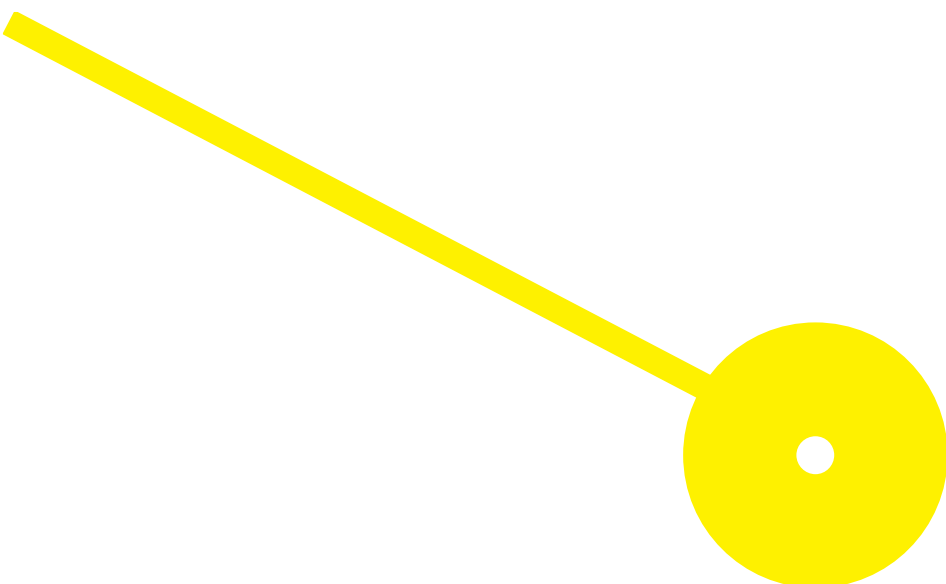




Resistência Antifúngica e Novas Estratégias de Tratamento para *Candida glabrata*

Marlene Martins Mendes

09/2023





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**

Resistência Antifúngica e Novas estratégias de Tratamento para *Candida glabrata*

Autora

Marlene Martins Mendes

Orientadores

Prof. Doutora Sandra Marlene Mota/Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Prof. Stéphanie Lopes Ferreira, Centro Hospitalar Universitário de Santo António, Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em **Análises Clínicas e Saúde Pública** – Ramo em **Microbiologia e Saúde Pública** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

Quero agradecer aos meus orientadores, por todo o apoio prestado no desenvolvimento deste trabalho, pela sua disponibilidade e paciência. Sem dúvida que contribuíram ativamente para o desfecho do trabalho aqui apresentado.

Quero ainda agradecer ao meu marido e a toda a minha família por todo o apoio e incentivo prestado, pelo tempo disponibilizado e alento demonstrado ao longo deste ano.

Resumo

A *Candida glabrata* é uma levedura comensal com potencial patogénico e é uma das principais causas de candidíase invasiva. O aumento da resistência a antifúngicos nesta espécie tem vindo a aumentar e constitui um desafio. Assim, torna-se importante o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento.

Com o objetivo de sistematizar informação científica atual relativa a novas estratégias de tratamento de infeções fúngicas por *Candida glabrata*, utilizando fármacos já existentes, não antifúngicos, realizou-se uma revisão sistemática da literatura com recolha de dados nas plataformas PubMed e Web of Science, seguindo a metodologia PRISMA.

Foi obtido um total de 1169 artigos que após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão foram incluídos nesta revisão 14, que compreendiam estudos sobre fármacos já existentes não antifúngicos. Os artigos incluídos foram agrupados por tipologia de fármaco. Destacam-se resultados promissores em fármacos antiparasitários e em inibidores da recaptção da serotonina, nomeadamente a sertralina. Por vezes observando-se sinergia quando em combinação com antifúngicos.

No futuro, a continuação desses estudos e a investigação de possíveis mecanismos de ação subjacentes a esses fármacos podem desempenhar um papel crucial na melhoria da eficácia dos tratamentos e na qualidade de vida dos doentes afetados por infeções fúngicas, particularmente por *C. glabrata*.

Palavras-chave: *Candida glabrata* / agentes antifúngicos / resistência a medicamentos, fungos / terapêutica / terapia medicamentosa / sinergismo medicamentoso

Abstract

Candida glabrata is a commensal yeast with pathogenic potential and is one of the main causes of invasive candidiasis. The increase in resistance to antifungals in this species has been rising and represents a challenge. Therefore, the development of new treatment strategies becomes important.

With the aim of systematizing current scientific information regarding new strategies for treating fungal infections caused by *Candida glabrata*, using existing, non-antifungal drugs, a systematic review of the literature was carried out with data collection on the PubMed and Web of Science platforms, following the PRISMA methodology.

A total of 1169 articles were obtained and, after applying the inclusion and exclusion criteria, were included in this review 14, which comprise studies on existing non-antifungal medications. The articles included were grouped by type of drug. Promising results stand out for anti-parasitic drugs and serotonin reuptake inhibitors, particularly sertraline. Sometimes synergy is observed when combined with antifungals.

In the future, the continuation of these studies and the investigation of possible underlying mechanisms of action could play a crucial role in improving the effectiveness of treatments and the quality of life of patients affected by fungal infections, particularly *C. glabrata*.

Keywords: *Candida glabrata* / antifungal agents / drug resistance, fungal / therapeutics / drug therapy / drug synergism

Índice

1.	Introdução.....	1
1.1.	Tipos de antifúngicos existentes e sua atuação.....	2
1.2.	Principais agentes e resistências a antifúngicos.....	3
1.3.	Mecanismos de Resistência Antifúngica.....	4
1.3.1	Alterações nos alvos de drogas.....	4
1.3.2	Sobre-expressão de Bombas de Efluxo.....	4
1.3.3	Modulação de Respostas ao Stress.....	5
1.3.4	Modificações genómicas.....	5
1.3.5	Resistência antifúngica intrínseca.....	6
1.4.	Candida glabrata.....	6
1.4.1.	Mecanismos de virulência e resistência a antifungicos de C.glabrata.....	6
1.5.	Objetivos.....	8
2.	Métodos.....	9
2.1.	Seleção de palavras-chave e pesquisa nas diferentes bases de dados.....	9
2.2.	Crterios para localização e seleção dos estudos relevantes.....	9
2.3.	Recolha e tratamento dos dados.....	9
3.	Resultados.....	10
3.1.1.	Atividade antifúngica de fármacos anti-inflamatórios.....	13
3.1.2.	Atividade antifúngica de fármacos antidepressivos.....	14
3.1.3.	Atividade antifúngica de fármaco antiarrítmico.....	16
3.1.4.	Atividade antifúngica de fármacos antiparasitários.....	16
3.1.5.	Atividade antifúngica de fármaco antidiabético.....	19
3.1.6.	Atividade antifúngica de fármaco antiviral.....	20
3.1.7.	Atividade antifúngica de outros fármacos.....	21
4.	Discussão.....	23
5.	Conclusão.....	27
6.	Referências Bibliográficas.....	28
	Anexo I.....	32

Índice de Figuras

Figura 1. Fluxograma prisma para seleção de estudos sobre fármacos (não antifúngicos) com atividade antifúngica em <i>C.glabrata</i> de 2013 até 2023	10
---	----

Índice de Tabelas

Tabela 1. Descrição das características gerais dos estudos de acordo com autor, ano, características do estudo, fármacos testados, combinação com antifúngicos	11
Tabela 2. Atividade antifúngica do ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, metamizol, meloxicam e paracetamol.....	13
Tabela 3. Interação do ibuprofeno com diferentes azóis.....	14
Tabela 4. Índice inibitório fracionário dos antidepressivos combinado com o fluconazol e sua interação	15
Tabela 5. Resultados entre a combinação de dois azóis e os antidepressivos reboxetina e sertralina.....	15
Tabela 6. Resultado da ação do verapamil em <i>C.glabrata</i>	16
Tabela 7. Resultados obtidos sobre interação entre artemisinina e <i>C.glabrata</i>	17
Tabela 8. Resultado de interação da cloroquina e caspofungina.....	17
Tabela 9. As diferentes estirpes e interação com a combinação de milbemicinas e fluconazole	18
Tabela 10. Resultados obtidos com combinação de três biguanidas e quatro antifúngicos.....	20
Tabela 11. Uso terapêutico, fármaco, função e o seu alvo no estudo de Stylianou (2014)	21
Tabela 12. Resultados obtidos para a atividade antifúngica em <i>C.glabrata</i>	22

1. Introdução

Os fungos são seres eucariotas, heterotróficos e pertencem ao reino fungi. Estes podem ser unicelulares (leveduras) ou multicelulares (fungos filamentosos), sendo que os últimos podem formar filamentos que se denominam de hifas. Apesar dos fungos desempenharem um papel importante ao nível ecológico, alguns são patogénicos para o homem. (1)

As infeções fúngicas podem afetar uma área delimitada, como no caso das infeções superficiais (ex.: dermatofitoses), ou podem comprometer amplamente o organismo, no caso das infeções fúngicas invasivas (IFIs). Neste último caso podendo atingir a corrente sanguínea, afetar vários órgãos e comprometer o sistema nervoso central. (1–5) As IFIs são mais significativas a nível clínico, sendo responsáveis por mais de 1,5 milhões de mortes anualmente em todo o mundo. (2) Uma das principais IFIs é denominada de candidíase e é causada por espécies de *Candida* mais frequentemente por *Candida albicans* e *Candida glabrata*. Este género pode estar na origem de infeções a nível da cavidade oral, das vias aéreas superiores e inferiores, do trato gastrointestinal e a nível urinário. (5,6)

O aumento de casos de IFIs nas últimas décadas, tem sido associado a vários fatores de risco como: doenças infecciosas pré-existentes (ex: Vírus da Imunodeficiência Humana – HIV), o amplo uso e por vezes indiscriminado de antimicrobianos, a imunossupressão como consequência dos avanços da medicina, cirurgias invasivas, tratamento com agentes quimioterápicos e uso prolongado de corticoides. Outro fator também associado a este aumento de casos de IFIs é a resistência aos antifúngicos, por vezes como consequência de tratamentos inadequados. (1–3,5,7–9)

