

BASES DA RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA: UMA REVISÃO COMENTADA

BASES OF ANTIFUNGAL RESISTANCE: A COMMENTED REVIEW

CAROLINE **BERTO**. Estudante de Biomedicina, Faculdade Cenecista de Bento Gonçalves.

FERNANDA **WIRTH**. Doutora pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, vínculo: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

NATÁLIA **BARTH**. Biomédica, Mestre em ciências médicas pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da UFRGS.

DJULI MILENE **HERMES**. Mestre em Medicina UFRGS, especialista em Microbiologia FEEVALE, Biomédica ULBRA, Docente do Centro Universitário Ritter dos Reis - UniRitter

Rua das Laranjeiras, 76, Bairro Ponte Seca, Carlos Barbosa-RS, CEP 95185-000. E-mail: abrcarolinee@gmail.com

RESUMO

O aumento gradativo da incidência de infecções fúngicas é resultado de vários fatores e, um deles, é o número crescente de pacientes com imunossupressão severa. Apesar de novos medicamentos estarem sendo introduzidos para minimizar este problema, o desenvolvimento de resistência diante das drogas antifúngicas se tornou evidente, em especial nos pacientes que recebem tratamentos longos, ou que estão recebendo antifúngicos de forma profilática, onde, em ambos os casos, pode haver mudanças na microbiota humana, dando origem a um ambiente favorável às espécies resistentes. As características farmacológicas, a frequência e, em particular, os mecanismos de resistência para atual classe de agentes antifúngicos são debatidos nesta revisão.

PALAVRAS-CHAVE: Micoses. Agentes antifúngicos. Resistência antifúngica. Resistência fúngica.

ABSTRACT

The gradual increase incidence of fungal infections is the result of many situations, and, one of them, is the crescent number of patients with severe immunosuppression. Although new medicines have been introduced to minimize this problem, the development of resistance to antifungal drugs has become more and more apparent, especially in patients who receive long treatments, or who are receiving antifungal prophylaxis, to what extent, in both cases, there may be changes in the human microbiota, giving rise to a favorable environment for resistant species. The pharmacological characteristics, the frequency, and, in particular, the mechanisms of resistance to current classes of antifungal agents are debated in this review.

KEYWORDS: Mycoses. Antifungal agents. Antifungal agents resistance. Fungal resistance.

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas, também conhecidas como micoses, são classificadas em superficiais e cutâneas, quando afetam somente pele, cabelos, unhas ou mucosas; e sistêmicas, quando atingem regiões mais profundas do organismo. Poucas espécies fúngicas apresentam elevada patogenicidade, no entanto, em determinadas condições imunológicas, estes microrganismos podem agir como patógenos oportunistas (PARENTE-ROCHA, 2017). *Candida* spp. e *Pneumocystis carinii*, são amplamente conhecidas por serem patógenos oportunistas em pacientes imunocomprometidos (GUARNER, 2017).

As infecções sistêmicas, em sua maioria, são oportunistas e tendem a ocorrer com mais frequência em indivíduos imunocomprometidos, como, por exemplo, portadores de AIDS (GUARNER, 2017). Dentre os fungos responsáveis por estas infecções destacam-se *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp., *Penicillium* spp., *Pneumocystis carinii* e espécies de Zigomicetos (SABOL, 2008). Em relação aos fungos dimórficos, destacam-se: *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides* e *Paracoccidioides*, os quais afetam não só pacientes imunocomprometidos, mas também imunocompetentes (COLOMBO, 2011).

Os relatos de infecções fúngicas eram escassos até metade do século XX (PALONE, 2013), entretanto, atualmente, o panorama é totalmente diferente. Em um levantamento nos Estados Unidos, que avaliou a epidemiologia das infecções hospitalares em 183 hospitais, demonstrou-se que *Candida* spp. foi a etiologia mais frequente entre as infecções primárias de corrente sanguínea, com a estimativa de 15000 casos por ano (MAGILL, 2014). Quando se trata de pacientes imunocomprometidos, Pizani (2017), relatam que a micose mais frequentemente encontrada em pacientes com AIDS é a criptococose, sendo o *Cryptococcus neoformans* o maior responsável por estas infecções.

O atual conjunto de drogas antifúngicas não se mostra suficiente para suprir a demanda crescente de infecções causadas por estes microrganismos (CASTELLI, 2016). A resistência natural ou adquirida de algumas espécies frente aos antifúngicos é o fator de maior importância que, juntamente com os efeitos adversos e a toxicidade de alguns fármacos, justifica a carência na produção de novas drogas, bem como o aumento na pesquisa de outros compostos com melhores perfis microbiológicos (CARRILLO MUÑOZ, 2006).

Os testes de suscetibilidade representam uma ferramenta essencial para o norteamamento no tratamento de doenças fúngicas, para o conhecimento da epidemiologia local e global, bem como para a identificação de resistência a antifúngicos (IZQUIERDO, 2015). Nesta revisão de literatura encontram-se a frequência, interpretação e, em particular, os mecanismos de resistência para as classes de agentes antifúngicos.

OS ANTIFÚNGICOS

Estima-se que existam entre 80.000 e 100.000 espécies de fungos descritas na literatura, e destas, apenas 50 causam mais de 90% das infecções em animais e humanos (TAVARES, 2001; MURRAY, 2009). Os principais agentes antifúngicos em uso são classificados de acordo com o princípio ativo

e o mecanismo de ação e estão subdivididos nos seguintes grupos: Polienos, Imidazólicos, Triazólicos, Equinocandinas, Inibidores da síntese de quitina, Alilaminas, Antimetabólitos, entre outros agentes isolados (MURRAY, 2009).

POLIENOS

Grupo de antifúngicos constituído por agentes de origem microbiana. Possuem estrutura química formada por átomos de carbono com dupla ligação (TAVARES, 2001). A Anfotericina B (ou AmB) é o principal antifúngico da classe dos polienos (BROOKS, 2012).

Por possuir amplo espectro de ação contra fungos dimórficos, filamentosos e leveduras, a AmB é utilizada para a maioria das infecções sistêmicas, entre elas, candidíase invasiva, aspergilose e criptococose (MURRAY, 2009; BROOKS, 2012). A maior limitação do uso da AmB está relacionada com sua nefrotoxicidade (MURRAY, 2009; BROOKS, 2012), que apesar de reversível na maioria dos casos, ocasiona redução permanente da função renal (BROOKS, 2012). Isto é fruto da interação entre a droga e a membrana das células humanas que, semelhante às células fúngicas, também contém colesterol (MANDELL, 1996).

Atividade e mecanismo de ação. Os complexos da droga e lipídeos extraem ergosterol dos fosfolípidos na membrana, esgotando o ergosterol da célula, além disso, em concentrações mais elevadas, os polienos inibem a síntese de quitina, uma enzima importante sintetizada na parede celular fúngica (ANDERSON, 2014).

Mecanismos de resistência. O ergosterol é um elemento fundamental para muitos aspectos diferentes da fisiologia fúngica (KLOSE, 2010), fato que implica na dificuldade de gerar mutações que confirmam resistência aos políenos sem acarretar custos enormes para a célula (VINCENT, 2013). Por isso, na clínica, são raros os casos de fungos resistentes à AmB (PFALLER, 2012; DAVIS, 2015).

Para *C. tropicalis*, o baixo teor de ergosterol na membrana está associado a menor suscetibilidade (FORASTEIRO, 2013). Como a AmB aumenta os níveis de radicais livres (RL) em células fúngicas (MESA-ARANGO, 2014), a *C. tropicalis* AmB-resistente produz menos RL e altera a atividade mitocondrial (VINCENT, 2013), se tornando assim uma das únicas espécies com suscetibilidade reduzida à droga.

