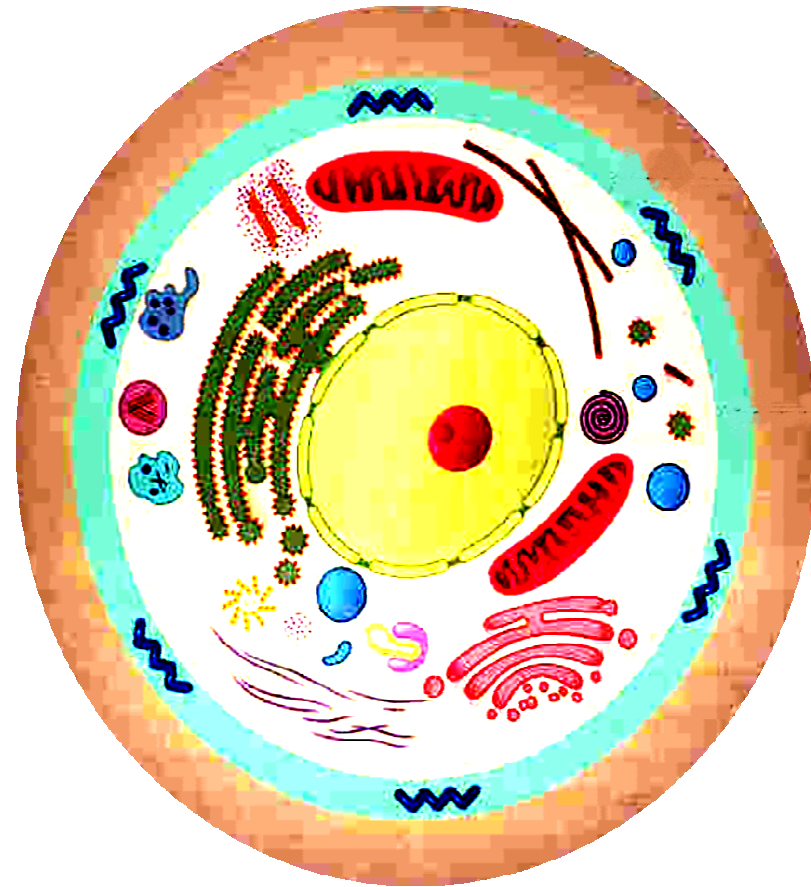
2000 - Micafungina

} Azóis

O combate a infecções fúngicas é muito mais complexo que de bactérias. Principalmente, pelas similaridades entre nossas células e dos fungos.

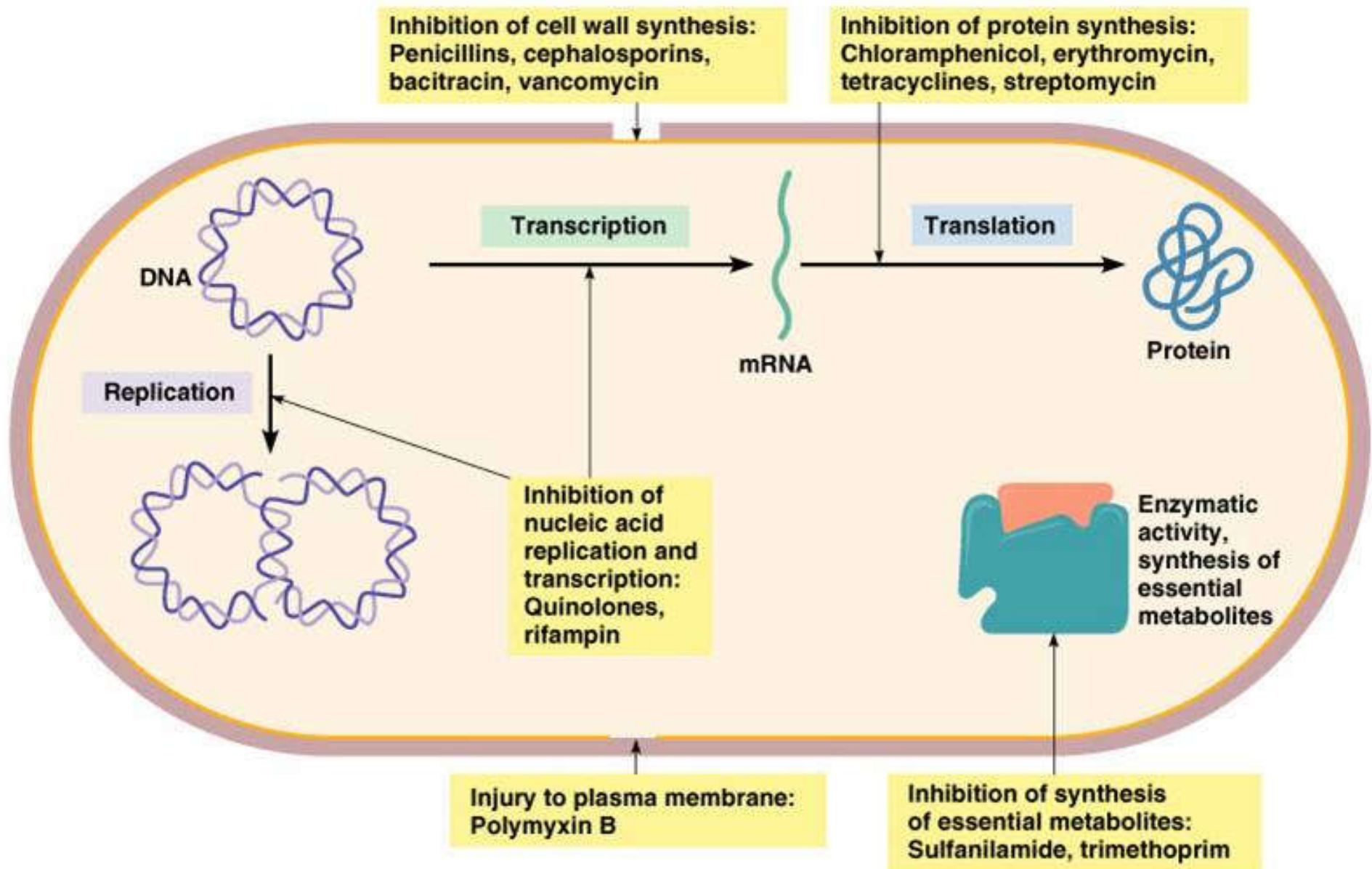


bactéria



Fungo

Principais pontos de ação dos anti-bacterianos:

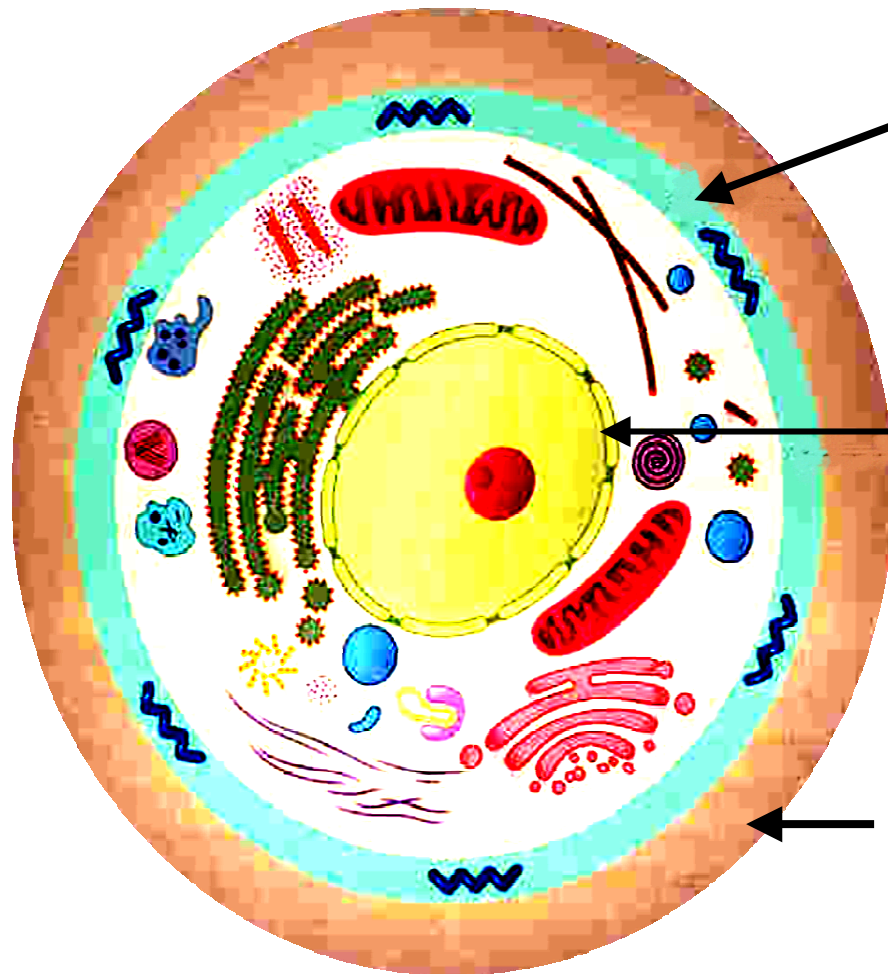


Combate a fungos causadores de doenças:

1- Agente deve combater o fungo não o paciente.

2- Busca de estruturas celulares alvo: presentes nos fungos mas ausentes nas nossas células.

Alvos potenciais terapia anti-fúngica:

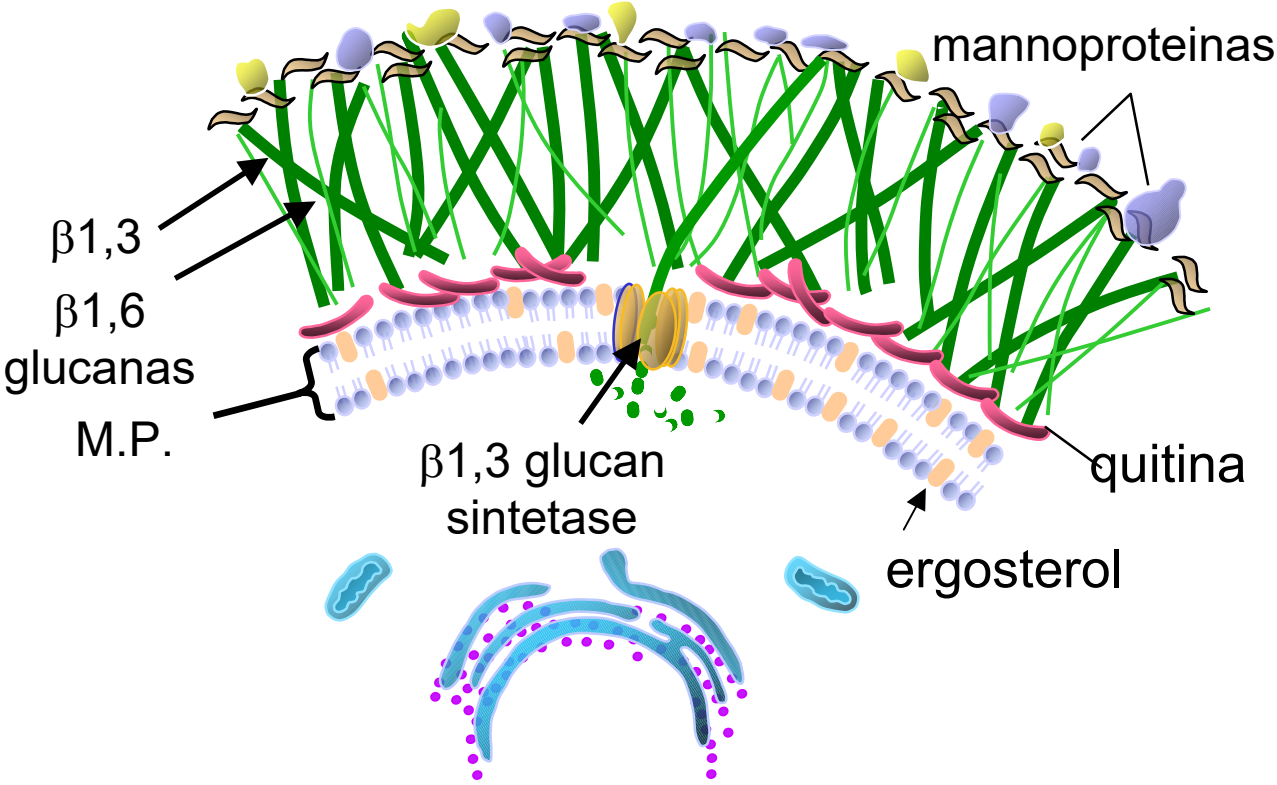


Membrana celular:
contém ergosterol ao
invés de colesterol

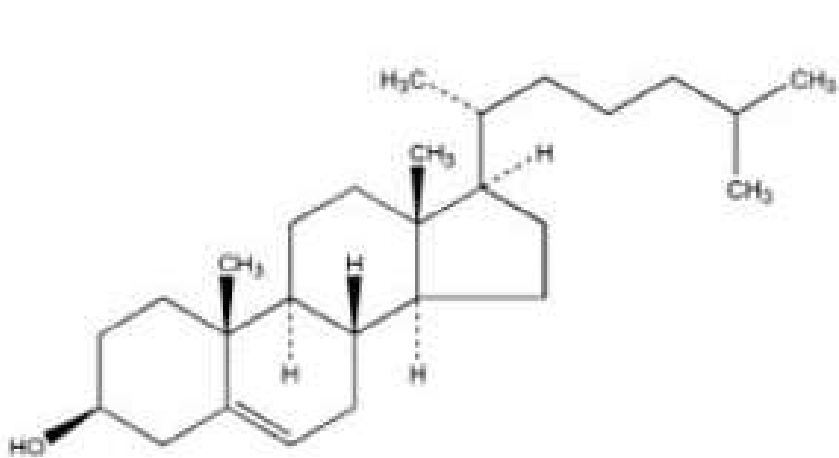
Algumas drogas podem
ser específicas em
interromper o
metabolismo DNA
fúngico

Ao contrário das células
de mamíferos, os fungos
possuem parede celular

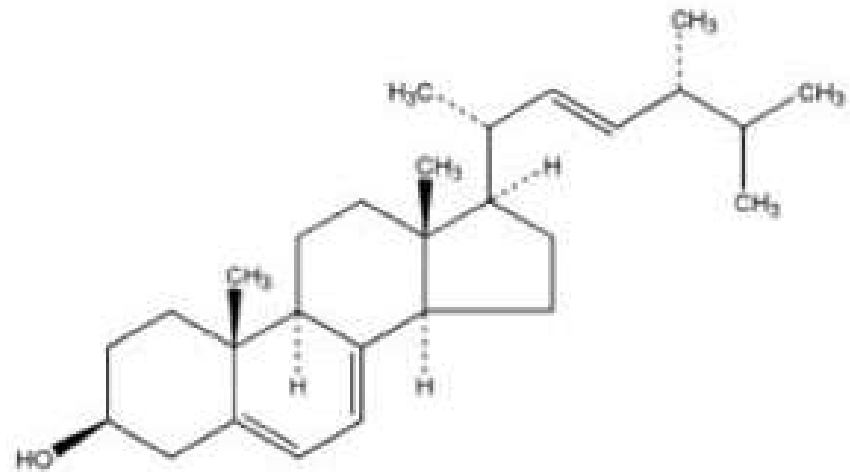
Esquema parede e membrana celular fungos:



As membranas celulares dos fungos se diferenciam das dos animais por apresentar em sua membrana **Ergosterol**, ao invés de colesterol.



