

MODELOS ALTERNATIVOS PARA AVALIAR A ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATO DE PRÓPOLIS COMO POSSÍVEL TRATAMENTO PARA DERMATOMICOSSES

ALTERNATIVE MODELS TO EVALUATE THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF PROPOLIS EXTRACT AS A POSSIBLE TREATMENT FOR DERMATOMYCOSIS

MODELOS ALTERNATIVOS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO DE PROPÓLEOS COMO POSIBLE TRATAMIENTO DE LA DERMATOMICOSIS



10.56238/edimpacto2025.028-003

Vinicius Alexandre

Laboratório de Micologia Médica, Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Maringá, Paraná, Brasil.

RESUMO

Dermatomicoses são doenças fúngicas capazes de acometer pele, pelo e unha. O aumento da resistência aos antifúngicos resulta na demanda por novos fármacos, sendo a própolis uma alternativa com diversas propriedades farmacológicas. Estudos com modelos *ex vivo* e *in vivo* confirmam achados de modelos murinos tradicionais, reforçando descobertas científicas. O objetivo deste trabalho foi aplicar modelos alternativos como forma de avaliar a bioatividade do extrato de glicólico de própolis (PEG) como possível tratamento para dermatomicoses. Neste estudo foram utilizados os seguintes fungos causadores de dermatomicoses: *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Trichophyton mentagrophytes*. Primeiramente, foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do PEG nas concentrações de polifenóis totais (TPC) frente a fungos causadores de dermatomicoses. Em seguida, determinou-se a dose letal do própolis em modelo *in vivo*. Por fim, realizou-se a infecção e tratamento em modelos alternativos *ex vivo* e *in vivo*. Como resultado a CIM variou de 356,25 a 1.425 µg/mL de TPC, enquanto a CFM de 1.425 a 2.850 µg/mL de TPC. Em seguida determinou-se os valores de DL25, DL50, DL75 e DL90 sendo: 1544,65 µg/ml, 2188,47 µg/ml, 2686,03 µg/ml e 2945,48 µg/ml de TPC, respectivamente. Em modelo *ex vivo* o PEG foi aplicado de forma tópica, resultando na inibição dos fungos, exceto *C. albicans*. No entanto, em modelo alternativo *in vivo* o PEG administrado de forma sistêmica não obteve sucesso no tratamento. Conclui-se que a avaliação *in vitro* somada a aplicação de modelos alternativos, PEG tem potencial sucesso terapêutico tópico para tratar dermatomicoses.

Palavras-chave: *Candida* spp.; *Fusarium* spp.; *Trichophyton* spp.; Extrato de Própolis; *Tenebrio molitor*.

ABSTRACT

Dermatomycoses are fungal diseases that can affect the skin, hair and nails. The increase in resistance to antifungal drugs results in a demand for new drugs, with propolis being an alternative with diverse pharmacological properties. Studies using *ex vivo* and *in vivo* models confirm findings from traditional murine models, reinforcing scientific discoveries. The aim of this study was to use alternative models

to evaluate the bioactivity of propolis glycol extract (PEG) as a possible treatment for dermatomycoses. The following dermatomycosis-causing fungi were used in this study: *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* and *Trichophyton mentagrophytes*. Firstly, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) of PEG in total polyphenol concentrations (TPC) against fungi causing dermatomycoses were determined. Next, the lethal dose of propolis was determined in an in vivo model. Finally, infection and treatment were carried out in alternative ex vivo and in vivo models. As a result, the MIC ranged from 356.25 to 1,425 µg/mL of TPC, while the CFM ranged from 1,425 to 2,850 µg/mL of TPC. The DL25, DL50, DL75 and DL90 values were then determined: 1544.65 µg/ml, 2188.47 µg/ml, 2686.03 µg/ml and 2945.48 µg/ml of TPC, respectively. In an ex vivo model, PEG was applied topically, resulting in the inhibition of fungi, except *C. albicans*. However, in an alternative in vivo model, PEG administered systemically was not successful. It is concluded that in vitro evaluation plus the application of alternative models, PEG has potential topical therapeutic success for treating dermatomycoses.

Kerwords: *Candida* spp.; *Fusarium* spp.; *Trichophyton* spp.; Propolis Extract; *Tenebrio molitor*.