Para além dos fatores já referidos anteriormente, também existe particularidades a nível genético como mutações de genes, ou características específicas de fungos que podem aumentar a sua virulência e patogenicidade. Um dos fatores de virulência é a capacidade de formação de biofilme. Este consiste num aglomerado de microrganismos viáveis e não viáveis que se acumulam numa interface líquido-sólido, formando uma matriz complexa de células microbianas tridimensional envolvida por uma matriz extracelular. (9–11) O biofilme apresenta inúmeras funções, tais como, coesão celular, redução de permeabilidade, recurso nutricional e proteção contra xenobióticos, antimicrobianos e o sistema imunológico do hospedeiro. Cerca de 65 % de todas as infeções clínicas estão associadas à formação de biofilmes na superfície de tecidos, órgãos ou dispositivos médicos. (9–15)

Outro fator importante de virulência em espécies de *Candida* é o processo de filamentação, durante a qual as células mudam a sua forma e padrão de crescimento para aderir e penetrar nos tecidos do hospedeiro. Este processo pode ocorrer através de mudanças nas condições ambientais, podendo variar entre diferentes temperaturas, limitação de nutrientes, entre outros. (11)

1.1. Tipos de antifúngicos existentes e sua atuação

Desde que o primeiro antifúngico griseofulvina foi reconhecido em 1939, vários outros agentes têm sido usados na clínica. Atualmente, os agentes antifúngicos existentes para infecções fúngicas invasivas são os polienos (anfotericina B), azóis (fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol e isavuconazol), equinocandinas (caspofungina, anidulafungina e micafungina) e pirimidinas (flucitosina). (2,3,13,16)

A anfotericina B, pertencente à classe dos polienos, tem um espectro relativamente amplo contra leveduras e fungos filamentosos e ultimamente é utilizada como alternativa no tratamento da aspergilose invasiva. Este antifúngico atua diretamente na membrana celular, ao ligar-se ao ergosterol contido nas bicamadas lipídicas, afetando a permeabilidade membranar. Através desta ligação o antifúngico gera grandes agregados que levam a formação de poros transmembranares que libertam o conteúdo celular resultando na morte do fungo. A desvantagem deste tratamento está relacionada com a sua toxicidade, que em quantidades elevadas pode levar a manifestações clínicas como a nefrotoxicidade, dor torácica, dispneia, hipóxia, rubor e urticária. (2,3,8,16–18)

Os azóis são antifúngicos que atuam, inibindo a biossíntese do ergosterol. Isto ocorre inicialmente através da inibição da enzima 14- α -desmetilase dependente do citocromo P450 (Cyp51), que resulta num bloqueio da conversão do lanosterol em ergosterol, importante para a membrana celular do fungo. Os azóis tem um excelente efeito terapêutico em fungos filamentosos e leveduras, no entanto o seu uso tem resultado num aumento da resistência, principalmente em espécies de *Aspergillus* e *Candida*. (2,3,8,16–18)

O grupo de antifúngicos das equinocandinas são consideradas um tratamento primário para a candidíase invasiva. Estes antifúngicos, raramente causam resistências e apresentam melhores resultados clínicos. O seu ponto de atuação é a inibição da síntese da parede celular através da inibição da β -1,3-D-glucano sintetase. Este tratamento é eficaz em fungos resistentes a azóis,

principalmente em espécies de *Aspergillus* e *Candida*. No entanto, este antifúngico já não é eficaz em fungos com particularidades diferentes na parede celular, tais como *Cryptococcus*. Estes são administrados exclusivamente por via intravenosa e apresentam baixa toxicidade. (2,3,8,16–18) Por sua vez a flucitosina inibe a síntese de DNA e RNA, ao interferir no metabolismo da pirimidina. É usada principalmente no tratamento de criptococose e candidíase. Devido à sua baixa eficácia e ao frequente desenvolvimento de resistências, este é sempre usado em combinação com outro agente antifúngico, como por exemplo anfotericina B, tendo demonstrado efeitos clínicos promissores. (2,3,16–18)

Foi comprovado que o fluconazol e a anfotericina B, podem atuar sobre os biofilmes de *C.albicans* e *C.glabrata*. Apesar de, para se obter estes resultados fosse necessário aumentar a quantidade administrada e conseqüentemente a sua toxicidade no ser humano. (11)

O número limitado de antifúngicos e o aumento de espécies resistentes ou multirresistentes representa um desafio para a saúde pública nos dias de hoje, sendo importante incitar a investigação de novos meios de terapia. (2,10)

1.2. Principais agentes e resistências a antifúngicos

Mais de 90 % das IFIs são causadas por três grandes géneros: *Candida*, *Cryptococcus* e *Aspergillus*. A *Candida albicans* é descrita como sendo responsável por cerca de 40% das infeções sistémicas.(19) As infeções invasivas por *Candida* estão frequentemente associadas a elevadas taxas de morbidade e mortalidade, bem como a um aumento do tempo de internamento hospitalar. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a candidíase invasiva apresenta uma mortalidade global que varia de 20% e 50%. (42) O *Cryptococcus neoformans* é um patógeno oportunista responsável pela meningite, principalmente em doentes com infeções HIV. A aspergilose é uma doença causada pelas espécies de fungo *Aspergillus* que afeta doentes imunocomprometidos. A taxa de mortalidade no caso de infeção por *A.formigatus* resistente aos azóis são elevadas (47–88%), tendo sido registadas taxas de 100% em alguns estudos. (1–3,42) A *Candida auris* é um dos fungos multirresistentes que tem tido um grande aumento nos últimos anos e que tem demonstrado resistência a quase todos os agentes antifúngicos atuais. Outro fungo com resistência intrínseca a quase todos os antifúngicos existentes é o *Lomentospora prolificans*. (2)

1.3. Mecanismos de Resistência Antifúngica

Os fungos têm vindo a encontrar estratégias de resistências a antifúngicos, através de alterações no alvo ou sobre expressão, regulação positiva de transportadores de múltiplas drogas e ativação de respostas celulares ao stresse. (18)

1.3.1 Alterações nos alvos de drogas

No grupo dos azóis este mecanismo de resistência é encontrado em várias espécies de fungos, como por exemplo *C. albicans* e *C. auris*, onde ocorre à substituição de aminoácidos nas zonas alvo ERG11, impedindo o fármaco de se ligar ao fungo. (18)

A resistência ao grupo dos polienos é mais incomum, e foi associada a alterações em enzimas que reduzem a afinidade de ligação ao fármaco, ou ao esgotamento do ergosterol na membrana. Como por exemplo, as mutações podem ocorrer em genes que codificam enzimas de biossíntese do ergosterol, tais como em *C. albicans* *ERG2*, *ERG3*, *ERG5* e *ERG11* e em *C. glabrata* *ERG2*, *ERG6*, e *ERG11*. Também foi comprovado que um pré-tratamento com azóis pode aumentar a resistência a este fármaco, devido à redução dos níveis de ergosterol celular. (18)

As resistências às equinocandinas são principalmente causadas por mutações nos genes *FKS*, diminuindo a afinidade do antifúngico para a glucano sintetase. Na *C. albicans* a mutação ocorre no gene essencial *FKS1*, enquanto que na *C. glabrata* ocorrem tanto no gene *FKS1* como no *FKS2*. Apesar de serem regiões homologas às *C. albicans*, as mutações no *FKS2* superam as do *FKS1*, visto terem uma expressão génica mais elevada que pode justificar o elevado grau de resistência de *C. glabrata*. (18)

1.3.2 Sobre-expressão de Bombas de Efluxo

A principal causa de resistência em azóis é a regulação positiva das bombas de efluxo da membrana plasmática. A primeira classe de bombas de efluxo é a superfamília dos transportadores ABC (do inglês *ATP-binding cassette*). Estas bombas de efluxo são constituídas por dois domínios transmembranares e dois domínios citoplasmáticos que tem ligação a nucleótidos (NBDs). A NBD conduz o movimento do substrato através da membrana fúngica via hidrólise do ABC. A segunda classe de bombas de efluxo é a Superfamília do Facilitador Maioritário (do inglês *MFS – Major Facilitator Superfamily*), estes usam o gradiente de protões gerado através da membrana plasmática para se propulsionar. (18)

Para as classes de polienos e equinocandinas, esta desregulação das bombas de efluxo não impacta na resistência a estes antifúngicos. Visto que as equinocandinas atuam no exterior da membrana da célula fúngica, e que os polienos atuam na permeabilidade da membrana celular. (18)

1.3.3 Modulação de Respostas ao Stress

Os locais onde os fungos crescem são sujeitos a interferências ambientais tais como, temperatura, pH e níveis de nutrientes capazes de perturbar a homeostase celular e impor stress à célula fúngica. Para isso os fungos evoluíram e desenvolveram estratégias de combate a estas agressões. (18)

Por exemplo, uma alteração a nível do ambiente envolvente pode afetar as proteínas. Para contrariar este efeito existe a presença de uma proteína de choque térmico 90 (Hsp90). Esta proteína tem como objetivo ajudar outras proteínas a obter a sua forma geométrica, ou seja, estabiliza em situações de stress térmicos e ajuda na degradação de proteínas. (18)

A parede celular dos fungos, tem a capacidade de se modular e compensar a produção de um ou mais componentes mediante uma agressão. Como por exemplo uma regulação positiva compensatória da síntese de quitina e a redistribuição de polissacarídeos na parede celular durante períodos de stress da parede celular. (18)

Todas estas alterações que acontecem em resposta às agressões do meio envolvente, comprovam que o fungo tem a capacidade de desenvolver formas de resistências.

