



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

YOHANA SOUZA SILVA

**ATIVIDADE DE FORMULAÇÕES À BASE DE TERBINAFINA PARA
TRATAMENTO DE ONICOMICOSSES**

Recife

2023

YOHANA SOUZA SILVA

Atividade de formulações à base de Terbinafina para tratamento de onicomicoses

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina TCC2 como parte dos requisitos para conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Leila Bastos Leal

Co Orientadora: Me. Camila de Almeida Perez Pimenta

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Yohana Souza .

Atividade de formulações à base de Terbinafina para tratamento de onicomicoses / Yohana Souza Silva. - Recife, 2023.

49 p. : il., tab.

Orientador(a): Leila Bastos Leal

Coorientador(a): Camila de Almeida Perez Pimenta

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2023.

1. Onicomicose. 2. Terbinafina. 3. Unhas. 4. Fungos. 5. Ensaio in vitro. I. Leal, Leila Bastos. (Orientação). II. Pimenta, Camila de Almeida Perez . (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICA
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**



Aprovado em: 05/10/2023

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br LEILA BASTOS LEAL
Data: 17/11/2023 18:55:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Leila Bastos Leal
(Presidente e Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br JULIANA KISHISHITA
Data: 07/11/2023 13:51:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Doutora Juliana Kishishita
(Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELLE PATRICIA CERQUEIRA MACEDO
Data: 20/11/2023 13:59:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo
(Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Doutora Ana Daura Travassos de Oliveira Moraes
(Suplente)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus e seu filho Jesus Cristo sem Eles na minha vida nada aconteceria, não haveria felicidade nem propósito em se realizar as coisas, muito menos a força necessária para concluir essa graduação.

Em segundo a minha família, meu pai Davi que nunca me impediu de buscar meus sonhos no estudo. A minha mãe Ilana por toda dedicação em ser a melhor mãe que ela pode ser. Pois mesmo depois de quase 6 anos de graduação ainda encontra forças pra se levantar todos os dias, bem cedo pra me ajudar, seja fazendo meu café da manhã ou simplesmente me acordando quando perco a hora, por aguentar meus surtos, meus desabafos e principalmente por estar lá pra me abraçar quando precisei chorar, obrigada mainha.

Por minha irmã Yasmim, que literalmente conviveu e me aguentou esses anos, sem nossos momentos rindo e enlouquecendo juntas acho que já teria desistido de muita coisa, obrigada maninha. A meu irmão Calebe que mesmo tão pequeno sempre sabe quando eu estou mal, as vezes demonstrando mais interesse no meu celular do que em mim, mas sempre estava em casa quando eu chegava tarde para me dar uma recarga de abraço. A minha irmã Renata, que tá sempre pronta pra dizer o quanto me ama e que eu vou conseguir. Aos meus avós que mesmo não lembrando o curso que eu faço, na maioria das vezes, sempre que me veem perguntam e me escutam falando sobre como é cansativo a rotina. Amo vocês, obrigada.

A meus amigos da faculdade que passaram por tudo isso do meu lado, todas as disciplinas, projetos, brigas e loucuras. Em especial as “Meninhas do Conto”, Paula, Leticia, Yasmim, Eduarda e Nayanne. Vocês foram minha força e inspiração em muitos momentos, obrigada. As minhas amigas da vida Rita, Dany, Débora e My, sem nossos tempos juntas durante esses anos, acho que não teria dado certo, amo muito vocês, não importa a distância.

A minha amiga Bruna, obrigada por provar que as amizades do ensino médio realmente podem durar para a vida. Obrigada por me apoiar, por incentivar e por ser feliz por mim nas minhas conquistas, te amo.

Ao LAM, que proporcionou toda ajuda necessária para a realização deste trabalho, desde os fungos, ao espaço utilizado. Muito grata pelo incentivo e parceria.

A minha orientadora Leila, e pela oportunidade que ela me deu ao me convidar para fazer parte da equipe do NUDFAC, eu me desenvolvi e aprendi mais nesse fim de graduação

com vocês do que em todos esses anos. A toda equipe do laboratório, meninas de Leila, vocês são demais, obrigada pelos momentos de surtos e diversão juntas, em especial a duas pessoas: Camila e Duda, obrigada por estarem comigo nas loucuras acadêmicas e principalmente por compartilharem os momentos legais falando dos nossos doramas. Vocês são incríveis.

A meus companheiros de estágio, esse fim de graduação não seria fácil e o HMAR mesmo ensinando muito, sugou nossas forças. Em especial a Heloiza, sou muito grata por Deus colocar as pessoas certas no meu caminho quando eu mais preciso, obrigada por estar lá, nossos momentos rindo horrores como se o setor da parasitologia fosse o lugar mais feliz do mundo vão estar sempre comigo.

Por fim, mais não menos importante, agradeço a mim mesma pois mesmo querendo desistir em tantos momentos continuei. Sendo bem sincera, nem achei que ia chegar tão longe, mas tive muita ajuda no caminho. Obrigada a todos, isso aqui é pra vocês.

“É muito legal que você esteja se sacrificando agora para conseguir ser feliz no futuro, mas eu penso que pode haver outro modo de se viver em paz se você esquecer um pouco o resto e, se você realizar algo, aprecie isso no agora e saboreie estes momentos. É bom ser ambicioso e buscar por mais e mais, a fim de ser feliz no futuro, porém eu acho que um dos jeitos mais legais de se viver a vida, é quando você sabe aproveitar o que está no presente.”

(Kim Namjoon of BTS)

RESUMO

Micoses são doenças que podem ser do tipo superficiais e profundas. As superfícies afetam desde pele e cabelo, até as unhas. Sendo a onicomicose, ou micose de unhas a mais predominante e afeta uma porcentagem significativa da população, além de ser reconhecida como a infecção fúngica mais difícil de ser diagnosticada e tratada. A terapia oral é demorada e leva a efeitos colaterais indesejados, e o tratamento tópico não demonstra sucesso na maioria das vezes devido à dificuldade do fármaco antifúngico em permear a lâmina ungueal. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica de novas formulações tópicas contendo cloridrato de terbinafina contra o *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans* e *parapsilosis*. A metodologia envolveu o uso de formulações previamente desenvolvidas pelo grupo de estudo do Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosméticos da Universidade Federal de Pernambuco, inicialmente se realizou uma avaliação da inibição para o *T. rubrum* com o líquido receptor de um estudo de permeação *in vitro* realizado na etapa prévia de desenvolvimento das formulações. Em seguida, utilizando um modelo *in vitro* adaptado, verificou-se a atividade antifúngica de nove formulações tópicas dos tipos: microemulsão, termogel e cristal líquido. Os resultados demonstraram que a formulação microemulsão 5 com 7% de fármaco (ME5 7%) foi capaz de inibir a atividade antifúngica do *T. rubrum* no líquido receptor e para *C. parapsilosis* no modelo *in vitro*, porém não obteve bons resultados contra *C. albicans*. Este estudo indica a importância em continuar pesquisando novas formulações para tratamento para a onicomicose, além de mostrar que a ME5 7% tem um grande potencial de inibição dos principais agente etiológicos responsáveis pelas onicomicoses e se mostra promissor para avançar para experimentos futuros.

Palavras-Chave: onicomicose; terbinafina; unhas; fungos; ensaio *in vitro*.

ABSTRACT

Mycoses are diseases that can be both superficial and deep-seated. Surfaces affect everything from the skin and hair to the nails. Onychomycosis, or nail mycosis, is the most prevalent and affects a significant percentage of the population, as well as being recognized as the most difficult fungal infection to diagnose and treat. Oral therapy is time-consuming and leads to unwanted side effects, and topical treatment is often unsuccessful due to the antifungal drug's difficulty in permeating the nail plate. The aim of this study was therefore to evaluate the antifungal activity of new topical formulations containing terbinafine hydrochloride against *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans* and *parapsilosis*. The methodology involved the use of formulations previously developed by the study group at the Pharmaceutical and Cosmetics Development Center of the Federal University of Pernambuco. Initially, an evaluation of the inhibition of *T. rubrum* was carried out using the receptor liquid from an *in vitro* permeation study carried out in the previous stage of formulation development. Then, using an adapted *in vitro* model, the antifungal activity of nine topical formulations was verified: microemulsion, thermogel and liquid crystal. The results showed that microemulsion formulation 5 with 7% drug (ME5 7%) was able to inhibit the antifungal activity of *T. rubrum* in the receptor liquid and for *C. parapsilosis* in the *in vitro* model, but did not obtain good results against *C. albicans*. This study indicates the importance of continuing to research new formulations for the treatment of onychomycosis, as well as showing that ME5 7% has great potential for inhibiting the main etiological agents responsible for onychomycosis and shows promise for future experiments.

Keywords: onychomycosis; terbinafine; nails; fungi; *in vitro* assay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Anatomia da unha.....	16
Figura 2- Onicomicose subungueal distal e lateral.....	18
Figura 3- Onicomicose subungueal branca.....	18
Figura 4- Onicomicose subungueal proximal.....	19
Figura 5 - Onicomicose endonix.....	19
Figura 6- Onicomicose subungueal Total.....	20
Figura 7- Características microscópicas do <i>Trichophyton rubrum</i>	22
Figura 8- Aspecto das colônias de <i>Trichophyton rubrum</i> em Ágar Sabouraud.....	22
Figura 9 - Célula vertical de difusão de Franz.....	37
Figura 10- Vial cortado antes do fechamento da tampa.....	38
Figura 11- Sistema frasco-vial e unha.....	39
Figura 12- (A) visualização do halo de inibição, (B) medição do halo pelo fundo do recipiente com paquímetro digital	40
Figura 13- (A) vista lateral , (B) vista superior do sistema vial-unha em um novo meio.	40
Figura 14- Ensaio microbiológico <i>in vitro</i> . Líquido receptor do IVPT com unha microporada e aplicação de dose única da ME5 7%. Resultado após 14 dias.....	41
Figura 15- (A) vista lateral do halo de inibição, (B) vista superior.....	43
Figura 16- (A) vista lateral do frasco com formulação TG 4%, (B) vista superior.....	43
Figura 17- Recipiente com ME5 7% em inóculo. Teste frente <i>Candida albicans</i>	44
Figura 18- Cultivo confirmatório da eficácia antifúngica nas unhas em inóculo de <i>Candida albicans</i>	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista com os fatores de risco para onicomicoses.....	20
Tabela 2 - Composição das formulações previamente desenvolvidas.....	35
Tabela 3 - Comparação de TB-HCl retido na unha e quantidade cumulativa permeada, seguindo o teste de microporação e o terceiro teste de microcanais.....	41

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CIM - Concentração mínima de inibição.

ONC - Onicomicose.

NUDFAC - Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosméticos.