RESUMEN

Las dermatomicosis son enfermedades fúngicas que pueden afectar a la piel, el cabello y las uñas. El aumento de la resistencia a los medicamentos antifúngicos da lugar a una demanda de nuevos fármacos, siendo el propóleo una alternativa con diversas propiedades farmacológicas. Los estudios realizados con modelos ex vivo e in vivo confirman los hallazgos de los modelos murinos tradicionales, reforzando los descubrimientos científicos. El objetivo de este estudio era utilizar modelos alternativos para evaluar la bioactividad del extracto glicolico de propóleo (PEG) como posible tratamiento de las dermatomicosis. En este estudio se utilizaron los siguientes hongos causantes de dermatomicosis: *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Trichophyton mentagrophytes*. En primer lugar, se determinaron la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) del PEG en concentraciones totales de polifenoles (CPT) frente a los hongos causantes de dermatomicosis. A continuación, se determinó la dosis letal de propóleo en un modelo in vivo. Por último, se llevaron a cabo la infección y el tratamiento en modelos alternativos ex vivo e in vivo. Como resultado, el MIC osciló entre 356,25 y 1.425 µg/mL de TPC, mientras que el CFM osciló entre 1.425 y 2.850 µg/mL de TPC. A continuación, se determinaron los valores DL25, DL50, DL75 y DL90: 1544,65 µg/ml, 2188,47 µg/ml, 2686,03 µg/ml y 2945,48 µg/ml de TPC, respectivamente. En un modelo ex vivo, se aplicó PEG por vía tópica, lo que produjo la inhibición de los hongos, excepto *C. albicans*. Sin embargo, en un modelo alternativo in vivo, el PEG administrado sistémicamente no tuvo éxito. Se concluye que la evaluación in vitro más la aplicación de modelos alternativos, el PEG tiene un potencial éxito terapéutico tópico para el tratamiento de las dermatomicosis.

Palabras clave: *Candida* spp.; *Fusarium* spp.; *Trichophyton* spp.; Extracto de Propóleo; *Tenebrio molitor*.

1 INTRODUÇÃO

Infecções fúngicas cutâneas, conhecidas como dermatomicoses, impactam a pele, unhas e pelos de seres humanos e animais. Essas condições são mais prevalentes na América Latina devido ao clima quente e úmido, propício para a disseminação dos agentes causadores [1]. Os principais causadores de dermatomicoses são os fungos dermatófitos, capazes de degradar queratina em diferentes áreas do corpo, como pele, pelos e unhas, sendo denominados fungos queratinofílicos [2]. Além dos dermatófitos, as leveduras do gênero *Candida*, que faz parte da microbiota gastrointestinal e de certas regiões da pele, podem invadir e lesionar pele e unhas. Existem também dermatomicoses causadas por fungos filamentosos não dermatófitos (FFND), que podem provocar lesões, especialmente em unhas e espaços interdigitais dos pés [3].

O aumento do uso de antifúngicos se correlaciona com o aumento de relatos de resistência aos medicamentos antifúngicos, evidenciando ainda mais a necessidade de compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da resistência aos antifúngicos [4]. Por isso, há uma demanda por novos fármacos, como de origem natural. Um destes produtos naturais é a própolis, a qual apresenta promissora atividade contra fungos, podendo ser aplicada de diversas formas na área médica [5]. A própolis, ou cola de abelha, é uma resina presente nas árvores e coletada pelas abelhas, tendo destaque por ser um tratamento eficiente, de baixo custo e sem efeitos colaterais graves, considerada um “antibiótico natural” com diversas propriedades farmacológicas [6].

Animais vertebrados, como camundongos, são amplamente utilizados para testes de substâncias de interesse farmacológico, no entanto, a dor, a angústia e o sacrifício de animais durante experimentos científicos têm sido questionados por pesquisadores [7]. Estudos em modelos *in vivo* e *ex vivo* estão sendo implementados e os resultados com estes modelos têm corroborado com os tradicionais modelos em murinos [8]. Larvas de *Tenebrio molitor*, popularmente conhecidas como larvas de farinha, apresentam algumas vantagens dentre os modelos alternativos usados no estudo de patógenos fúngicos humanos [9]. Somado a isso, vários modelos *ex vivo* de infecção vêm sendo desenvolvidos com o intuito de mimetizar infecções *in vivo* utilizando animais, por exemplo, estrato córneo, fios de cabelo, fragmentos de unha, explante de pele, entre outros [10].