1.3.4 Modificações genómicas

Os fungos possuem uma elevada flexibilidade genómica, que lhes permite adaptar-se a perturbações ambientais e adquirir resistência aos antifúngicos. Alterações genómicas como aneuploidias, a perda de heterozigotia e rearranjos cromossómicos, podem afetar a expressão de alvos de fármacos, bombas de efluxo e outros fatores que podem contribuir para sua resistência. Podendo as células fúngicas obterem assim uma diversidade genotípica e fenotípica. (18)

Por exemplo os azóis fungistáticos podem provocar alterações no DNA e na morfologia celular, através de uma serie de eventos anormais a nível celular que originam uma aneuploidia. Sendo a aneuploidia específica no braço esquerdo do cromossoma 5 a mais prevalente. (18)

Uma possível identificação prévia das interações genéticas letais com alelos que conferem resistência a medicamentos antifúngicos, é um meio que pode ser utilizado para a prevenção do surgimento de resistência a medicamentos. Pode também permitir descobrir novos potenciais alvos a ser utilizados para uso de fármacos antifúngicos. (20)

1.3.5 Resistência antifúngica intrínseca

Para além de todos os fatores e estímulos referidos anteriormente, também existe fungos que já exibem uma resistência primária ou intrínseca aos antifúngicos utilizados. A investigação destes mecanismos é um passo importante para entender melhor e combater a ameaça clínica representada por esses patógenos. (18)

1.4. *Candida glabrata*

As infeções causadas por *Candida glabrata*, são reconhecidas nos Estados Unidos como a 4^o causa de infeções associadas aos cuidados de saúde e como a segunda causa mais comum de candidíase invasiva. (41) O aumento de resistência a medicamentos antifúngicos, pode ser um resultado da capacidade de sobreviver em condições de stresse como as provocadas pelo sistema imunológico do hospedeiro. Tal como, o aparecimento de resistência cruzada, que ocorre com a exposição a outro medicamento estruturalmente não relacionado. (14,15,21–23)

Para além do aumento de resistência aos antifúngicos, a formação de biofilmes é outro desafio a vencer no tratamento das IFIs. Podem-se formar nos dispositivos médicos de longa permanência, tais como sondas e cateter venosos centrais e urinário, contaminando doentes por meio de procedimentos médicos e cirúrgicos. Podendo sobreviver em superfícies inanimadas por mais de 5 meses. Devido a todas estas particularidades, é importante compreender completamente os fenómenos relacionados com a patogénese deste fungo, a fim de prevenir e controlar as infeções. (14,15,21–24)

1.4.1. Mecanismos de virulência e resistência a antifungicos de *C.glabrata*

Um dos principais fatores de resistência da *C. glabrata* aos antifúngicos é o seu genoma, visto este ser conhecido por ser haploide, relacionado com um elevado nível de diversidade genética, em termos de mutações pontuais ou arranjos cromossómicos. Outro fator é a variabilidade dos

fatores de transcrição que regulam o efluxo de drogas ou em genes que codificam alvos de drogas. O que leva a pensar que os genes de *C. glabrata* são altamente mutáveis, embora não tenha sido comprovado em comparações com genes de outras espécies. (15,21,23,25)

Como por exemplo os genes que codificam o Drug:H⁺ antiporter (DHA) CgDtr1, codificado pela ORF CAGL0M06281g, que desempenham um papel na virulência e na formação de biofilme. (21,23,25)

Na família dos transportadores DHA em *C. glabrata*, foram caracterizados diversos transportadores homólogos que conferem resistência a drogas e outros fatores de stresse, como azóis, flucitosina, benzimidazol, ácido acético, e poliaminas, sobretudo por contribuírem na redução da acumulação intracelular dessas moléculas. Os transportadores de DHA CgTpo1_1 e CgTpo1_2 também são conhecidos por aumentar a virulência de *C. glabrata*, através do aumento da resistência a peptídeos antimicrobianos e tolerância contra fagocitose. No estudo de Romão e colaboradores de 2017, foi concluído que o transportador CgDtr1 desempenha um papel importante na virulência de infecções por *C. glabrata*, possivelmente como um fator de aptidão, facilitando a sua proliferação dentro do hospedeiro, protegendo contra o stress em ambientes com presença de ácidos fracos. (21)

Também foi comprovado que a resistência a azóis é realizada através da regulação positiva de genes que codificam bombas de efluxo da superfamília dos transportadores ABC e da MFS, como explicado anteriormente. (26)

No caso do fluconazol, o envolvimento de um transportador ABC específico, o Cdr1 (CgCdr1), tem sido a causa principal de resistência na *C. glabrata*. O CgCdr2/Phd1 e CgSnq2 são duas outras bombas de efluxo que também foram associadas à resistência ao fluconazol em *C. glabrata*. Além disso também pode ocorrer mutações em genes *E139A* e *ERG3*, que estão envolvidos na biossíntese do ergosterol e que levam a um aumento da resistência em *C. glabrata*. (26)

Por fim algumas mutações nos genes *ERG11* e *ERG3*, também foram associadas a resistência ao fluconazol, voriconazol e polienos, visto que estas alterações levam a produção de outros componentes sobre os quais os azóis não conseguem atuar. Em alguns estudos epidemiológicos, foi comprovado que diferentes isolados de *C. glabrata* podem ter diferentes níveis de resistência aos azóis. (26)

No grupo de equinocandinas, mutações em genes *FKS1* para *FKS2*, que codificam as subunidades catalíticas da β -1,3-D glucano sintetase, podem conferir resistência a este. Esta resistência pode ser diminuída através do imunossupressor tacrolimus, que diminui a expressão

de *FKS2* produzido pela mutação. As mutações em genes *FKS* conferem um mecanismo de resistência estável aos antifúngicos, sendo por isso importante identificar os fatores genéticos que podem promover estas mutações. (17,26)

1.5. Objetivos

Analisar e sistematizar informação científica atual relativa a novas estratégias de tratamento de infecções fúngicas por *Candida glabrata*, nomeadamente identificar e avaliar as evidências disponíveis sobre fármacos já existentes, não antifúngicos, e as suas propriedades antifúngicas nesta espécie.

2. Métodos

Foi realizada uma revisão sistemática de literatura, com recolha de dados eletrónicos nas plataformas: PubMed e Web of Science, seguindo a metodologia PRISMA um acrónimo para *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews e Meta-Analysis*. (27)

Foi confirmado nas bases de dados “PROSPERO” e “Cochrane Reviews | Cochrane Library”, a inexistência de revisões recentes sobre este tema.

2.1. Seleção de palavras-chave e pesquisa nas diferentes bases de dados

Na plataforma Pubmed utilizamos os seguintes termos MeSH (*Medical Subject Headings*) para a construção da nossa chave de pesquisa (Anexo I):

Candida glabrata / antifungal agents / drug resistance, fungal / therapeutics / drug therapy / drug synergism

Na Web of Science foram utilizados os mesmos termos acima descritos, contudo na chave de pesquisa foram acrescentados sinónimos (Anexo I). A pesquisa em ambas as bases de dados foi realizada a 5 de Agosto de 2023.

2.2. Critérios para localização e seleção dos estudos relevantes

A pesquisa foi restringida a artigos científicos completos escritos em português, inglês, francês e espanhol entre 2013 e 2023. Após obtenção dos resultados os mesmos foram exportados para o *software Mendeley* e foram removidos os duplicados. Foram excluídos artigos de revisão, capítulos de livro e resumos de conferências. Sendo incluído todos os artigos encontrados, contemplando estudos realizados *in vivo* e *in vitro*.

Foi realizada a leitura do título e resumo de cada artigo tendo sido selecionados os artigos que abordavam o estudo da atividade antifúngica de fármacos não antifúngicos já conhecidos e utilizados para outros fins terapêuticos, em *C. glabrata*.

2.3. Recolha e tratamento dos dados

Foram obtidos os textos completos dos artigos selecionados tendo-se realizado a sua leitura e extração dos dados. Para cada artigo foi sistematizado o tipo de estudo realizado, objetivos, número de isolados avaliados, os resultados obtidos e principais conclusões.

3. Resultados

De acordo com o fluxograma abaixo representado, após a remoção dos duplicados, dos artigos de revisão, capítulos de livro e resumos de conferências, foram obtidos 1089 artigos. Destes artigos foram selecionados os que se relacionavam com estudos sobre fármacos conhecidos (não antifúngicos), através da leitura do título e do resumo. Foram incluídos todos os artigos relacionados com estudos *in vivo* e *in vitro*, obtendo-se no final 14 artigos.

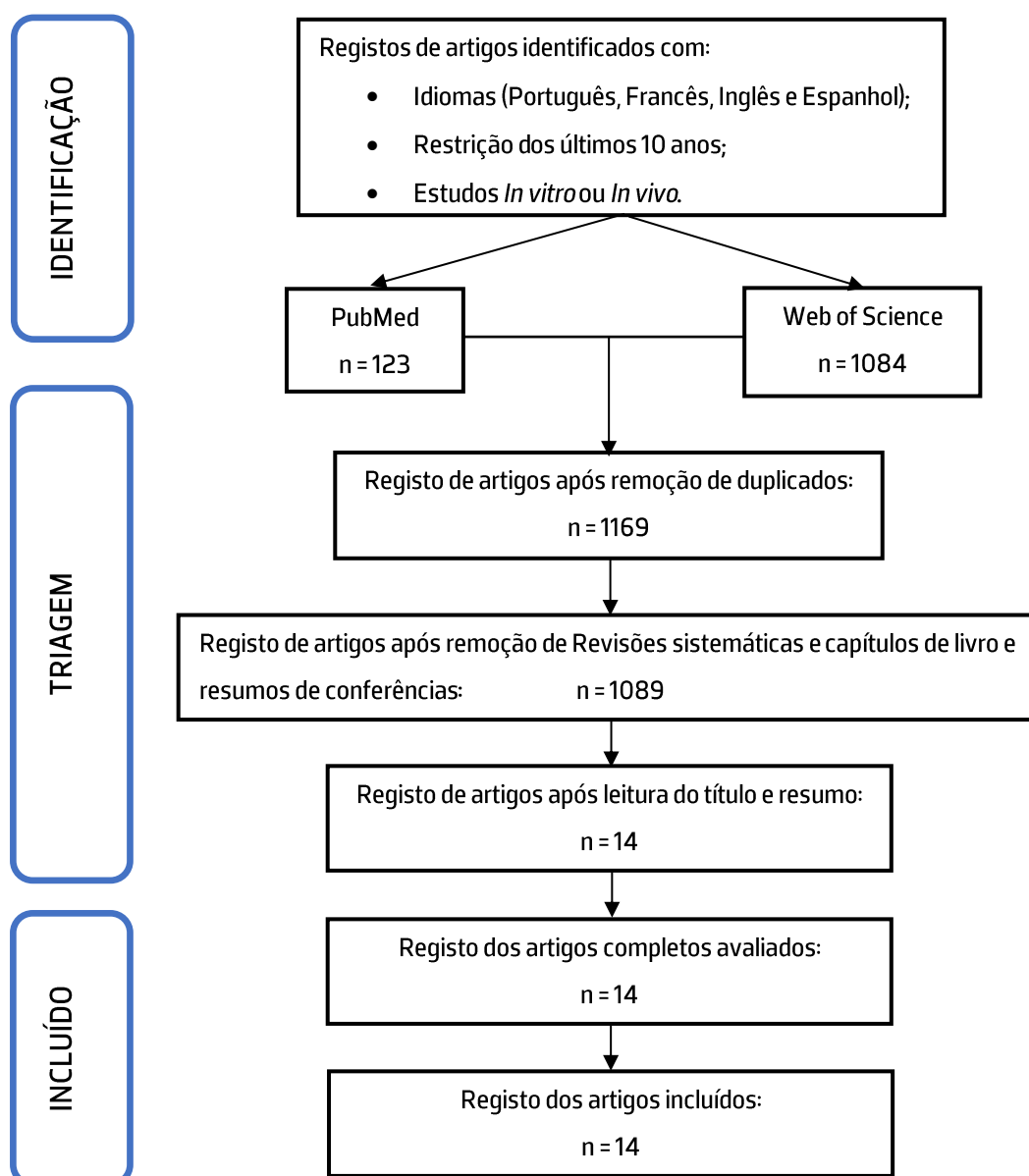


Figura 1. Fluxograma prisma para seleção de estudos sobre fármacos (não antifúngicos) com atividade antifúngica em *C. glabrata* de 2013 até 2023