TG - Termogel

TGKA - Termogel com acetato de etila

CIM - Concentração Mínima de Inibição

FDA - Food and Drug Administration

IVPT - *in vitro* permeation test

LR - Líquido Receptor

SDA - Ágar Sabouraud dextrose

ME- Microemulsão

TB-HCl - Cloridrato de Terbinafina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 ESTRUTURA UNGUEAL.....	16
3.2 ONICOMICOSSES.....	17
3.3 AGENTES ETIOLÓGICOS.....	21
3.4 TRATAMENTO DE ONICOMICOSSES.....	26
3.4.1 Tratamento tópico.....	27
3.4.2 Tratamento sistêmico.....	30
3.4.2.1 Terbinafina.....	32
3.4.2 Tratamento combinado.....	34
4. METODOLOGIA.....	35
4.1 FORMULAÇÕES TÓPICAS AVALIADAS.....	35
4.2 SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS.....	36
4.4 MONTAGEM DO MODELO IN VITRO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA <i>Candida</i> spp.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1 AÇÃO MICROBIOLÓGICA CONTRA <i>Trichophyton rubrum</i>	41
5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA <i>Candida albicans</i> e <i>Candida parapsilosis</i>	42
6. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

As micoses são doenças causadas por fungos, podendo ser superficiais ou profundas. Nas superficiais, a pele, unhas e cabelos podem ser acometidos (Somenzi *et al.*, 2006). Elas são tipicamente ocasionadas pela presença de leveduras e fungos dermatófitos, e a onicomicose (ONC) é considerada a infecção mais prevalente (Álvarez-Mosquera *et al.*, 2018). A ONC é frequentemente reconhecida como a infecção fúngica de unhas mais desafiadora, em termos de diagnóstico e tratamento. O tratamento é geralmente demorado, propenso a efeitos colaterais significativos e pode resultar em custos elevados para o paciente (Silva *et al.*, 2011).

Os fatores que influenciam o desenvolvimento da onicomicose podem ser categorizados em: no sexo do paciente, problemas circulatórios periféricos, redução da resistência imunológica, lesões prévias e fatores de manutenção, como ocupação, clima e desequilíbrios hormonais (Martins *et al.*, 2007). Em termos gerais, as unhas dos pés são mais propensas a serem afetadas, devido ao ambiente úmido, escuro e aquecido dos calçados, que favorece o crescimento desses patógenos, que se nutrem principalmente de queratina.

Apesar das infecções fúngicas nas unhas não causarem clinicamente uma grande dor, elas podem servir de entrada para infecções bacterianas secundárias, apresentam grande persistência e recidivas, são de difícil tratamento, e podem incluir alterações como hiperqueratose, descoloração e fragilidade da lâmina ungueal, além de deformidades nas unhas afetadas.

Um dos agentes causadores da onicomicose dermatofítica destaca-se o fungo do gênero *Trichophyton*, e dentre as leveduras, as do gênero *Candida* (Farwa *et al.*, 2011). A literatura tem documentado um aumento dessas infecções, onde as dermatofitoses são as principais responsáveis por esta infecção. Pesquisas indicam que aproximadamente de 10% a 15% da população global pode contrair uma infecção por dermatófitos em algum momento da vida, com esses agentes representando cerca de 80-90% das infecções superficiais, seguidos pelas leveduras do gênero *Candida*, que representam de 5% a 17% dos casos (Silva *et al.*, 2011).

A onicomicose é vista como uma das condições dermatológicas mais frequentes. Entretanto, existe um problema em relação ao tratamento, pois nota-se que as taxas de cura são relativamente baixas, o que reflete tal desafio. Os medicamentos tópicos disponíveis não são tão eficazes devido à dificuldade em penetrar profundamente na unha, muitas vezes requerendo a remoção mecânica da área afetada como parte do tratamento (Perusinha *et al.*,

2019). Logo, tratar onicomicose representa um desafio, visto que a lâmina ungueal é de difícil penetração, pois são compostas principalmente de queratina, uma substância não vascular e resistente à penetração de muitos fármacos. Alcançar a cura pode levar um período prolongado, muitas vezes um ano ou mais, uma vez que o crescimento da nova unha precisa gradualmente substituir completamente a antiga, que estava infectada (Westerberg; Voyack, 2013).

O tipo e o tempo do tratamento vai variar de acordo com a gravidade das alterações ungueais, do indivíduo e os efeitos adversos e interações medicamentosas que podem estar envolvidas. Dentre as classes de medicamentos antifúngicos aprovados para o tratamento de onicomicoses temos as alilaminas, que tem como maior representante a terbinafina. O cloridrato de terbinafina (TB-HCl) atua de maneira específica, afetando uma etapa inicial na produção de esteróis pelos fungos. Esse processo interfere na produção de ergosterol e leva ao acúmulo de esqualeno no interior da célula fúngica, resultando, por fim, na morte da célula fúngica (Funtyl: Cloridrato de Terbinafina [bula de medicamento], 2023).

Devido a queratina e a estrutura compacta da lâmina ungueal, novas formulações que melhorem essa penetração dos antifúngicos têm sido objeto de pesquisa (Ameen *et al.*, 2014). Além do fato que o tratamento oral pode acarretar efeitos colaterais durante seu uso prolongado.

Um medicamento antifúngico ideal deve ter um amplo espectro de ação, ser capaz de se concentrar eficazmente no local da infecção, atingir níveis tóxicos para o fungo sem prejudicar o paciente, alcançar altas taxas de cura, minimizar interações medicamentosas adversas e efeitos colaterais indesejados, além de ser economicamente acessível (Singal; Khanna, 2011).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica de novas formulações tópicas à base de terbinafina para tratamento de onicomicoses, contra fungos dermatófitos e leveduras.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antifúngica de novas formulações à base de terbinafina para tratamento de onicomicoses.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a inibição fúngica do líquido receptor após estudo de permeação *in vitro* contra *Trichophyton rubrum*.
- Avaliar atividade antifúngica de novas formulações tópicas do tipo microemulsão, termogel e cristal líquido contra a *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*.
- Definir a melhor formulação desenvolvida com base nos resultados das avaliações de atividade antifúngica.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

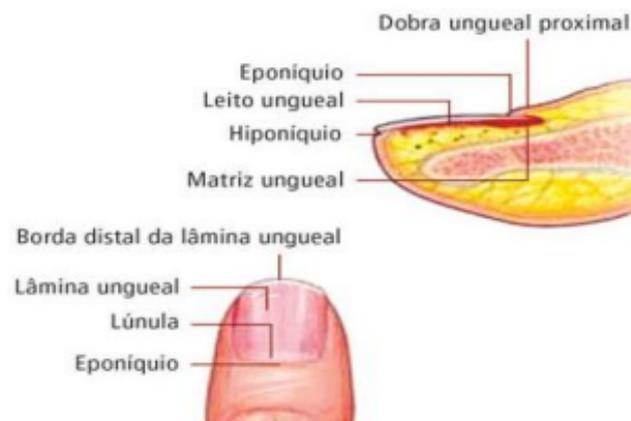
3.1 ESTRUTURA UNGUEAL

A compreensão da estrutura ungueal, ou seja, a anatomia e composição das unhas é fundamental para analisar e entender como funciona a permeação de medicamentos frente a doenças que podem vir a acometê-la. A unha é uma estrutura complexa e especializada, executando um papel não apenas estético, como também de proteção.

Os elementos constituintes da unidade ungueal são:

- A matriz ungueal, responsável pela geração das camadas que constituem a placa ungueal, sendo elas a primeira que fornece a rigidez à unha. A intermediária que confere a flexibilidade e a última que produz o leito da unha.
- A lâmina ungueal, formada a partir do processo de queratinização ocorrido na matriz;
- O sistema cuticular, que inclui o eponíquio ou cutícula;
- O suporte, que é constituído pelo leito ungueal e a falange óssea;
- O leito ungueal propriamente dito, que situa-se abaixo da placa ungueal que se estende desde a lúnula até o hiponíquio. É constituída por queratina o que garante a adesão;
- A porção de ancoragem, formada pelo mesênquima especializado;
- O arcabouço, composto pelas pregas ungueais: a proximal, a lateral e a distal (Magalhães *et al.*, 2001; Silva, 2014)

Figura 1 - Anatomia da unha



Fonte: Barbosa *et al.*, 2013

A unha é composta essencialmente por queratina, sendo a placa ungueal formada por várias camadas de células mortas preenchidas de queratina, que continuam a movimentação

em direção às pontas dos dedos, visto que a matriz germinativa não para o seu crescimento. (Varella, 2020)

As unhas humanas podem refletir problemas de saúde subjacentes, condições médicas como deficiências nutricionais e desequilíbrios hormonais, além de poderem ser acometidas por vários distúrbios ungueais específicos, como infecções, psoríase, até alterações de coloração e inflamações. Entretanto, a lâmina ungueal é uma barreira sólida, que apresenta resistência à penetração, inclusive a de medicamentos, além de ao ser comprometida, a recuperação torna-se difícil. Destas doenças, a onicomicose é a mais comum em adultos (Elsayed, 2015).

Assim, estudar a estrutura da unha é crucial para compreender a saúde humana de uma maneira mais específica. Através da análise da composição e funcionamento da unha, pode-se compreender de maneira geral o estado de saúde e os possíveis tratamentos.

3.2 ONICOMICOSSES

A palavra "onicomicose" é derivada das palavras gregas *onyx*, que significa unha, e *mykes*, que significa fungo. ONC é uma infecção fúngica de unhas é uma condição comum que afeta as unhas dos dedos dos pés e mãos. Pode afetar um ou mais componentes do aparelho ungueal, incluindo a lâmina ungueal, a matriz e o leito ungueal. Ela vai ocorrer quando o fungo invadir e se proliferar na unha resultando em alguns sintomas como por exemplo, descoloração, fragilidade, deformação e em casos graves separação da unha do leito ungueal.

Ela pode ser provocada por fungos dermatófitos, filamentosos não dermatófitos ou leveduras, mas a maioria dos casos são por dermatófitos. (Soares et al., 2020) A frequência da doença aumenta por diversos fatores de risco, tais como o envelhecimento, a conformação anormal das unhas, fragilidades no sistema imunológico, influências genéticas entre outros (Tabela 1). Devido à sua ampla disseminação, a onicomicose representa um desafio significativo para a saúde, uma vez que pode acarretar implicações adversas, como dor, desconforto e limitações físicas. Além das limitações de natureza psicológica e social ocasionadas pela ONC, que tem o potencial de afetar tanto no âmbito profissional quanto no social (Gupta; Mays, 2018).

A prevalência global estimada da ONC é de aproximadamente 2%, com uma variação notável de 30 a 60% em indivíduos com mais de 70 anos de idade. Além disso, é importante destacar que em pacientes com o sistema imunológico comprometido, a onicomicose pode

servir como um ponto de entrada para infecções oportunistas (Antunes, 2013).