A deficiência da substância pode ser resultado de mutações em genes que codificam enzimas envolvidas na síntese de ergosterol, ou também de substituições de esteróis que ligam polienos (ergosterol) por aqueles que apresentam uma afinidade menor pelos mesmos (fecosterol) (ESPINEL-INGROFF, 2008). Para Pierce (1978), quanto maior a concentração da droga necessária para inibir o crescimento de cepas, maiores são as alterações na concentração de ergosterol e esteróis.

Sokol Anderson (1988) encontrou níveis elevados de catalase em cepas de *C. albicans* resistentes à AmB, o que diminuiria o efeito oxidativo do polieno. Cepas mutantes de *C. neoformans* apresentam, assim como em *C. albicans*, alterações na composição dos esteróis membranais, com diminuição ou ausência de ergosterol, ou ainda, presença de esteróis modificados, com menor afinidade pelos polienos (DICK, 1980; HADFIELD, 1987; WHITE, 1998; KONTOYIANNIS, 2002; ESPINEL-INGROFF, 2008).

As mutações conhecidas na biossíntese de ergosterol que determinam o

perfil de resistência in vitro para AmB são: ERG2, ERG6 ou ERG3/ERG11. Todas causam resistência substancial à AmB, e todos esses mutantes são conhecidos por não serem patogênicos (VINCENT, 2013).

Frequência de resistência. Apesar dos quase 50 anos de uso, a resistência à AmB não é um evento comum. Para *C. neoformans* a resistência natural não é observada e a resistência adquirida é um fenômeno muito raro (POWDERLY, 1992a). Todavia, em amostras isoladas de material biológico, alguns mutantes de *C. neoformans* mostram resistência à AmB (KONTOYIANNIS, 2002).

Ainda que o poder discriminatório do método de CIM por microdiluição para AmB seja baixo, um estudo espanhol realizado com 317 amostras encontrou CIM de 2 µg/mL para 5,3% dos isolados (PERKINS, 2005) e outro estudo, com 1811 amostras dos cinco continentes, mostrou o mesmo valor de CIM em 1% das amostras (PFALLER, 2006).

Com exceção desses trabalhos, há pouca comprovação de possíveis tendências à resistência à AmB. Um estudo mais recente observou resistência in vitro para AmB em 12,7% dos isolados de *Candida* sp. estudados através do método de CIM por microdiluição (Negroni et al, 2015).

AZÓIS

Também conhecidos como inibidores da biossíntese de ergosterol, o grupo foi desenvolvido no fim dos anos 60, possuindo amplo espectro de atividade antimicótica. Atualmente, é dividido em dois subgrupos, com base no número de nitrogênios presentes no anel azol: imidazóis (cetoconazol e miconazol) e triazóis (itraconazol, fluconazol e voriconazol). Estão na lista dos mais usados para o tratamento de Candidemia e Cryptococcoses.

O primeiro azol disponível para uso sistêmico foi o Clotrimazol. Contudo, seu uso foi limitado, pois suas concentrações plasmáticas eram inconsistentes. Posteriormente, foi lançado o Miconazol para os mesmos fins sistêmicos, mas, novamente, seu uso foi limitado porque este só poderia ser administrado de forma intravenosa. Além disso, oferecia poucas vantagens sobre a Anfotericina B, apesar da menor toxicidade (STEVENS, et al. 1977).

O Itraconazol, o primeiro azol usado em humanos, teve versões disponíveis para via oral (cápsulas e soluções de ciclodextrina) e via intravenosa. Oferece, tanto por via oral como intravenosa, níveis séricos elevados (Troyano et al. 2017), o que é especialmente preocupante em pacientes com absorção prejudicada (Carrillo Muñoz, et al. 2006). In vitro, o Itraconazol mostrou atividade ampla contra *Candida* spp., *Aspergillus* spp, dermatófitos e fungos dimórficos (Dennis, 2016).

O Cetoconazol foi o primeiro azol de fato eficaz, apresentando níveis plasmáticos consistentes (BORELLI, 1979). A susceptibilidade ao fármaco foi documentada para a maioria das espécies de *Candida*, em particular *C. glabrata* (AHEARN, 1984; PFALLER, 1988). Foi um sucesso no tratamento de candidíase crônica mucocutânea e também mostrou atividade contra *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces* e dermatófitos. A resistência foi descrita especialmente em pacientes com candidíase mucocutânea, AIDS, candidíases orofaríngeas e exofágicas (HORSBURGH, 1983; WARNOCK, 1983).

O Fluconazol teve um papel de extrema importância no tratamento de infecções fúngicas complicadas, apresentando toxicidade mínima em relação a

AmB no tratamento de candidíase em adultos (KONTOYIANNIS, 2001). Apesar das recidivas, tornou-se o agente preferido no tratamento de meningite coccidioidal e mostrou-se útil na terapia de meningite criptocócica. No entanto, não demonstrou efetividade em casos de aspergilose, mucormicose e infecções por *Scedosporium apiospermum*. Quando comparado com azóis mais recentes, teve efetividade reduzida em infecções por *C. glabrata* e *C. krusei* (DENNIS, 2016).

Estruturalmente parecido com o Fluconazol, o Voriconazol possui maior espectro de ação contra espécies de *Candida* (inclusive *C. glabrata* e *C. krusei*) e apresenta atividade satisfatória em infecções por *Fusarium*, *Scedosporium* e *Aspergillus*, sendo considerado, para este último, o padrão ouro, pois bloqueia mais intensamente a síntese de ergosterol em bolores, para os quais chega a ser fungicida (Pigatto et al. 2009). Alguns relatos de casos revelam que o Voriconazol é eficaz no tratamento de pacientes com coccidioidomicose, blastomicose e histoplasmose; entretanto, em virtude da escassez de dados disponíveis, não é recomendado para o tratamento de micoses endêmicas (DENNIS, 2016).

Uma desvantagem do grupo azol é que, dependendo da droga e da dose terapêutica, eles são fungistáticos em vez de fungicidas. Esta característica provavelmente contribui para o desenvolvimento da resistência, uma vez que as células fúngicas persistem e a resposta imunológica não é o suficiente para removê-las do organismo, é estabelecido um ambiente favorável para as células mutantes resistentes, fato que torna os azóis o grupo com maior incidência de resistência (MAESAKI, 1998) entre diversas espécies (CORNELLY, 2013; ROBSON, 2017; CORNELIA, 2017).

Atividade e mecanismo de ação. Os azóis inibem, de forma não competitiva e reversível, enzimas que participam das etapas finais da biossíntese do ergosterol. A principal enzima inibida é a lanosterol-14- α -desmetilase, enzima microssômica associada ao citocromo P-450 (CYP), codificada pelo gene ERG11. Essa inibição leva ao acúmulo de 14- α -metilesterol, o qual não possui a mesma forma e propriedade física do ergosterol. Assim, é formada uma membrana celular com propriedades alteradas, que não desempenha as funções básicas necessárias para o desenvolvimento do fungo (WILLIAMS, 2002).

Também agem modificando a síntese de lipídios, inativando enzimas inibidoras do processo oxidativo das células fúngicas (MARTINEZ, 2006). Em leveduras, os azóis atuam como fungicida por desequilíbrio osmótico, enquanto que, em filamentosos, atuam na porção apical e nos pontos de ramificação/crescimento das hifas, gerando bolhas que, ao se romperem, induzem a morte celular. Para tanto, são necessárias concentrações elevadas (CATALÁN & MONTEJO, 2006).