Na tabela 1 estão representados todos os artigos incluídos nesta revisão, consoante as características gerais dos estudos de acordo com autor, ano, características do estudo, fármacos testados, combinação com antifúngicos.

Tabela 1. Descrição das características gerais dos estudos de acordo com autor, ano, características do estudo, fármacos testados, combinação com antifúngicos.

Ref.	Autor; Ano	Características do estudo	Fármacos Testados	Combinação com Antifúngicos
16	Stylianou e colaboradores; 2014	Estudo <i>in vitro</i> ; 3 metodologias aplicadas: densidade ótica; níveis de adenosina trifosfato; microscopia	Haloperidol HCL Trifuperidol Tosedostat Acetato de melengestrol Acetato de megestrol Amonafida Estanozolol Rapamicina	NA
28	Krol e colaboradores; 2018	Estudo <i>in vitro</i> ; Método padrão de microdiluição de acordo com EUCAST	Ibuprofeno Ácido acetilsalicílico Metamizol Meloxicam Paracetamol	Fluconazol Itraconazole Isavuconazole Voriconazole Posaconazole
29	Sharma e colaboradores; 2015	Estudo <i>in vitro</i> ; Culturas celulares	Ibuprofeno	Fluconazol
10	Tekintas e colaboradores; 2020	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de microdiluição em caldo (CMI); teste de sinergia antibacteriana/ <i>Checkerboard</i> ; espectrofotómetro de microplacas (biofilme)	Sertralina Paroxetina Fluoxetina	Fluconazol
30	Ahmed e colaboradores; 2023	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de cristal de violeta e ensaio de brometo de 3- (4,5-dimetil tiazol-2-il) - 2,5-difenil tetrazólio (viabilidade metabólica biofilme); teste checkerboard e índice de concentração inibitória fracionada (efeitos das combinações de medicamentos)	Reboxetina Sertralina	Fluconazol Itraconazol

Ref.	Autor; Ano	Características do estudo	Fármacos Testados	Combinação com Antifúngicos
31	Oliveira e colaboradores; 2018	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de cristal de violeta e de brometo de 3- (4,5-dimetil tiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio (viabilidade metabólica biofilme)	Sertralina Fluoxetina	NA
11	Scorzoni e colaboradores; 2020	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de viabilidade celular (resazurina); método padrão de microdiluição de acordo com EUCAST	Verapamil	NA
5	Zhu e colaboradores; 2022	Estudo <i>in vitro</i> Método de diluição Spot e método de Crescimento	Artemisina	NA
32	Islahudin e colaboradores; 2013	Estudo <i>in vitro</i> ; Método com tiras de ETEST	Cloroquina	Caspofungina
33	Silva e colaboradores; 2013	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de suscetibilidade em microdiluição em caldo; Estudo <i>in vivo</i>	Milbemicinas e derivados oxima (A3 e A4; A30x e A40x)	Fluconazol
34	Walker e colaboradores; 2014	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de microdiluição e densidade ótica	Milbemicina oxima A4	Fluconazol Voriconazol
35	Vila e colaboradores; 2016	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de microdiluição	Miltefosina	Fluconazol Caspofungina Anfotericina B
36	Xu e colaboradores; 2018	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de microdiluição em caldo conforme o CLSI	Metformina Fenformina Buformina	Voriconazol Fluconazol Anfotericina B Micafungina
37	Yousfi e colaboradores; 2019	Estudo <i>in vitro</i> ; Método de microdiluição em caldo conforme o CLSI	Ribavirina	Fluconazol, Itraconazol, Posaconazol

Abreviaturas: NA – Não Aplicável; CMI – Concentração Mínima Inibitória; EUCAST – *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*; Índice de concentração inibitória fracionada (FIC) – calculado para avaliar os efeitos das combinações de medicamentos; tiras ETEST – tiras com concentrações gradientes de antifúngico; CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

De forma a sistematizar a informação dos 14 estudos agrupamos a análise por tipologia de fármaco.

3.1.1. Atividade antifúngica de fármacos anti-inflamatórios

Foram encontrados dois artigos, Krol e colaboradores de 2018 e Sharma e colaboradores de 2015, relacionados com estudos sobre a atividade antifúngica de fármacos anti-inflamatórios. No primeiro mencionado para além do anti-inflamatório ibuprofeno também avaliaram a atividade antifúngica do ácido acetilsalicílico, metamizol, meloxicam e paracetamol. Sendo que apenas o ibuprofeno apresentou um efeito antifúngico para as estirpes de *C.glabrata* testadas (tabela 2). (28)

Tabela 2. Atividade antifúngica do ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, metamizol, meloxicam e paracetamol

Estirpes	CMI (mmol)				
	Ibuprofeno (0,02 – 20 mmol/l)	Ácido acetilsalicílico (0,01 – 5 mmol/l)	Metamizol (0,01 – 5 mmol/l)	Meloxicam (0,003 – 1,5 mmol/l)	Paracetamol (0,01 – 5 mmol/l)
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030 C..	10	> 5	> 5	> 1,5	> 5
<i>C. glabrata</i> ATCC 137 C.	20	> 5	> 5	> 1,5	> 5
<i>C. glabrata</i> ATCC 140 C.	10	> 5	> 5	> 1,5	> 5
<i>C. glabrata</i> ATCC 769 C.	10	> 5	> 5	> 1,5	5
<i>C. glabrata</i> ATCC 773 C.	10	> 5	> 5	> 1,5	> 5
<i>C. glabrata</i> ATCC 1941 C.	10	> 5	> 5	> 1,5	> 5
<i>C. glabrata</i> ATCC 2342 C.	5	> 5	> 5	> 1,5	> 5
<i>C. glabrata</i> ATCC 1467 C.	5	> 5	> 5	> 1,5	> 5
<i>C. glabrata</i> ATCC 2165 C.	5	> 5	> 5	> 1,5	> 5

Abreviaturas: CMI – Concentração mínima inibitória do fármaco; ATCC – American Type Culture Collection

Neste estudo também foi testado a interação do ibuprofeno com diferentes azóis, sendo a interação entre cada um dos antifúngicos descrita na tabela 3.

Tabela 3. Interação do ibuprofeno com diferentes azóis

Estirpes	Ibuprofeno/ Fluconazol	Ibuprofeno/ Itraconazole	Ibuprofeno/ Isavuconazole	Ibuprofeno/ Voriconazole	Ibuprofeno/ Posaconazole
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030 C.	Antagonismo	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i> ATCC 137 C.	Indiferente	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i> ATCC 140 C.	Indiferente	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i> ATCC 796 C.	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Indiferente
<i>C. glabrata</i> ATCC 773 C.	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Indiferente
<i>C. glabrata</i> ATCC 1941 C.	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Indiferente
<i>C. glabrata</i> ATCC 2342 C.	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Indiferente	Sinergia

Abreviaturas: ATCC – American Type Culture Collection

No estudo de Sharma e colaboradores de 2015, tiveram como objetivo reverter a resistência de algumas espécies de *Candida* ao fluconazol através do uso de ibuprofeno. Dos 69 isolados de *Candida spp*, 3 isolados eram de *C.glabrata*, sendo cada um dos isolados cultivados com fluconazol, na presença e ausência de ibuprofeno. Apenas 37,7% dos isolados demonstram reversão da resistência ao fluconazol, sendo que não foi observada nenhuma inibição de crescimento para os isolados de *C.glabrata*. Os isolados resistentes que voltaram a ser suscetíveis após atuação do ibuprofeno, apresentaram uma sobre-expressão de genes CDR1 e CDR2. Enquanto os isolados que não revertem exibiram um aumento na expressão dos genes ERG11. Concluíram que os efeitos do ibuprofeno são variáveis entre as diferentes espécies de *Candida*, o que pode ser indicativo de uma heterogeneidade no mecanismo de resistência aos azóis. (29)

3.1.2. Atividade antifúngica de fármacos antidepressivos

Foram encontrados três artigos sobre a atividade antifúngica de antidepressivos, o Tekintas e colaboradores 2020 focou-se nos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRSs), sertralina, paroxetina e fluoxetina. O objetivo deste estudo foi determinar a atividade antimicrobiana e os efeitos antibiofilme dos ISRSs para diversas espécies de *Candida*, entre as

quais a *C.glabrata*. Estes isolados foram testados com os ISRSs e em combinação com fluconazol, tendo obtido efeito antifúngico e antibiofilme (tabela 4). (10)

Tabela 4. Índice inibitório fracionário dos antidepressivos combinado com o fluconazol e sua interação

Nº Isolados	Fármaco 1	Fármaco 2	1º Isolado	2º Isolado	3º Isolado
3 isolados de <i>C.glabrata</i>	FLC: Fluconazol	FLX: Fluoxetina	FIX = 0,5078 → I	FIX = 0,5156 → I	FIX = 0,2656 → S
		SRT: Sertralina	FIX = 0,375 → S	FIX = 0,5156 → I	FIX = 0,2656 → S
		PRX: Paroxetina	FIX = 0,5 → S	FIX = 0,5156 → I	FIX = 0,2656 → S