A ONC pode ser categorizada em 5 tipos de acordo com Singal; Khanna (2011).

1 - Onicomicose subungueal distal e lateral: a mais comum em 90% dos casos. O fungo penetra através do sulco ungueal subungueal distal e lateral, adentra a camada córnea do hiponíquio e/ou leito ungueal, e se propaga em direção à base da unha, indo contra o seu processo natural de crescimento. Posteriormente, ele avança através da face inferior da lâmina ungueal, causando o seu escurecimento e opacidade. A espécie causadora mais comum é *Trichophyton rubrum* (*T. rubrum*).

Figura 2 - Onicomicose subungueal distal e lateral



Fonte: Mendoza *et al.*, 2012

2 - Superficial branca: apenas 5% dos casos, e com maiores ocorrências em crianças. Trata-se de um padrão característico que tem maior impacto nas unhas dos pés, com a lâmina ungueal sendo o local principal de infecção.

Figura 3 - Onicomicose superficial branca



Fonte: Mendoza *et al.*, 2012

3 - Subungueal proximal: a menos comum, normalmente associada a síndrome da imunodeficiência adquirida. Inicialmente, o fungo surge na região abaixo da camada ungueal proximal, avança em direção à matriz subjacente e, posteriormente, se dissemina em direção à extremidade distal sob a lâmina ungueal. A infecção se desenvolve na substância da placa

ungueal, mantendo, no entanto, a integridade de sua superfície.

Figura 4 - Onicomicose subungueal proximal



Fonte: Mendoza *et al.*, 2012

4 - Onicomicose Endonix: Trata-se da invasão da lâmina ungueal, em que a infecção se origina na polpa, semelhante a ONC subungueal distal e lateral. No entanto, em vez de afetar o leito ungueal, o fungo penetra na queratina distal da lâmina ungueal, resultando na formação de manchas brancas opacas, sem a presença de hiperqueratose subungueal ou onicólise.

Figura 5 - Onicomicose endonix



Fonte: (Souza; Souza; Botelho, 2013).

5 - Onicodistrofia total: é a forma mais grave da doença (Schalka *et al.*, 2012). A lâmina ungueal sofre uma deterioração completa, levando ao colapso e à perda da unha, resultando em um leito ungueal anormalmente espesso. Essa condição pode ocorrer como uma consequência secundária de qualquer um dos quatro padrões principais.

Figura 6 - Onicomicose total

Fonte: Mendoza et al., 2012

Os fungos que geralmente causam onicomicose pertencem aos gêneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Candida*. Eles se desenvolvem em ambientes úmidos e quentes, como os sapatos, ambientes públicos como piscinas e chuveiros, e em pessoas com sudorese excessiva. Além disso, indivíduos com sistemas imunológicos comprometidos, diabetes mellitus, má circulação sanguínea ou que sofreram lesões prévias nas unhas têm maior risco de desenvolver onicomicose.

Tabela 1 - Lista com os fatores de risco para onicomicose

Aumento de Idade
Sexo do paciente
Tendência genética e atópicas
Influências genéticas
Mau estado geral da saúde
Trauma ungueal frequente
Contato ambiental com patógenos
Climas quentes e úmidos
Atividades esportivas
Instalações de banho compartilhadas
Prevalência de tinea pedis (pé de atleta)
Diabetes
Fragilidades no sistema imunológico
Problemas circulatórios periféricos

Fonte: Adaptado de (Baran; Kaoukhov, 2005)

3.3 AGENTES ETIOLÓGICOS

A infecção por dermatófitos atinge cerca de 40% da população mundial, representando cerca de 80 a 90% como patógeno mais frequente para a onicomicose, leveduras 5 a 17%, seguido de fungos filamentosos não dermatófitos de 2 a 12%. A distribuição desses patógenos não é uniforme, pois está sujeita a diversos fatores, como clima, migração e localização geográfica.

A onicomicose é predominantemente causada por dermatófitos, especialmente *Trichophyton rubrum*, assim como por *Candida* spp. e outros tipos de fungos não dermatófitos (Araújo *et al.*, 2003; Antune, 2013).

3.3.1 *Trichophyton rubrum*

O fungo dermatófito *Trichophyton rubrum* destaca-se como uma das espécies mais proeminentes e clinicamente significativas dentro do gênero *Trichophyton*, que engloba uma diversidade de fungos responsáveis por infecções cutâneas tanto em seres humanos como em outros animais. *T. rubrum* é especialmente reconhecido por sua preferência pela pele e pelas unhas, sendo um dos principais agentes causadores de infecções fúngicas dermatofíticas em seres humanos.

O *T. rubrum* foi primeiramente isolado por Castellani em 1910, quando já havia sido identificada a maioria dos dermatófitos (Fernandes, 2011). No século XIX, sugeriu a hipótese que esses fungos pudessem ser os agentes causadores da forma crônica de *tinea corporis*. A partir de então, o *T. rubrum* se espalhou pelo mundo como agente etiológico de onicomicoses (Silveira, 2007). Indícios genéticos sugerem que o dermatófito tenha se originado na África e tenha sido disseminado para a Europa e outros continentes por meio da imigração (Brash, 2007).

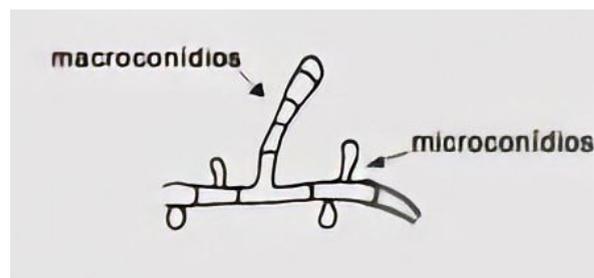
Ele é um fungo filamentoso, patogênico e o mais prevalente entre as micoses causando *tinea corporis*, *tinea pedis* e *tinea unguium*. Apesar da significância desse dermatófito, especialmente devido à sua alta incidência, há uma falta de conhecimento substancial sobre sua biologia devido à ausência de ciclos sexuais e parassexuais documentados. Este organismo pertence ao Reino Fungi, especificamente à divisão Ascomycota. Particularmente, as colônias desse fungo são de cor branca e exibem uma notável variação fenotípica quanto à pigmentação vermelha no verso das colônias (Silveira, 2007).

Hamdan e Santos (2005) observaram que *T. rubrum* é o fungo responsável por até

70% de todas as infecções por dermatófitos. Em específico das onicomicoses ele chega a ser o agente de 71% dos casos (Faergemann; Baran, 2003). Assim, é indispensável conhecê-lo para que a melhor abordagem de tratamento, visto que Mukherjee *et al.* (2003) afirmou que as infecções provocadas por *T. rubrum* costumam ser marcadas por recorrências frequentes após a interrupção do tratamento.

Logo, para a identificação do fungo deve ser realizada uma análise mais detalhada com base nas características macroscópicas e microscópicas (Ioannidou *et al.*, 2006). Urcia; Guevara (2002) informaram que nas colônias desse fungo microscopicamente, é possível observar microconídios laterais em forma de lágrima ou pera, unidos em ângulo reto e alternados à hifa e macroconídios fusiformes que podem estar presentes no cultivo (Figura 7).

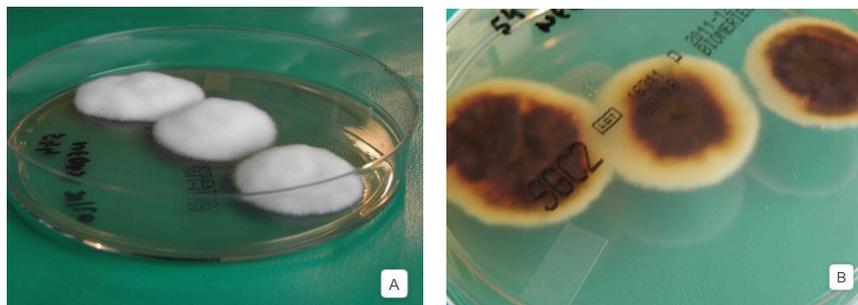
Figura 7 - Características microscópicas do *Trichophyton rubrum*



Fonte: Brasil, 2013. Disponível em: <https://encurtador.com.br/rNY58>. Acesso em: 26/09/2023

Ademais, macroscópicamente as colônias são de cor branca algodonosa, consistência dura e apresentam pigmento cor de vinho que se difunde no meio de cultivo, o que é visualizado no verso da colônia (Figura 8).

Figura 8 - Aspecto das colônias de *Trichophyton rubrum* em Ágar Sabouraud



A - anverso da colônia/ B - verso

Fonte: Tomé, 7 Jan. 2012. Disponível em: <https://abre.ai/trichopytomrubrum> Acesso em: 26/09/2023

3.3.2 *Candida* spp.

O gênero *Candida* possuem espécies de leveduras, muito reconhecidas por sua capacidade de causar infecções fúngicas em diferentes partes do corpo, incluindo as unhas.

As leveduras desse gênero são encontradas em diversos ambientes, incluindo solo, alimentos e água, além de fazerem parte da microbiota tanto de seres humanos quanto de animais. Esses micro-organismos realizam a degradação de proteínas e carboidratos para obter os elementos essenciais, carbono e nitrogênio necessários para o seu crescimento. Uma característica notável das leveduras é sua capacidade adaptativa, que lhes permite se desenvolver tanto em ambientes ricos em oxigênio quanto em ambientes anaeróbicos, onde o oxigênio é escasso. A reprodução da maioria das espécies de leveduras ocorre assexuadamente, através da formação de estruturas chamadas blastoconídios. No entanto, algumas espécies têm a capacidade de se reproduzir de forma sexuada (Giolo; Svidzinski, 2010).

Estes microorganismos apresentam-se micromorfologicamente como células globosas, ovaladas ou alongadas. A identificação do gênero *Candida* começa com a observação inicial da morfologia das colônias. Quando examinadas macroscopicamente em meios de cultura, como o ágar Sabouraud, as leveduras normalmente formam colônias de aparência cremosa, exibindo uma variedade de tons do branco ao creme (Miranda, 2007).

As leveduras pertencentes ao gênero *Candida* desempenham um papel significativo devido à frequência elevada com que colonizam e provocam infecções no organismo humano. Em cerca de 20% a 80% da população adulta saudável, é possível encontrar espécies de *Candida* no trato gastrointestinal. Entre as mulheres, aproximadamente 20% a 30% apresentam colonização vaginal. Esses microorganismos, que normalmente convivem em harmonia com o corpo, podem se tornar agentes patogênicos caso ocorram alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro ou quando barreiras anatômicas são comprometidas, seja devido a queimaduras, procedimentos médicos invasivos ou lesões em geral (Colombo; Guimarães, 2003).