Cholesterol

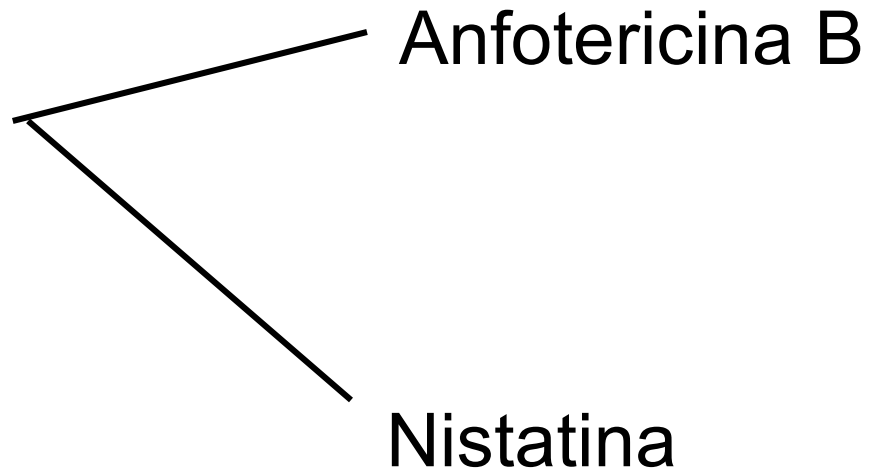


Ergosterol

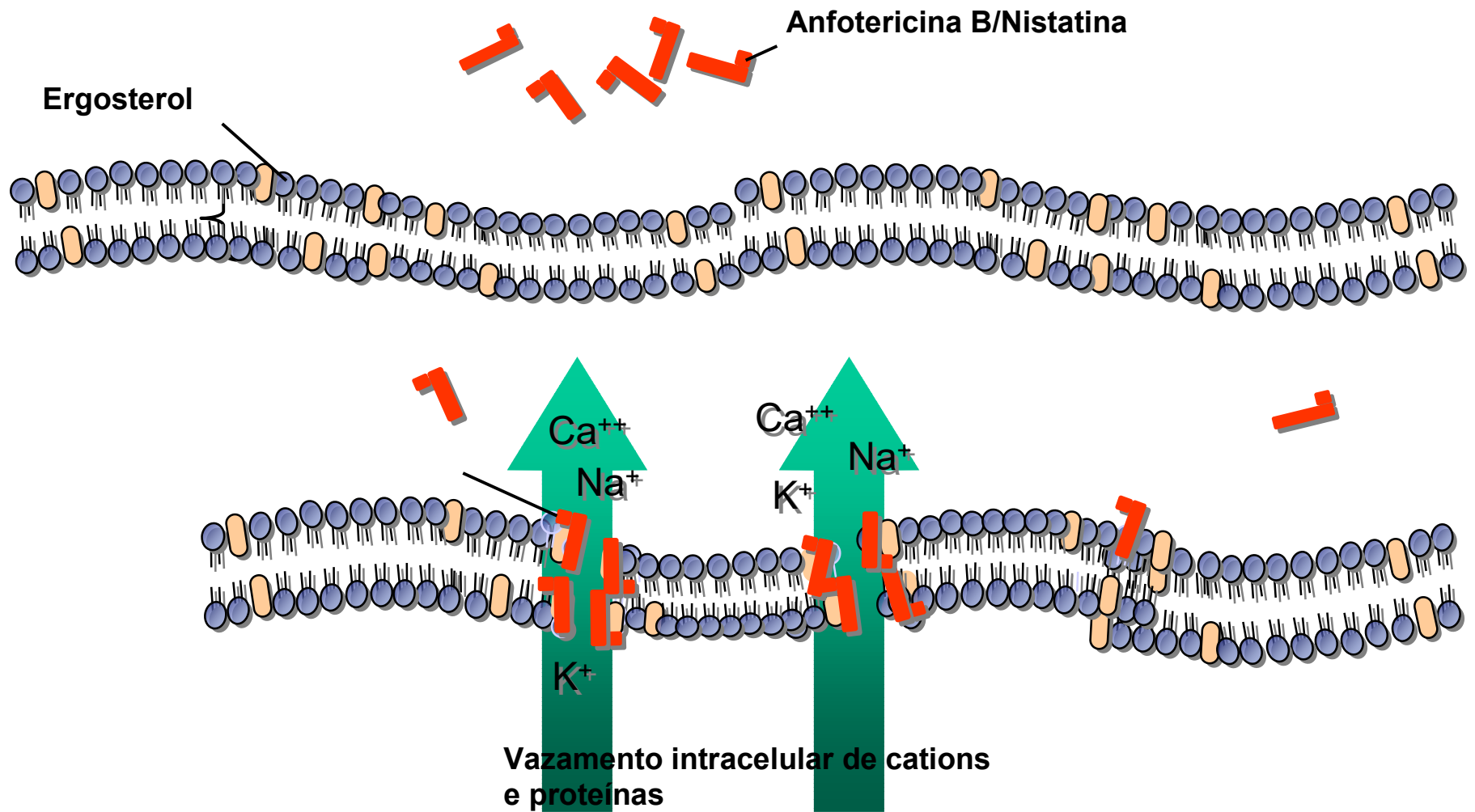
Polienos

Polienos:

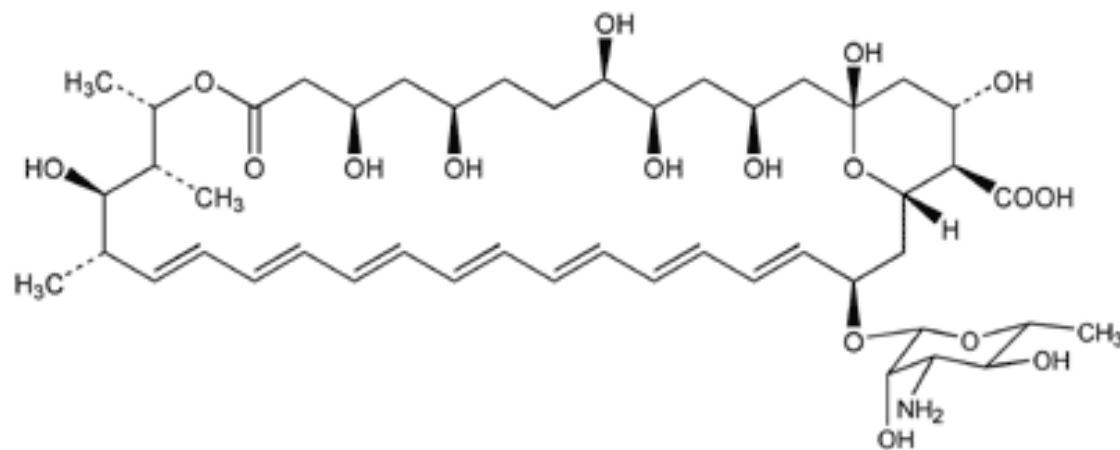
Modo de ação: se ligam ao ergosterol das membranas celulares dos fungos levando a abertura de canais e consequente vazamento de ions.



Esquema do modo de ação da Anfotericina B



Anfotericina B – foi inicialmente isolada como um metabólito de actinomicetos do gênero *Streptomyces*.
Fármaco eficaz contra micoses sistêmicas graves



amphotericin B

Resistência:

Casos de resistência em *Candida* e *Aspergillus*.

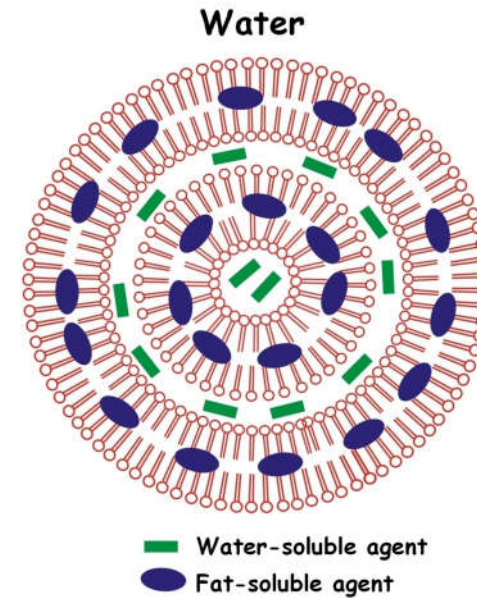
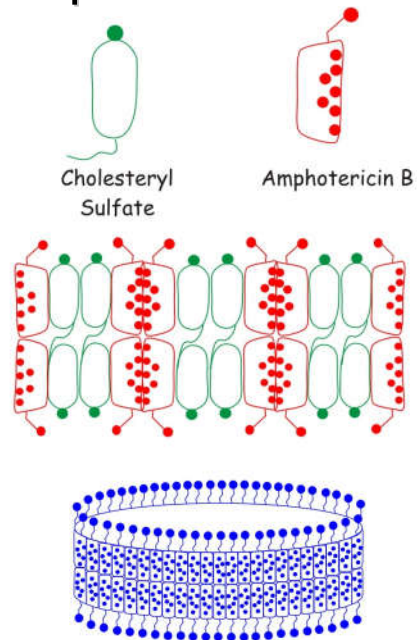
Efeitos colaterais :

Apresenta inúmeros efeitos colaterais, sua utilização continuada é nefrotóxica.

O acondicionamento da anfotericina B em lipossomos (L-AB) leva a uma redução considerável de efeitos colaterais.

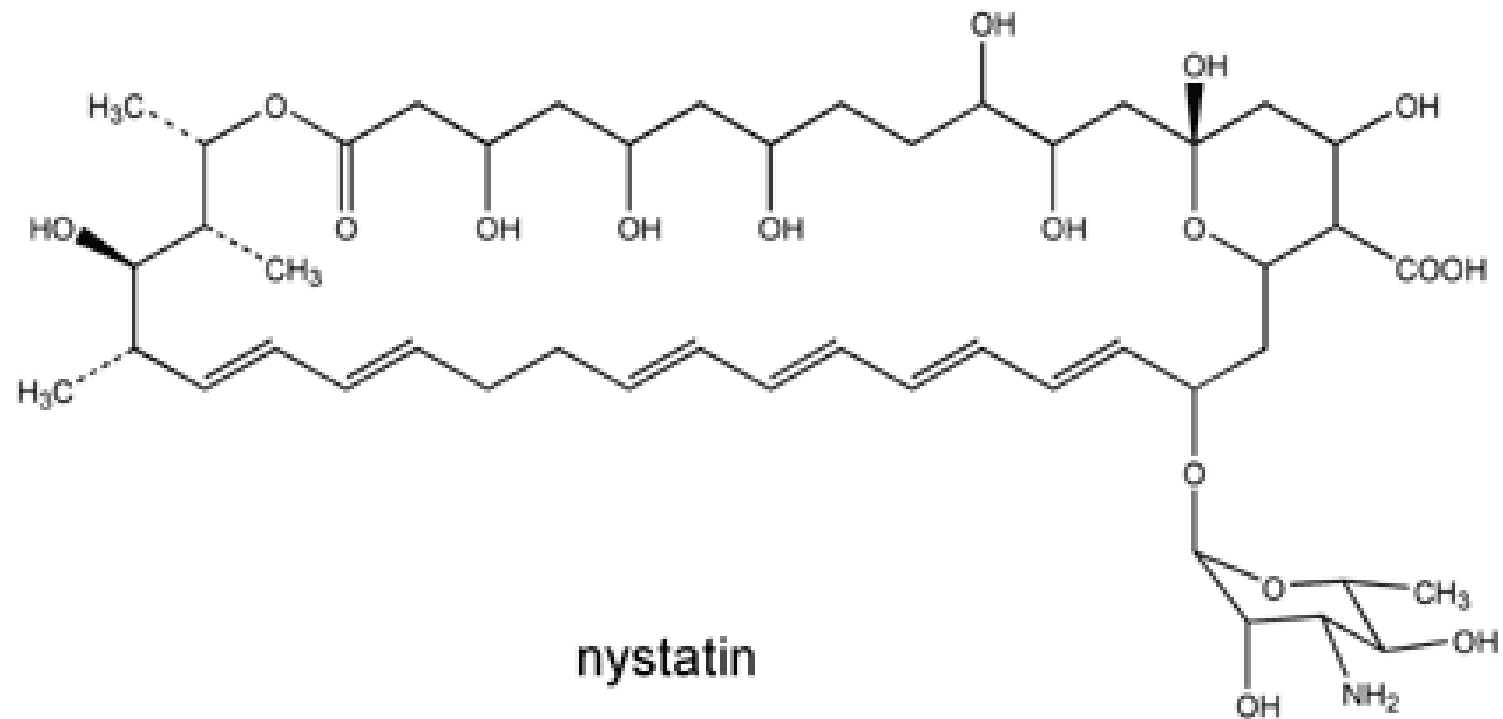
Acondicionamento de Anfotericina B em vesículas lipídicas:

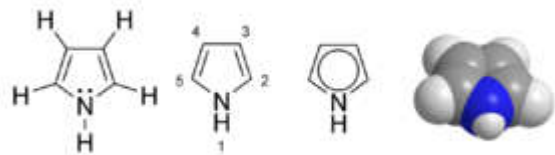
Amphotec[®] ABCD



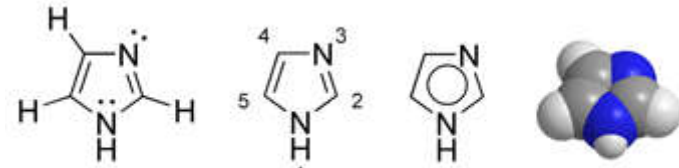
- Mesmo Efeito Farmacológico
- Menor Toxicidade

Nistatina: polieno de utilização unicamente tópica.
Utilizado contra infecções com *Candida* da mucosa oral e esôfago.