Abreviaturas: FIX: Índice inibitório fracionário realizado em ensaio de *Checkerboard* para avaliar a sinergia antibacteriana; I – Indiferente; S – Sinergia

Um outro estudo de Ahmed e colaboradores de 2023, baseou-se sobre a reboxetina e a sertralina. Chegaram à conclusão que quanto maior a concentração de reboxetina e sertralina maior será a diminuição da biomassa do biofilme de *C. glabrata*. Apesar de ambos reduzirem a atividade metabólica do biofilme, a sertralina foi mais eficaz do que a reboxetina. Foram ambos combinados com o fluconazol e o itraconazol, revelando para a sertralina uma sinergia entre ambos, os resultados estão demonstrados na tabela 5. (30)

Tabela 5. Resultados entre a combinação de dois azóis e os antidepressivos reboxetina e sertralina

Estirpe	Antifúngicos	Antidepressivos	CMI (µg/ml) Individual	CMI (µg/ml) Combinado	FICI	Tipo de interação
ATCC 14053 <i>C.glabrata</i>	FLC	REB	>1024 (FLC e REB)	512 (FLC e REB)	1	I
	ITR	REB	>1024 (ITR e REB)	512 (ITR e REB)	1	I
	FLC	SRT	>1024 (FLC e SRT)	128/256 (FLC / SRT)	0,375	S
	ITR	SRT	>1024 (ITR e SRT)	128/256 (ITR / SRT)	0,375	S

Abreviaturas: FLC – Fluconazol; ITR – Itraconazol; REB – Reboxetina; SRT – Sertralina; I – Indiferente; S – Sinergia; ATCC – *American Type Culture Collection*; CMI – Concentração mínima inibitória do fármaco; FICI – Índice Concentração inibitório fracionário, em que o sinergismo foi interpretado como FICI=0,5, indiferença como 0,5<FICI<4,0 e antagonismo FICI>4,0

O último estudo sobre os antidepressivos, de Oliveira e colaboradores de 2018, concentrou-se na sertralina e fluoxetina. Foram testados 17 isolados de *Candida spp*, sendo dois de *C. glabrata*, onde ambos os fármacos apresentaram atividade contra biofilmes, reduzindo consideravelmente a atividade metabólica do biofilme (60% fluoxetina/ 73 a 90% sertralina) e uma diminuição da

biomassa do biofilme (82% fluoxetina / 88% sertralina). Das várias espécies de *Candida* testadas a *C. glabrata* foi a que apresentou maior redução da sua atividade metabólica após tratamento com a sertralina. (31)

3.1.3. Atividade antifúngica de fármaco antiarrítmico

Foi encontrado um estudo, o Scorzoni e colaboradores de 2020, sobre fármacos antiarrítmicos, mais precisamente o verapamil. Este atua como bloqueador dos canais de cálcio, e visto este ser um fator importante para os mecanismos de adaptação e sobrevivência de diferentes fungos, a sua inibição pode afetar o crescimento e formação de biofilmes. Para ambas as espécies testadas neste estudo, o fármaco obteve uma redução de atividade metabólica, sendo que a *C. glabrata* foi a que apresentou maior redução. Também observaram uma diminuição do biofilme de *C. glabrata* de 12 a 20% consoante o aumento de verapamil, e consequentemente uma diminuição da biomassa no biofilme (Tabela 6). (11)

Tabela 6. Resultado da ação do verapamil em *C. glabrata*

Nº Isolados	Fármaco	CMI/ <i>C. glabrata</i> Atividade metabólica de biofilmes	Tipo de interação
<i>C. glabrata</i> ATCC 9030	Verapamil (1250 µm)	Redução de 5x a CMI	Fungistático

Abreviaturas: CMI - Concentração mínima inibitória do fármaco; ATCC - American Type Culture Collection

3.1.4. Atividade antifúngica de fármacos antiparasitários

Nesta classe foram encontrados 5 artigos, dois sobre fármacos antimaláricos, dois sobre as milbemicinas e um sobre a miltefosina. Os dois artigos sobre antimaláricos são Zhu e colaboradores de 2022 e Islahudin e colaboradores de 2013. O primeiro estudo tem por base a análise da interação da artemisina com a *C. glabrata*, sabendo que esta afeta o ergosterol, componente importante para a membrana plasmática e mitocondrial. Ocorre então uma disfunção da mitocôndria que prejudica a *C. glabrata*. Na tabela 7 encontram-se representados os resultados obtidos neste estudo. (5)

Tabela 7. Resultados obtidos sobre interação entre artemisinina e *C. glabrata*

Nº Isolados	Fármaco	Inibição <i>C.glabrata</i>	Tipo de interação
<i>C. glabrata</i> ATCC 2001 e ATCC 55	Artemisinina	> 99%	Inibição de crescimento

Abreviaturas: ATCC – American Type Culture Collection

No estudo Islahudin e colaboradores de 2013, foi testado a ação da cloroquina em diversos fungos, um dos quais *C. glabrata*. O modo de ação da cloroquina depende de um meio com privação de ferro devido a alcalinização externa, então pensa-se que o mecanismo antifúngico da cloroquina envolve a alcalinização do ambiente hospedeiro do fungo. Foi também demonstrado que a cloroquina inibe o transporte de tiamina em leveduras e células humanas. Como é necessário haver uma perturbação na parede celular para haver uma hipersensibilidade à cloroquina, neste estudo foi utilizado primeiramente um antifúngico, aumentando-se assim a penetração da cloroquina na parede celular. Na tabela 8 podemos observar que a cloroquina apresenta um efeito sinérgico quando em associação com a caspofungina. (32)

Tabela 8. Resultado de interação da cloroquina e caspofungina

Nº Isolados	Fármaco 1	Fármaco 2	Concentração Cloroquina (mM)	CMI (µg/ml)	Tipo de interação
<i>C. glabrata</i> BG2	Caspofungina	Cloroquina	0	0,5	NA
			0,4	0,19	Sinergia
			2,0	0,023	Sinergia

Abreviaturas: NA – Não aplicável

Para os fármacos antiparasitários milbemicinas, obteve-se dois artigos o Silva e colaboradores de 2013, o Walker e colaboradores de 2014. Os artigos focaram-se nas milbemicinas, o primeiro artigo nas quatro existentes e no segundo só num tipo de milbemicinas. As milbemicinas são inibidores dos transportadores ABC, normalmente utilizados na área da veterinária como antiparasitário de amplo espectro. Este poderá ser utilizado contra espécies de *C. glabrata* que tenham desenvolvido resistência aos azóis, devido à sobre-expressão de transportadores, tal como explicado anteriormente.

No estudo Silva e colaboradores de 2013 foi demonstrado que os derivados específicos deste fármaco não só exibem atividades esperadas como inibidores de efluxo, como também possuem atividades antifúngicas e fungicidas intrínsecas. (33) Neste estudo foram realizados ensaios de

suscetibilidade em microdiluição em caldo, bem como estudos *in vivo*, nos quais infetaram ratinhos com as estirpes de *C. glabrata* detalhadas na tabela 9.(33) Neste estudo foram realizados ensaios de suscetibilidade em microdiluição em caldo, bem como estudos *in vivo*, nos quais infetaram ratinhos com as estirpes de *C. glabrata* detalhadas na tabela 10. (33)

Para o estudo *in vitro* das milbemicinas foram utilizadas duas milbemicinas (milbemicina A3 e A4) e seus derivados de oxima (A30x e A40x) que são comercialmente disponíveis para uso veterinário. Neste estudo comprovaram a capacidade destas milbemicinas inibirem as bombas de efluxo em *C. glabrata*. Também foi realizado posteriormente a combinação de milbemicinas com fluconazol *in vitro*, tendo sido concluído que os derivados de oxima, obtém um efeito antifúngico maior do que a milbemicina A3 e A4, e que a combinação dos fármacos reduz até 50% do crescimento fúngico, podendo apresentar interação sinérgica ou apenas aditiva, como se pode observar na tabela 9. (33)

Tabela 9. As diferentes estirpes e interação com a combinação de milbemicinas e fluconazole

Estirpes usadas	Combinação de Fármacos	Índice FIX / Tipo de interação			
		A30x	A40x	A3	A4
<i>C. glabrata</i> DSY562 S - azóis	Milbemicinas E Fluconazole	0,4 / S	0,8 / A	1 / A	1 / A
<i>C. glabrata</i> DSY565 R - azóis	Milbemicinas E Fluconazole	0,6 / A	0,4 / S	0,8 / A	0,6 / A
<i>C. glabrata</i> DSY529 S - azóis	Milbemicinas E Fluconazole	0,5 / S	-	-	-
<i>C. glabrata</i> DSY530 R - azóis	Milbemicinas E Fluconazole	0,6 / A	-	-	-
<i>C. glabrata</i> DSY726 S - azóis	Milbemicinas E Fluconazole	0,4 / S	-	-	-
<i>C. glabrata</i> DSY727 R - azóis	Milbemicinas E Fluconazole	0,6 / A	-	-	-

Abreviaturas: S – Sensível; R-Resistente; A – Aditivo; FIC – concentração inibitória fracionada; sinergismo FIC=0,5; aditivo 0,5<FIC<1; e indiferença 1<FIC<4; - Não testado.