Elas são detectadas pouco após o nascimento na cavidade oral do recém-nascido e durante um período de duas a três semanas, elas colonizam todo o trato gastrointestinal da criança. Essa coexistência das leveduras com o hospedeiro persiste ao longo da vida, sendo encontradas nas diversas comunidades microbianas humanas até a formação da microbiota permanente. No entanto, em situações em que os mecanismos de defesa do hospedeiro estão comprometidos, como no caso de imunocomprometimento, as leveduras do gênero *Candida*

podem se transformar em agentes patogênicos oportunistas (Antunes, 2013).

O aumento na frequência das leveduras consideradas causadoras de onicomicoses tem sido associado a diversos fatores propensos, tanto sistêmicos quanto locais. Entre os fatores sistêmicos notáveis estão o aumento no uso de antibióticos de amplo espectro, o crescente emprego de imunossupressores em pacientes submetidos a transplantes, influências genéticas, predisposições atópicas, o aumento na quantidade de pacientes com sistemas imunológicos comprometidos e o aumento na expectativa de vida da população, bem como a sobrevivência de pacientes em estado grave (Souza *et al.*, 2007). Até mesmo pessoas saudáveis que participam de atividades esportivas que envolvem o compartilhamento de banheiros e vestiários estão suscetíveis a esta doença. No que diz respeito às infecções causadas por leveduras, os fatores locais são frequentemente considerados tão cruciais quanto, ou até mais, do que os fatores sistêmicos. Isso inclui traumas frequentes nas unhas, uso de calçados apertados e pouco ventilados, o que pode resultar em onicólise, frequente utilização de piscinas públicas, academias ou chuveiros comunitários e excessiva exposição à umidade (Baran; Kaoukhov, 2005).

Os sinais clínicos que geralmente são observados nas unhas, quando acometidas por onicomicoses do gênero *Candida* são onicólise, queratose subungueal, alteração de coloração, branco-amarelado até o acastanhado (melanoníquia), onicorrexe e onicodistrofia. À medida que a lesão "avança" pode causar desconforto, dor, parestesia e implicações nas atividades diárias (Silva *et al.*, 2020).

Na onicomicose causada por *Candida* o organismo tem a capacidade de invadir toda a lâmina ungueal, podendo gerar uma infecção com paroníquia associada, uma ONC distal, além de ser oportunista em casos de indivíduos imunossuprimidos afetando a unhas da mão e pés, por fim, podendo chegar a uma distrofia total (Smythe *et al.*, 2004).

Segundo estudo realizado por Souza e colaboradores (2007), foi analisada a frequência de onicomicose por leveduras, e dentre as leveduras encontradas se destacou as do gênero *Candida* (91,24%) e duas das espécies mais frequentes foram *C. parapsilosis* e *C. albicans*, que serão as espécies utilizadas nesta avaliação.

3.3.2.1 *Candida albicans*

Candida albicans é um tipo de fungo leveduriforme que faz parte da microbiota natural do corpo humano, sendo ela um patógeno oportunista que é frequentemente encontrado nas superfícies mucosas de indivíduos saudáveis. Essa espécie de fungo está

altamente adaptada ao corpo humano, permitindo-a colonizar essas superfícies sem provocar sintomas de doença em circunstâncias fisiológicas normais. A colonização por *Candida* nas mucosas ocorre rotineiramente em todos os seres humanos durante ou logo após o nascimento, o que pode potencialmente levar ao risco de infecções endógenas (Álvares *et al.*, 2007).

Essa levedura coloniza comensalmente a cavidade gastrointestinal, urogenital, oral-nasal e a pele. No entanto, quando a imunidade do hospedeiro é suprimida, ela pode se espalhar para nichos não comensais, resultando em colonização perigosa e doença invasiva. As micoses associadas a *C. albicans* têm uma prevalência anual de 300.000 casos, com uma mortalidade associada de até 55% nas unidades de cuidados intensivos europeias (Lopes *et al.*, 2015).

Para iniciar a infecção no hospedeiro, *C. albicans* ativa fatores de virulência, como adesão e modificações em seu fenótipo e morfologia, que são essenciais para o êxito do processo infeccioso (Calderone; Fonzi, 2001). Embora tenha uma importância global relevante, existem restrições de informação quanto aos fatores envolvidos na patogênese do fungo de maneira geral. No entanto, há cada vez mais evidências que indicam que a virulência desse organismo é influenciada por múltiplos fatores (Morris-Jones *et al.*, 2005).

Ela também é o agente causal mais comum de onicomicoses em pessoas com diabetes, que vivem com HIV/AIDS e doenças autoimunes (Lima, 2008). Além disso, pessoas que fazem uso de antibióticos podem matar bactérias comensais que ajudam no controle do crescimento da *Candida*, ficando assim mais suscetíveis a estas micoses.

3.3.2.2 *Candida parapsilosis*

A *Candida parapsilosis* é um fungo leveduriforme que também pode vir a tornar patogênicas em pessoas com o sistema imunológico comprometido. Ele está se tornando cada vez mais prevalente como um patógeno humano. Nos EUA, Canadá e América Latina, *C. parapsilosis* é a segunda espécie de *Candida* mais comumente isolada em hemoculturas. Em alguns hospitais europeus, *C. parapsilosis* até supera *C. albicans*. Embora haja poucos conhecimentos específicos sobre seus fatores de virulência, sabe-se que esse fungo produz lipases, que podem ter uma associação com a patogênese (Gácsér *et al.*, 2007).

Inicialmente, a *C. parapsilosis* foi identificada como uma levedura não patogênica sem importância clínica significativa. Entretanto, o aumento na utilização de dispositivos médicos, nutrição parenteral e ocorrência de infecções hospitalares a transformaram em uma

das espécies fúngicas mais relevantes na indução de infecções sanguíneas, especialmente em neonatos gravemente enfermos e pacientes imunocomprometidos (Gómez-Molero *et al.* 2021)

Em estudo realizado no município de São José do Rio Preto, por Martins *et al* (2007) com 200 fragmentos de unha de 184 pacientes que estavam com suspeitas clínicas de onicomicoses, foi constatado que *C. parapsilosis* foi prevalente em ONC com distrofia total e/ou área distal lateral. E com o isolamento dos fungos se verificou que 142 (71%) das pessoas realmente estavam positivadas, sendo 98 com ONC provocada por leveduras, havendo uma incidência de *C. parapsilosis* em 47%. Assim, nota-se a importância em se estudar esse fungo que vem ganhando seu espaço como agente etiológico de ONC.

3.4 TRATAMENTO DE ONICOMICOSSES

A escolha do tratamento para um infecção ungueal é determinada pela localização, extensão e gravidade das lesões, além da idade do paciente e a espécie do fungo que está envolvido na causa da infecção. Igualmente, eficácia, segurança e disponibilidade do fármaco são levados em consideração (Torres, 2005).

Atualmente, existem diversos agentes antifúngicos frequentemente utilizados na prática clínica. Esses medicamentos podem ser classificados como fungicidas, ou seja, aqueles que têm a capacidade de destruir as células fúngicas, ou fungistáticos, que são agentes que apenas inibem o crescimento do fungo (Pereira, 2009).

A ONC pode ser tratada de três maneiras: via tópica, via sistêmica ou associação de ambas, dependendo do perfil do fungo, do sítio acometido, da extensão da lesão, entre outros fatores. (Pereira, 2012) E independente da terapia utilizada Singal; Khanna (2011) afirmam que os desfechos desejados são micológicos, clínico e cura completa:

- a) Cura micológica: é definida como microscopia e cultura negativas;
- b) Cura clínica: como unha sem sinais clínicos de onicomicose;
- c) Cura completa: como tendo a cura micológica e clínica.

Em situações graves, é possível que até 10% da superfície da unha permaneça com uma aparência anormal, mesmo após a completa erradicação da infecção fúngica.

3.4.1 Tratamento tópico

A terapia tópica é normalmente usada para tratamento de micoses superficiais, a

menos que a infecção seja disseminada ou envolva uma área extensa. Os antifúngicos tópicos são aplicados localmente na lesão e podem ser em forma de géis, cremes, soluções, pós e em específico para unhas esmaltes ou pomadas (Torres, 2005; Van Minnebruggen *et al.*, 2010).

No início do manejo da doença, pomadas e soluções tópicas normalmente são usadas. Mas a queratina ungueal é compacta e dura, assim, o acesso do medicamento aos organismos causadores da infecção fica restringido. Como também, as opções de tratamento anteriores tinham propriedades farmacêuticas de baixa qualidade e um espectro de ação inespecíficos, o que consequentemente levaram a baixo resultados com esse tipo de terapia (Baran; Kaoukhov, 2005; Thomas *et al.*, 2010)

Mesmo que os agentes tópicos permitam a maior proximidade do local da infecção, algumas áreas ainda podem ser relativamente inacessíveis e manter concentrações ineficazes do medicamento, além do fato que soluções, cremes e pomadas serem facilmente removidas com água ou limpeza o que reduz ainda mais a distribuição eficaz do tratamento. Atualmente as opções de terapia tópica são definidas apenas para o manejo de onicomicoses superficiais e menos graves. Novos agentes antifúngicos foram formulados para melhorar a penetração na unidade ungueal e aumentar a eficácia terapêutica. (Gupta; Tu, 2006; Thomas *et al.*, 2010)

Ainda assim, o uso do medicamento tópico reduz interações medicamentosas e efeitos colaterais que outra via poderia trazer, o que aumenta adesão ao tratamento pelos pacientes que utilizam o tratamento. Segundo Singal; Khanna (2011), algumas indicações para o uso da monoterapia tópica são:

- 1- Envolvimento limitado a 50% distal da lâmina ungueal, envolvimento de 3 ou 4 unhas.
- 2- Não há envolvimento da área matricial.
- 3- Onicomicose branca superficial .
- 4 - Em crianças com unhas finas e de crescimento rápido.
- 5 - Como profilaxia em pacientes com risco de recorrência.
- 6 - Pacientes onde a terapia oral é inadequada (Singal; Khanna, 2011)

Gupta e Tu (2006) trazem alguns dos tratamentos tópicos mais convencionais utilizados ultimamente.

Os esmaltes, sendo eles desenvolvidos com amorolfina e ciclopirox como ativos. Após a aplicação, a evaporação do solvente na formulação ocorre, resultando no aumento do teor ativo de fármaco. Esse processo proporciona o elevado gradiente de concentração necessário para garantir a máxima penetração através da lâmina ungueal. A concentração elevada do

ingrediente ativo é então mantida na lâmina ungueal graças aos componentes da formulação do verniz, como o solvente, o polímero e o plastificante, os quais podem otimizar e controlar a liberação do agente antifúngico. Essa formulação também estende a permanência do ativo em contato com a lâmina ungueal, o que, por sua vez, amplia as chances de sucesso no tratamento.