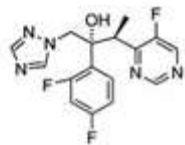


azol



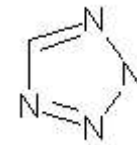
imidazol

Azóis



5 Voriconazole
(Pfizer)

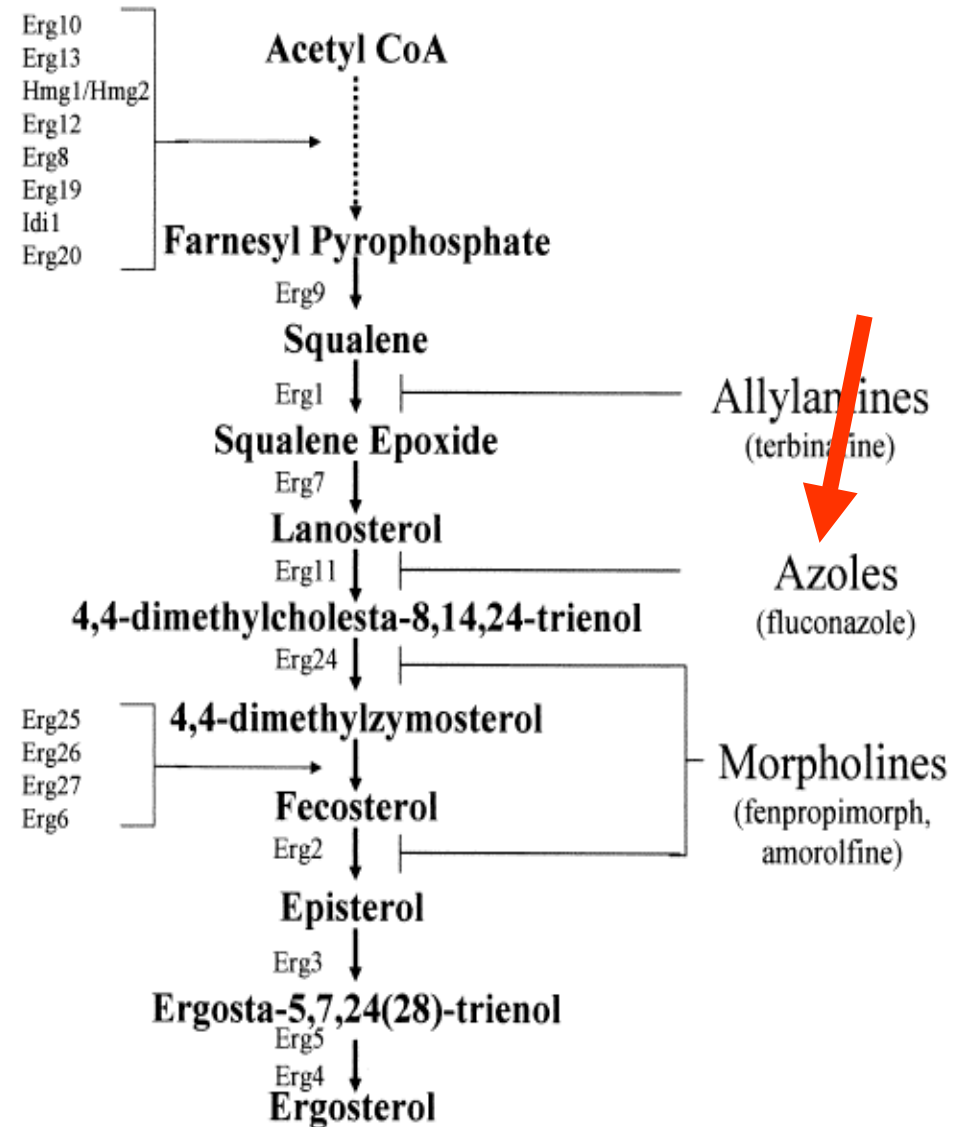
triazol



tetrazol

Os Azóis

Essa classe de fármacos age na via biossintética do ergosterol, interferindo na ação do produto gênico de *ERG11*: citocromo P450 lanosterol 14-alfa-demetilase.



Biossíntese de Ergosterol

A enzima alvo dos azóis (Erg11p) também está presente nas células de mamíferos, além de outros enzimas da família dos citocromos P450

```

human   1  MAAAAGMLLLGLLQAGGSVLGQAMEKVTGGNLLSMLLACAFSLVYLLRLAAGHLVQL
yeast   1  -----MSATKSIIVGEALEYVNICLSHFLLPLAQRLSLIIIIIPFIYNIIVWL

human   61  PAGVKS--PPYIFSPFPLGHAIAFGKSPTEFLENAYEKYGPVFSFTMVGKTFYLLGSD
yeast   48  LYSLRKDRPPLVFYWIPIVWGSVVYGMKPYEYEEFEECQKKYGDIFSFVLLGRVMTVYLGPK

human   119  AAALLFNSKNEIDLNAEDVYSRLTTPVFGKGVAYDVPNPVLEQKKMLKSGLNIAHFKQHV
yeast   108  GHEFVFNALADVSAAAYAHLLTPVFGKGVYDCPNRLMEQKKFVKGALTKAEFKSYV

human   179  SIIIEKETKEYFESWG-----ESGEKNVFEALSELIIILTASHCLHGKEIRSQINEKVAQ
yeast   168  PLIABEVYKYFRDSKNFRLNERTTGTIDVMVTQPEMTIFATASRLILGKEMRAKLDTDFAY

human   232  LYADLDGGFSHAAWLLPGWLPLPSFRRRDFAHREIKDIFYKATQKRRQSQEKID-DILQT
yeast   228  LYSDLKGFPTPIVFP-NLPLEHYRKRDAQKAISGTYMSLIKERRKNNDIQDRDLIDS

human   291  LLD-ATYKDGRRPLTDEEVAGMLIGILLAGQHTSSTTSAWMGFFLARDKTLQKKOYLEQKT
yeast   287  LMKNSTYKDGVKMTDQELANLLIGVLMGGQHTSAATSAWLLHLAERPVDVQQLYEEQMR

human   350  VCGENLPPLTYDQKDIINLLDRCIKETLRLRPPIMIMMRMARTPQTVAG--YTIPPGHQV
yeast   347  VLDGGKKELTLDLQEMFLLNQTIKETLRMHPLHSLFRKVMKDMHVPNTSYVIPAGYHV

human   408  CVSPITVNQRLKDSWVERLDFNPDRYLQDNPAS-----GEKFAYVVPFGAG
yeast   407  LVSPGYTHLRDEYFNAHQFNHRWNKDSASSYSVSGEEVDYGFGAISKGVSSPYLPFGGG

human   452  RHRCIGENFAYVQIKTIVSTMLRLYEFDLIDG-YFPPTVNYTMIHTPENP--VIRYKRRS
yeast   467  RHRCIGEHFAYCQLGVLSIFIRTLKWHYPEGKTVPPPDFETSMVTLPTGPAKIIVEKRNK

human   509  K---
yeast   527  EQKI
    
```

Alinhamento
entre proteína
Erg11 humana e
de uma levedura

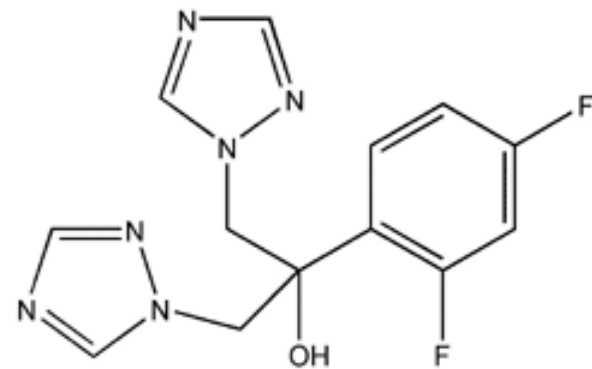
Derivados azólicos

- **Agentes Fungistáticos**

- 1ª geração – uso tópico – clotrimazol, miconazol, econazol, etc
- 2ª geração – cetoconazol – v. oral – amplo espectro – micoses superficiais e sistêmicas: paracoccidiodomicose, histoplasmose e candidiase
- 3ª geração – triazólicos Itraconazol e fluconazol – micoses superficiais e sistêmicas
Itraconazol – alternativa para cromomicose e esporotricose
- Voriconazol – oral ou IV -
- Posaconazole

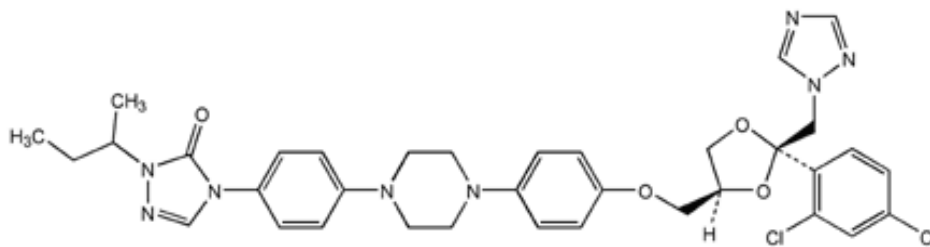
Exemplo de
alguns
azóis:

Fluconazol



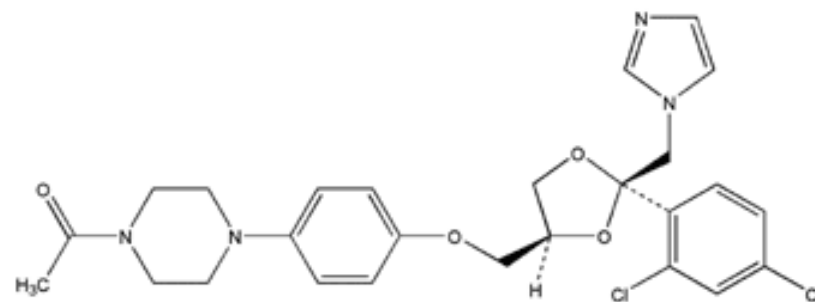
fluconazole

Itraconazol



itraconazole

Cetoconazol



ketoconazole

Fluconazol, Cetoconazol podem ser empregados de maneira tópica, ou via oral. São mais aconselhados no tratamento de micoses superficiais e subcutâneas.

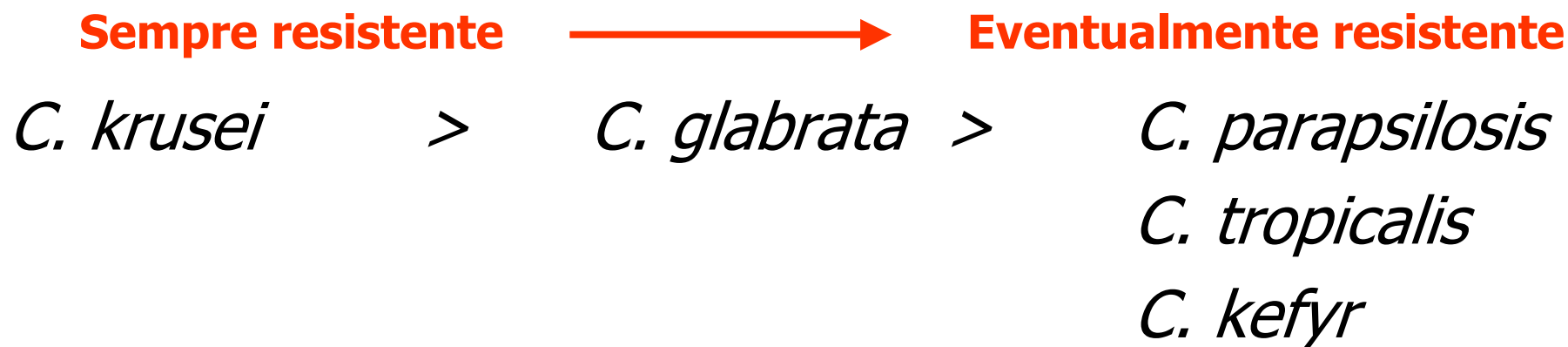
Itraconazol - micoses sistêmicas

Voriconazol – candidiases invasivas - aspergiloses

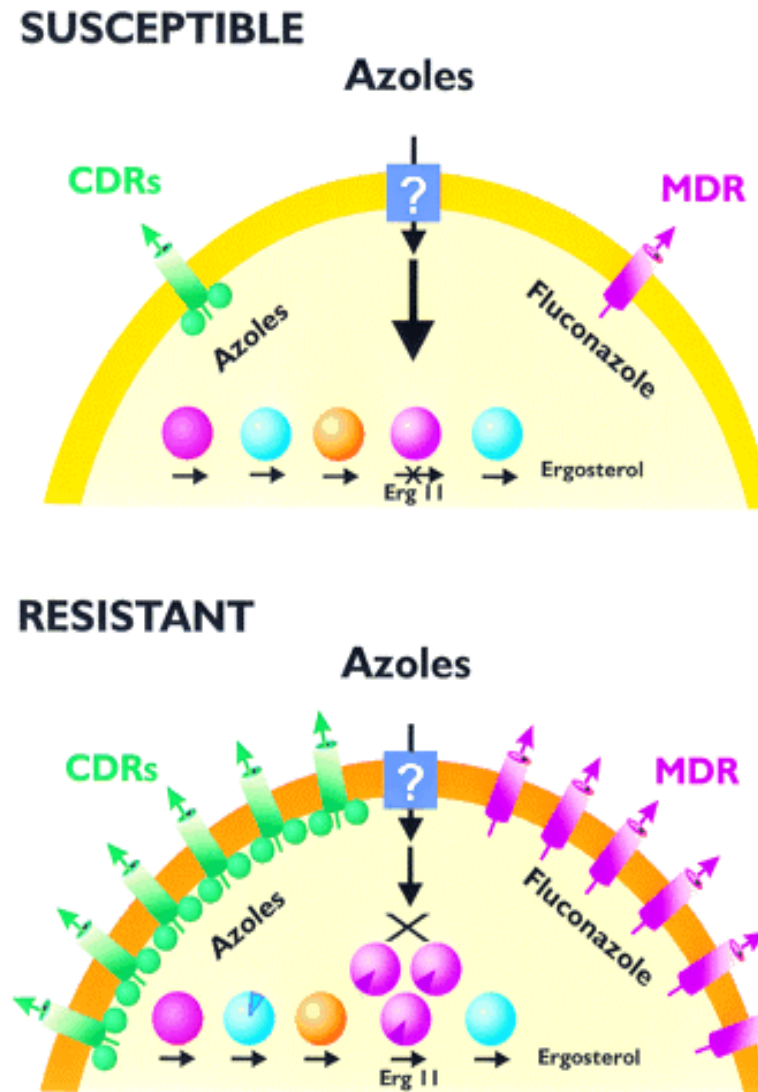
O uso continuado, ou alta concentrações de azóis podem levar a hepatotoxicidade (possivelmente por causa do seu efeito em citocromos P450 endógenos)

Algumas variedades patogênicas do gênero *Candida* são resistentes particularmente a Fluconazol e, ou Itraconazol – **o mecanismo de resistência pode estar relacionado a mutações no gene *ERG11*, no transportador celular, bombas de efluxo...**

Espectro de ação do Fluconazol



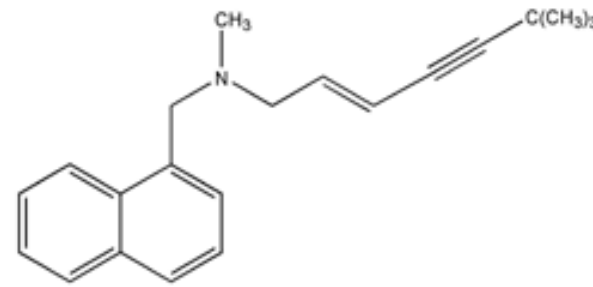
Mecanismos de Resistência a Azóis:



White TC, Marr KA, Bowden RA.
Clin Microbiol Review 1998;11:382-402

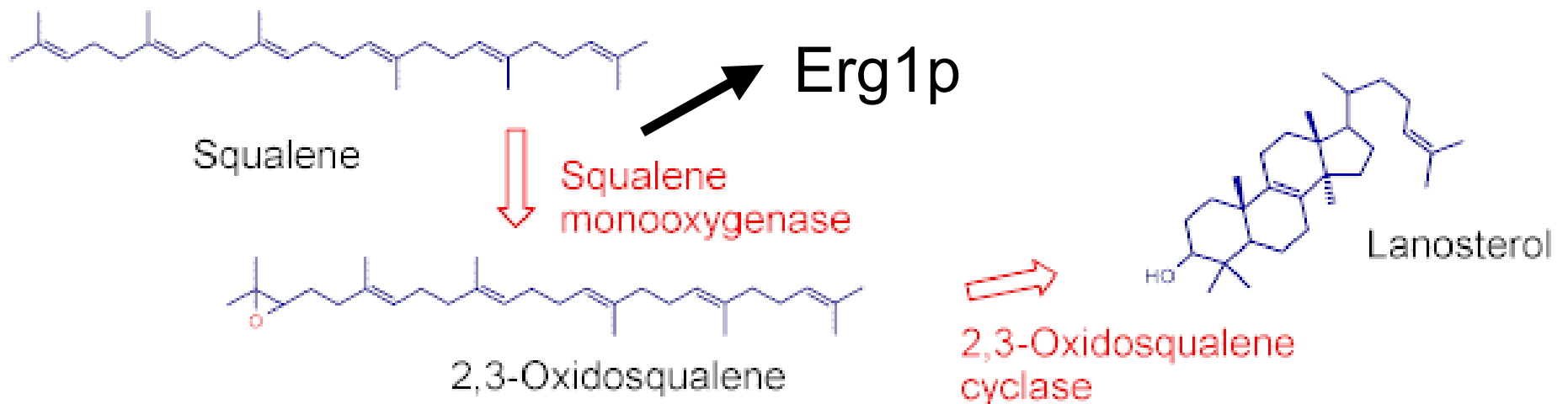
Alilaminas

Alilaminas –

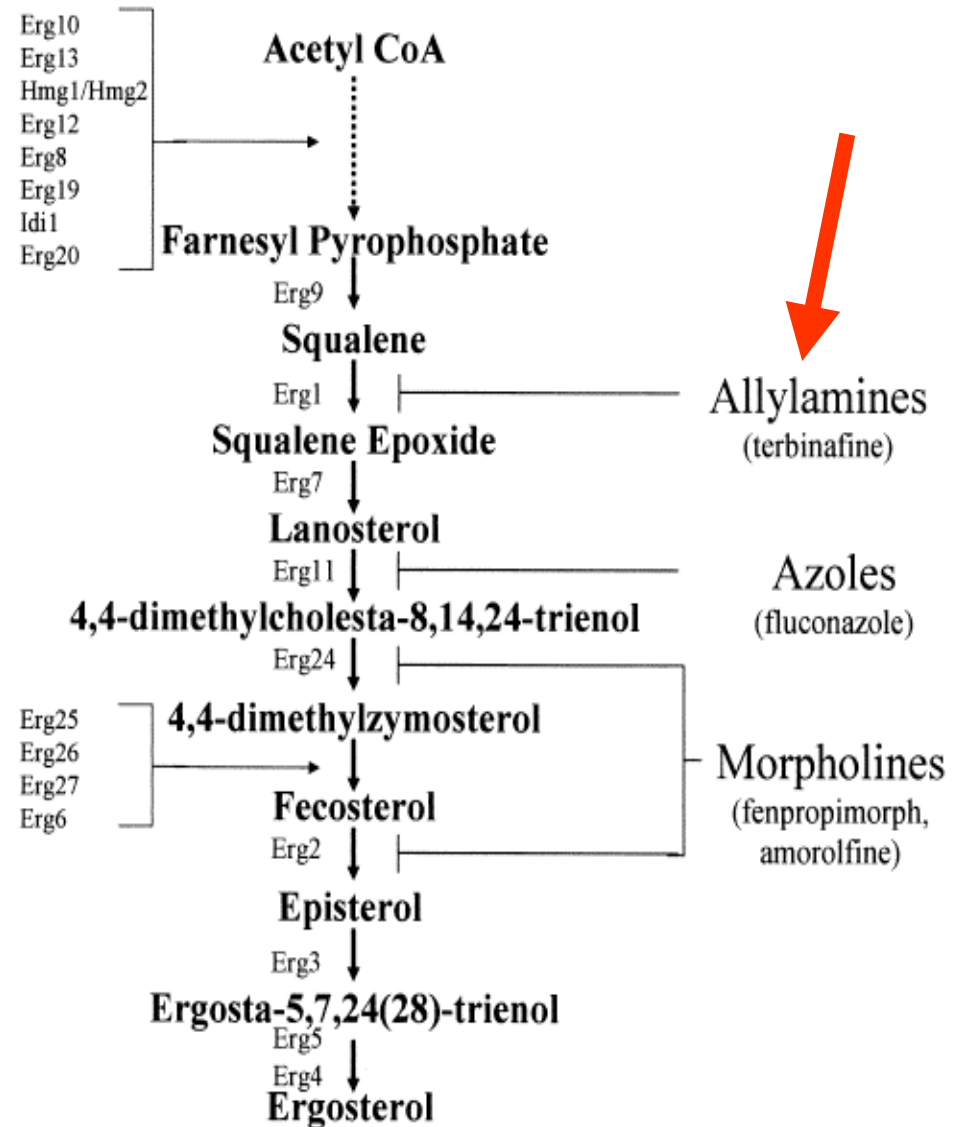


terbinafine

O principal membro desse grupo é a **Terbinafina** - inibe a esqualeno epoxidase (esqualeno monoxigenase) codificada pelo gene *ERG1*, participante da via biossintética do ergosterol.



Modo de ação da Terbinafina: Interrompe a via metabólica que leva a síntese de Ergosterol, inativando a enzima esqualeno monoxigenase

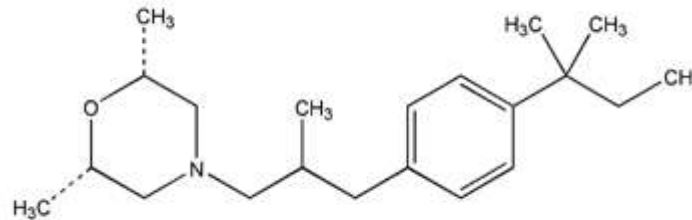


Terbinafina usada contra dermatófitos

Os efeitos colaterais até agora constatados são leves para o trato gastro-intestinal e para a pele.

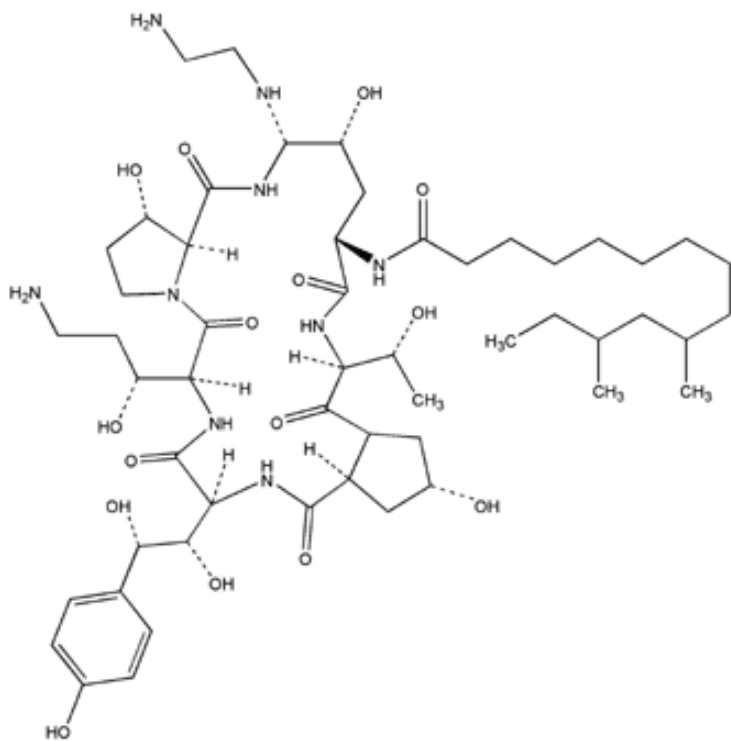
Também inibe a síntese de ergosterol e são usados prioritariamente contra dermatófitos:

Butenafina



Equinocandinas

A chamada classe dos **Equinocandinas** constitui os inibidores da **Glucano sintase**, tais como:

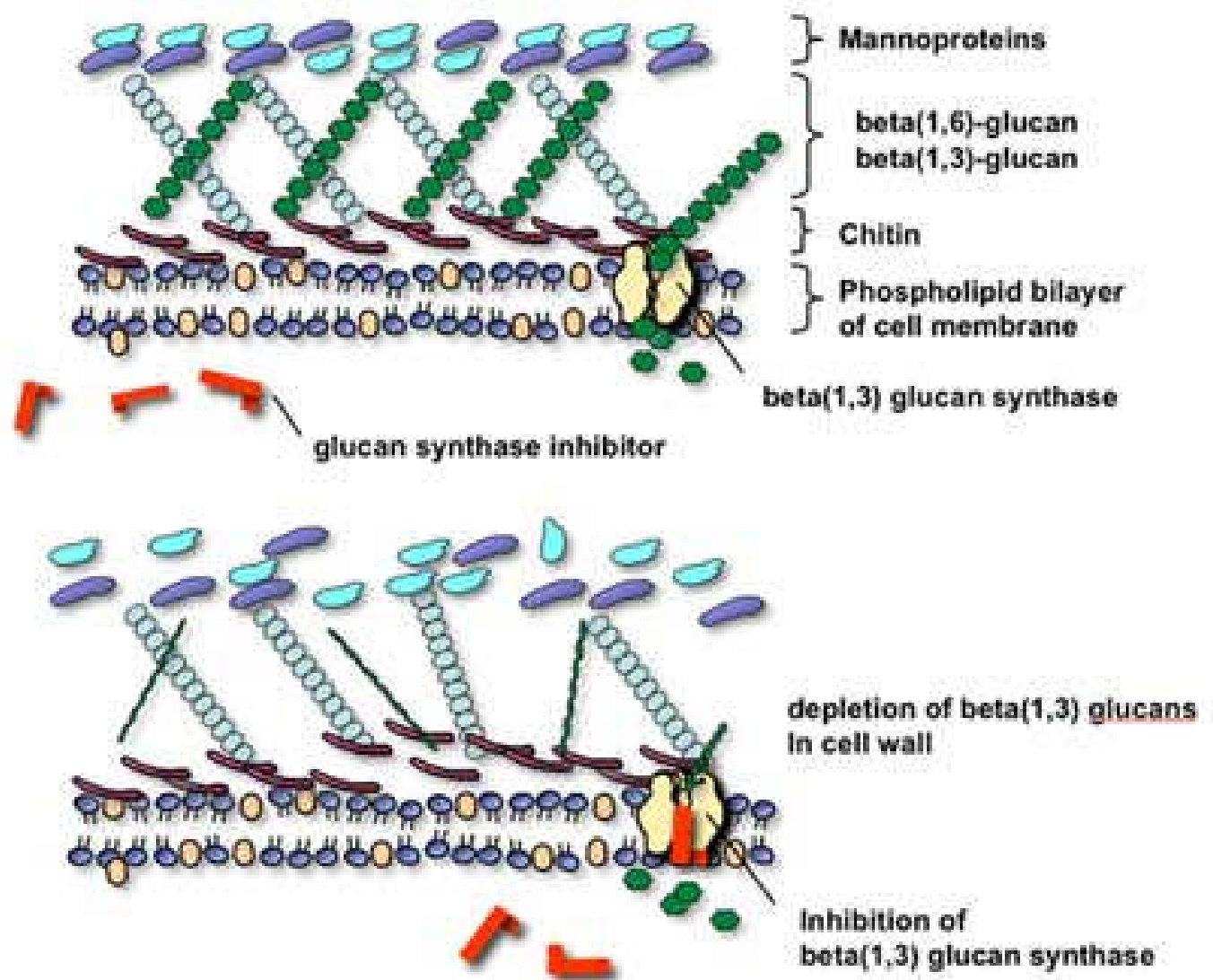


Caspofungina

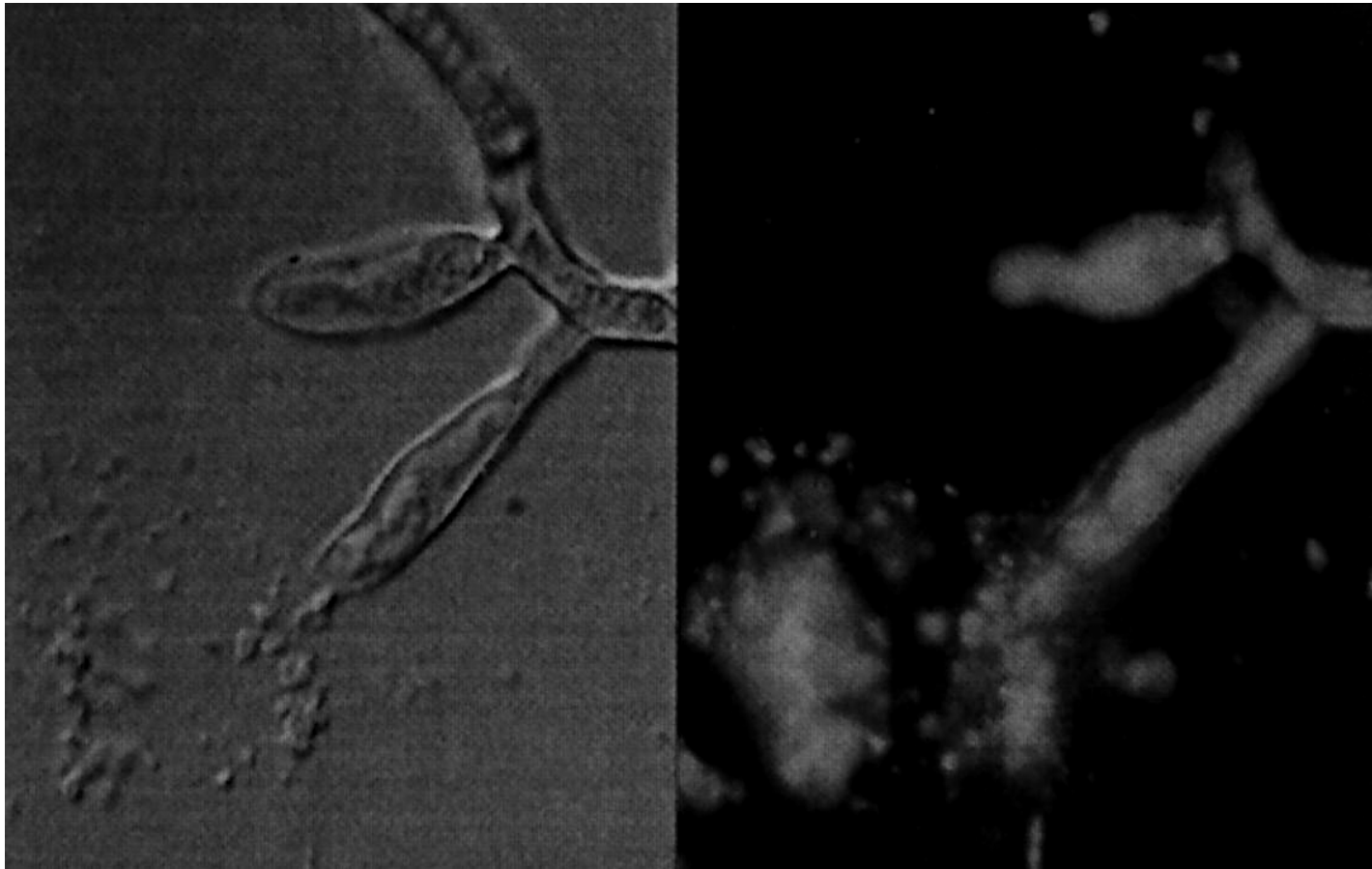
Licenciadas no Brasil:
Caspofungina
Anidafungina

Indicações – Candidiases invasivas

Modo de ação da Caspofungina e Micafungina: inibição da glucano sintase.