Em relação ao estudo *in vivo*, foram utilizados regimes alimentares à base de milbemicina (0,5 e 2,5 mg/kg/dia) e de fluconazol (100 mg/kg/dia), e após 7 dias foram avaliados os efeitos na carga tecidual do baço e rins. Tanto o tratamento com a milbemicina como o tratamento combinado com milbemicina e fluconazol reduziram as Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de cada estirpe. Sendo que o tratamento combinado permitiu ao isolado DSY565 resistente aos azóis, reverter a resistência para níveis comparáveis a isolados sensível a azóis. (33)

No estudo Walker e colaboradores de 2014, foi estudado a milbemicina oxima A4 que é um bloqueador do efluxo de azol e que aumenta a suscetibilidade dos fungos. Neste estudo foi utilizado este fármaco combinado com dois tipos de antifúngicos, o fluconazol e o voriconazol. Foram testados 28 isolados clínicos de *C. glabrata*. Destes 4 foram inibidos diretamente só com o uso da milbemicina. A milbemicina causou uma redução de quatro vezes na CMI do fluconazol e do voriconazol nos isolados clínicos. (34)

No estudo de Vila e colaboradores de 2016, estudaram a miltefosina que tem uma atividade anti-*Leishmania* e *Trypanosoma cruzi*, tendo sido desenvolvida inicialmente como um agente antitumoral mas com algumas limitações. Este fármaco tem demonstrado um importante efeito inibidor em biofilmes. Neste estudo foram avaliados seis isolados ATCC e 11 isolados clínicos de *Candida spp*, dos quais 2 isolados de *C. glabrata* resistentes aos fluconazol. Os isolados de *C. glabrata* apresentaram uma suscetibilidade variável a miltefosina. Contudo mostrou que a miltefosina é eficaz contra biofilmes resistentes ao fluconazol das quatro espécies patogênicas mais comuns de *Candida*, incluindo a *C. glabrata*. A miltefosina também inibiu a dispersão das células do biofilme de *C. glabrata*, o que, *in vivo*, poderá significar a interrupção do ciclo de reinfeção associado às infecções relacionadas com o biofilme. (35)

3.1.5. Atividade antifúngica de fármaco antidiabético

No estudo de Xu e colaboradores de 2018, foram estudados os membros da classe de medicamentos biguanidas. Estes são constituídos quimicamente por duas moléculas de guanidínio unidas por uma única molécula de azoto e incluem metformina, fenformina e buformina. São fármacos com propriedades antidiabéticas que reduzem os níveis de glicose no sangue. Ultimamente tem havido estudos sobre a metformina para tratar e prevenir diferentes tipos de cancro, por esta ter um papel na supressão de células-tronco cancerígenas, na inibição da transição epitelial para mesenquimal e na interferência no metabolismo das células cancerígenas. Para além de ser um auxiliar de vários quimioterápicos. (36)

Neste estudo foram avaliadas 6 espécies de *Candida*, sendo 1 isolado de *C. glabrata*, para demonstrar que terapias combinadas com biguanidas aumentam a eficácia dos agentes antifúngicos. Para isso foram combinados três biguanidas (metformina, fenformina e a buformina) com quatro antifúngicos (fluconazol, voriconazol, anfotericina B desoxicolato e a micafungina) num total de 12 combinações diferentes. (36)

Concluíram que as três biguanidas combinam-se favoravelmente com o voriconazol, fluconazol, e anfotericina B, sendo o índice concentração inibitória fracionada (Σ FIC) contido dentro da faixa de 0,5 a 2,0. Enquanto que a micafungina com Σ FIC superior a 2, não se revelou tão eficaz (tabela 10). Pode-se deduzir que possa existir um mecanismo antifúngico comum, visto demonstrarem a mesma inibição de crescimento e o mesmo efeito de combinação. (36)

Tabela 10. Resultados obtidos com combinação de três biguanidas e quatro antifúngicos

Fármacos	Σ FIC Voriconazol	Σ FIC Anfotericina B	Σ FIC Fluconazol	Σ FIC Micafungina
Metformina	0,61 ± 0,04	0,74 ± 0,03	0,63 ± 0,16	2,67 ± 0,33
Fenformina	0,94 ± 0,03	0,69 ± 0,11	1,02 ± 0,07	3 ± 0
Buformina	0,94 ± 0,12	0,80 ± 0,12	1,08 ± 0,08	2,33 ± 0,33

Abreviaturas: Σ FIC – índice concentração inibitória fracionada

3.1.6. Atividade antifúngica de fármaco antiviral

No estudo Yousfi e colaboradores de 2019, avaliaram a capacidade antifúngica do fármaco ribavirina, um antiviral análogo sintético da guanossina. Para isso foi utilizado um painel de 100 isolados de espécies de *Candida*, incluído a *C. glabrata*, sendo que apenas 60 isolados demonstraram sensibilidade. A ribavirina apresentou atividade fungistática contra alguns isolados de *C. albicans* multirresistentes e atividade fungicida contra isolados de *C. parapsilosis*. A *C. glabrata* foi uma das espécies que apresentou menor suscetibilidade à ribavirina. (37)

Também foram realizadas combinações entre a ribavirina e agentes antifúngicos, como a flucitosina e azóis (fluconazol, itraconazol, posaconazol). Foi demonstrado sinergismo em apenas 1 isolado sobre os 5 testados de *C. glabrata*, entre a combinação de ribavirina e fluconazol. A combinação de ribavirina e itraconazol demonstrou sinergia em 2 isolados sobre os 7 testados de *C. glabrata*. Por fim não foi demonstrada qualquer sinergia entre a combinação ribavirina/posaconazol e a ribavirina/flucitosina. (37)

3.1.7. Atividade antifúngica de outros fármacos

No estudo Stylianou e colaboradores de 2014, foi avaliada a atividade antifúngica de vários fármacos diferentes. Dois são antipsicóticos, um é utilizado em tratamento de anemia, quatro são usados na terapia contra o cancro e um imunossupressor. Os diferentes fármacos estudados e os seus alvos fúngicos estão detalhadas na tabela 11. (16)

Tabela 11. Uso terapêutico, fármaco, função e o seu alvo no estudo de Stylianou (2014)

Uso terapêutico	Fármaco	Função	Alvo fúngico
Antipsicótico	Haloperidol HCL	Agonista de 5-HT e antagonista dos recetores da dopamina da classe dos recetores acoplados à proteína G	Proteína Gpr1 (recetores acoplados à proteína G)
	Trifuperidol	Classe antagonista do recetor de dopamina dos recetores acoplados à proteína G	Proteína Gpr1 (recetores acoplados à proteína G)
Antileucémico e mielodisplasia	Tosedostat	Inibidor de aminopeptidase	Metabolismo de aminoácidos, redução da fosforilação de substrato TOR
Antineoplásico para cancro de endométrio, mama e próstata	Acetato de melengestrol (ainda não é usado em humano)	Agonista de progesterona e antagonista dos recetores de androgénio e estrogénio	Alvos moleculares ainda não definidos
	Acetato de megestrol	Agonista de progesterona e antagonista dos recetores de androgénio e estrogénio	Alvos moleculares ainda não definidos
Antineoplásico	Amonafida	Inibidor da topoisomerase	Afeta a replicação do DNA durante a multiplicação de leveduras
Tratamento da anemia e angioedema hereditário	Estanozolol	Esteróide sintético	Alvos moleculares ainda não definidos
Imunossupressor	Rapamicina	Inibe a ativação e proliferação das células T	Quinases em <i>C.albicans</i>

Abreviaturas: HCL – Ácido clorídrico; 5-HT – 5-hidroxitriptamina; Gpr1 – recetor 1 acoplado à proteína G; substrato TOR – Target Of Rapamycin; DNA – ácido desoxirribonucleico

No mesmo estudo foi avaliada a atividade antifúngica através de três ensaios independentes, nos quais determinaram a atividade metabólica. O primeiro foi baseado na densidade ótica, o segundo

na determinação dos níveis de adenosina trifosfato (ATP) e o terceiro nas alterações morfológicas por microscopia. Foram estudados os efeitos antifúngicos dos diferentes fármacos para três espécies de *Candida*, das quais *C. glabrata* (tabela 12). (16)

Tabela 12. Resultados obtidos para a atividade antifúngica em *C. glabrata*.

Nº Isolados	Fármaco 1	CMI	CMI _{0.3}	CMI	CMI _{0.3}
		(µg/ml) ATCC	(µg/ml) ATCC	(µg/ml) UCB3	(µg/ml) UCB3
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030 e <i>C. glabrata</i> UCB3-7268	Haloperidol HCL	> 3,76	3,76	> 3,76	> 3,76
	Trifupерidol	> 4,00	> 4,00	> 4,00	> 4,00
	Tosedostat	> 4,00	4,00	> 4,00	2,00
	Acetato de melengestrol (não é usado em humano)	> 3,97	3,97	> 3,97	3,97
	Acetato de megestrol	> 3,85	3,85	> 3,85	3,85
	Amonafida	> 2,83	> 2,83	> 2,83	> 2,83
	Estanozolol	> 3,29	> 3,29	> 3,29	3,29
	Rapamicina	0,50	0,04	0,09	0,009

CMI – Concentração mínima inibitória do fármaco que resultou numa inibição do crescimento $\geq 50\%$ em comparação com a do controlo sem fármacos; CIM_{0.3} – Concentração mínima inibitória do fármaco que resultou de uma inibição do crescimento $\geq 30\%$ em comparação com a do controlo sem fármaco *C. glabrata*. UCB3-/268 – isolado clínico; ATCC – American Type Culture Collection

Concluíram que estas drogas apresentam uma atividade antifúngica em espécies de *Candida* com ensaios de 6 e 24 horas. Todas as espécies de *Candida* demonstraram suscetibilidades semelhantes, sendo as de *C. dubliniensis* e *C. glabrata* as mais resistentes aos tratamentos. A rapamicina foi eficaz contra todas as espécies testadas. O tosedostato apresentou uma ampla atividade antifúngica contra diferentes *Candida spp*, inclusive a *C. glabrata*. (16)

4. Discussão

Diferentes estratégias foram desenvolvidas para combater as resistências antifúngicas da *C. glabrata*. Podemos agrupar estas diferentes estratégias em: combinações entre agentes antifúngicos e outros componentes conhecidos; combinações entre alvo antifúngico e sua virulência; desenvolvimento da imunidade do hospedeiro; combinações de antifúngicos com plantas medicinais e atividade antifúngica de fármacos conhecidos (não antifúngicos). Sendo o foco desta revisão o último grupo, a atividade antifúngica de fármacos conhecidos (não antifúngicos). (6,18)

O desenvolvimento de novas terapias antifúngicas é um processo que pode demorar vários anos, é dispendioso e nem sempre com bons resultados. Assim, a pesquisa de atividade antifúngica de fármacos já existentes no mercado para o tratamento de outras condições clínicas permite; 1) a economia de tempo e custos; 2) uma maior segurança para o doente, uma vez que a farmacologia e toxicidade do fármaco já é conhecida; 3) o desenvolvimento de novas aplicações dos fármacos; 4) a obtenção de sinergismos; e 5) sendo fármacos usados em terapias que aumentam a suscetibilidade a infecções fúngicas, reduzir o risco de micose secundária graves. (18)