Mecanismos de resistência. Os mecanismos de resistência podem ser divididos em: 1- alterações estruturais na enzima-alvo; 2- implementação de vias metabólicas alternativas ou produção da molécula da enzima-alvo, e 3- aumento de bombas de efluxo, que transportam distintas classes de antimicrobianos e outros compostos para fora da célula, codificadas pelas famílias de genes CDR MDR (ALVES, 1997; KAKEYA, 2003; ESPINELL-INGROFF, 2008).

O primeiro mecanismo citado decorre em alterações estruturais na

enzima-alvo dos azóis, através da mutação no gene ERG11, que impede a ligação do fármaco na proteína. As alterações no gene ERG11 já foram documentadas em vários isolados clínicos (VANDEN-BOSSCHE, 1990; LAMB, 1995; MARICHAL, 1999). Segundo Hagiwara (2016), as mutações nos genes CYP51A e CYP51B (homólogos ao gene ERG11) também são descritas como redutoras da interação azólica frente ao produto genético (proteína alvo). As substituições G54, P216, F219, M220 e G448 foram descritas recentemente como causas da resistência ao grupo.

A redução da permeabilidade em relação aos agentes azólicos provavelmente ocorre devido as alterações nos fosfolipídios e na composição dos esteróis, ambas em nível de membrana plasmática. Como consequência, ocorre menor captura da droga pelo fungo. Assim, a estrutura alvo do fármaco, a enzima esterol 14-alfa-desmetilase do Citocromo P450, embora ainda ativa, sofre mutação genética, fazendo com que o receptor de superfície específico ao fármaco apresente baixa afinidade aos compostos e derivados azólicos (KAKEYA, 2003).

Outra mutação que envolve alteração na biossíntese de ergosterol é a eliminação do gene ERG3, cuja função é codificar a 14 alfa-desmetilase em um esterol chamado 5,6-desaturase. O delta 5,6-desaturase é quem transforma os intermediários de 14-metil, que são tolerados pela célula, em um composto altamente tóxico, o 14-metilergosta-8,24(28)-dieno-3,6-diol.

Por outro lado, a inativação do gene ERG3 confere resistência a várias espécies fúngicas. Entre as espécies, encontram-se *C. albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*; ao passo que, espécies como *C. glabrata* não adquirem resistência, mesmo que sejam portadoras do gene ERG3 inativado (CARRILLO-MUÑOZ, 2006).

O Fluconazol, Voriconazol, Itraconazol e Posaconazol são exemplos de antifúngicos que atuam sobre a 14-alfa-desmetilase do lanosterol associado ao Citocromo P450, codificada pelo gene ERG11. Quando mutações neste gene acontecem, o processo de síntese de ergosterol não é bloqueado pelos fármacos, apesar da concentração de lanosterol apresentar-se aumentada. O grupo 14-metil, pertencente a enzima, tem papel importante na síntese de intermediários 14-metilados (CARRILLO-MUÑOZ, 2006).

A resistência primária para *C. krusei* e *C. glabrata* ao fluconazol, é explicada pela presença de bomba de efluxo (KAKEYA, 2003). Em cepas de *S. Cerevisiae*, os transportadores de substâncias tóxicas PDR5 e PDR15 são super-expressos, o que, de igual modo, conferiu resistência à espécie (PAUL, 2014). A proteína de efluxo presente nas espécies fúngicas contribui para a manutenção celular dos organismos em seus habitats (GIBBONS, 2004).

O transportador melhor caracterizado na espécie *C. neoformans* denomina-se AntiFungal Resistance 1 (CnAFR1). Além do CnAFR1, há outro gene que ocorre em outras leveduras, o MDR1, que codifica proteínas transportadoras mais seletivas para fluconazol, não estando associado à resistência cruzada a outros azóis (THORNEWELL, 1997; SHAPIRO, 2011).

Nos últimos dez anos, a resistência natural causada pela exposição ambiental foi estudada extensivamente. Esta resistência é provavelmente o resultado de uma TR (repetição em tandem, com pelo menos 34 bases) na região promotora CYP51A, juntamente com mutações pontuais (posições L98, Y121 e T289) o que, conseqüentemente, origina aminoácidos alterados. Estes tipo de mutações são bem caracterizadas em *A. Fumigatus* e está estabelecido

que ocorrem após exposição (SNELDERS, 2011; ALASTRUEY-IZQUIERDO, 2015).

Recentemente, Gsaller (2016) associaram a mutação TR34 à proteína de ligação ao elemento regulador de esterol (SREBP) SrbA e ao complexo de ligação CCAAT (CBC), sendo o último já descrito como um dos repressores da síntese de esteróis. Neste caso, a tolerância aos azóis foi o resultado da repressão do complexo CBC, o que resultou em um aumento da síntese de esteróis.

A degradação dos azóis no interior da célula, outra forma de resistência desenvolvida pelos fungos, ainda não está bem caracterizada. Todavia, estudos realizados com *A. fumigatus* correlacionam o complexo mitocondrial I com o metabolismo dos azóis, processos que, somados e alterados, podem ser a causa da degradação rápida dos fármacos pelo meio intracelular, neste tipo de resistências (BROMLEY, 2016).

A resistência à multidrogas (MDR) também pode levar à resistência aos azóis e inclui o fenótipo alcançado pelas interações entre ativadores transcricionais, complexos de mediadores, e bombas de efluxo, atuando como uma rede em resposta a várias moléculas. A resistência aos azóis causada em cepas MDR, já foi descrita em *S. cerevisiae* e inclui a expressão de genes regulados por dois fatores transcricionais homólogos: o PDR1 e o PDR3 (YIBMANTASIRI, 2014).

Hoje sabe-se que os principais mecanismos de resistência aos azóis incluem: o aumento a regulação dos transportadores de vários fármacos, e a modificação da enzima alvo, o Citocromo P450 (gene ERG11), envolvida na 14-alfa-desmetilação do ergosterol. Tanto um como o outro podem estar presentes paralelamente entre as espécies (MACCALLUM, 2010). Testes de susceptibilidade indicam valores de CIM maiores em isolados de *C. gattii*, quando comparados a *C. neoformans* (BROMLEY, 2016; ESPINEL-INGROFF, 2012; SILVA, 2012; YIBMANTASIRI, 2014).

Frequência de resistência. Durante seus aproximadamente 25 anos de uso, os azóis foram o grupo com maior frequência de resistência até então. Apesar disso, este conjunto de antifúngicos desempenha papel importante na terapêutica, principalmente diante da crescente população imunocomprometida. Razões como custo-benefício, melhor terapêutica na terapia empírica, e efeitos adversos reduzidos, contam positivamente e favorecem os azóis diante de outras classes antifúngicas (MARRA, 2002).

O primeiro caso publicado de *A. fumigatus* resistente à classe foi em 1997. Apesar de ser um evento incomum para época, a resistência deste fungo foi aumentando gradativamente. Grande parte dos estudos feitos sobre a resistência adquirida na espécie recaíram sobre o Itraconazol; todavia, não demorou muito para surgirem relatos de resistência múltipla aos triazóis (QUIAO, 2008).

Um dos primeiros estudos sobre a resistência aos triazóis foi o de Mosqueira (2002). Os fármacos foram testados contra *A. fumigatus* em 17 isolados clínicos (a maioria deles com CIM elevada frente ao Itraconazol). O Posaconazol foi o mais ativo dentre todos, e os autores sugeriram diferenças na atividade e nos mecanismos de resistência para o Voriconazol e o Ravuconazol. Observaram também um possível padrão complexo de resistência cruzada da espécie frente aos triazóis.

Taek Heo (2017) realizaram um estudo com 290 isolados durante os anos de 1999 a 2002, (antes da introdução de Voriconazol e Posaconazol), e de 2003 a 2015 (após a introdução). Valores de CIM mais elevados foram encontrados apenas em isolados de *A. fumigatus*. Diante disso, os autores concluíram que as CIMs para azóis em *Aspergillus* estão aumentando e, na maior parte das vezes, isso está associado à exposição anterior ao grupo.