- a) Esmalte de Ciclopirox: Os pesquisadores propõem a possibilidade de que o ciclopirox atue como um agente quelante, exercendo principalmente seu efeito sobre as enzimas mitocondriais dos fungos que dependem do ferro. A penetração do esmalte foi avaliada *in vitro* após uma única aplicação nas unhas com ONC. Após 24 horas, um gradiente de concentração antifúngica era aparente, com concentrações médias variando de 7,8 µg/ mg na região superior e 0,034 µg/mg na camada mais profunda. As concentrações de ciclopirox que chegaram ao leito ungueal excederam então a concentração mínima de inibição (CIM) para a maioria dos organismos fúngicos responsáveis pela ONC (Gupta e Tu, 2006).

A penetração do ciclopirox dentro e através da lâmina ungueal também foi avaliada em outros estudos prévios com voluntários saudáveis de acordo com Baran; Kaoukhov (2005). No primeiro estudo, 5 pessoas aplicaram o esmalte de ciclopirox a 8% diariamente por 45 dias, e removendo uma vez por semana. A concentração média do fármaco aumentou ao longo dos dias e no último atingiu 6,8 µg/mg. Notavelmente, apesar de ainda haver vestígios mínimos de ciclopirox na unha 14 dias após o tratamento, as concentrações médias sofreram uma redução considerável.

Em um estudo parecido, 9 voluntários saudáveis aplicaram o esmalte nas unhas diariamente por também 45 dias, mas diferente do anterior, a cada nova o restante da anterior era retirada. Novamente, a concentração média de ciclopirox aumentou ao longo da fase de tratamento, atingindo um máximo de 3,4 µg/mg após 30 dias. Em 4 indivíduos avaliados após 14 dias do fim do tratamento a concentração média de ciclopirox na unha caiu abaixo do limite de detecção (0,04 µg/mg). Esses resultados sugerem que, durante o período de tratamento, é possível atingir concentrações eficazes do esmalte de ciclopirox 8% em toda a unidade ungueal. Para determinar se essas concentrações eficazes permanecem na unha após o fim do tratamento, é necessário conduzir uma investigação mais detalhada (Baran; Kaoukhov, 2005)

- b) Esmalte de Amorolfina: A amorolfina é uma substância derivada de fenil-propil

morfolina. Similarmente a muitos outros agentes antifúngicos, ela atua na inibição da biossíntese do ergosterol. A sua eficácia como agente antifúngico de amplo espectro depende da concentração do fármaco e do tempo de contato. Vários pesquisadores relataram informações sobre a formulação, tolerabilidade e eficácia do esmalte. Esses estudos demonstraram que o medicamento é uma opção de tratamento tolerável e eficaz para infecções fúngicas nas unhas (Gupta e Tu, 2006).

Baran e Kaoukhov (2005) também relataram a respeito da penetração da amorolfina. Os resultados de um estudo que envolveu a aplicação de amorolfina a 5%, em etanol ou cloreto de metileno, em uma variedade de tipos de unhas com diferentes níveis de dureza e morfologia por um período de 24 horas, demonstraram que a penetração do medicamento segue um padrão exponencial. As concentrações do medicamento na camada mais superficial da unha foram cerca de 100 vezes maiores do que na camada mais profunda. Os níveis de amorolfina na camada mais externa variaram de 1 a 6,7 µg/mg. É importante destacar que as concentrações de amorolfina alcançadas no leito ungueal foram suficientes para inibir o crescimento da maioria dos fungos responsáveis pela onicomicose.

A eficácia da penetração da amorolfina nos tecidos subungueais foi confirmada em pacientes com onicomicose. Dois pacientes aplicaram o esmalte de amorolfina a 5% em etanol ou cloreto de metileno em suas unhas infectadas duas vezes por semana, durante um período de 4 semanas. Posteriormente, amostras do material subungueal foram retiradas após 3, 7, 10 e 14 dias e submetidas a testes que incluíram culturas micológicas e avaliação de sua capacidade de inibir o crescimento de inóculos frescos de *T. rubrum*, indicando a presença do medicamento ativo. Três dias após o início do tratamento, 94% das amostras não apresentaram crescimento de culturas; mesmo após 14 dias, pelo menos 82% das amostras continuaram sem crescimento de culturas. Além disso, mais de 97% das amostras subungueais coletadas entre o 3º e o 10º dia inibiram o crescimento de culturas de *T. rubrum*, e 91% ainda impediram o crescimento 15 dias após o término do tratamento. Esses resultados evidenciam que o esmalte não apenas penetra de maneira subungueal, mas também mantém concentrações eficazes do medicamento antifúngico por pelo menos 2 semanas após a conclusão do tratamento.

- c) Solução de Tioconazol: Ameen e colaboradores (2014) informaram que o tioconazol é um antifúngico imidazol disponível em solução a 28%. Em uma pesquisa envolvendo 27 voluntários diagnosticados com onicomicose e submetidos a tratamento com tioconazol, observou-se que apenas 22% dos pacientes alcançaram a cura tanto do

ponto de vista micológico quanto clínico. É importante salientar que a ocorrência de dermatite de contato alérgica em resposta ao uso de tioconazol não é rara.

3.4.2 Tratamento sistêmico

A terapia sistêmica é feita através de antifúngicos orais, Gupta e Tu (2006) afirmaram ser os mais eficazes agentes disponíveis para tratar a onicomicose. Porém, antes de iniciar o tratamento é imperativo considerar vários fatores, como medicamentos concomitantes, principalmente se ele tiver diabetes ou for HIV positivos. É importante também a preferência do paciente, porque pode afetar sua adesão ao tratamento.

A terapia oral geralmente traz efeitos colaterais, o que pode dificultar o uso a longo prazo. Embora esse problema tenha sido superado parcialmente com medicamentos mais recentes, como o itraconazol e a terbinafina (Baran; Kaoukhov, 2005). Singal e Khanna (2011) definem quando deve ser recomendado o tratamento oral:

- 1- Envolvimento de > 50% da lâmina ungueal distal/envolvimento ungueal múltiplo
- 2- Envolvimento da matriz ungueal
- 3- Espera-se que a penetração do medicamento tópico seja subótima.

Os principais medicamentos sistêmicos aprovados e amplamente empregados no tratamento da onicomicose incluem a terbinafina e o itraconazol. A griseofulvina também possui licença para tratar onicomicose, mas seu uso atual é bastante limitado devido à eficácia e adesão, além de taxas de recaída menores observadas com outros medicamentos sistêmicos. Embora o fluconazol não seja oficialmente indicado para o tratamento de onicomicose, pode ser considerado como uma opção de terapia de terceira linha. O cetoconazol, embora eficaz, é usado com restrições devido ao risco de hepatotoxicidade associado à terapia de longa duração.

A taxa de ineficiência no tratamento com os medicamentos antifúngicos convencionais varia de 25% a 40%, e essa falta de êxito tem sido associada à adesão limitada dos pacientes e à baixa biodisponibilidade (Ameen *et al.*, 2014).

- a) Griseofulvina: Foi o primeiro antifúngico oral aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos para o tratamento de onicomicose. Ele é ativo contra fungos dermatófitos como o *T. rubrum*, porém, não é eficaz contra *Candida spp* e os fungos não-dermatófitos.

Este medicamento tem uma ação fungistática fraca, agindo pela inibição da síntese de

ácido nucleico, interrupção da divisão celular e inibição da síntese da parede celular dos fungos. É o único antifúngico autorizado para uso em crianças com onicomicose, com uma dose recomendada para idades a partir de 1 mês de idade, com 10 mg/kg por dia. Para aumentar a absorção e melhorar a biodisponibilidade, deve ser tomado com alimentos ricos em gordura.

Em adultos, a dose aconselhada é de 500 a 1000 mg diariamente por um período de 6 a 9 meses para infecções nas unhas das mãos e de 12 a 18 meses para infecções nas unhas dos pés. Contudo, as taxas de cura micológica para infecções nas unhas são limitadas, atingindo apenas 30-40%.

É importante observar que alguns efeitos colaterais, como náuseas e erupções cutâneas, podem afetar de 8% a 15% dos pacientes. Estudos comparando a terapia com griseofulvina com terbinafina e itraconazol demonstraram taxas de cura mais baixas para griseofulvina. Por estas razões, não é mais um tratamento de escolha para a onicomicose, a menos que outros medicamentos não estejam disponíveis ou sejam contraindicados (Ameen *et al.*, 2014; Gupta; Tu, 2006; Singal; Khanna, 2011)

- b) Antifúngicos azólicos: Eles inibem a síntese de ergosterol, reduzem a atividade enzimática ligada à membrana e interrompem a síntese de quitina, tornando a membrana celular mais permeável. Essa classe de agentes antifúngicos inclui o itraconazol, cetoconazol e fluconazol. Porém, o cetoconazol raramente é usado hoje em dia devido ao risco de efeitos colaterais hepáticos graves (Gupta; Tu, 2006; Singal; Khanna, 2011).

- Fluconazol: Demonstrou alta eficácia contra infecções causadas por *Candida*.

É possível detectá-lo nas unhas após apenas duas semanas de tratamento, e suas concentrações permanecem elevadas por um período de 3 a 6 meses após o término do tratamento. A rápida capacidade de penetração e a tendência de concentração nas estruturas queratinosas tornam a administração semanal suficiente. Geralmente, não é a primeira escolha de tratamento, devido à falta de dados abrangentes sobre sua eficácia no tratamento da onicomicose dermatofítica. A terapêutica com fluconazol consiste em um regime de dose única semanal, aconselhada até renovação completa da unha. Os efeitos adversos comuns incluem dor de cabeça, erupção cutânea, queixas gastrointestinais, insônia e palpitações. Em paralelo com a duração de tratamento, o fluconazol demonstra potenciais interações farmacológicas com moléculas que aumentam o efeito do antifúngico como hidroclorotiazida e com outras que diminuem o efeito do antifúngico como rifampicina (Perusinha *et al.*, 2019; Singal; Khanna, 2011).