Dos estudos analisados nesta revisão constatamos que as categorias de fármacos testados eram direcionadas a tratamentos anti-inflamatórios, antidepressivos, antiarrítmicos, antiparasitários, antidiabéticos, antivirais, antipsicóticos, imunossuppressores, agentes antineoplásicos e fármacos usados no tratamento de anemia. (5,10,11,16,28-37) A atividade antifúngica foi determinada através de diferentes metodologias dependendo dos estudos, destacando-se métodos de microdiluição (EUCAST e CLSI), culturas celulares, densidade ótica, níveis de ATP, microscopia. No caso dos biofilmes foram utilizadas metodologias de avaliação da atividade metabólica do biofilme bem como de quantificação de biomassa. Foram também utilizados testes de sinergia entre combinações de fármacos através de métodos de *checkerboard* e índice de concentração inibitória fracionada. (5,10,11,16,28-37)

Um maior número de estudos foi encontrado para os fármacos direcionados a tratamentos antiparasitários. De acordo com a literatura os antimaláricos afetam o ergosterol e a parede celular das células fúngicas, enquanto as milbemicinas são inibidores dos transportadores ABC que estão envolvidos no efluxo dos azóis. A miltefosina é uma alquilfosfocolina que tem como alvo de ação a membrana plasmática e proteínas, sendo eficaz na inibição de biofilmes fúngicos. (5,32-35)

Em relação aos resultados obtidos em cada um dos artigos, podemos concluir que nos antimaláricos que englobaram os fármacos artemisina e cloroquina, a artemisina foi a que obteve melhores resultados. Esta pode ser utilizada individualmente ou combinada com antifúngicos, obtendo-se assim melhores desempenhos nos tratamentos. Por outro lado, a cloroquina, tem a desvantagem de ser necessário uma primeira ação a nível da parede celular, só podendo ser utilizada como terapia combinada, no entanto os resultados são promissores. (5,32)

Quanto ao estudo da atividade antifúngica das milbemicinas, o estudo de Silva e colaboradores (2013), foi o único encontrado com testes *in vivo*, ou seja, o mais próximo possível de condições humanas. As conclusões obtidas *in vitro* e *in vivo* apontam no mesmo sentido, ou seja, mostram uma reversibilidade de resistência dos isolados de *C. glabrata*, quando combinado com o fluconazol. Embora sejam necessários mais estudos *in vivo* com diferentes isolados e antifúngicos, para validar esta possível reversão, estes resultados permitem idealizar um tratamento eficaz aquando de uma infeção por *C. glabrata* resistentes. (33,34)

Para concluir os estudos sobre tratamentos antiparasitários, temos o estudo de Vila e colaboradores de 2016 sobre a miltefosina, onde destacam a sua eficácia contra biofilmes de *C. glabrata* resistentes ao fluconazol evidenciando o potencial da miltefosina como fármaco alternativo no tratamento das infeções por *Candida* relacionadas com a formação de biofilme. (35)

A futura utilização de milbemicina em humanos em combinação ou não com fluconazol é uma questão ainda em aberto. No entanto os principais alvos desta substância são os canais de glutamato específicos dos invertebrados, não sendo expressos em mamíferos.(39) Alguns derivados da milbemicina já foram utilizados em seres humanos. Por exemplo, Cotreau e colaboradores de 2003 (40), relataram o uso de moxidectina para tratar a oncocercose (cegueira dos rios). Este estudo mostrou que tais substâncias têm baixa toxicidade em humanos quando administradas na faixa de 3 a 36 mg. Assim, a utilização da milbemicina no tratamento de infeções por *Candida* é potencialmente possível nos seres humanos.

Três artigos foram encontrados sobre a atividade antifúngica de antidepressivos, mais concretamente sobre os inibidores da recaptção da serotonina (ISRSs). Estes estudos mostraram resultados promissores no sentido em que se observou atividade antifúngica e particularmente redução de biofilme em isolados de *C. glabrata*. Dos antidepressivos estudados aquele que obteve melhores resultados foi a sertralina uma vez que conseguiu em ambos os estudos uma atividade antifúngica tanto individual como combinada com o fluconazol. (10,30,31)

Dois destes estudos utilizaram o mesmo ensaio de *checkboxboard*, que analisa o efeito de combinações de agentes antimicrobianos, permitindo assim uma credibilidade na comparação dos resultados. Pode-se concluir assim que os ISRSs podem ser utilizados como terapia adjuvante em infecções fúngicas provocadas por *C. glabrata*, sendo, no entanto, necessários mais estudos sobre a sua ação antifúngica e as diferentes combinações de fármacos possíveis. Também será necessário comparar a administração tópica e a ingestão oral deste fármaco, e ver a sua utilidade em candidíase cutânea e mucocutânea ou até em dispositivos médicos. (10,30)

No caso do ibuprofeno, foram incluídos nesta revisão dois estudos (28,29), onde foi observado um efeito antifúngico em *C. glabrata* quando testado isoladamente. No entanto em combinação com antifúngicos como o fluconazol, itraconazole, isavuconazole, voriconazole, posaconazole, não se observou sinergismo. Concluíram que os efeitos do ibuprofeno são variáveis entre as diferentes espécies de *Candida*.(28,29) Estes resultados mostram que serão necessários mais estudos de forma a se confirmar estes resultados, contudo não parece uma aposta promissora na busca de uma alternativa terapêutica para *C. glabrata* resistente a antifúngicos.

O estudo de Stylianou e colaboradores de 2014 revelou haver sete fármacos com possível ação antifúngica, sendo incluído antipsicóticos, imunossuppressores, antineoplásicos e fármacos utilizados no tratamento de anemia. Dos resultados obtidos neste estudo podemos concluir que os diferentes fármacos selecionados deverão ter alvos que não afetam diretamente todas as espécies de *Candida*. Sendo um estudo que engloba várias espécies, e não a *C. glabrata* em particular é de perceber que o foco do estudo foi obter respostas para futuros estudos mais aprofundados para cada espécie. (16)

Outro estudo incluído nesta revisão (36) avaliou a atividade antifúngica de biguanidas, fármacos antidiabéticos. Das três biguanidas testadas a metformina foi a que apresentou melhores resultados. Este estudo deverá servir de base para outros mais avançados com mais isolados e combinações entre fármacos, para observação de possíveis sinergismos. (36)

No estudo sobre fármacos antiarrítmicos (11), foi avaliado a atividade antifúngica do verapamil, que obteve ótimos resultados a nível de redução de atividade metabólica e da biomassa do biofilme em *C. glabrata*. Sendo este fármaco de uso tópico poderá ser utilizado em instrumentos medicinais ou em aplicações cutâneas. (11)

Por fim no estudo Yousfi e colaboradores de 2019, avaliaram a capacidade antifúngica do fármaco ribavirina. Neste estudo a *C. glabrata* foi a que apresentou menor suscetibilidade à ribavirina, incluindo quando estudada em combinação com antifúngicos. Sugere-se mais estudos

com um maior número de isolados para concluir a atividade antifúngica deste fármaco nesta espécie. Sendo que a principal desvantagem do uso da ribavirina é o seu efeito secundário, a manifestação de anemia hemolítica, visto este fármaco não ser seletivo para as células fúngicas.

(37)

As infecções por *Candida*, e particularmente as infecções por *C. glabrata*, estão a aumentar em diversos países e, juntamente com os níveis de resistência aos azóis atingidos atualmente por *C. glabrata*, devem ser propostas abordagens terapêuticas alternativas no futuro.

Esta revisão sistemática apenas abordou estudos relativos a atividade antifúngica de fármacos já existentes, contudo, conforme descrito, existem outras estratégias que também devem ser exploradas de forma que seja possível num futuro próximo disponibilizar novos tratamentos para este tipo de infecções, particularmente infecções por *C. glabrata* resistente aos antifúngicos.

A metodologia utilizada também pode ter limitações, no sentido em que a seleção dos artigos utilizados foi realizada apenas através da leitura do título e resumo. Podendo ter sido excluído artigos relevantes para esta revisão.

5. Conclusão

É evidente que as infecções fúngicas, especialmente aquelas causadas por *C. glabrata* resistente aos antifúngicos, apresentam um desafio significativo para a prática clínica atual. A crescente resistência a antifúngicos tradicionais destaca a necessidade premente de desenvolver novas estratégias terapêuticas e abordagens inovadoras para o controle dessas infecções.

Várias estratégias tem vindo a ser estudadas, destacando-se neste trabalho a exploração da atividade antifúngica de fármacos conhecidos, não originalmente desenvolvidos para essa finalidade.

Esta abordagem revelou perspectivas promissoras no tratamento das infecções por *C. glabrata*, uma vez que para além de apresentar bons resultados em termos de inibição *in vitro* e *in vivo* de *C. glabrata* é uma abordagem mais segura e vantajosa em termos de custos, visto que o reaproveitamento de fármacos oferece uma base de conhecimento já disponível. Esta estratégia pode ser benéfica para futuros estudos, acelerando o acesso a terapias seguras e eficazes.

No futuro, a continuação desses estudos e a investigação de possíveis mecanismos de ação subjacentes a esses fármacos podem desempenhar um papel crucial na melhoria da eficácia dos tratamentos e na qualidade de vida dos doentes afetados por infecções fúngicas, particularmente por *C. glabrata*.