Outra espécie frequentemente associada a resistência azólica é a *C. auris*. Ela foi descrita pela primeira vez em 2009, no Japão, e, desde então, tem sido relatada em diversos países. Partindo desta informação, um estudo (SHAWN, 2017) analisou 54 isolados coletados durante o período de 2012 a 2015. Os isolados pertenciam a hospitais do Paquistão, Índia, África do Sul, e Venezuela. No estudo, 93% dos isolados eram resistentes ao fluconazol. Os testes moleculares mostraram que mutações no gene *ERG11* foram associadas à resistência azólica; mas, a grande revelação foi que, mesmo discretas, cada área geográfica possuía diferentes tipos de mutação no gene, sugerindo uma população clonal distinta.

Estudos do mesmo seguimento reportaram o surgimento quase simultâneo de infecções por *C. auris* com características genéticas distintas entre si, reforçando uma contrariedade à hipótese de que a disseminação viria a partir de uma única fonte (CHOWDHARY, 2013; EMARA, 2015; SHARMA, 2016). Embora as causas desse surgimento não sejam claras, elas podem incluir: pressões de seleção antimicóticas (novas ou crescentes) em seres humanos, animais ou meio ambiente, ou ainda, que a espécie azol resistente não tenha sido previamente reconhecida (SHAWN, 2017). Deve-se ressaltar que a *C. auris* é filogeneticamente parecida com as espécies de *C. krusei*, *C. lusitaniae* e *C. haemulonii*, e que todas as três possuem resistência intrínseca ao fluconazol (SHARMA, 2016).

Xisto (2017) analisaram a frequência de resistência aos azóis e as equinocandinas, em isolados de *Candida* (n = 75) coletados entre 2012 e 2014, em um hospital brasileiro. As três espécies mais frequentes foram *C. albicans* (38,0%), *C. tropicalis* (30,0%) e *C. glabrata* (17,0%). A resistência foi observada em 27,0% dos isolados de *Candida*. Além disso, os autores detectaram uma nova mutação pontual no *ERG11*, localizada em K143R e associaram-na aos isolados de *C. tropicalis*. Esta mutação, segundo o relato, se aproxima do local de ligação ativo do *ERG11* e é provável que confira resistência à múltiplos antifúngicos pertencentes ao grupo. Além disso, os autores observaram um aumento da regulação dos transportadores ABC, que podem somar-se a um fenótipo resistente, com resistência múltipla.

EQUINOCANDINAS

Em 1974 obteve-se o primeiro fármaco da classe das equinocandinas, a chamada Anidulafungina, sintetizada a partir do composto VER002 (HECTOR, 1993). Após vários estudos, em 1989 foi descoberta a Caspofungina e, em 1990, a Micafungina sintetizada a partir do composto FK463. Somente no ano 2001 a classe foi aprovada para uso em humanos. Logo após, houve a introdução da Caspofungina no mercado; em 2005 a Micafungina e, em fevereiro de 2006, a Anidulafungina (MORRIS, 2006).

Os inibidores da síntese de glucanas foram obtidos originalmente através da fermentação do caldo de cogumelos (ESCHENAUER, 2007). Os lipopeptídeos semissintéticos inibem a síntese de β -1,3-glucano sintase,

importante enzima constituinte da parede celular.

As equinocandinas são utilizadas para o tratamento de infecções causadas por *Candida* spp. e *Aspergillus* spp (TORTORA, 2012). Porém, nos casos de infecções por zigomicetos, *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium* spp. e *Trichosporon* spp. a classe não demonstra eficácia clínica (DIOMEDI, 2004). É uma das poucas novas classes de antifúngicos produzidas com o intuito de atingir a clínica da última década (PARENTE-ROCHA, 2017).

Atividade e mecanismo de ação. Inibem de forma não competitiva a β -1,3-glucano sintase, enzima cuja função é catalisar a polimerização da glucose-uridina-difosfato (UDP glucose) em β -1,3-glucano. A inibição desta síntese gera extravasamento de componentes importantes na célula fúngica, em resposta à alta pressão osmótica exercida sobre a membrana enfraquecida (ZAAS, 2008). Ao contrário de outros grupos de antifúngicos, as equinocandinas têm a peculiaridade de inibir a síntese da parede celular do fungo, produzindo efeitos secundários sob outros constituintes, tais como a quitina e o ergosterol (ESCHENAUER, 2007). Desta forma, a resistência cruzada (resistência paralela entre equinocandinas e outros antifúngicos convencionais) não é esperada.

As três equinocandinas são fungicidas in vivo e in vitro frente as espécies de *Candida*, incluindo aquelas que são conhecidas por serem intrinsecamente resistentes aos azóis (*C. glabrata*, *C. haemulonii*, *C. lusitaniae*, e *C. krusei*) ou AmB (*C. lusitaneae*) (CHEN, 2009; SHARMA, 2016). Para outras espécies, como *A. fumigatus*, as equinocandinas têm ação fungistática (ANTACHOPOULOS, 2008).

É importante salientar que a concentração de glucano não é igual em todas as espécies fúngicas. Por exemplo, a β -1,3-glucano é predominante em *C. albicans* e *A. fumigatus*, enquanto os Zygomycetes carecem deste componente (CHEN, 2011). Logo, entende-se que a presença significativa de glucano na parede celular fúngica tem importância fundamental para a eficácia destes fármacos.

Mecanismo de resistência. A resistência às equinocandinas ocorre na subunidade catalítica da enzima alvo da classe, a β -1,3-glucano sintase. A enzima é codificada pelos genes FKS1, FKS2 e FKS3; mutações nas regiões denominadas “hot spots” de FKS1, (presentes em todas as espécies de *Candida*, *C. albicans* principalmente) ou em regiões homólogas de FKS2 (específico da *C. glabrata*) resultam em substituições de aminoácidos (GARCIA-EFFRON, 2009; ARENDRUP, 2014). O mecanismo é altamente restrito e completamente independente do grupo azol (COWEN, 2014).

As substituições de aminoácidos podem diminuir a sensibilidade da glucano sintase por várias ordens logarítmicas, demonstrando valores elevados de CIM acompanhados por uma redução na síntese de glucanas, o que causa falha terapêutica (GARCIA-EFFRON, 2009; SHIELDS, 2015). Para *C. albicans*, as alterações de aminoácidos em SER641 e SER645 são as mais frequentes e causam o fenótipo de resistência mais pronunciado (GARCIA-EFFRON, 2009; ARENDRUP, 2014), enquanto que em *C. glabrata*, modificações de aminoácidos em regiões homólogas, tais como SER663 em FKS2, SER629 em FKS1, e PHE659 em FKS2, são as substituições mais proeminentes (GARCIA-EFFRON, 2009). Há ainda mutações em *C. albicans* que ocorrem em “hot spot”

altamente conservados englobando resíduos PHE641-PRO649 e ARG1361 (KATIYAR, 2009; JOHNSON, 2011; PARK, 2005).

Dentre as espécies de *Candida*, cinco representam mais de 95% das candidíases invasivas. Entre estas, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei* podem adquirir mutações FKS sob pressão seletiva no ambiente. Certas espécies que carregam mutações FKS adquiridas possuem suscetibilidade diminuída *in vitro*. *C. parapsilosis*, ao contrário das demais, abriga um polimorfismo FKS1, fato que lhe confere resistência natural às equinocandinas, cujo o significado clínico ainda não está completamente elucidado (REBOLI, 2007; GARCIA-EFFRON, 2008).