Assim, a presente dissertação teve como objetivo principal realizar estudos utilizando modelos alternativos ao murino para avaliar a ação antifúngica do extrato de própolis para o tratamento de dermatomicoses. A dissertação foi estruturada em dois capítulos, sendo o capítulo I constituído de fundamentação teórica, objetivos, justificativa e referências; capítulo II o artigo a ser publicado na revista “Brazilian Journal of Microbiology”.



2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DERMATOMICOSSES

Dermatomicoses são doenças fúngicas responsáveis por acometer pele, unhas e pelo dos seres humanos e dos animais, com maior prevalência na América Latina, visto que o clima tropical se apresenta quente e úmido, sendo muito favorável para a disseminação desta etiopatogenia [1]. Estas infecções acometem o mundo todo, sendo o terceiro distúrbio dermatológico mais frequente em crianças menores de 12 anos e o segundo mais frequente em adultos [11]. Estima-se que 30% a 70% da população adulta é portadora assintomática [12]. E por se tratar de uma doença de notificação não compulsória no Brasil, as informações epidemiológicas sobre sua incidência são obtidas apenas por meio de pesquisas documentadas na literatura [13].

Os principais agentes etiológicos de dermatatomicoses são os fungos dermatófitos que possuem a capacidade de degradar queratina localizada em diferentes localizações do corpo como pele, pelo e unha servindo como fonte nutricional, sendo denominados como fungos queratinofílicos [2]. Os 3 principais fungos dermatófitos pertencem aos gêneros *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*, sendo reconhecidas 27 espécies patogênicas para o homem, dentre as quais 15 ocorrem no Brasil. Destas, as principais são: *T. rubrum*, *E. floccosum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis*, *M. gypseum* e *T. tonsurans* [3]. No entanto, em 2017 se estabeleceu uma nova taxonomia dos dermatófitos, não se baseando apenas na análise fenotípica para sua classificação, encontrando diferenças genotípicas a partir da biologia molecular e, desta forma, a antiga espécie *Microsporum gypseum* foi realocada em um novo gênero, sendo denominada de *Nannizzia gypsea* [14]. Os dermatófitos são categorizados de acordo com sua relação ecológica, podendo ser classificados como geofílicos, zoofílicos e antropofílicos. As espécies de dermatófitos que se transmitem entre seres humanos são consideradas antropofílicas, enquanto as demais são caracterizadas como oportunistas. No entanto, mesmo essas espécies oportunistas têm o potencial de causar lesões graves e de difícil tratamento. As espécies que infectam animais em geral são conhecidas como zoofílicas e podem ser transmitidas entre animais contaminados, inclusive para animais e humanos saudáveis. Já as espécies isoladas originalmente no solo são consideradas geofílicas e podem ser transmitidas por meio do contato com solos contaminados. A população que lida diretamente com o manejo do solo está mais propensa a dermatofitoses com lesões inflamatórias agudas [15].

Além disso, o gênero *Candida* é um tipo de fungo classificado como patógeno oportunista e pertencente ao grupo de leveduras, composto por aproximadamente 200 espécies que são comumente encontradas na pele e têm a capacidade de se tornarem patogênicas. Geralmente, essas leveduras são encontradas no trato gastrointestinal, sistema urogenital, mucosa do trato respiratório e pele. Seu potencial patogênico está relacionado ao enfraquecimento do sistema imunológico, podendo resultar em doenças infecciosas de natureza sistêmica, superficial e invasiva [16]. Há ainda outras

dermatomicoses que não são causadas nem por fungos dermatófitos nem por fungos do gênero *Candida*, mas sim por fungos filamentosos não dermatófitos (FFND). Dentre esses fungos destacam-se: *Fusarium* spp., *Scytalidium dimidiatum*, e *S. hyalinum* que podem causar lesões principalmente em unhas e em espaços interdigitais dos pés [3]. Devido à possibilidade de as mesmas espécies de FFND serem identificadas tanto como contaminantes quanto como agentes etiológicos, é essencial confirmar o diagnóstico para diminuir significativamente a probabilidade de que estas espécies de fungos sejam consideradas um contaminante [17].