6. Referências Bibliográficas

1. Gabriela Deberaldini M, Leandro dos Santos J. Infecções Fúngicas Invasivas: Aspectos Gerais e Tratamento Invasive Fungal Infections: An Overview and Treatment [Internet]. Vol. 1, ULAKES Journal of Medicine. Deberaldini and Santos. ULAKES J Med. v. 2021. Disponível em: <http://revistas.unilago.edu.br/index.php/ulakes>
2. Zhang Q, Liu F, Zeng M, Mao Y, Song Z. Drug repurposing strategies in the development of potential antifungal agents. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2021;105:5259–79. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11407-7>
3. Mota Fernandes C, Dasilva D, Haranahalli K, McCarthy JB, Mallamo J, Ojima I, et al. The Future of Antifungal Drug Therapy: Novel Compounds and Targets. Vol. 65, *Antimicrobial agents and chemotherapy*. NLM (Medline); 2021.
4. Fernández de Ullivarri M, Arbulu S, Garcia-Gutierrez E, Cotter PD. Antifungal Peptides as Therapeutic Agents. Vol. 10, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2020.
5. Zhu P, Yue C, Zeng X, Chen X. Artemisinin Targets Transcription Factor PDR1 and Impairs *Candida glabrata* Mitochondrial Function. *Antioxidants*. 1 de Outubro de 2022;11(10).
6. Córdoba S, Vivot W, Szusz W, Albo G. Antifungal Activity of Essential Oils Against *Candida* Species Isolated from Clinical Samples. *Mycopathologia*. 1 de Outubro de 2019;184(5):615–23.
7. Kozel TR, Wickes B. Fungal diagnostics. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4(4).
8. Berman J, Krysan DJ. Drug resistance and tolerance in fungi. Vol. 18, *Nature Reviews Microbiology*. Nature Research; 2020. p. 319–31.
9. Gucwa K, Kusznierevicz B, Milewski S, van Dijck P, Szweda P. Antifungal activity and synergism with Azoles of Polish propolis. *Pathogens*. 19 de Junho de 2018;7(2).
10. Tekintaş Y, Temel A, Ateş A, Eraç B, Metin DY, Hilmioğlu Polat S, et al. Antifungal and antibiofilm activities of selective serotonin reuptake inhibitors alone and in combination with fluconazole. *Turk J Pharm Sci*. 1 de Dezembro de 2020;17(6):667–72.
11. Scorzoni L, de Menezes RT, Pereira TC, Oliveira PS, Ribeiro F de C, Santos EL de S, et al. Antifungal and anti-biofilm effect of the calcium channel blocker verapamil on non-albicans *Candida* species. *An Acad Bras Cienc*. 2020;92(4):1–14.
12. Silva-Dias A, Miranda IM, Branco J, Monteiro-Soares M, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Adhesion, biofilm formation, cell surface hydrophobicity, and antifungal planktonic susceptibility: Relationship among *Candida* spp. *Front Microbiol*. 2015;6(MAR).

13. Powell LC, Adams JYM, Quoraishi S, Py C, Oger A, Gazze SA, et al. Alginate oligosaccharides enhance the antifungal activity of nystatin against candidal biofilms. *Front Cell Infect Microbiol.* 31 de Janeiro de 2023;13.
14. Bonifácio BV, Vila TVM, Masiero IF, da Silva PB, da Silva IC, de Oliveira Lopes É, et al. Antifungal Activity of a Hydroethanolic Extract From *Astronium urundeuva* Leaves Against *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Front Microbiol.* 15 de Novembro de 2019;10.
15. Fernández-Calderón MC, Hernández-González L, Gómez-Navia C, Blanco-Blanco MT, Sánchez-Silos R, Lucio L, et al. Antifungal and anti-biofilm activity of a new Spanish extract of propolis against *Candida glabrata*. *BMC Complement Med Ther.* 1 de Dezembro de 2021;21(1).
16. Stylianou M, Kuleskiy E, Lopes JP, Granlund M, Wennerberg K, Urban CF. Antifungal application of nonantifungal drugs. *Antimicrob Agents Chemother.* Fevereiro de 2014;58(2):1055–62.
17. Perlin DS. Mechanisms of echinocandin antifungal drug resistance. *Ann N Y Acad Sci.* 1 de Setembro de 2015;1354(1):1–11.
18. Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and beyond. Vol. 121, *Chemical Reviews.* American Chemical Society; 2021. p. 3390–411.
19. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. Vol. 3, *Journal of Fungi.* MDPI AG; 2017.
20. Usher J, Haynes K. Attenuating the emergence of anti-fungal drug resistance by harnessing synthetic lethal interactions in a model organism. *PLoS Genet.* 2019;15(8).
21. Romão D, Cavaleiro M, Mil-Homens D, Santos R, Pais P, Costa C, et al. A new determinant of *Candida glabrata* virulence: The acetate exporter CgDtr1. *Front Cell Infect Microbiol.* 14 de Novembro de 2017;7(NOV).
22. D'spain S, Andrade PI, Brockman NE, Fu J, Wickes BL. *Agrobacterium tumefaciens*-Mediated Transformation of *Candida glabrata*. *Journal of Fungi.* 1 de Junho de 2022;8(6).
23. Shor E, Schuyler J, Perlin DS. A Novel, Drug Resistance-Independent, Fluorescence-Based Approach To Measure Mutation Rates in Microbial Pathogens. 2019; Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mBio>
24. Mota Fernandes C, Dasilva D, Haranahalli K, McCarthy JB, Mallamo J, Ojima I, et al. The Future of Antifungal Drug Therapy: Novel Compounds and Targets. Vol. 65, *Antimicrobial agents and chemotherapy.* NLM (Medline); 2021.

25. Raman N, Lee MR, Lynn DM, Palecek SP. Antifungal activity of 14-helical β -peptides against planktonic cells and biofilms of candida species. *Pharmaceuticals*. 13 de Agosto de 2015;8(3):483–503.
26. Cavalheiro M, Costa C, Silva-Dias A, Miranda IM, Wang C, Pais P, et al. A Transcriptomics Approach To Unveiling the Mechanisms of In Vitro Evolution towards Fluconazole Resistance of a *Candida glabrata* Clinical Isolate. 2018; Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC>
27. Donato H, Donato M. Stages for undertaking a systematic review. Vol. 32, *Acta Medica Portuguesa*. CELOM; 2019. p. 227–35.
28. Krol J, Nawrot U, Bartoszewicz M. Anti-candidal activity of selected analgesic drugs used alone and in combination with fluconazole, itraconazole, voriconazole, posaconazole and isavuconazole. *J Mycol Med*. Junho de 2018;28(2):327–31.
29. Sharma M, Biswas D, Kotwal A, Thakuria B, Kakati B, Chauhan BS, et al. Ibuprofen-Mediated Reversal of Fluconazole Resistance in Clinical Isolates of *Candida*. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. Janeiro de 2015;9(1):DC20–2.
30. Ahmed EI, Alhuwaydi AM, Taha AE, Abouelkheir M. Anti-Candidal Activity of Reboxetine and Sertraline Antidepressants: Effects on Pre-Formed Biofilms. *ANTIBIOTICS-BASEL*. Maio de 2023;12(5).
31. Oliveira AS, Martinez-de-Oliveira J, Donders GGG, Palmeira-de-Oliveira R, Palmeira-de-Oliveira A. Anti-Candida activity of antidepressants sertraline and fluoxetine: effect upon pre-formed biofilms. *Med Microbiol Immunol*. Agosto de 2018;207(3–4):195–200.
32. Islahudin F, Khozoe C, Bates S, Ting KN, Pleass RJ, Avery S V. Cell wall perturbation sensitizes fungi to the antimalarial drug chloroquine. *Antimicrob Agents Chemother*. Agosto de 2013;57(8):3889–96.
33. Silva LV, Sanguinetti M, Vandeputte P, Torelli R, Rochat B, Sanglard D. Milbemycins: More than Efflux Inhibitors for Fungal Pathogens. *Antimicrob Agents Chemother*. Fevereiro de 2013;57(2):873–86.
34. Walker B, Izumikawa K, Tsai HF, Bennett JE. Milbemycin A4 oxime as a probe of azole transport in *Candida glabrata*. *FEMS Yeast Res*. 2014;14(5):755–61.
35. Vila T, Ishida K, Seabra SH, Rozental S. Miltefosine inhibits *Candida albicans* and non-*albicans Candida* spp. biofilms and impairs the dispersion of infectious cells. *Int J Antimicrob Agents*. Novembro de 2016;48(5):512–20.

36. Xu S, Feliu M, Lord AK, Lukason DP, Negoro PE, Khan NS, et al. Biguanides enhance antifungal activity against *Candida glabrata*. *Virulence*. 2018;9(1):1150–62.
37. Yousfi H, Cassagne C, Ranque S, Rolain JM, Bittar F. Repurposing of Ribavirin as an Adjunct Therapy against Invasive *Candida* Strains in an In Vitro Study. *Antimicrob Agents Chemother*. Outubro de 2019;63(10).
38. Ganan M, Lorentzen SB, Aam BB, Eijsink VGH, Gaustad P, Sørli M. Antibiotic saving effect of combination therapy through synergistic interactions between well-characterized chitooligosaccharides and commercial antifungals against medically relevant yeasts. *PLoS One*. 1 de Dezembro de 2019;14(12).
39. Cully DF, Vassilatis DK, Liu KK, Paresse PS, Van der Ploeg LH, Schaeffer JM, Arena JP. 1994. Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 371:707–711.
40. Cotreau MM. 2003. The antiparasitic moxidectin: safety, tolerability, and pharmacokinetics in humans. *J. Clin. Pharmacol*. 43:1108–1115.
41. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream infections in US Hospital: Analysis os 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study [Internet]. Vol. 309, BSI in US Hospitals • CID. 2004. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/39/3/309/351413>
42. Antimicrobial Resistance Division, Control of Neglected Tropical Diseases, Global Coordination and Partnership. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. World Health Organization. 2022;1–48.

Anexo I

Chave de pesquisa utilizados para cada base de dados.

Pubmed:

("Candida glabrata"[MeSH Terms] AND ("Antifungal Agents"[MeSH Terms] AND "drug resistance, fungal"[MeSH Terms]) OR ("Candida glabrata"[MeSH Terms] AND ("Therapeutics"[Mesh] OR "Drug Therapy"[Mesh] OR "Drug Therapy, Combination"[Mesh] OR "Drug Synergism"[Mesh]))

Web of Science:

(Candida glabrata AND Antifungal Agents AND drug resistance, fungal) OR (Candida glabrata AND (Therapeutics OR Drug Therapy OR Drug Therapy, Combination OR Drug Synergism))

OR

(Candida glabrata AND (Antifungal AND resistanc*) AND (New Drug OR Therapeutics OR Treatment OR Therapy OR New drug OR Drug Therapy OR Drug Therapy, Combination OR Drug Synergism))

OR

Candida glabrata AND (Drug Polytherapy OR Combination Chemotherapy OR Polychemotherapy OR Drug Potentiation OR Drug Augmentation OR synergis*)