Cepas mutantes FKS de *C. albicans* e *C. glabrata* mostram sensibilidade diminuída nos estudos farmacodinâmicos feitos em modelos de infecção murina (HOWARD, 2011; ARENDRUP, 2012). Estas mutações conferem resistência, mas quando o organismo infectante é exposto a doses crescentes, se torna sensível novamente (ARENDRUP, 2012). Portanto, entende-se que a concentração plasmática das equinocandinas é dose dependente e pode variar conforme expressão dos genes FKS (HOLT & DREW, 2011; KATIYAR, 2012).

A expressão de FKS2 em *C. glabrata* é dependente da presença de cálcio na urina (ENG, 1994), podendo ser revertida após tratamento com inibidores de calciúria FK506 (KATIYAR, 2012). Além destas, uma terceira região de “hot spot” definida por W695 de *S. cerevisiae* FKS1 foi descrita a partir de estudos *in vitro*, mas não foi observada em isolados clínicos (JOHNSON, 2011).

É importante entender que as mutações de FKS surgem em configurações específicas, dentro das quais as taxas de resistência às equinocandinas são mais altas do que na população geral acometida por candidíase invasiva. O mais notável é que, os genes mutantes em *C. glabrata* e *C. albicans*, são descritos quase que exclusivamente em pacientes com exposição prévia ao grupo de antifúngicos (ALEXANDER, 2013; SHIELDS, 2013; BEYDA, 2014). O maior risco está entre os pacientes que desenvolvem infecções que evoluem durante o tratamento, nos quais 50% ou mais dos isolados carregam mutações (PFEIFFER, 2010; SHIELDS, 2014).

Algumas mutações FKS conferem resistência diferencial à algumas equinocandinas; todavia, organismos portadores de tais alterações genéticas são raros (ARENDRUP, 2012; ARENDRUP, 2014; SHIELDS, 2015). Há ainda outros mecanismos que desencadeiam resistência, conhecidos como “fatores gatilho”, os quais, quando presentes, podem contribuir para a diminuição da suscetibilidade. São entendidos como: distúrbios gastrointestinais subjacentes, transplante de órgãos sólidos e candidíase invasiva recorrente (PFEIFFER, 2010; ALEXANDER, 2013; SHIELDS, 2014).

Frequência de resistência. O primeiro relato de resistência às equinocandinas foi reportado em 2005 (PARK, 2005). Desde então, a frequência de resistência permaneceu relativamente baixa, mantendo-se por volta de 3% para a maioria das espécies de *Candida* (CASTANHEIRA, 2010). Até a data, um número crescente de isolados de *Candida* sp. têm sido relatados. Alguns deles suscetíveis às equinocandinas (*C. famata*, *C. rugosa*), enquanto outros, menos suscetíveis a classe (*C. fermentati* e *C. guilliermondii*) (ESCENAUER, 2007; CHEN, 2009).

Entre os anos de 2006 e 2013, o Programa de Vigilância Antimicrobiana

(SENTRY) relatou que a porcentagem de resistência fúngica às equinocandinas passou de 8,0% para 9,3% (PFALLER, 2012). Em contrapartida, um estudo de coorte, retrospectivo, realizado em ambiente hospitalar Norte Americano, entre os anos de 2001 e 2010, observou um aumento importante na frequência de resistência à classe: de 4,9% para 12,3% em isolados sanguíneos de *C. glabrata* (ALEXANDRE, 2013).

A grande exceção entre as espécies é a *C. Glabrata*, pois a diminuição da susceptibilidade na espécie está relacionada ao desenvolvimento de resistência cruzada (entre antifúngicos azólicos) por cepas antecessoras, que, por sua vez, geram cepas resistentes a múltiplos fármacos, incluindo as equinocandinas (PFALLER, 2012; ALEXANDER, 2013; PHAM, 2014; DAVID, 2015).

As CIM's e os pontos de corte são maiores para *C. parapsilosis* do que para outras espécies, de acordo com os polimorfismos intrínsecos do FKS. Uma limitação importante dos testes é que os pontos de corte clínicos do CLSI e EUCAST diferem entre si, o que acaba dificultando a interpretação das CIMs para estas drogas na rotina laboratorial, em particular, para caspofungina (RYAN, 2015).

Os fungos dimórficos têm uma resistência natural às equinocandinas durante a fase patogênica, sendo os mecanismos de resistência dos inibidores da β -glucano sintase ainda desconhecidos (GOUGHENOUR, 2017).

Acredita-se que o uso generalizado das equinocandinas, assim como o tratamento profilático com azóis, seja o responsável por este grande aumento na resistência. Pressupõe-se que práticas como estas levaram a uma mudança epidemiológica, tornando a *C. glabrata* um patógeno emergente oportunista humano, responsável majoritariamente por candidíases invasivas em pacientes neutropênicos (LORTHOLARY, 2011).

CONCLUSÃO

A crescente incidência de infecções fúngicas invasivas é o resultado de vários fatores e, um deles, é o número de pacientes com imunossupressão severa. Em virtude disto, há preocupação da parte dos agentes de saúde em relação ao desenvolvimento de resistência, uma vez que existem poucos antifúngicos disponíveis verdadeiramente eficazes. Embora trabalhos sejam capazes de definir certos mecanismos de resistência, esforços continuados são de fundamental importância, visando uma compreensão mais profunda e detalhada dos mecanismos celulares, bem como dos componentes clínicos da resistência antifúngica.

Como se não bastasse, é necessária a criação de novas ferramentas de diagnóstico para a detecção rápida, sensível e específica de fungos em material clínico (técnicas baseadas em PCR, por exemplo). Por fim, o conhecimento aqui exposto a respeito dos mecanismos de resistência pode contribuir para o manejo correto dos fármacos disponíveis na atualidade, e também, auxiliar no desenvolvimento de novos fármacos contribuindo com novas estratégias de tratamento.

REFERÊNCIAS

AHEARN, D.G.; MCGLOHN, M.S. In vitro susceptibilities of sucrose-negative

Candida tropicalis, *Candida lusitanae*, and *Candida norvegensis* to amphotericin B, 5-fluorocytosine, miconazole, and ketoconazole. **J Clin Microbiol.** 1984; 19:412–6.

ALEXANDER, B.D.; JOHNSON, M.D.; PFEIFFER, C.D., et al. Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutations and elevated minimum inhibitory concentrations. **Clin Infect Dis** 2013; 56:1724–32.

ALVES, S.H.; LOPES, J.O.; COSTA, J.M., et al. Development of secondary resistance to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* isolated from a patient with AIDS. **Rev Inst Med Trop São Paulo.** 1997;39:359-62.

ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; MARCIA, S.C.; MELHEM., et al. Susceptibility Test For Fungi: Clinical and Laboratorial Correlations in Medical Mycology. **Rev. Inst. Med. trop.** S. Paulo. vol.57 supl.19 São Paulo Sept. 2015.

ANDERSON, T.M.; CLAY, M.C.; CIOFFI, A.G., et al. Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. **Nat Chem Biol.** 2014 May; 10(5):400-6.

ANTACHOPOULOS, C.; MELETIADIS, J.; SEIN, T., et al. Comparative in vitro pharmacodynamics of caspofungin, micafungin, and anidulafungin against germinated and nongerminated *Aspergillus conidia*. **Antimicrob Agents Chemother.** 2008; 52:321–8.

ARENDRUP, M.C.; PERLIN, D.S.; JENSEN, R.H., et al. Differential In vivo activity of anidulafungin, caspofungin and micafungin against *C. glabrata* with and without *FKS* resistance mutations. **Antimicrob Agents Chemother.** 2012; 56:2435–42.

ARENDRUP, M.C.; PERLIN, D.S. Echinocandin resistance: an emerging clinical problem? **Curr Opin Infect Dis.** 2014;27:484–492.