2.2 RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS

O controle de infecções fúngicas depende principalmente da resposta imunológica do hospedeiro. A doença ocorre quando há deficiência nas defesas naturais ou quando o patógeno evita as respostas imunológicas, exigindo o uso de substâncias fungicidas ou fungistáticas específicas. No entanto, há limitação na especificidade dos antifúngicos e isso se deve ao conhecimento restrito sobre os fatores de virulência e patogenicidade [8]. Os antifúngicos podem ser administrados por via tópica, via oral, via intravenosa ou intravaginal. A escolha da via de administração varia conforme o fármaco, o tipo de infecção e a gravidade da mesma, categorizados com base no seu mecanismo de ação, sendo classificados como azóis, polienos, alilaminas e equinocandinas [18].

O tratamento é marcado por ser oneroso e prolongado, o que torna desafiadora a adesão à terapia medicamentosa, favorecendo, dessa forma, o surgimento de fenômenos de resistência [19] juntamente com o aumento do uso irracional, evidenciando ainda mais a necessidade de compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da resistência aos antifúngicos [4]. Os principais mecanismos de resistência produzidos pelos fungos são: a diminuição na absorção do fármaco, a modificação ou degradação metabólica que dificulta a interação entre o fármaco e o sítio-alvo, e o aumento do efluxo através do bombeamento ativo do antifúngico [20]. Os testes de suscetibilidade desempenham um papel fundamental ao orientar a abordagem terapêutica de doenças fúngicas, sendo cruciais para o entendimento da epidemiologia tanto ao nível local quanto global, e desempenham um papel importante na identificação de resistência a antifúngicos. Essas avaliações fornecem informações valiosas que direcionam a escolha dos tratamentos mais eficazes, contribuem para o conhecimento do panorama epidemiológico e auxiliam na detecção de possíveis resistências aos medicamentos antifúngicos [21].

2.3 EXTRATO DE PRÓPOLIS

A própolis, ou cola de abelha, é uma resina presente nas árvores e coletada pelas abelhas, tendo destaque por ser um tratamento eficiente, de baixo custo e sem efeitos colaterais graves, considerada um “antibiótico natural” com diversas propriedades farmacológicas [6]. Os egípcios conheciam as

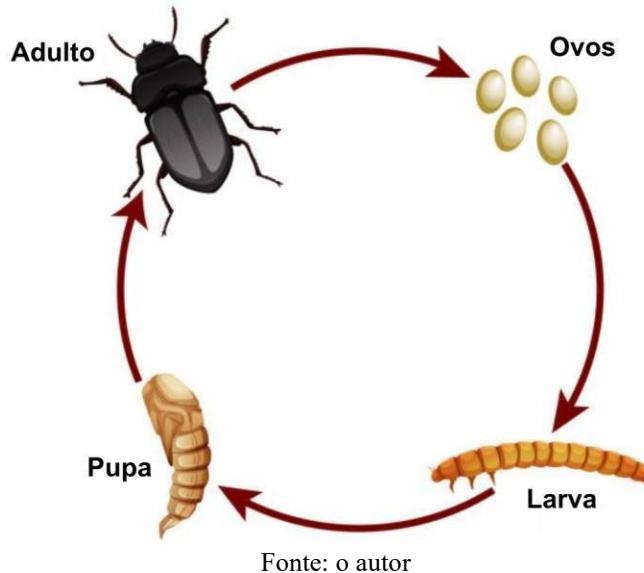
propriedades anti-putrefativas da própolis e a utilizavam no processo de embalsamamento de cadáveres. Além disso, o uso de extratos à base de própolis na medicina popular remonta a 300 a.C., tendo o reconhecimento de suas propriedades medicinais por médicos gregos e romanos [22]. Sua composição é complexa e a tonalidade varia conforme a espécie vegetal e o ambiente de origem [23], além de sofrer influência pelas características fitogeográficas nas proximidades da colmeia, incluindo as plantas que fornecem a resina, bem como a espécie de abelha coletora. Essa diversidade na composição se manifesta na variedade de atividades biológicas e farmacêuticas exibidas por esse produto [24].