Ação de caspofungina numa hifa em crescimento de *Aspergillus*



Espectro de Ação de Equinocandinas:

Atividade:

Alta

Candida albicans,
Candida glabrata,
Candida tropicalis,
Candida krusei
Candida kefyr
Pneumocystis carinii

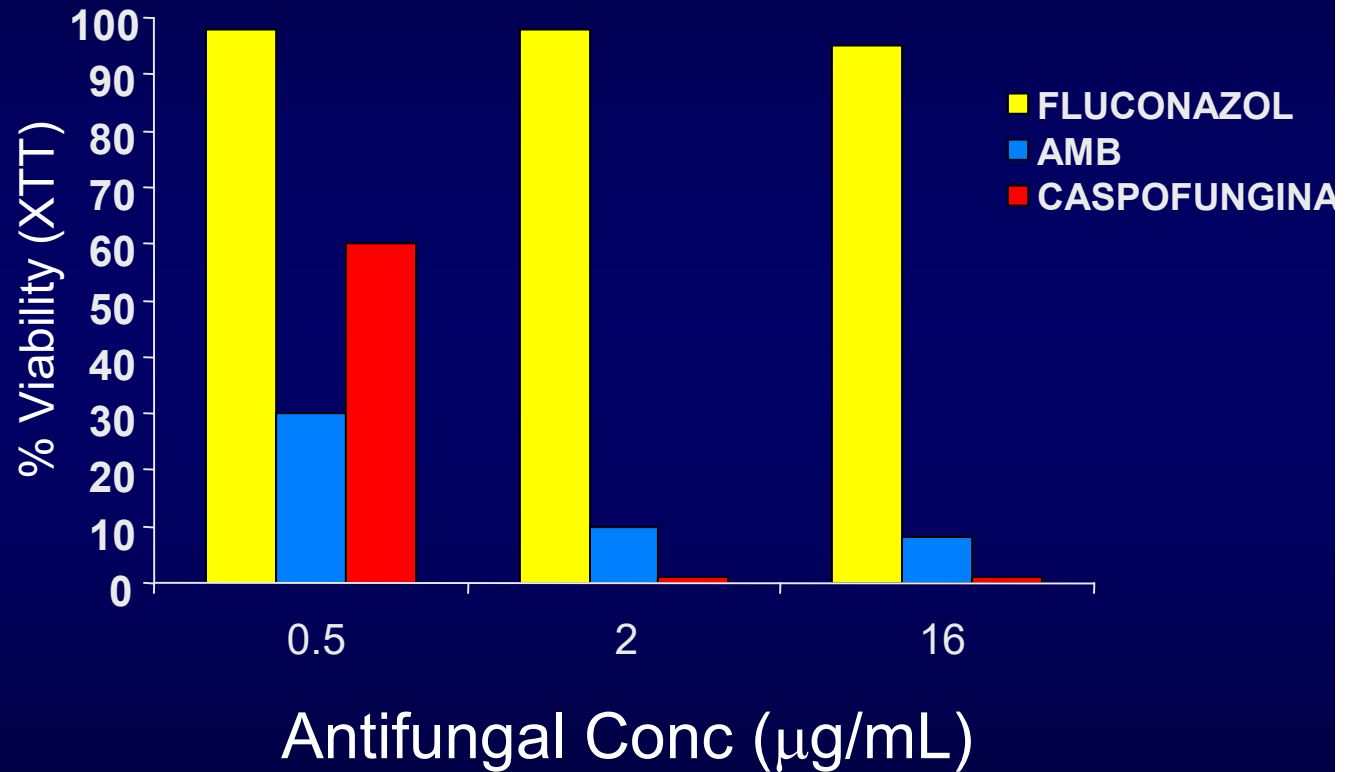
Média

Candida parapsilosis
Candida guilliermondii
Aspergillus fumigatus
Aspergillus flavus
Aspergillus terreus
Candida lusitanae

Baixa

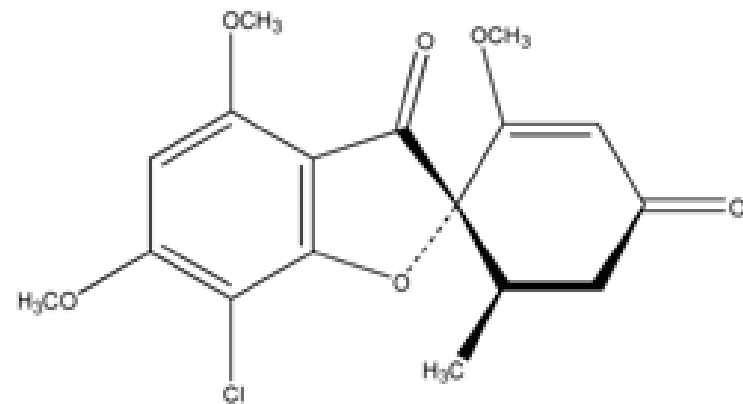
Coccidioides immitis
Blastomyces dermatitidis
Histoplasma capsulatum
Cryptococcus neoformans
Sporothrix schenckii

Viabilidade de *Candida* em biofilmes após tratamento com antifúngicos



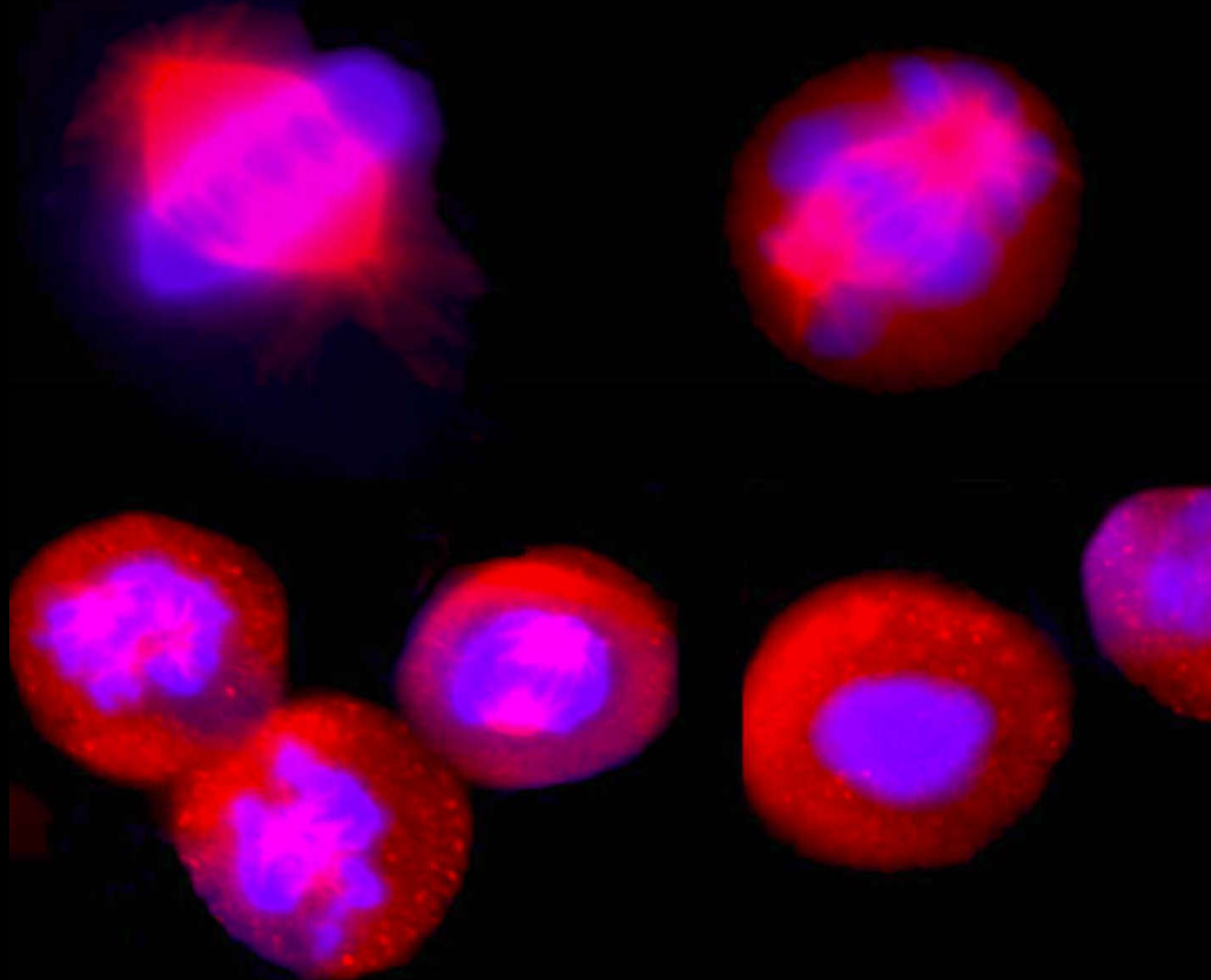
Griseofulvina

Griseofulvina – um dos primeiros anti-fúngicos a ser desenvolvidos, foi inicialmente isolado de *Penicillium griseofulvum* em 1937, e é utilizada contra dermatófitos.



griseofulvin

Modo de Ação da Griseofulvina: Inibição da formação dos microtúbulos celulares necessários, por exemplo, na formação das fibras dos fusos mitóticos.



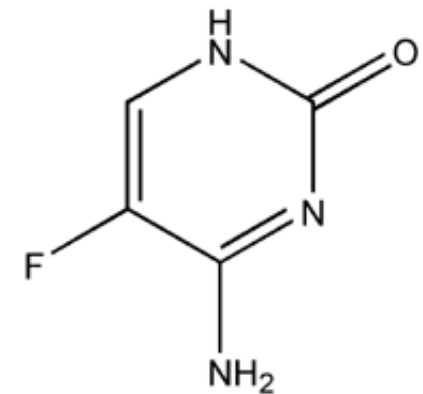
Flucitosina

Antimetabólicos: **Flucitosina:**

Modo de Ação:

Age na síntese de RNA, substituindo uracila por 5-fluor-uracil - inibe também a duplicação do DNA.

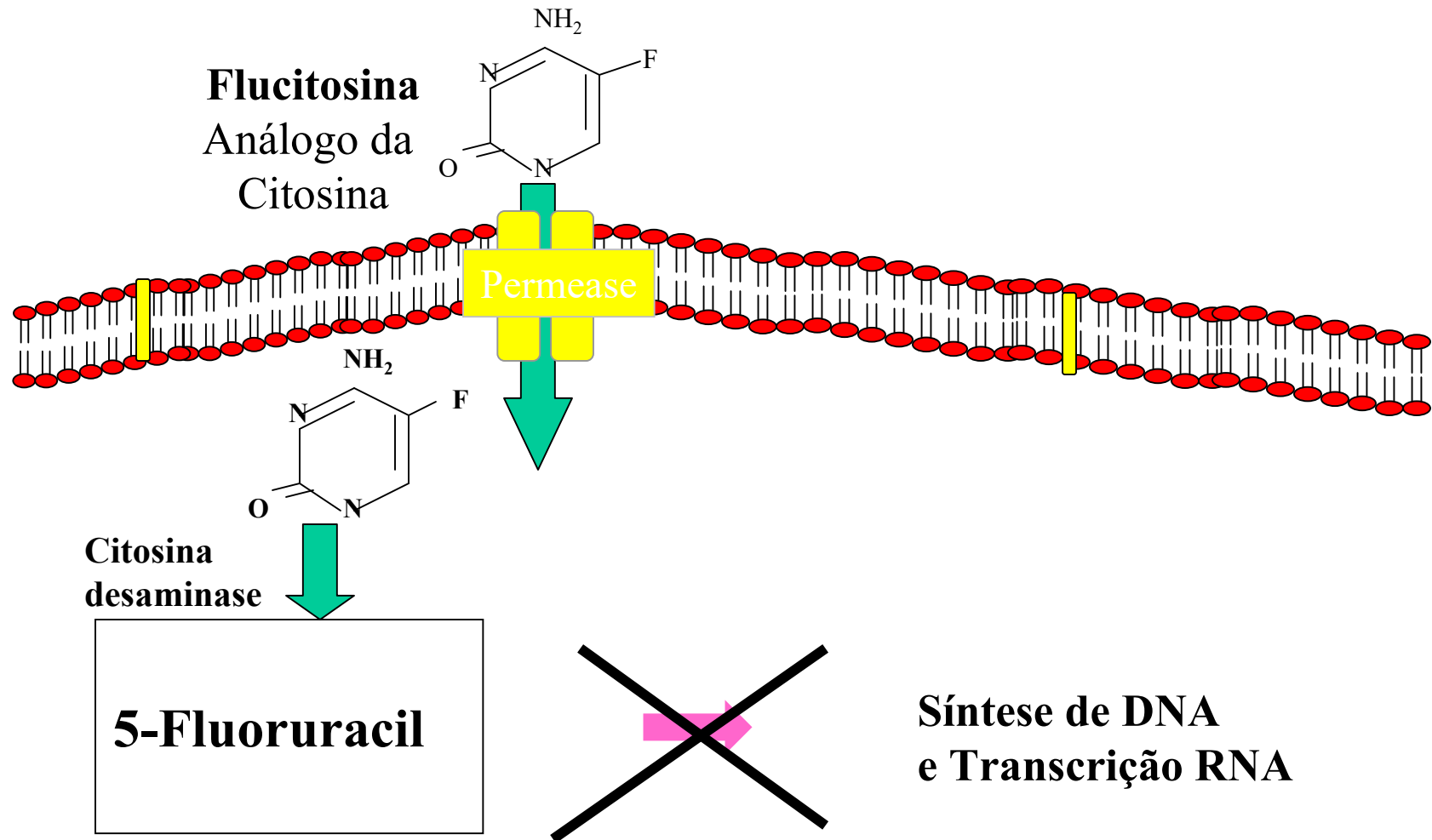
Seu uso é indicado em situações específicas e em conjunto com outros antifúngicos, como anfotericina B.