BEYDA, N.D.; JOHN, J.; KILIC, A., et al. FKS Mutant *Candida glabrata*: Risk Factors and Outcomes in Patients With Candidemia. **Clin Infect Dis.** 2014;59:819–25.

BORELLI, D.; BREAN, J.L.; FUENTES, J., et al. Ketoconazole, an oral antifungal: laboratory and clinical assessment of imidazole drugs. **Postgrad Med J.** 1979; 55:657–61.

BROMLEY, M.; JOHNS, A.; DAVIES, E., et al. Mitochondrial Complex I Is a Global Regulator of Secondary Metabolism, Virulence and Azole Sensitivity in Fungi. **PLoS One.** 2016; 11(7):e0158724.

BROOKS, G.F. **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg.** ed. 25, AMGH, Porto Alegre, 2012.

CARRILLO-MUÑOZ, A.J.; GIUSIANO, G.; EZKURRA, P.A.; QUINDÓS, G.

Antifungal agents: mode of action in yeast cells. **Rev Esp Quimioter.** 2006 Jun;19(2):130-9.

CASTANHEIRA, M.; WOOSLEY, L.N.; DIEKEMA, D.J., et al. Low prevalence of fks1 hot spot 1 mutations in a worldwide collection of *Candida* strains. **Antimicrob Agents Chemother** 2010; 54:2655–9.

CASTELLI, M.V.; DERITA, M.G.; LÓPEZ, S.N. Novel antifungal agents: a patent review (2013 - present). **Expert Opin Ther Pat.** 2016 Nov 29:1-12. [Epub ahead of print].

CATALÁN, M.; MONTEJO, J.C. Antifúngicos sistêmicos. Farmacodinamia y Farmacocinética. **Rev Iberoam Micol** 23: 39-49. 2006.

CAVALCANTI, N.F.; FONSECA, S.; WOAHA, Q.N., et al. Antimicrobial activity of *Buchenavia tetraphylla* against *Candida albicans* strains isolated from vaginal secretions. **Pharmaceutical Biology**, 55:1, 1521-1527, DOI: 10.1080/13880209.2017.1304427.

CHEN, S.C.; SLAVIN, M.A.; SORREL, T.C. Echinocandin antifungal drugs in fungal infections: a comparison. **Drugs.** 2011; 71:11– 41.

CHEN, S.C.; MARRIOTT, D.; PLAYFORD, E.G., et al. *Candidaemia* with uncommon *Candida* species: predisposing factors, outcome, antifungal susceptibility, and implications for management. **Clin Microbiol Infect.** 2009; 15:662–9.

CHESHTA, S.; ANURADHA, C. Molecular bases of antifungal resistance in filamentous fungi. **International Journal of Antimicrobial Agents** (2017); <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.ijantimicag.2017.06.018>.

CHOWDHARY, A.; SHARMA, C.; DUGGAL, S., et al. New clonal strain of *Candida auris*, Delhi, India. **Emerg Infect Dis** 2013; 19:1670–3.

COLOMBO, A.L.; TOBÓN, A.; RESTREPO, A., et al. Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. **Med Mycol.** 2011;49:785-98.

CORNELY, O.A.; ARIKAN-AKDAGLI, S.; DANNAOUI, E., et al. ESCMID and ECMM Joint Clinical Guidelines for the Diagnosis and Management of Mucormycosis 2013. **Clin Microbiol Infect.** 2014; 20 Suppl 3:5–26.

CORNELIA, L.F.; CUENCA, E. Changes in the epidemiological landscape of invasive mould infections and disease, **J Antimicrob Chemother** 2017; 72 Suppl 1: i5–i11 doi:10.1093/jac/dkx028.

COWEN, L.E.; SANGLARD, D.; HOWARD, S.J., et al. Mechanisms of antifungal drug resistance. **Cold Spring Harb Perspect Med** 2014; 5: pii:a019752.

DENNIS, L.K.; HAUSER, L.; JAMESON, J., et al. **Medicina Interina de**

Harrison. 2 volumes. 19^a Ed. 2016.

DICK, J.D.; MERZ, W.G.; SARAL, R. Incidence of polyene-resistant yeast recovered from clinical specimens. **Antimicrob Agents Chemother** 1980; 18: 153-63.

DIOMEDI, A.P. New antifungal agents: Echinocandins. Rev. Chil. **Infect.**, 21(2): 89-101, 2004.

EMARA, M.; AHMAD, S.; KHAN, Z., et al. Candida auris candidemia in Kuwait, 2014. **Emerg Infect Dis** 2015; 21:1091–2.

ENG, W.K.; FAUCETTE, L.; MCLAUGHLIN, M.M., et al. The yeast *FKS1* gene encodes a novel membrane protein, mutations in which confer FK506 and cyclosporin A hypersensitivity and calcineurin-dependent growth. *Gene*. 1994; 151:61–71.

ESCHENAUER, G.; DEPESTEL, D.D; CARVER, P.L. Comparison of echinocandin antifungals. **Ther. Clin. Risk. Manag.**, 3(1): 71-97, 2007.

ESPINELL-INGROFF, A. Mechanisms of resistance to antifungal agents: yeasts and filamentous fungi. **Rev Iberoam Mico**, v. 25, n. 2, p. 2008; 25(3):101-106.

ESPINELL-INGROFF, A.; ALLER, A.I.; CANTON, E., et al. Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii species complex an international study of wild-type susceptibility endpoint distributions and epidemiological cutoff values for fluconazole, itraconazole, posaconazole and voriconazole. **Antimicrobial agents and chemotherapy** 2012; AAC 01115-12.

FORASTIERO, A.; MESA-ARANGO, A.C.; ALASTRUEY-IZQUIERDO; et al. Candida tropicalis antifungal cross-resistance is related to different azole target Erg11p modifications. **Antimicrob Agents Chemother**. 2013 Oct; 57(10):4769-81.

GARCIA-EFFRON, G.; KATIYAR, S.K.; PARK, S., et al. A naturally occurring proline-to-alanine amino acid change in Fks1p in Candida parapsilosis, Candida orthopsilosis, and Candida metapsilosis accounts for reduced echinocandin susceptibility. **Antimicrob Agents Chemother**. 2008; 52:2305 – 2312.

GARCIA-EFFRON, G.; LEE, S.; PARK, S., et al. Effect of *Candida glabrata* FKS1 and FKS2 mutations on echinocandin sensitivity and kinetics of 1,3-beta-D-glucan synthase: implication for the existing susceptibility breakpoint. **Antimicrob Agents Chemother**. 2009; 53:3690–9.

GARCIA-EFFRON, G.; PARK, S.; PERLIN, D.S. Correlating echinocandin MIC and kinetic inhibition of fks1 mutant glucan synthases for *Candida albicans*: implications for interpretive breakpoints. **Antimicrob Agents Chemother** 2009; 53:112–22.

GIBBONS, S.; MOSER, E.; KAATZ, G.W. Catechin gallates inhibit multidrug

resistance (MDR) in *Staphylococcus aureus*. **Plant Letter**, v.70, p.1-3, 2004.

GOUGHENOUR, K. D.; RAPPLEYE, C. A. Antifungal therapeutics for dimorphic fungal pathogens. **Virulence**. 2017; 8(2):211–221.

GSALLER, F.; HORTSCHANSKY, P.; FURUKAWA, T., et al. Sterol Biosynthesis and Azole Tolerance Is Governed by the Opposing Actions of SrbA and the CCAAT Binding Complex. **PLoS Pathog**. 2016 Jul; 12(7):e1005775.

GUARNER, J. **Human Immunodeficiency Virus and fungal infections, Seminars in Diagnostic Pathology**, <http://dx.doi.org/10.1053/j.semmp.2017.04.007>.