Além da aplicação industrial, a própolis se destaca pela atividade biológica, atuando como antimicrobiano, anti-inflamatório, antioxidante, imunomodulador, antitumoral, cicatrizante e anestésico [25]. A composição química da própolis engloba uma variedade de componentes, incluindo flavonoides, ácidos aromáticos, ésteres, aldeídos, cetonas, terpenoides, fenilpropanoides, esteroides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos, e diversos outros compostos em quantidades reduzidas [22]. Os estudos indicam uma notável eficácia da própolis, principalmente no combate a bactérias Gram-positivas, enquanto sua ação é mais restrita contra bactérias Gram-negativas. No que diz respeito à capacidade antifúngica, observa-se que algumas cepas de fungos, especialmente do gênero *Candida*, demonstram sensibilidade aos extratos de própolis [26]. Além disso, este composto tem sido estudado para avaliar sua atividade antifúngica contra fungos dermatófitos e endofíticos, como os do gênero *Fusarium* que podem causar onicomicoses [27].

2.4 MODELOS ALTERNATIVOS

Animais vertebrados, como camundongos, são amplamente utilizados para testes de substâncias de interesse farmacológico. No entanto, a dor, a angústia e o sacrifício de animais durante experimentos científicos têm sido questionados por pesquisadores [7]. Um dos fundamentos que orienta estes questionamentos é o princípio dos 3Rs (Substituição, Redução e Refinamento), apresentado por Russel e Burch em 1959 [28]. Os insetos apresentam vantagens éticas, logísticas e econômicas em relação aos modelos de murinos [29]. Um inseto hospedeiro em ascensão é *Tenebrio molitor*, um besouro da larva da farinha, praga de grãos armazenados, cujas larvas são usadas para alimentação de animais de estimação, bem como de pássaros [9]. Esses artrópodes passam por um processo de desenvolvimento holometábolo, composto por quatro fases distintas (ovo, larva, pupa e adultos). A coloração desses insetos varia conforme a fase de desenvolvimento, apresentando larvas de tonalidade amarelada, pupas com coloração esbranquiçada e adultos que variam entre tons de marrom-escuro e preto [30].

Figura 1: fases do desenvolvimento holometábolo de *Tenebrio molitor*.



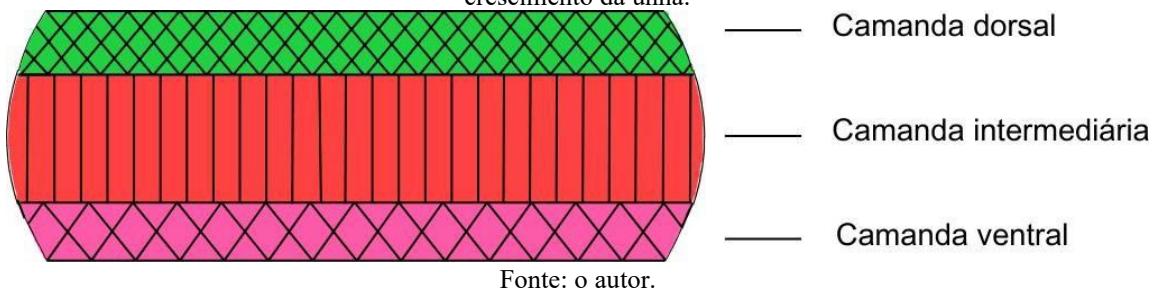
Quando um parasito ou patógeno consegue superar as defesas externas do inseto, este precisa acionar uma resposta imunológica rápida e eficiente para identificar e conter a infecção do microrganismo invasor [31]. As larvas de *T. molitor* possuem sistema imunológico inato com respostas humorais e celulares, sendo um modelo alternativo adaptado com sucesso. A resposta humoral envolve a produção de melanina e peptídeos antimicrobianos com atividades bactericidas e antifúngicas, enquanto as respostas celulares são orquestradas por diversas células conhecidas coletivamente como hemócitos, cujas respostas incluem fagocitose, encapsulamento e nodulação [32].