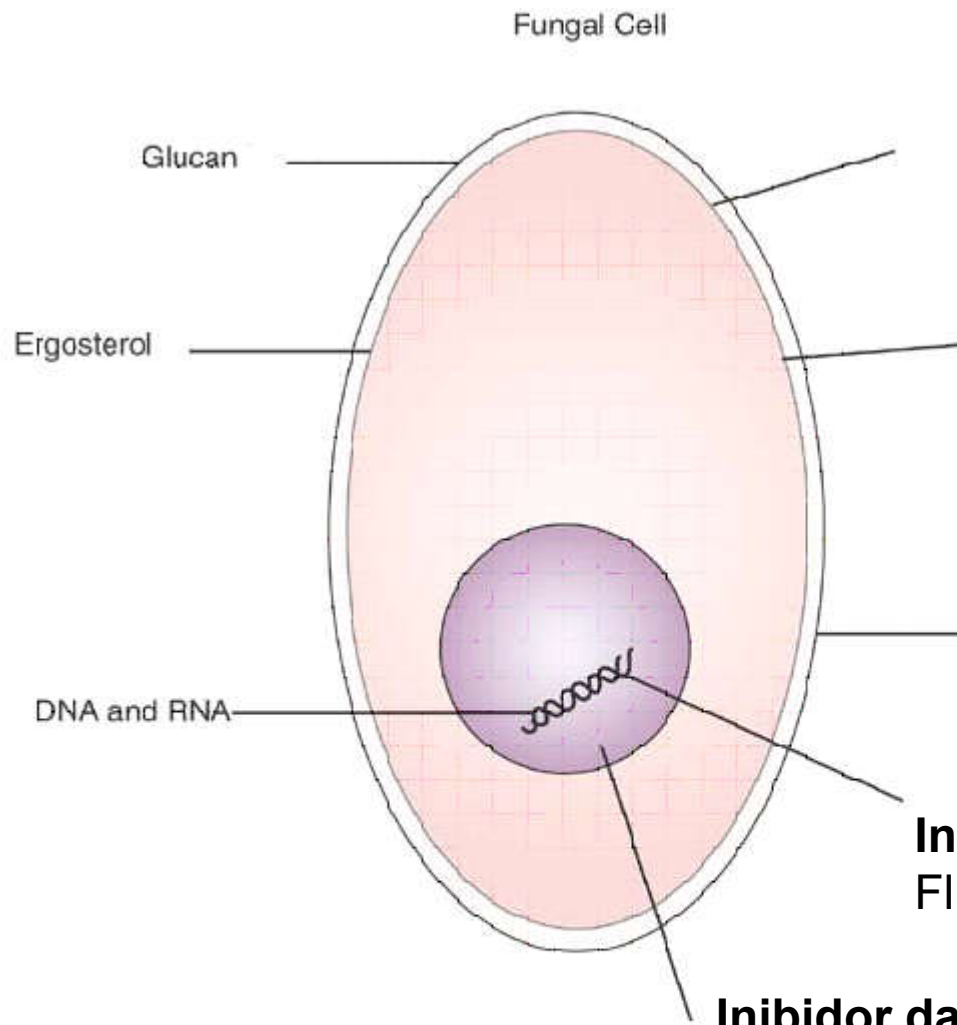
flucytosine

Como efeito colateral pode apresentar intolerância gastro-intestinal e depressão da medula óssea.

Mecanismo de ação - Flucitosina



**Drogas antifúngicas, resumo dos modos
de ação:**



Promotores vazamento eletrolítico celular após associação com ergosterol:

Anfotericina B, nistatina

Inibidores da síntese de ergosterol:

Derivados azólicos (Citocromo P450 lanosterol 14 α -demetilase)

Alilaminas (esqualeno monooxigenase)

Inibidores da síntese de glucanas

(inibição da β -(1-3) glucana sintetase)

Equinocandinas

Inibidor síntese de ácido-nucleicos:

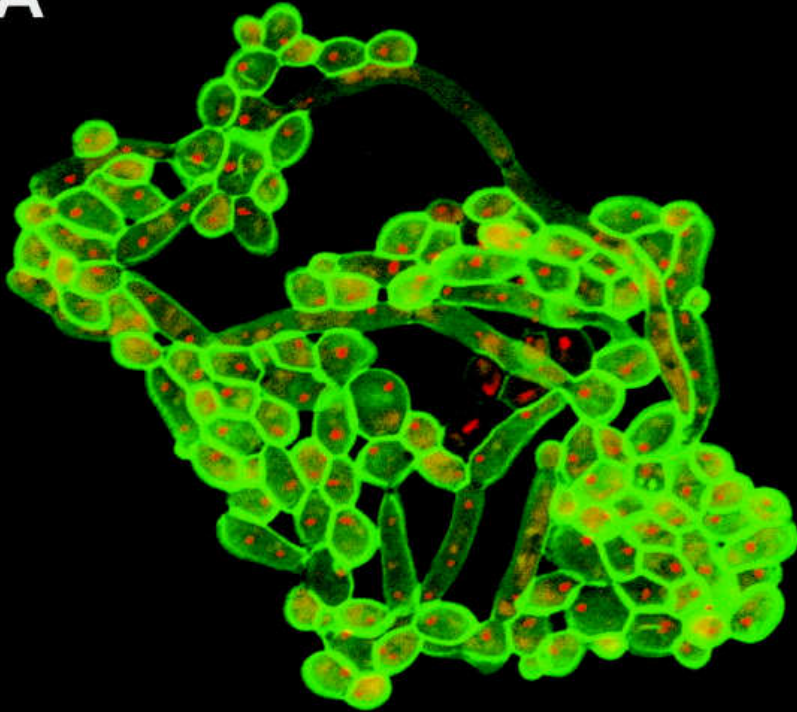
Flucitosina

Inibidor da divisão celular:

Griseofulvina

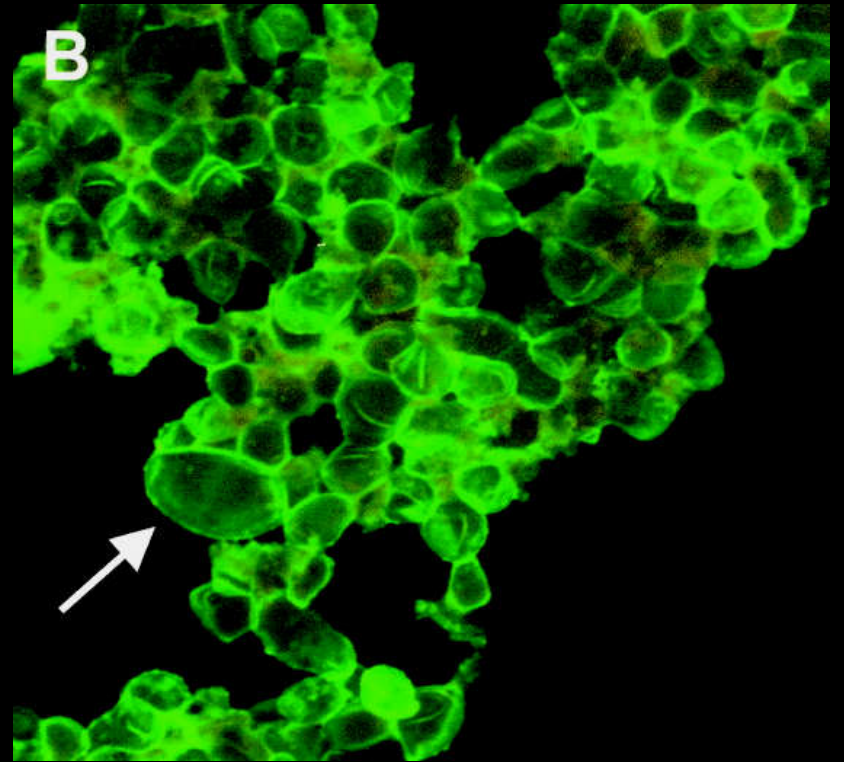
FIGURE 33-2 Actions of antifungal drugs on fungal cells.

A



Controle

B



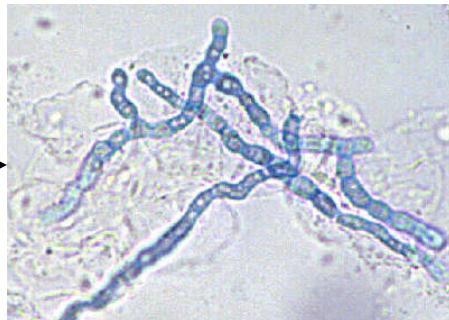
Caspofungina +

Diagnóstico Laboratorial das Micoses

Sequência diagnóstico de uma dermatofitose (tinea unguium)



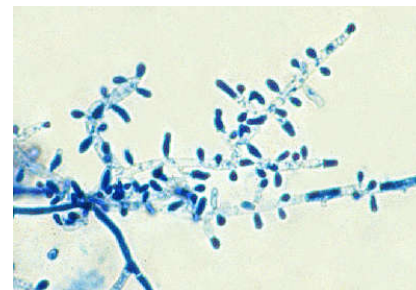
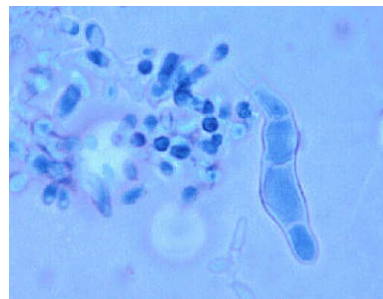
clínico



Exame direto



cultivo



Microscopia

O diagnóstico depende sempre de:

→ Coleta apropriada e cuidadosamente estocada

→ Coleta de informações do paciente (sexo, idade, profissão...)

→ Processamento do material

→ Interpretação dos resultados

Principais Técnicas para Diagnóstico em Micologia Médica

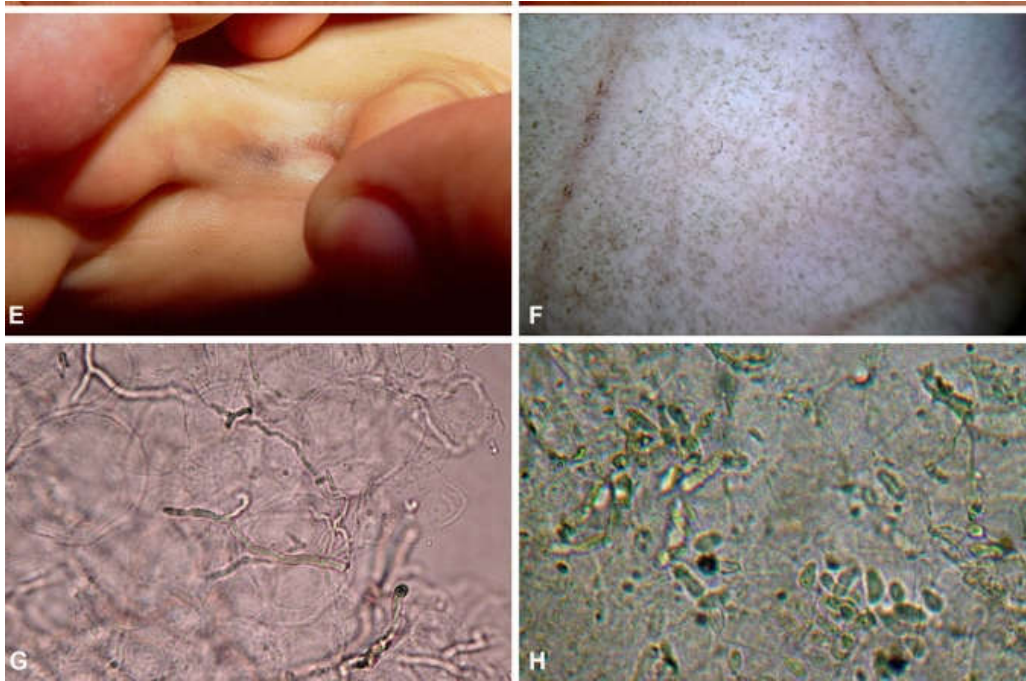
1. Exame micológico direto

→ simples e barato

→ materiais clínicos: escamas, pelos, unhas, secreção, pus, crostas, grãos, espécime de biópsia, líquido, urina.

→ muito útil para as micoses superficiais, cutânea e subcutânea e também algumas sistêmicas.

Stud Mycol. 2008; 61: 77–82.



The Lancet 364: 1173-1182 (2004)

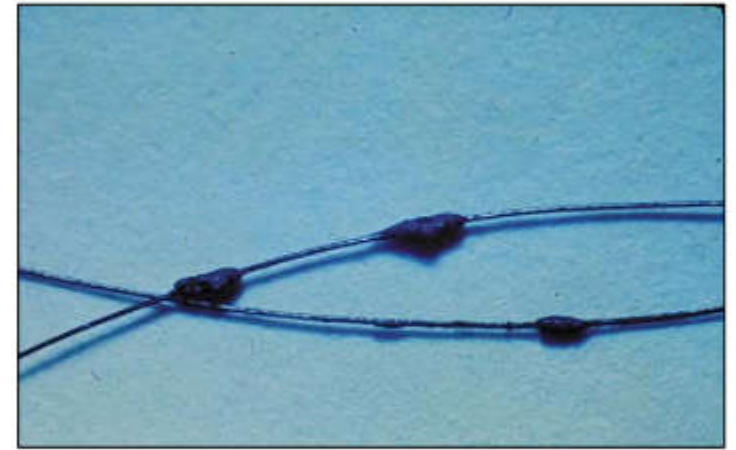
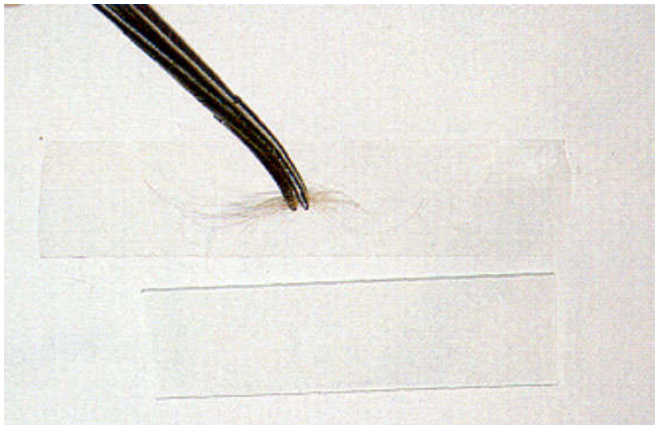


Figure 4: Black piedra as darkly pigmented, firmly attached nodules
Courtesy of Prof Luiz Guilherme Martins Castro, São Paulo, Brazil.