HADFIELD, T.L; SMITH, M.B.; WINN, R.E., et al. Mycoses caused by *Candida lusitana*. **Rev Infect Dis** 1987; 9: 1006-12.

HAGIWARA, D.; WATANABE, A.; KAMEI, K., et al. Epidemiological and Genomic Landscape of Azole Resistance Mechanisms in *Aspergillus Fungi*. **Front Microbiol**. 2016; 7:1382.

HECTOR, R.F. Compounds active against cell walls of medically important fungi. **Clin Microbiol Ver**. 1993; 6:1–21.

HORSBURGH, C.R.; KIRKPATRICK, C.H. Long-term therapy of chronic mucocutaneous candidiasis with ketoconazole: experience with twenty-one patients. **Am J Med**.1983; 74(1B):23–9.

HOWARD, S.J.; LESTNER, J.M.; SHARP, A., et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of posaconazole for invasive pulmonary aspergillosis: clinical implications for antifungal therapy. **J Infect Dis** 2011; 203:1324–32.

JOHNSON, M.E.; KATIYAR, S.K.; EDLIND, T.D. A new Fks hotspot for acquired echinocandin resistance in yeast, and its contribution to intrinsic resistance of *Scedosporium* species. **Antimicrob Agents Chemother**. 2011; 55:3774–81.

KAKEYA, H.; MIYAZAKI, T.; MIYAZAKI, Y.; KOHNO, S. Azole resistance in *Candida* spp. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**. 44(2), 87-92. 2003.

KATIYAR, S.K.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; HEALAY, K.R., et al. Fks1 and Fks2 are functionally redundant but differentially regulated in *Candida glabrata*: implications for echinocandin resistance. **Antimicrob Agents Chemother**. 2012; 56:6304–9.

KATIYAR, S.K.; EDLIND, T.D. Role for Fks1 in the intrinsic echinocandin resistance of *Fusarium solani* as evidenced by hybrid expression in *Saccharomyces cerevisiae*. **Antimicrob Agents Chemother**. 2009; 53:1772–8.

KLOSE, C.; EJSING S.; GARCÍA-SÁEZ J., et al. Yeast Lipids Can Phase-separate into Micrometer-scale Membrane Domains. **J Biol**

Chem. 2010;285:30224–30232.

KONTOYIANNIS, D.P.; BODEY, G.P.; MANTZOROS, C.S. Fluconazole vs. amphotericin B for the management of candidaemia in adults: a meta-analysis. **Mycoses**; 44(5):125-35.7. 2001.

KONTOYIANNIS, D.P.; LEWIS, R.E. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. **The Lancet** 2002; 359: 1135-44.

LAMB, D.C.; CORRAN, A.; BALDWIN BC, KWON-CHUNG J, KELLY SL. Resistant P45051A1 activity in azole antifungal tolerant *Cryptococcus neoformans* from AIDS patients. **FEBS Lett** 1995; 368: 326–330.

LORTHOLARY, O.; DESNOS-OLIVER, M.; SITBON, K., et al. Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients. **Antimicrob Agents Chemother.** 2011; 55:532–8.

MACCALLUM, D.M.; COSTE, A.; ISCHER, F., et al. Genetic dissection of azole resistant mechanisms in *Candida albicans* and their validation in a mouse of disseminated infection. **Antimicrob. Agents Chemother.** 54(4), 1476-1483. 2010.

MAESAKI, S., P.; MARICHAL, M. A.; HOSSAIN, D., et al. Synergic effects of tacrolimus and azole antifungal agents against azole-resistant *Candida albicans* strains. **J. Antimicrob. Chem.** 42:747-753. 1998.

MAGILL, S.S.; EDWARDS, J.R.; BAMBERG, W., et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. **N Engl J Med.** 2014;370(13):1198-208.

MANDELL, G.L.; PETRI, W.A. Antimicrobial Agents in Hardman JG, Limbird LE(eds) Goodman and Gilman's – **The Pharmacological Basis of Therapeutics.** 9 ed. New York, NY, McGraw-Hill, 1996; 1165-8.

MARRA, A.; CAMARGO, L.F.A. Fluconazol ou anfotericina B no tratamento de candidemias em pacientes internados na UTI. **Rev Assoc Med Bras.** 2002; 48:107.

MARTINEZ, R. An update on the use of antifungal agents. **J. Bras. Pneumol.** 32(5): 449-460, 2006.

MENEZES, R.P.; FERREIRA, J.C.; SÁ, W.M., et al. The production of reactive oxygen species is a universal action mechanism of Amphotericin B against pathogenic yeasts and contributes to the fungicidal effect of this drug. **Antimicrob Agents Chemother.** 2014 Nov; 58(11):6627-38.

MORRIS, M.I.; VILLMANN, M. Echinocandins in the management of invasive fungal infections, Part 1. **Am J Health Syst Pharm.** 2006; 63: 1693-703.

MOSQUERA, J.; DENNING, D.W. Azole cross-resistance in *Aspergillus fumigatus*. **Antimicrob Agents Chemother** 2002; 46:556–7.

MURRAY, R.; ROSENTHAL, S.; PFALLER, A. **Microbiologia Médica**. Ed. 6, Elsevier, Rio de Janeiro, 2009.

PALONE, M.R.T.; SILVA, T.R.; VIEIRA, N.A., et al. Sequência de Robin e suas repercussões sobre a microbiota bucal: revisão de literatura. **Pediatria Moderna** Nov 2013 V 49 N 11 págs.: 445-450.

PARENTE, R.; MELO, B.; CORREA, A., et al. Antifungal Resistance, Metabolic Routes as Drug Targets, and New Antifungal Agents: An Overview about Endemic Dimorphic Fungi. **Mediators of Inflammation**. 2017, Article ID 9870679, 16 pages.

PARK, S.; KELLY, R.; KAHN, J.N., et al. Specific substitutions in the echinocandin target Fks1p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* sp. isolates. **Antimicrob Agents Chemother** 2005; 49:3264–73.

PAUL, S.; MOYE-ROWLEY, W.S. Multidrug resistance in fungi: regulation of transporter-encoding gene expression. **Front Physiol**. 2014; 5:143.

PEDROSO, R.S. Frequency of *Candida* species in a tertiary care hospital in Triângulo Mineiro, Minas Gerais State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, 57(3): 185-91, 2015.

PERKINS, A.; GOMEZ-LOPEZ, A.; MELLANO, E., et al. Rates of antifungal resistance among Spanish clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. **J Antimicrobial Chemother** 2005; 56: 1144-7.

PHAM, C.D.; IGBAL, N.; BOLDEN, C.B., et al. Role of FKS mutations in *Candida glabrata*: MIC values, echinocandin resistance, and multidrug resistance. **Antimicrob Agents Chemother** 2014; 58:4690–6.

PIGATTO, C.; UCHOA, T.; COSTA, D. Farmacocinética dos novos antifúngicos de uso sistêmico utilizados em pacientes imunocomprometidos. **Rev. Bras. Farm**, 90(1): 86-94, 2009.

PFALLER, M.A.; BURURMEISTER, L.; BARTLETT, M.S., et al. Multicenter evaluation of four methods of yeast inoculum preparation. **J Clin Microbiol**. 1988; 26:1437–41.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J.; SHEEHAN, D.J. Interpretive breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. **Clin Microbiol Rev** 2006; 19: 435- 47.

PFALLER, M.A.; CASTANHEIRA, M.; LOCKHART, S.R., et al. Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant bloodstream isolates of *Candida glabrata*. **J Clin**

Microbiol. 2012; 50:1199–203.