Em comparação a outros modelos de invertebrados, as larvas de *T. molitor* apresentam um tamanho relativamente maior, o que viabiliza a coleta de uma quantidade significativa de hemolinfa. Além disso, a administração do inóculo pode ser realizada por meio de injeção, possibilitando a inserção direta do patógeno na hemolinfa [33]. A capacidade do inseto de tolerar altas temperaturas possibilita sua manutenção a 37 °C, sendo esta temperatura um estímulo ambiental que desencadeia a expressão de fatores de virulência em diversos patógenos. Essa característica faz do *T. molitor* um modelo valioso para investigar as complexas interações entre patógenos e hospedeiros [34].

Além dos modelos alternativos *in vivo*, existem também modelos *ex vivo* que consistem na utilização de fragmentos de tecidos, tais como pele, córnea e cascos, nos quais a integridade estrutural do tecido é mantida [35]. Estes modelos abrangem um ambiente tridimensional (3D) fisiológico que possui características cruciais, como folículos capilares, proporcionando uma vantagem significativa em relação a outros sistemas de cultura de células *in vitro* ou em duas dimensões (2D) [36], além de ser um método eficaz para gerar imagens e avaliar o desenvolvimento da colonização de órgãos e tecidos, sendo examinados principalmente por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura [37]. Um método frequentemente empregado envolve o uso de fragmentos de unhas humanas, explorando aspectos como a penetração de fármacos, a patogênese, a expressão gênica, a formação de

biofilme e outros fatores, normalmente utilizando dermatófitos [38],[39]. A unha é formada por uma lâmina ungueal composta por três camadas: uma camada interna (camada ventral); uma camada dura e intermediária de queratina; e a camada mais externa (camada dorsal). Todas as camadas podem ser facilmente colonizadas ou infectadas por fungos causadores de dermatomicoses [40].

Figura 2: Representação esquemática da lâmina ungueal em corte transversal. As fibras de queratina nas camadas dorsal e ventral são compactadas e na camada intermediária são alinhadas e orientadas na direção perpendicular ao eixo de crescimento da unha.



Fonte: o autor.

3 JUSTIFICATIVA

Visto a necessidade de novos estudos acerca dos extratos de própolis para que estes possam ser utilizados em associação aos fármacos tradicionais que estão perdendo sua efetividade e sirvam de novos antifúngicos, somado à demanda pelo refinamento do uso de modelos animais através da aplicação de modelos alternativos.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Aplicar modelos alternativos *in vivo* e *ex vivo* para avaliar a eficácia e eficiência de extrato de própolis para tratamento de dermatomicoses.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a concentração inibitória mínima e fungicida mínima de extrato de própolis frente a fungos causadores de dermatomicoses;

Aplicar modelo alternativo *in vivo* utilizando larvas de *Tenebrio molitor* para determinar a toxicidade do própolis;

Realizar a infecção fúngica e tratamento com extrato glicólico de própolis (PEG) utilizando modelos alternativos *ex vivo* e *in vivo*.



REFERÊNCIAS

Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 21, 2004.

Wille MP, Arantes TD, Silva JLM. Epidemiologia das dermatomicoses em população da periferia de Araraquara - SP. Rev Bras Clin Med. 2009;7:295-8.

Molinaro, EM, Caputo LFG, Amendoeira MRRC. Métodos para a Formação de Técnicos em Laboratórios de Saúde Volume II. Rio de Janeiro. Escola Politécnica em saúde Joaquim Venancio; 2010.

Vieira AJH, Santos JI. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. Rbac. 2017; 49(3): 235-9.

Queiroz APM de, RochaEL, dos Reis RL, Dias RMF. Atividade Antimicrobiana do Extrato de Própolis: uma revisão. Revista Ciência (In) Cena. 2021; 1(13): 42-55.