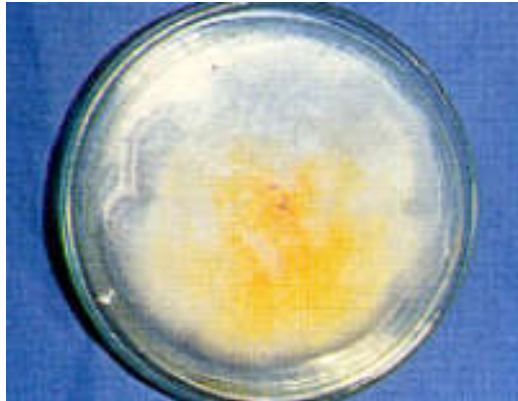
2. Cultura

→ Indispensável para o isolamento e a identificação do fungo patogênico

→ Quando isolado de sítios estéreis (liquor e sangue tem significado importante), de materiais como pus, escarro e urina deve ser interpretado com cautela

→ meio de cultivo predominante é o Ágar Sabouraud

Isolado de pele

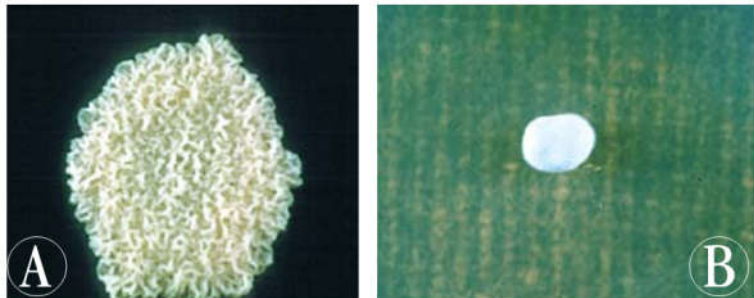


M. canis

Escarro

37°C

20°C



Rev Soc Bra Med Trop 39(3):297-310

P. brasiliensis

Liquor



A- *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* - sorotipo A
B- *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* - sorotipo D
C- *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* - sorotipo B

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Prof. Carlos da Silva Lacaz
Departamento de Dermatologia do HC - FMUSP

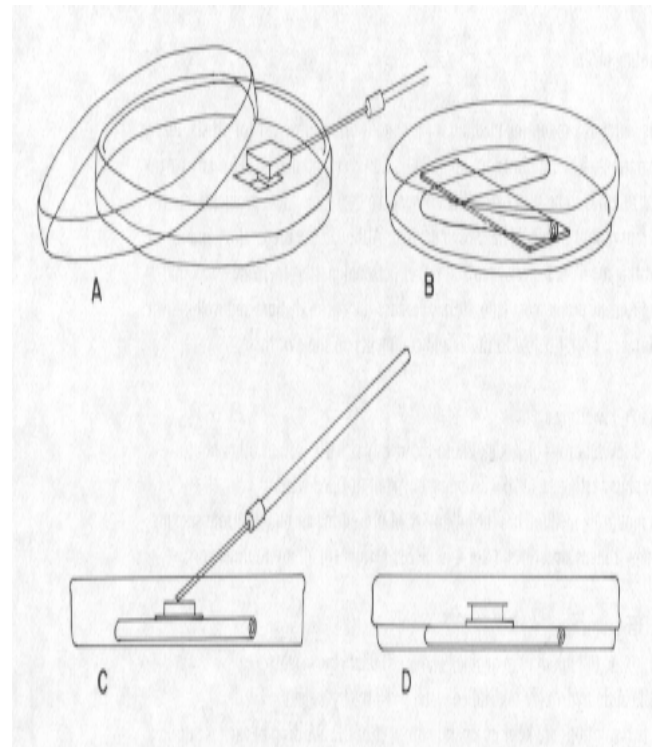
C. neoformans

3- Microcultivo

→ cultivo em um pequeno bloco de agar colocado entre lâmina e lâminula para microscopia

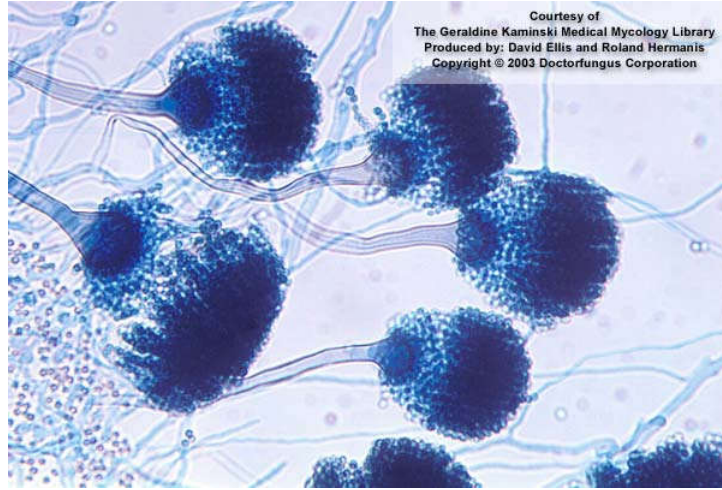
→ Estudo dos aspectos microscópicos característicos

→ Micélio vegetativo e micélio reprodutivo





M. canis



A. fumigatus



P. funiculosum



C. albicans

4- Testes Biológicos

Normalmente são utilizados como forma de distinguir espécies dentro de um mesmo gênero. Exemplos:

- Testes de crescimento em meio de cultivo seletivo
- Análise de pigmentação
- Testes de perfuração de pelo

C. neoformans vs *C. gatti* em meio CGB

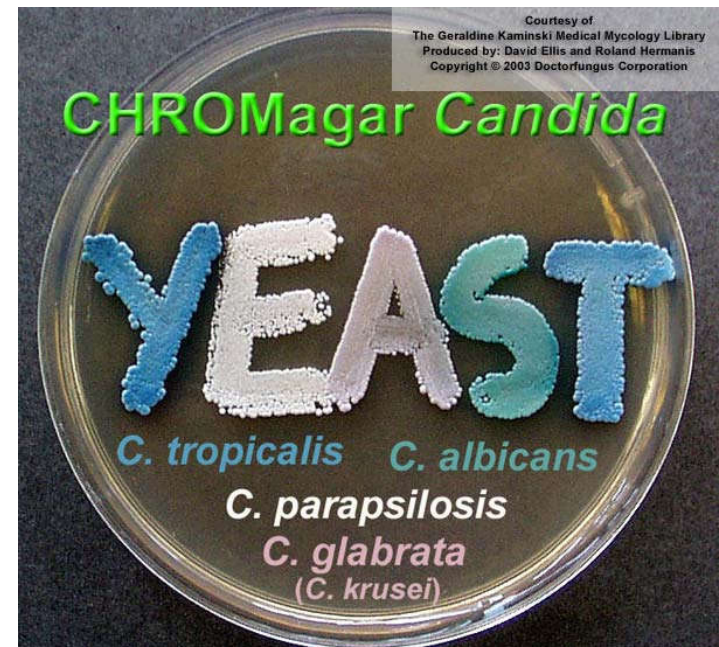


Figura 1 - A: Aspecto microscópico de segmento de pulmão afetado pelo *Cryptococcus neoformans*. Os alvéolos estão totalmente preenchidos por fungos com membrana de duplo contorno e que se reproduzem por brotamento simples. Os fungos estão separados entre si por espessa cápsula mucopolissacarídica, não individualizável nesta coloração (HE). Este é o aspecto mais característico da espécie. A cápsula tem espessura semelhante ao diâmetro do corpo celular do fungo. B - Imagem microscópica de *Cryptococcus* corada pela tinta nanquim. C - Meio de cultivo CGB diferenciando *Cryptococcus neoformans* (amarelo claro) de *Cryptococcus gattii* (em azul).



T. mentagrophytes → Perfura o pelo

T. Rubru → Não perfura o pelo



5- Testes Bioquímicos

Também utilizados na distinção entre espécies próximas.

→ Avaliam capacidades bioquímicas específicas, ex:

→ Capacidade fermentativa (zimograma)

→ Capacidade assimilação nutrientes (auxanograma)

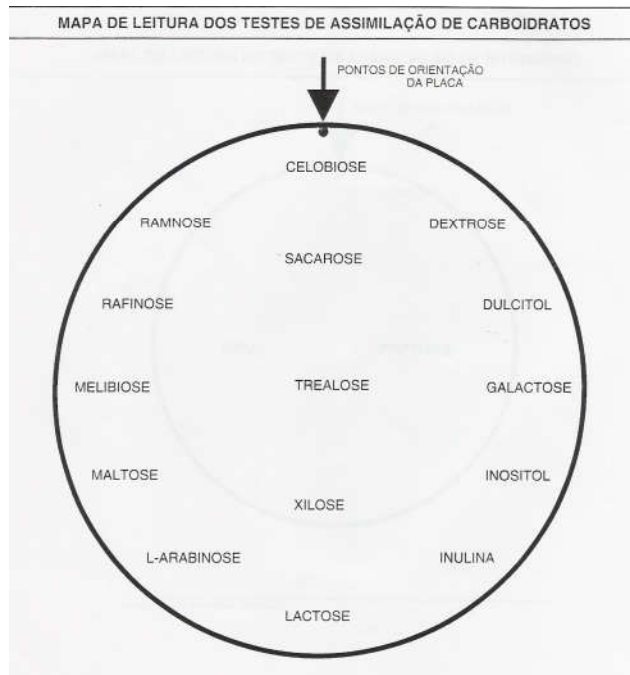
→ Utilização de uréia (prova da urease)

Quadro 9.1 Identificação das principais leveduras de interesse clínico

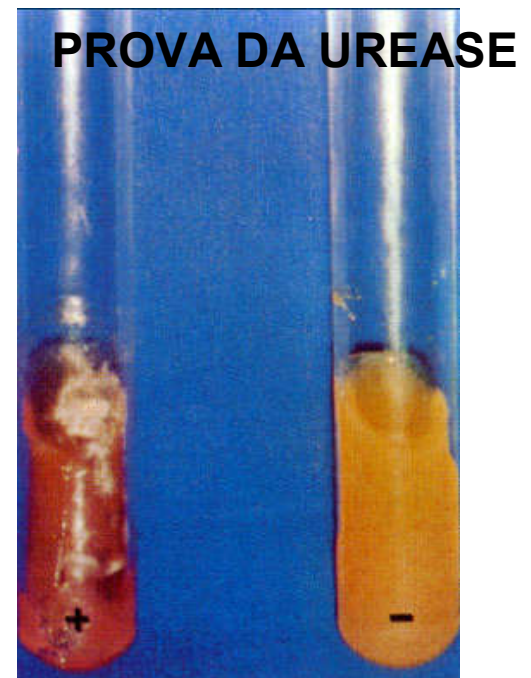
LEVEDURAS	Assimilação															Fermentação						Cap	Tg	U	KNO ₃
	Inu	Ram	Ara	Gli	Sac	Lac	Gal	Raf	Ino	Xil	Cel	Tre	Dul	Mal	Mel	Gli	Sac	Lac	Gal	Tre	Mal				
<i>Candida albicans</i>	NT	NT	NT	+	V	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	G	-	-	V	G	G	-	+	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	NT	NT	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	V	G	G	-	V	G	-	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	V	-	V	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	NT	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	V	-	-	V	V	-	-	-	-	-
<i>C. pseudotropicalis</i>	+	NT	NT	+	+	+	V	+	-	V	V	V	-	V	-	G	G	G	G	-	-	-	-	-	-
<i>C. stellatoidea</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	G	-	-	-	-	G	-	+	-	-
<i>C. tropicalis</i>	NT	-	-	+	+	-	+	-	-	+	V	+	-	+	-	V	V	-	G	G	G	-	-	-	-
<i>C. zeylanoides</i>	NT	NT	NT	+	-	-	V	-	-	-	V	+	-	-	-	V	-	-	-	V	-	-	-	-	-
<i>C. lambica</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	V	-	-	-
<i>C. lipolytica</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	+	-
<i>C. lusitanae</i>	NT	+	NT	+	+	-	V	-	-	+	+	+	-	+	-	G	V	-	V	V	-	-	-	-	-
<i>C. rugosa</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. famata</i>	NT	NT	NT	+	V	V	+	+	-	+	V	V	+	+	V	V	V	-	-	G	V	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	NT	NT	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	G	-	-	-	G	-	-	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	NT	NT	NT	+	+	-	+	V	+	+	V	V	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	V
<i>C. albidus</i>	NT	NT	NT	+	+	V	V	V	V	+	+	V	V	+	V	-	-	-	-	-	-	V	-	+	+
<i>C. gastricus</i>	NT	NT	NT	+	V	V	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>C. laurentii</i>	NT	NT	NT	+	+	+	+	V	+	+	+	+	+	+	V	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>C. terreus</i>	NT	NT	NT	+	-	V	V	-	+	+	+	V	V	V	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
<i>C. luteolus</i>	NT	NT	NT	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>C. uniguttulatus</i>	NT	NT	NT	+	+	-	V	V	+	+	V	V	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Rhodotorula rubra</i>	NT	NT	NT	+	+	-	V	+	-	+	V	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	V	-	+	-
<i>R. glutinis</i>	NT	NT	NT	+	+	-	V	V	-	+	V	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	V	-	+	+
<i>Trichosporon inkingii</i>	-	-	V	+	+	+	V	-	+	+	+	+	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>T. ovoides</i>	-	+	V	+	+	+	+	V	+	+	+	V	NT	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	NT	NT	NT	+	+	-	+	V	-	-	-	V	-	V	-	G	G	-	G	V	G	-	-	-	-
<i>Geotrichum candidum</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>G. capitatum</i>	NT	NT	NT	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hansenula anomala</i>	NT	-	NT	+	+	-	V	V	-	V	+	+	-	+	-	G	G	-	V	V	V	-	-	-	+

NT = não testado; G = produção de gás; + = positivo; - = negativo; V = variável; Inu = inulina; Ram=L-ramnose; Ara = L-arabinose; Gli = glicose; Sac = sacarose; Lac = lactose; Gal = D-galactose; Raf = rafinose; Ino = inositol; Xil = D-xilose; Cel = celobiose; Tre = trealose; Dul = dulcitol; Mal = maltose; Mel = melibiose; Cap = cápsula; Tg = tubo germinativo; U = urease; KNO₃ = nitrato de potássio.