- Itraconazol: O itraconazol é ativo contra uma variedade de fungos, incluindo leveduras, dermatófitos e alguns bolores não dermatófitos. É um medicamento altamente lipofílico e a biodisponibilidade oral aumenta após uma refeição completa. O itraconazol é incorporado na unha através da matriz e do leito ungueal e é detectável na unha sete dias após o início da terapia e persiste por até 6-9 meses após o tratamento. Os efeitos adversos que podem ocorrer com o itraconazol são: náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, aumento das enzimas hepáticas, toxidermia morbiliforme, edema, urticária, pustulose exantemática generalizada aguda, cefaleias, vertigens, hipocalcemia, trombocitopenia e leucopenia (Ameen *et al.*, 2014; Perusinha *et al.*, 2019; Singal; Khanna, 2011)

3.4.2.1 Terbinafina

É um medicamento da classe das alilaminas, atualmente é o único antimicótico fungicida oral, por ter uma boa absorção por essa via com mais de 70% de biodisponibilidade (Singal; Khanna, 2011). Tem ação comprovada para onicomicose (Gupta; Tu, 2006), ele atua inibindo a esqualeno epoxidase, que é essencial para a biossíntese do ergosterol, um componente integral da parede celular do fungo. Sua ação resulta tanto na depleção do ergosterol, que tem efeito fungistático, quanto no acúmulo de esqualeno, que parece ser diretamente fungicida. A terbinafina *in vitro* é fungicida contra dermatófitos, não dermatófitos (*Aspergillus fumigatus* e *Scopulariopsis brevicaulis*) e *C. parapsilosis* e fungistática contra *C. albicans* (Singal; Khanna, 2011).

A terbinafina é administrada 250 mg por dia por via oral durante 6 semanas para as unhas e 12 semanas para as unhas dos pés, com reavaliação dos pacientes 3 meses após o término do tratamento. No caso da criança, a dose diária é ajustada conforme o peso. As taxas de cura micológica nas bulas são de 79% e 70% e as taxas de cura completa são de 59% e 38% para unhas das mãos e dos pés, respectivamente (Lipner; Scher, 2019; Perusinha *et al.*, 2019).

Mais de 70% da terbinafina é absorvida quando ingerida por via oral, e essa absorção não é influenciada pela ingestão de alimentos. 99% por cento da terbinafina oral se liga às proteínas plasmáticas e é eliminada principalmente pelos rins, sendo excretada na urina. A depuração da terbinafina diminui em pacientes que sofrem de doença hepática ou renal grave. É queratinofílico e detectável na unha desde 7 dias do início da terapia até 90 dias após o tratamento, pois tem meia vida longa. Além de ser aprovado pela FDA para tratamento contínuo. Estudos demonstram superioridade da terbinafina contínua em termos de cura

micológica e clínica a longo prazo e menor risco de recorrência em relação ao itraconazol intermitente . A terbinafina oral é geralmente bem tolerada, mas houve raros relatos de reações adversas graves, incluindo síndrome de Stevens-Johnson e necrólise epidérmica tóxica (Ameen *et al.*, 2014; Singal; Khanna, 2011).

Lipner; Scher (2019) afirmaram que os efeitos colaterais mais comuns são dor de cabeça, sintomas gastrointestinais e erupção cutânea, que raramente requerem a suspensão da medicação. Menos comumente, podem ocorrer anormalidades nas enzimas hepáticas e distúrbios do paladar, entre outros. A depuração da terbinafina é reduzida em pacientes com disfunção hepática ou renal.

Embora estudos tenham evidenciado que a terbinafina geralmente apresenta uma baixa probabilidade de causar toxicidade hepática, foram documentados raros casos de toxicidade hepática grave. Esses eventos adversos ocorreram principalmente em pacientes com histórico prévio de doença hepática. Portanto, não é aconselhável o uso de terbinafina sistêmica em pacientes que possuam doença hepática ativa ou crônica. Recomenda-se a realização de testes iniciais de função hepática e análise hematológica completa em pacientes com histórico de abuso de álcool, hepatite ou anomalias hematológicas. Além disso, a monitorização inicial também deve ser considerada em crianças, já que a terbinafina não é aprovada para o tratamento de onicomicose em pacientes pediátricos (Ameen *et al.*, 2014)

A Repka e colaboradores (2002) afirmaram que apesar dos avanços desses medicamentos, ainda é limitado o seu sucesso no tratamento. Além disso, os médicos relutam em tratar o que tem sido geralmente percebido como uma mera desfiguração cosmética com uma medicação sistêmica. Infelizmente, a terapia sistêmica encontra sua dificuldade no tratamento pela circulação sanguínea limitada no leito ungueal e pelo transporte deficiente para a lâmina ungueal, o que exige altas doses por um longo período. O que sucessivamente pode levar a efeitos colaterais, ou uso indiscriminado, que conduz ao aumento da resistência desses microrganismos patogênicos. Assim, a terapia tópica para ONC pode ser o tratamento de escolha, uma vez que não leva a efeitos sistêmicos ou interações medicamentosas.

Visto que atualmente não se pode encontrar muitas soluções tópicas à base de TB-HCl, e estudos comprovam seu sucesso no tratamento. Portanto, isso faz dele um fármaco promissor para novas formulações tópicas.

3.4.2 Tratamento combinado

Baran e Kaoukhov (2005) declararam que quando médicos se deparam com pacientes

que receberam 6 meses de monoterapia com tratamento tópico e não responderam ao tratamento, o segundo passo é uma combinação de tratamentos. Assim como o contrário afirma Singal e Khanna (2011), apesar da eficácia comprovada dos antifúngicos orais, o desfecho clínico muitas vezes está longe de ser satisfatório. Invariavelmente, as taxas de cura micológica são cerca de 30% melhores do que as taxas de cura clínica na maioria dos estudos e a taxa de falha de tratamento, mesmo nos melhores ensaios clínicos, é de pelo menos 25%. Na tentativa de melhorar as taxas de cura e reduzir a recidivas, o uso do tratamento combinado foi necessário.

As chances de alcançar sucesso clínico aumentam quando as terapias são combinadas, especialmente se os medicamentos possuem mecanismos de ação distintos. Por exemplo, embora tanto o itraconazol quanto a amorolfina atuem na inibição da biossíntese do ergosterol fúngico, eles direcionam suas ações a enzimas alvo diferentes. Além disso, pode haver benefícios em usar medicamentos que possuam diferentes vias de administração, pois isso permite que eles alcancem o local da infecção a partir de diferentes direções (Baran; Kaoukhov, 2005).

4. METODOLOGIA

Para a realização deste estudo foram utilizadas formulações tópicas desenvolvidas e caracterizadas previamente pelo grupo de estudo do Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosméticos (NUDFAC) da Universidade Federal de Pernambuco. Onde se

empregou duas metodologias para avaliação dos fungos manuseados.

4.1 FORMULAÇÕES TÓPICAS AVALIADAS

Para o estudo, foram selecionadas nove formulações tópicas desenvolvidas e caracterizadas, contendo diferentes percentuais de Cloridrato de Terbinafina. Sendo elas: termogéis à base de Poloxamer®, microemulsões e cristal líquido, contendo de 2-7% do fármaco, com suas composições descritas na Tabela 2 abaixo:

Tabela 2 - Composição das formulações previamente desenvolvidas.

Componentes (% p/p)	ME2 2%	ME2 5%	ME5 7%	ME5 7%E	TG 2%	TG 4%	TGKA 2%	TGKA 4%	CL 2%
Cremophor EL	40,87 %	39,615 %	6,23%	6,06%	-	-	-	-	50%
Tween® 20	8,13%	7,885 %	30,97 %	30,14 %	-	-	-	-	-
Ácido oleico	19,6%	19%	18,6%	18,1%	-	-	-	-	-
Água ultrapura	9,8%	9,5%	12,37 %	12,04 %	-	-	-	-	39%
Álcool isopropílico	19,6%	19%	24,83 %	24,16 %	-	-	-	-	-
Poloxamer®	-	-	-	2,5%	20%	20%	20%	20%	-
Água/ Álcool isopropílico/ Propilenoglicol (37.5: 31.25: 31.25)	-	-	-	-	78%	76%	-	-	-
Água/ Álcool isopropílico/ Propilenoglicol / Acetato de etila (18.75:	-	-	-	-	-	-	76%	74%	-

31.25:31.25:18 .75)									
Ureia	-	-	-	-	-	-	1%	1%	-
Hidróxido de potássio	-	-	-	-	-	-	1%	1%	-
Óleo de Licuri	-	-	-	-	-	-	-	-	9%
Cloridrato de Terbinafina	2%	5%	7%	7%	2%	4%	2%	4%	2%

Fonte: Pimenta, 2022.

4.2 SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS

Para conduzir a pesquisa, foi utilizado uma cepa do *T. rubrum* (isolado clínico da coleção interna, fornecido pelo Laboratório de Micologia Médica Sylvio Campos do Centro de Biociências – CB/UFPE; cód. URM 6206) e escolhidas duas espécies de *Candida*: *Candida albicans* (ATCC 90028) e *Candida parapsilosis* (ATCC 22019). Todos os testes da etapa de avaliação da atividade antifúngica foram desenvolvidos no Laboratório de Análises Microbiológicas do Departamento de Farmácia da UFPE.

4.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *Trichophyton rubrum*

Primeiramente, é válido salientar que as unhas utilizadas no início dessa etapa passaram por um teste prévio de permeação, para avaliar a retenção e transporte do fármaco através dela. Ou seja, avaliação de quanto a unha conseguiu absorver durante o desenvolvimento das formulações. Elas passaram por 3 testes em que foram submetidas a diferentes promotores de permeação física: primeiro as unhas não poradas, segundo unhas com microporação e por último unhas com microcanais.

Posteriormente, houve a avaliação da atividade antifúngica contra *T. rubrum*, onde foi coletado o líquido receptor (LR) das células de Franz (Figura 9), vindo dos IVPTs (*in vitro* permeation test). Sendo o LR, o líquido que é colocado do lado posterior a membrana (sendo a unha a biomembrana utilizada), nele estará contido a formulação que permeou a membrana.

As unhas usadas foram as que passaram pelo processo de microporação e aplicação de dose única das formulações.

Foi empregada a técnica de Pour Plate, na qual uma suspensão fúngica (correspondente a 0,5 na escala de McFarland) foi depositado no fundo da placa de Petri (em quadruplicata), se utilizou 2,5mL de suspensão fúngica de *T. rubrum* seguido pela adição de 50mL de meio de ágar Sabouraud fundido e estéril, posteriormente homogeneizado. Após a solidificação do meio (~15 minutos) um poço foi criado no centro das placas, com auxílio de um cilindro oco de inox (0,5cm de diâmetro), no qual foi pipetado o 50 µl do LR de cada formulação. Em capela de fluxo laminar os LRs foram previamente filtrados, utilizando filtros de seringa estéril com tamanho de poro de 0,22 µm (PVDF- fluoreto de polivinilideno hidrofóbico).

Depois de um período de incubação a 25°C durante 7 e 15 dias, houve a verificação de formação de halo de inibição no meio contaminado. O percentual de inibição foi calculado como a área do halo de inibição dividida pela área total de crescimento potencial. A área de inibição foi estimada como a de um círculo com o diâmetro medido com um paquímetro digital (0-150 mm). Em todos os casos, a área total de crescimento do fungo foi de 153 cm².