Oliveira AC, Shinobu CS, Longhini R, Franco SL, Svidzinski TI. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006; 101(5):493-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0074-02762006000500002>

Souza PC de, Custódio CC, Wilson D, Sergio AR. An Invertebrate Host to Study Fungal Infections, Mycotoxins and Antifungal Drugs: *Tenebrio molitor*. J Fungi. 2018; 4(4):125. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof4040125>

Peres NT, Maranhão FC, Rossi A, Martinez-Rossi NM. Dermatófitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. An Bras Dermatol. 2010; 85(5): 657-67. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0365-05962010000500009>

Souza PC de, Morey AT, Castanheira GM, Bocate KP, Panagio LA, Ito FA, Furlaneto MC, Yamada-Ogatta SF, Costa IN, Mora-Montes HM, Almeida RS. *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as an alternative host to study fungal infections. J Microbiol Methods. 2015; 118:182-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.10.004>

Thomaz, LA. Estabelecimento de biofilme de dermatófitos em modelo ex vivo usando pelo de cão e gato: uma estratégia para análise de virulência. Fortaleza. Dissertação [mestrado em ciências veterinárias] - Universidade Federal do Ceará; 2019.

Schunemann M, Nunes PR, Oliveira MSO. Prevalência de micoses superficiais em pacientes ambulatoriais da região metropolitana de Porto Alegre, RS. RBAC. 2016; 48(1): 63- 67.

Silva, KCM et al. Os diferentes tipos de Própolis e suas indicações: uma revisão da literatura. Pombal Tese [mestrado em sistemas agroindustriais] - Universidade Federal de Campina Grande; 2018.

Ferro LD, Souza AK, Rodrigues DK, Silva JR, Silva KW, Freitas LW, Ribeiro TK, Araújo MA. *Trichophyton rubrum* como principal agente etiológico de dermatofitoses em um laboratório de Maceió –Al / *Trichophyton rubrum* as the main ethological agent of dermatophytoses in a Maceió-Al laboratory. Braz J Health Rev . 2020; 3(5):13198-207. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv3n5-149>



Nogueira, MA. Fatores de virulência de *Nannizzia gypsea* isoladas de solo de parques do município de São Paulo. São Paulo. Tese [doutorado em Patologia Ambiental e Experimental]. Universidade Paulista; 2021.

Grisolia, ME et al. Perfil de sensibilidade aos antifúngicos e de variabilidade genética de espécies de *Trichophyton* isolados de pacientes com infecção cutânea atendidos em um Serviço Público de Micologia em Manaus/AM. Manaus [Tese de mestrado em condições de vida e situações de saúde na amazônia] - Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Pesquisas Leônidas e Maria Deane; 2019.

Morais JG de, Mota A de AR, Longatti SC, Nascimento GPV do. Potencial antifúngico do *Cymbopogon citratus* ante levedura *Candida albicans* em casos de dermatomicoses. 2023; 379-9: Disponível em: <https://doi.org/10.56238/ciesaudesv1-031>.

Souza, SFR. Onicomicoses causadas por fungos filamentosos não dermatófitos. São Paulo. Tese [mestrado em ciências]. Universidade de São Paulo; 2008.

Lopes, ACS. Monitorização de antifúngicos em matrizes ambientais. Lisboa. Tese [mestrado em ciências farmacêuticas] - Universidade de Lisboa; 2022.

Soares CVD, Duarte ABS, Junior FPA, Firmino LA, Soares GVD, Bezerra AS. Uso irracional de antifúngicos: resistência e toxicidade. Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management. 2021; 17(2): 492-513.

Rezende C, Segura R, Riva SBM, Castro VCO. Mecanismos de ação dos antifúngicos. Revista unifev: ciência & tecnologia. 2017; 2 (1): 222-236.

Berto C, Wirth F, Barth N, Hermes DM. Bases da resistência antifúngica: uma revisão comentada. Rev Uningá. 2018; 55(3): 52-71. Disponível em: <https://doi.org/10.46311/2318-0579.55.euj773>.

Nascimento GP do, De França Veras T. Atividade antimicrobiana e antifúngica de amostras comerciais de extrato alcoólico de própolis verde e própolis vermelho contra cepas causadoras de lesões cutâneas. REV IBERO AM PODOL. 2020; 2(2): 182-9. Disponível em: <https://doi.org/10.36271/iajp.v2i2.33>.

Pimentel, ERS. Fungos patogênicos e a desmistificação do controle com o extrato de própolis em vinho branco. Pombal. Tese [mestrado em sistemas agroindustriais] - Universidade Federal de Campina Grande; 2020.