Auxanograma



Zimograma



T. mentagrophuytes

T. rubrum

Anatomopatológico

→ Demonstração de elementos fúngicos em tecidos

Cromoblastomicose

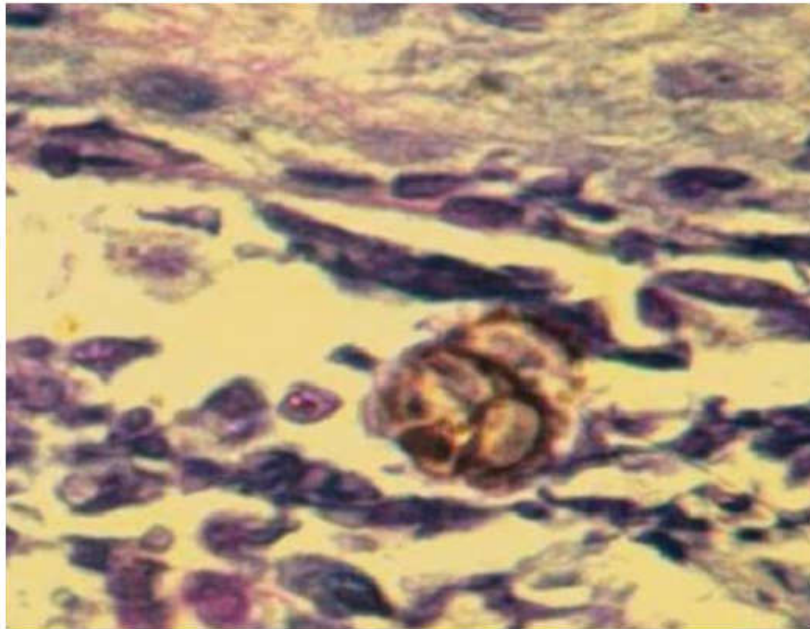
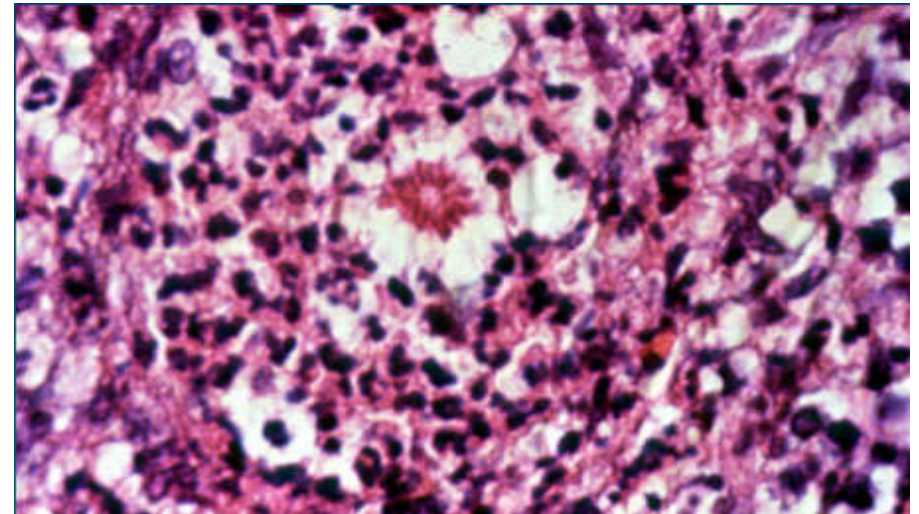


FIGURA 3: Biópsia de pele mostrando célula muriforme típica (corpo esclerótico) em meio a um microabscesso. PAS x 1000

An.Bras.Dermatol (2011) 86:138-141

Esporotricose



CORPO ASTERÓIDE

Criptococose

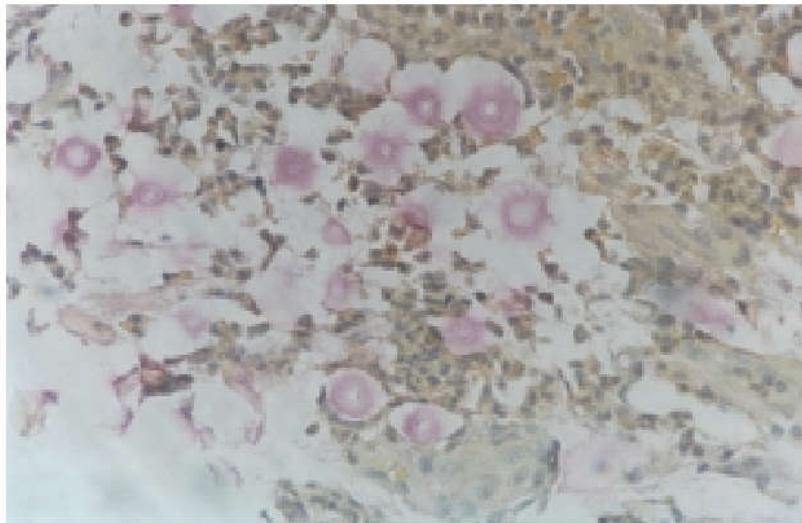


Fig. 3 - Histopathological slides positive for *C. neoformans* (mucicarmine method, 500x).

Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo
44 (4):225-228, July-August, 2002.

Paracoccidioidomicose

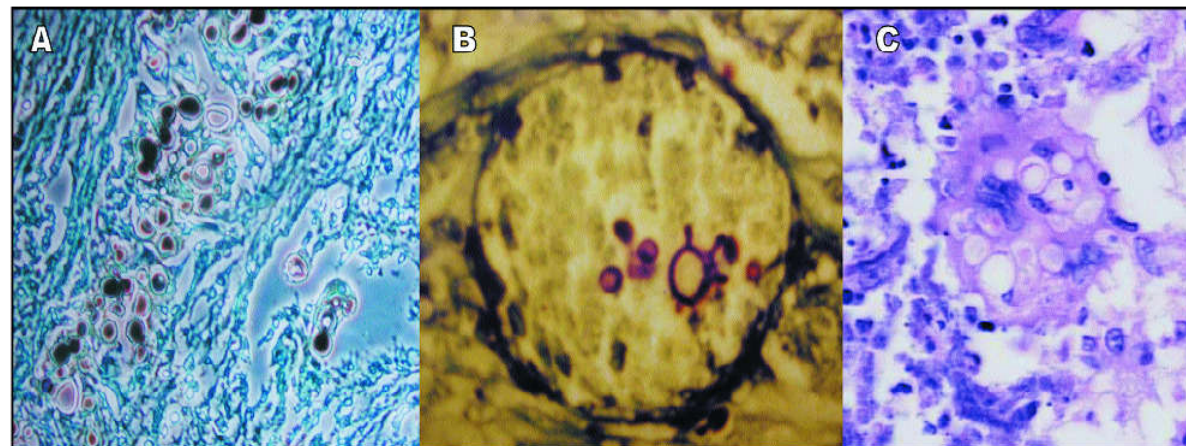


Fig 3. Cortes histológicas demonstrando o *P. brasiliensis*. Coloração de Grocott, 200X), A, Prata (600X), B, e HE (200X), C.

Arq Neuropsiquiatr 2006;64(2-A)

7- Luz UV (Lâmpada de Wood)

→ auxílio no diagnóstico e controle de micoses superficiais e cutâneas



Presença sugestiva de *M. canis*

8- Intradermorreação:

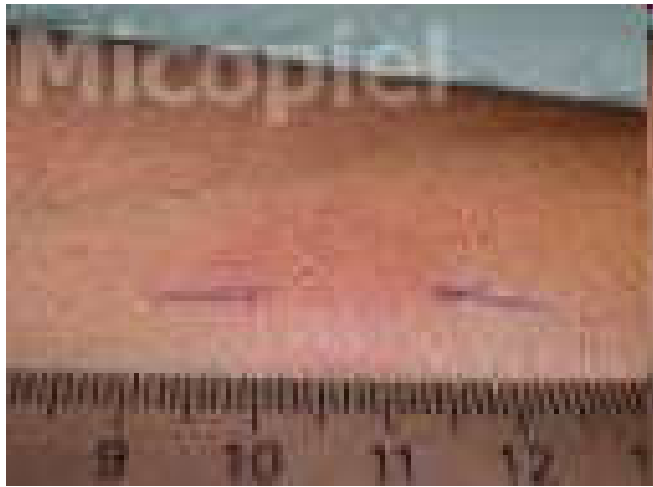
→ Injeção intradérmica de antígeno padronizado na face anterior do antebraço.

→ Leitura após 48h, e considera-se positivo o surgimento de pápula eritematosa igual ou maior que 5mm

→ Resultado pode indicar: infecção ativa, passada ou apenas sensibilização ao antígeno

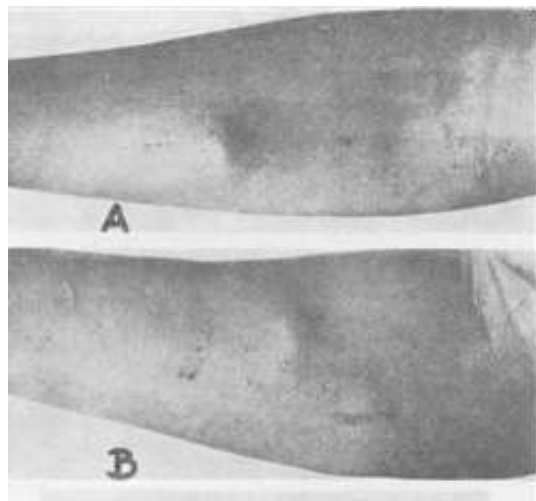
→ Utilizada com frequência em inquéritos epidemiológicos em regiões endêmicas de micoses.

Reações Intradérmicas positivas



Piel Latinoamericana caso clinico # 22

Paracoccidioidina



Esporotriquina

Annals Bras. Dermatol 25:1

9- Sorologia

→ Auxílio no diagnóstico e na avaliação prognóstica

Mycopathologia (2008) 165:289–302

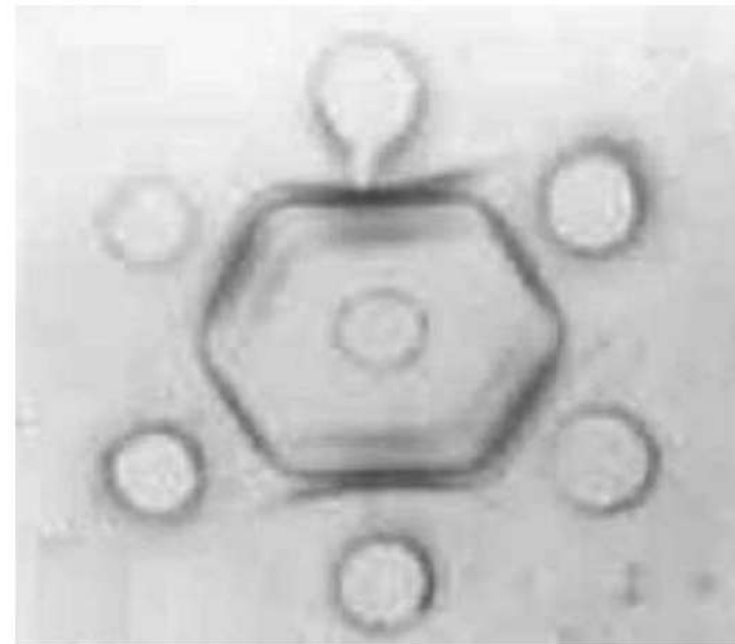
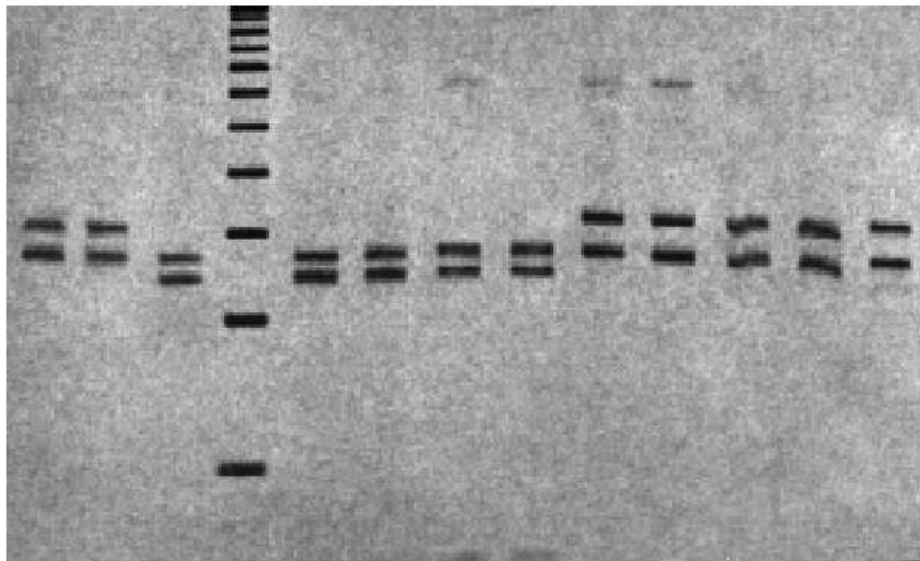


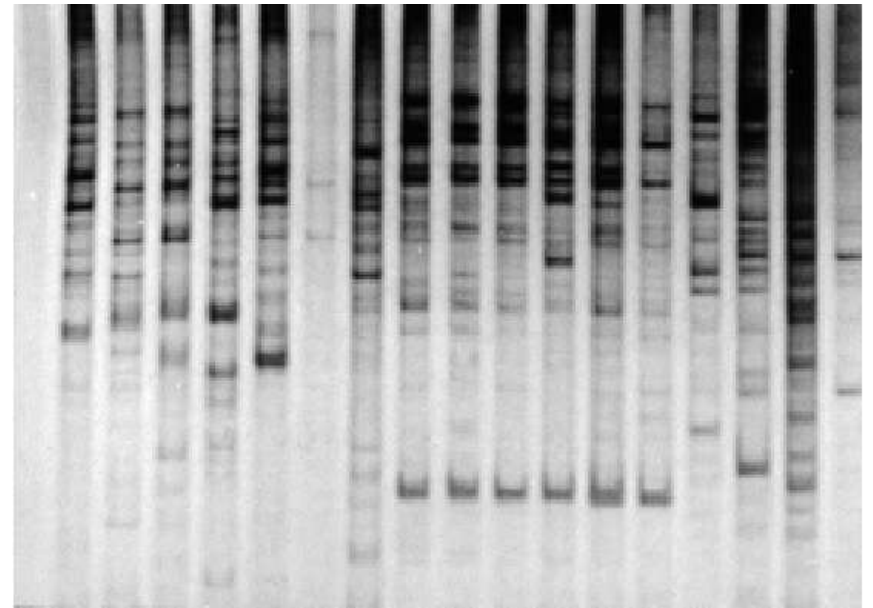
Fig. 2 Immunodiffusion test for paracoccidioidomycosis. In the well center, Ag7 antigen; in the outer wells serum of PCM patients

10- Técnicas Moleculares

→ Frequente o uso de RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) e RAPD (*random amplified polymorphic DNA*)



RFLP



RAPD