PFALLER, M.A.; ESPINEL-INGROFF, A.; CANTON, E., et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin B, flucytosine, and itraconazole and *Candida* spp. as determined by CLSI broth microdilution. **J Clin Microbiol.** 2012 Jun; 50(6):2040-6.

PFEIFFER, C.D.; GARCIA-EFFRON, G.; ZAAS A.K., et al. Breakthrough invasive candidiasis in patients on micafungin. **J Clin Microbiol.** 2010; 48:2373–2380.

PIERCE, A.M.; PIERCE, H.D.; UNRAU, A.M., et al. Lipid composition and polyene antibiotic resistance of *Candida albicans* mutants. *Canadian Journal of Biochemistry* 1978; 56: 135-42.

PIZANI, A. T., OLIVEIRA, S. M. Criptococose em Pacientes HIV Positivos: Revisão Sistemática da Literatura. **Revista Saúde UniToledo**, Araçatuba, SP, v. 01, n.01, p. 90-106, mar./ago. 2017.

POWDERLY, W.G; KEATH, E.J.; SOKOL-ANDERSON, M.; et al. Amphotericin B-resistant *Cryptococcus neoformans* in a patient with AIDS. **Infect Dis Clin Practice** 1992a; 1:314-6.

QUIAO, J.; WEI, L.; RUOYU, L. Antifungal Resistance Mechanisms of *Aspergillus*. *Jpn. J. Med. Mycol.*, (49), 157-163. 2008.

REBOLI, A.C.; ROTSTEIN, C.; PAPPAS, P.G., et al. Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *N Engl J Med.* 2007; 356:2472–2482.

RYAN, K.; SHIELDS, M.; NGUYEN, H.; CORNELIUS, J. Clinical perspectives on echinocandin resistance among *Candida* species. **Curr Opin Infect Dis.** 2015 Dec; 28(6): 514–522.

SABOL, K.; GUMBO, T. Anidulafungin in the treatment of invasive fungal infections. **Ther. Clin. Risk. Manag.** 4(1): 71-78, 2008.

SANG, T.H.; TATARA, M.; JIMÉNEZ-ORTIGOSA, C., et al. Changes in In Vitro Susceptibility Patterns of *Aspergillus* to Triazoles and Correlation With *Aspergillosis* Outcome in a Tertiary Care Cancer Center, 1999–2015. **Clinical Infectious Diseases**, Volume 65, Issue 2, 15 July 2017, Pages 216–225.

SANGLARD, D.; ISCHER, F.; PARKINSON, T.; FALCONER, D. *Candida albicans* mutations in the ergosterol biosynthetic pathway and resistance to several antifungal agents. **J Antimicrob Agents Chemother.** 2003 Aug; 47(8):2404-12.

SHANNON, L.; RICHARD, H.D. Echinocandins: Addressing outstanding questions surrounding treatment of invasive fungal infections. **Am J Health-Syst Pharm.** Vol 68 Jul 1, 2011.

SHAPIRO, R.S.; ROBBINS, N.; COWEN, L.E. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 2011; 75(2): 213-267.

SHARMA, C.; KUMAR, N.; PANDEY, R.; MEIS, J.F.; CHOWDHARY, A. Whole genome sequencing of emerging multidrug resistant *Candida auris* isolates in India demonstrates low genetic variation. **New Microbes New Infect** 2016; 13:77–82.

SHAWN, R.; ETIENNE, K.A.; VALLABHANENI, S., et al. Simultaneous Emergence of Multidrug-Resistant *Candida auris* on 3 Continents Confirmed by Whole-Genome Sequencing and Epidemiological Analyses. **Clinical Infectious Diseases**, Volume 64, Issue 2, 15 January 2017, Pages 134–140.

SHIELDS, R.K.; NGUYEN, M.H.; PRESS, E.G., et al. Abdominal candidiasis is a hidden reservoir of echinocandin resistance. **Antimicrob Agents Chemother**. 2014;58:7601–5.

SHIELDS, R.K.; NGUYEN, M.H.; PRESS, E.G., et al. Caspofungin MICs correlate with treatment outcomes among patients with *Candida glabrata* invasive candidiasis and prior echinocandin exposure. **Antimicrob Agents Chemot**. 2013;57:3528-35.

SHIELDS, R.K.; NGUYEN, M.H.; PRESS, E.G., et al. Rate of FKS mutations among consecutive *Candida* isolates causing bloodstream infection. **Antimicrob Agents and Chemotherapy**. 2015; 59(12):7465–7470. doi: 10.1128/AAC.01973-15.

SILVA, D.C.; MARTINS, M.A.; SZESZS, M.W., et al. Susceptibility to Antifungal Agents and Genotypes of Clinical and Environmental *Cryptococcus gattii* strains. **Diag Microbiol Infect Dis** 2012;72: 332-339.

SOKOL-ANDERSON, M. Role of cell defense against oxidative damage in the resistance of *Candida albicans* to the killing effect of amphotericin B. **Antimicrob Agents Chemother** 1988; 32: 702-5.

STEVENS, D.A. **The role of miconazole in systemic fungal infections**. *Am Rev Respir Dis*. 1977; 116:801–6.

STEPHEN, A.; DAVIS, M.; MATTHEW, M., et al. Non-toxic antimicrobials that evade drug resistance. **Nat Chem Biol**. 2015 Jul; 11(7): 481–487.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2001.

THORNEWELL, S.J.; PEERY, R.B.; SKATRUD, P.L. **Cloning and characterization of CneMDR1**: a *Cryptococcus neoformans* gene encoding a protein related to multidrug resistance proteins. *Gene* 1997; 201: 21–29.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10. Ed., Artmed,

Porto Alegre, 2012.

TROYANO, A.R.; MEDIAVILLA, M.; GARIN, N.; GÜELL, R. Heart failure induced by itraconazol. **Med Clin**. 2017; 148:69-70 - DOI: 10.1016/j.medcle.2016.09.041.

VANDEN, H.; MARICHAL, P.; GORRENS, J., et al. Mutation in cytochromeP450-dependent 14 a-demethylase results in decreased affinity for azole antifungals. **Biochem Soc Trans** 1990; 18:56-59.

VINCENT, B.M; LANCASTER, A.K.; SCHERZ-SHOUVAL, R., et al. Fitness trade-offs restrict the evolution of resistance to amphotericin B. **PLoS Biol**. 2013 Oct; 11(10):e1001692.

XISTO, I.D.S.; CAMARGO, D.F.; ROCHA, A.S., et al. Pan-azole-resistant *Candida tropicalis* carrying homozygous **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, erg11 mutations at position K143R: a new emerging superbug? Volume 72, Issue 4, 1 April 2017, Pages 988–992, <https://doi.org/10.1093/jac/dkw558>.

WARNOCK, D.W.; JOHNSON, E.M.; RICHARDSON, M.D.; VICKERS, C.F. Modified response to ketoconazole of *Candida albicans* from a treatment failure [letter]. **The Lancet**. 1983; 1(8325):642–3.

WARNOCK, D.W. **Amphotericin B: an introduction**. Journal of Antimicrob Chemother 1991; 28(suppl B): 27-38.

WHITE, T.C.; MARR, K.A.; BOWDEN, R.A. **Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance**. Clin Microbial 1998; 11: 382-402.

WILLIAMS, D.A.; LEMKE, T.L. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 5 th ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, p.1114, 2002.

YIBMANTASIRI, P.; BIRCHAM, P.W.; MAASS, D.R., et al. Networks of genes modulating the pleiotropic drug response in *Saccharomyces cerevisiae*. **Mol Biosyst**. 2014 Jan; 10(1):128-37

ZAAS, A.K. Echinocandins: a wealth of choice.how clinically diferente are they? Curr. Opin. **Infect. Dis.**, 21: 426-432, 2008.