Silva, KCM et al. Os diferentes tipos de Própolis e suas indicações: uma revisão da literatura. Pombal. Tese [mestrado em sistemas agroindustriais] - Universidade Federal de Campina Grande; 2018.

SIQUEIRA, ABS. Perfil enzimático de dermatófitos e avaliação da atividade antifúngica de própolis e lectinas. Recife. Tese [doutorado em ciências biológicas] - Universidade Federal de Pernambuco; 2008.

Soares ALF, Bilezikdjian JP, Elias PG, Medeiros PCM, de Souza LA. Identidade e qualidade de diferentes extratos de propolis. Revista Gestão em Foco. 2017; 9: 255-275.

de Souza Costa P, Mendes V, Veiga FF, Negri M, Svidzinski TI. Relevant insights into onychomycosis' pathogenesis related to the effectiveness topical treatment. Microb Pathog. 2022; 105640. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105640>.

Russell, WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. Methuen, 1959.



Li DD, Deng L, Hu GH, Zhao LX, Hu DD, Jiang YY, Wang Y. Using Galleria mellonella–Candida albicans Infection Model to Evaluate Antifungal Agents. *Biol Pharm Bull*. 2013; 36(9): 1482-7.
Disponível em: <https://doi.org/10.1248/bpb.b13-00270>.

SILVA, Mariana de Souza. *Tenebrio molitor L. (Coleoptera: Tenebrionidae) criado com diferentes dietas para produção de farinha proteica. Dois Vizinhos.* Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 2022.

Vigneron A, Jehan C, Rigaud T, Moret Y. Immune Defenses of a Beneficial Pest: The Mealworm Beetle, *Tenebrio molitor*. *Front Physiol*. 2019; 10: 138. Disponível em:
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00138>.

Andrade-Oliveira AL, Rodrigues GL, Pereira MF, Bahia AC, Machado ED, Rossi CC, Giambiagi-deMarval M. *Tenebrio molitor* as a model system to study *Staphylococcus* spp virulence and horizontal gene transfer. *Microb Pathog*. 2023; 183(2): 106304. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106304>.

Nogueira, FJR et al. Caracterização de genes de virulência em bactérias gram-negativas isoladas de pacientes com pneumonia. São Luis. Tese [mestrado em ciências da saúde] - Universidade Federal do Maranhão; 2022.

Keshavarz M, Jo YH, Edosa TT, Bae YM, Han YS. *TmPGRP-SA regulates Antimicrobial Response to Bacteria and Fungi in the Fat Body and Gut of *Tenebrio molitor**. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(6): 2113. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21062113>.

Quatrin, PM. Selenocianatos-indólicos como uma nova classe de moléculas antifúngicas. Porto Alegre. Tese [doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2021.

Baumbach C, Michler JK, Nenoff P, Uhrlaß S, Schrödl W. Visualising virulence factors: *Trichophyton benhamiae subutilisins* demonstrated in a guinea pig skin ex vivo model. *Mycoses [Internet]*. 15 jul 2020; 63(9): 970-978. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.13136>.

Fernandes, MR. Formação de biofilme em garras de gato (*Felis catus*) por espécies de *Sporothrix* spp.: um modelo ex vivo. Fortaleza. Tese [mestrado em microbiologia médica] - Universidade Federal do Ceará; 2021.

Hollander C, Visser J, de Haas E, Incrocci L, Smijs T. Effective Single Photodynamic Treatment of ex vivo Onychomycosis Using a Multifunctional Porphyrin Photosensitizer and Green Light. *J Fungi*. 2015; 1(2):138-153. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof1020138>.

Smijs TG, Jachtenberg JW, Pavel S, Bakker-Schut TC, Willemse-Erix D, de Haas ER, Sterenborg H. Detection and differentiation of causative organisms of onychomycosis in an ex vivo nail model by means of Raman spectroscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013; 28(11): 1492-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jdv.12324>.

Castilho EM, Gambellini GM, Seron BMN, Gottardo de AB, Teresa GAM. Viabilidade de fungos causadores de onicomicose em esmaltes de unha. *Arq Cienc Saude*. 2022; 30(1). Disponível em: <https://doi.org/10.17696/2318-3691.30.1.2023.168>.