Figura 9 - Célula vertical de difusão de Franz



Fonte: Silva et al., 14 Set. 2019. Disponível em: <https://11nq.com/9uCOj>. Acesso em: 17 Set 2023.

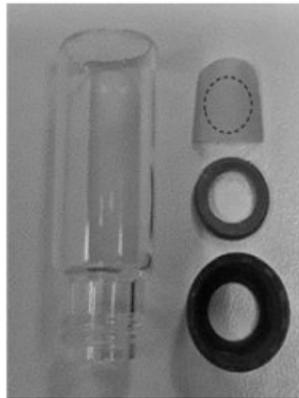
4.4 MONTAGEM DO MODELO *IN VITRO* PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA *Candida* spp.

O método a seguir foi descrito por Sleven *et al.* (2015) e adaptado para realização da

pesquisa. O material utilizado para o sistema foi inicialmente autoclavado a 121°C por 15 minutos, e todo procedimento realizado em capela de fluxo laminar.

- a) Criação do Sistema doador: Um frasco de vidro (vial) foi cortado em sua face inferior (Figura 10) para que pudesse ser usado como um sistema de suporte para a unha possibilitando a aplicação das formulações testadas, tampa e septo também foram cortados.

Figura 10 - Vial cortado antes do fechamento da tampa



Fonte: Pimenta, 2022.

- b) Preparação das unhas: As unhas utilizadas foram previamente hidratadas (2h em água destilada), cortadas e então lixadas para que encaixassem na abertura posterior do vial (cerca de 5 mm de diâmetro). Com a tampa do frasco voltada para cima, um anel de borracha foi encaixado para evitar o vazamento da formulação quando colocada, e com a unha encaixada na abertura a tampa foi rosqueada e vedada.
- c) Preparação do meio de suporte: Foi utilizado um recipiente de vidro com tampa rosqueável de 200 mL (devidamente esterilizado), ele foi preenchido com 40 mL do meio Ágar Sabouraud dextrose (SDA), que simulava o leito ungueal.
- d) Pré-carga da unha: As unhas passaram por etapa de pré-carga de formulação. O vial foi encaixado no meio enquanto ele estava quase completamente solidificado, para que o meio terminasse de solidificar com o vial nele (Figura 11). A unha então recebeu uma dose única de 50 µL das formulações na superfície dorsal. Todo esse sistema passou então por uma incubação de 14 dias em estufa a $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$.

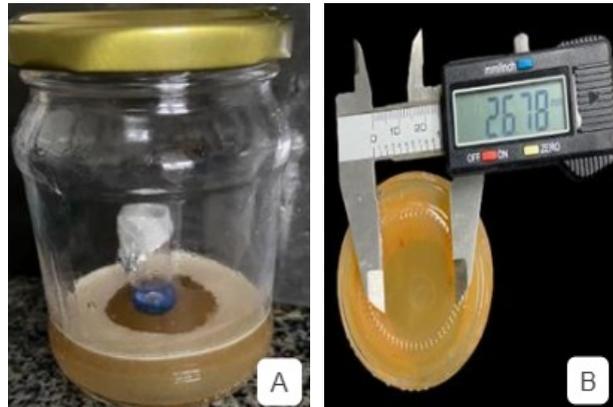
Figura 11 - Sistema frasco-vial e unha



Fonte: Pimenta, 2022.

- e) Preparação de carga fúngica: Após os 14 dias foi preparada uma suspensão fúngica (soro fisiológico 0,9% + células de leveduras) de 2mL para cada 40 mL de meio de cultura. Essa suspensão precisava estar em uma absorvância lida de 530 nm e/ou transmitância entre 89-91%, para garantir a ação fúngica. São feitas duas suspensões, uma com *Candida albicans* e outra com *C. parapsilosis*.
- f) Meio de suporte com fungo: Foi preparado o meio SDA novamente, dentro de um recipiente estéril ele precisou alcançar uma temperatura de cerca de 29°C - 30°C, para que o meio não solidificasse completamente e nem matasse a carga fúngica da suspensão. A suspensão foi depositada em um novo recipiente de 200mL, e o meio SDA colocado por cima, fez-se uma homogeneização leve. Quando o meio estava perto de solidificar o sistema vial-unha foi transferido do recipiente anterior para o novo contendo o meio inoculado o qual foi incubado em uma estufa a $36,5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 7 dias.
- g) Verificação do halo de inibição no meio contendo inóculo: Ao final de 7 dias o halo de inibição foi estimado com auxílio de paquímetro digital (Figura 12), e o percentual calculado como a área do halo em relação a área total do crescimento fúngico que foi de 26,41 cm² em todos os casos. Quando um halo foi formado, uma nova etapa seguiu, para se certificar que não houveram vazamentos de formulação.

Figura 12 - (A) visualização do halo de inibição, (B) medição do halo pelo fundo do recipiente com paquímetro digital



Fonte: Pimenta, 2022.

- h) Teste de vazamento: O sistema vial-unha foi transferido para um béquer com um novo Ágar (apenas para suporte, podendo ser utilizado qualquer meio de cor clara, o meio empregado foi Ágar-Ágar) que não foi inoculado. Em seguida, foi adicionado 400 μ L de solução aquosa de azul de metileno 1%, sobre a unha (Figura 13). Todo o sistema foi incubado por mais 7 dias. Se houver mudança na cor do meio, significa que houve vazamento da formulação.

Figura 13 - (A) vista lateral , (B) vista superior do sistema vial-unha em um novo meio.



Fonte: autoria própria

Nos potes em que não foi formado halo de inibição as unhas foram retiradas do sistema, limpas e cortadas em pequenos fragmentos para a realização de um exame microscópico direto, com o objetivo de visualizar possíveis estruturas fúngicas, caso estivessem presentes (Dos Santos *et al.*, 2002). Uma parte da amostra cortada também foi cultivada em Ágar Mycosel para verificar se as estruturas visualizadas no exame direto

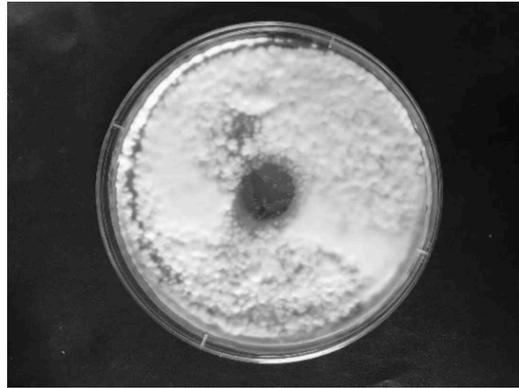
estariam viáveis e se haveria crescimento fúngico.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AÇÃO MICROBIOLÓGICA CONTRA *Trichophyton rubrum*

Foi realizada a coleta do LR, após IVPT de todas as nove formulações, e posterior teste como descrito na metodologia. Entretanto, apenas a formulação microemulsão 5 com 7% de fármaco (ME5 7%), demonstrou ação fungicida contra *T. rubrum*. O percentual de inibição foi de $4,22 \pm 0,74$. A Figura abaixo é representativa do teste.

Figura 14 - Ensaio microbiológico *in vitro*. Líquido receptor do IVPT com unha microporada e aplicação de dose única da ME5 7%. Resultado após 14 dias.



Fonte: Pimenta, 2022.

Para se comparar os resultados com esse promotor físico de permeação (a microporação) utilizou-se as formulações ME5 7% e TG 2 e 4%, comparando com os resultados do outro promotor físico (formação de microcanais). A Tabela 3 mostra esses resultados.

A retenção do TB-HCl com as microemulsões foi a mesma, independente do promotor utilizado. Já a de termogel foi cerca de 2 vezes maior com a microporação. Ao mesmo tempo, a ME5 7% foi cerca de 10 vezes maior em comparação com a TG 4%, a tornando a melhor escolha para seguir com os testes.

Tabela 3 - Comparação de TB-HCl retido na unha e quantidade cumulativa permeada, seguindo o teste de microporação e o terceiro teste de microcanais.

Tipo de teste	Formulação	Retenção na unha ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Média \pm DP	Quantidade cumulativa permeada ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Média \pm DP

Dose única com microporação	ME5 7%	0,80	0,90	0,89	0,75	0,84 ± 0,07	11,74	6,81	7,86	7,81	8,56 ± 2,18
	TG2%	1,05	1,07	0,92	1,21	1,06 ± 0,12	0,52	0,39	0,47	0,31	0,42 ± 0,09
	TG4%	1,21	1,37	0,99	1,41	1,25 ± 0,19	0,68	0,92	0,79	0,77	0,79 ± 0,10
Dose única com microcanais	ME5 7%	1,12	1,17	0,89	0,90	1,02 ± 0,15	15,27	10,89	13,36	11,71	12,81 ± 1,94
	TG2%	2,10	2,07	1,71	2,66	2,14 ± 0,39	0,94	0,66	0,80	0,50	0,73 ± 0,19
	TG4%	2,06	3,21	1,88	2,96	2,53 ± 0,66	1,15	1,76	1,41	1,15	1,37 ± 0,29

Fonte: Pimenta, 2022.

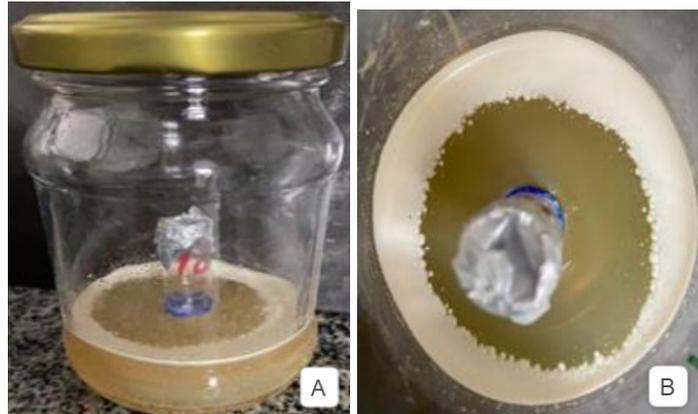
Thatai e Sapra (2017) realizaram teste para avaliar a permeação transungueal de terbinafina, desenvolveram uma ME contendo 1% de TB-HCL, utilizando alguns promotores de permeação químicos como lauril sulfato de sódio e fosfato de potássio. A formulação apresentou penetração cerca de 5 vezes melhor e retenção cerca de 9 vezes, em comparação ao creme comercial. Entretanto, a biomembrana utilizada no estudo foram em sua maioria cascos bovinos que são utilizados normalmente como modelo de unha humana em estudo. Todavia, Täuber e Müller-Goymann (2015) afirmaram que a semelhança entre as unhas humanas e as placas dos cascos bovinos é limitada porque as placas dos cascos bovinos têm uma estrutura de queratina mais permeável e incham mais quando incubadas em água do que as unhas humanas.

5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*.

As avaliações microbiológicas restantes foram realizadas com as cepas ATCC de *C. albicans* e *C. parapsilosis*, testes realizados em triplicata com as formulações desenvolvidas a base de terbinafina. Com *C. parapsilosis* o melhor resultado dentre todas as nove formulações foi o de ME5 7%, formando o maior halo de inibição, aproximadamente 60%

(Figura 15), a adição do espessante (ME5 7%E), não trouxe mudanças no tamanho do halo. O que reafirma afirma mais uma vez a capacidade promissora de inibição desta formulação, visto que no primeiro teste ela demonstrou ação em um fungo dermatófito e no segundo em uma levedura.

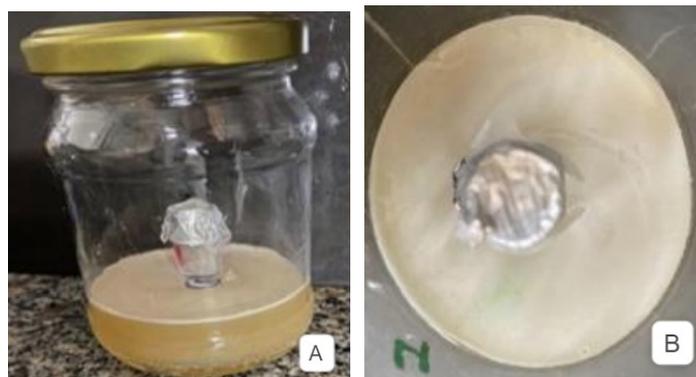
Figura 15 - (A) vista lateral do halo de inibição, (B) vista superior



Fonte: Pimenta, 2022.

Em algumas formulações não foi possível observar a formação de halo como na TG 4%, como mostra na Figura 16. Porém, também não se observou crescimento de massa fúngica quando o sistema passou para o Ágar Mycosel.

Figura 16 - (A) vista lateral d frasco com formulação TG 4%, (B) vista superior

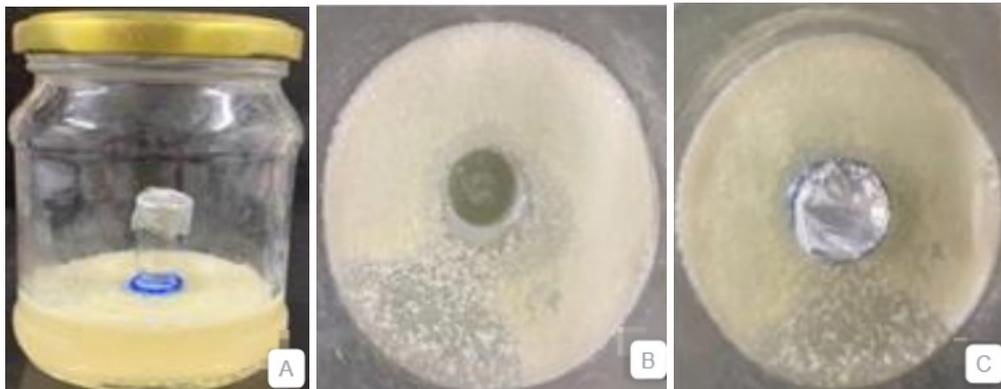


Fonte: Pimenta, 2022.

Isso aponta que, mesmo sem o halo de inibição houve uma proteção, ou seja, mesmo que o fungo tenha alcançado a unha, a patologia não conseguiria se instaurar devido a formulação (Figura 17). Diferente do que aconteceu com a *C. parapsilosis*, não foi possível

observar a ação fungicida na *C. albicans*, indicando o fato observado na literatura de a terbinafina ser fungistática contra alguns fungos, em especial espécies de *Candida* (Segal *et al.*, 1996).

Figura 17 - Recipiente com ME5 7% em inóculo. Teste frente *Candida albicans*

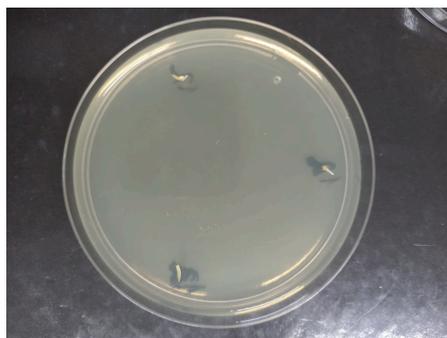


(A) Vista lateral com o sistema vial-unha; (B) vista superior sem o sistema; (C) vista superior com o sistema

Fonte: Pimenta, 2022.

Contudo, a atividade da TBF-HCl contra leveduras é bastante variável, fatores como temperatura, meio de cultura e tempo de incubação podem afetar diretamente a resposta microbiológica (Zalacain *et al.*, 2011). Apesar disso, o TB-HCl retido a unha, ao que parece foi o bastante para inibir a atividade da *Candida*, pois não houve visualização de nenhuma estrutura fúngica no exame direto, assim como nenhum crescimento de massa celular no meio de cultura (Figura 18). O que demonstra a efetividade da formulação ME5 7% em ter atividade fungicida, e ter potencial para outros estudos, visto que contém 7% do fármaco fato que nenhuma outra formulação conseguiu.

Figura 18 - Cultivo confirmatório da eficácia antifúngica nas unhas em inóculo de *Candida albicans*.



Fonte: Pimenta, 2022.

6. CONCLUSÃO

Diante do apresentado, constatou-se que as formulações do tipo microemulsão tem potencial para inibição microbiológica. Em específico a ME5 7%, evidenciando seu efeito de ação antifúngica para *C. parapsilosis*. Sendo essa também a única formulação em que o líquido receptor foi capaz de mostrar certa eficácia na atividade contra *T. rubrum*.

Portanto, podemos inferir que a ME5 7% foi a formulação que se sobressaiu frente às outras para inibição desses fungos. Entretanto, ainda são necessários experimentos futuros visando a melhoria da formulação e dos seus efeitos sobre esses microrganismos.

REFERÊNCIAS

- A CALDERONE, Richard; A FONZI, William. Virulence factors of *Candida albicans*. Trends In Microbiology, [S.L.], v. 9, n. 7, p. 327-335, jul. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x\(01\)02094-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x(01)02094-7).
- A REPKA, Michael; O'HAVER, John; SEE, Chun Hwa; GUTTA, Kavitha; MUNJAL, Manish. Nail morphology studies as assessments for onychomycosis treatment modalities. International Journal Of Pharmaceutics, [S.L.], v. 245, n. 1-2, p. 25-36, out. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-5173\(02\)00321-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-5173(02)00321-6).
- A. ZALACAIN, C. Obrador, JP Martinez, M. Viñas, T. Vinuesa, Caracterização da suscetibilidade antimicrobiana de fungos responsáveis pela onicomicose na Espanha, Micologia Médica, Volume 49, Edição 5, julho de 2011, páginas 495–499, <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.541949>.
- ÁLVARES, Cassiana Aparecida; SVIDZINSKI, Terezinha Inez Estivalet; CONSOLARO, Márcia Edilaine Lopes. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 43, n. 5, p. 319-327, out. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442007000500004>.
- ÁLVAREZ-MOSQUERA, Irene; HERNÁEZ, Silvia; SÁNCHEZ, Juan; SUÁREZ, Maria Dolores; CISTERNA, Ramón. Diagnosis of Superficial Mycoses by a Rapid and Effective PCR Method from Samples of Scales, Nails and Hair. *Mycopathologia*, [S.L.], v. 183, n. 5, p. 777-783, 9 ago. 2018. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s11046-018-0290-5>.
- AMEEN, M. et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of onychomycosis 2014. **British Journal of Dermatology**, v. 171, n. 5, p. 937–958, 19 nov. 2014.
- ANTUNES, Danielle Novais. **Onicomicoses por fungos emergentes**. 2013. 49 f. Monografia (Especialização) - Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Microbiologia Aplicada As Ciências da Saúde, Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- BARAN, R; A KAOUKHOV,. Topical antifungal drugs for the treatment of onychomycosis: an overview of current strategies for monotherapy and combination therapy. **Journal Of The European Academy Of Dermatology And Venereology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 21-29, jan. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2004.00988.x>.
- BRASCH, Jochen. Var. *raubitschekii* of *Trichophyton rubrum* as a cause of tinea in Germany. **Mycoses**, [S.L.], v. 50, n. 2, p. 2-5, 2 ago. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01423.x>.
- BRUNA, Maria Helena Varella. Unha. **Drauzio Varella**, 2019. Disponível em: <https://drauziovarella.uol.com.br/corpo-humano/unha/>. Acesso em: 23/09/2023
- DOS SANTOS, J. I; et al. Diagnóstico laboratorial das dermatofitoses Dermatophitosis'

laboratorial diagnosis. **RBAC**, v. 34, n. 1, p. 3–6, 2002

ELSAYED, Mustafa M.A.. Development of topical therapeutics for management of onychomycosis and other nail disorders: a pharmaceutical perspective. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 199, p. 132-144, fev. 2015. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.11.017>.

FAERGEMANN, J.; BARAN, R.. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis. **British Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 149, n. 65, p. 1-4, set. 2003. Oxford University Press (OUP).

FUNTYL: Cloridrato de terbinafina. [bula de medicamento]. Responsável técnico Dr. Joaquim A. dos Reis. Itapira: **CRISTÁLIA - Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.**; 2023.

GÁCSEK, Attila; SCHÄFER, Wilhelm; NOSANCHUK, Jerome S.; SALOMON, Siegfried; NOSANCHUK, Joshua D.. Virulence of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* in reconstituted human tissue models. **Fungal Genetics And Biology**, [S.L.], v. 44, n. 12, p. 1336-1341, dez. 2007. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2007.02.002>.

GÓMEZ-MOLERO, Emilia; DE-LA-PINTA, Iker; FERNÁNDEZ-PEREIRA, Jordan; GROß, Uwe; WEIG, Michael; QUINDÓS, Guillermo; GROOT, Piet W. J. de; BADER, Oliver. *Candida parapsilosis* Colony Morphotype Forecasts Biofilm Formation of Clinical Isolates. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 33, 7 jan. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/jof7010033>.

GUPTA, Aditya K.; MAYS, Rachel R.. The Impact of Onychomycosis on Quality of Life: a systematic review of the available literature. **Skin Appendage Disorders**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 208-216, 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000485632>.

GUPTA, Aditya K.; TU, Linh Q.. Therapies for Onychomycosis: a review. **Dermatologic Clinics**, [S.L.], v. 24, n. 3, p. 375-379, jul. 2006. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.det.2006.03.010>.

IOANNIDOU, Dj; MARAKI, S; KRASAGAKIS, Sk; A TOSCA,; TSELENTIS, Y. The epidemiology of onychomycoses in Crete, Greece, between 1992 and 2001. **Journal Of The European Academy Of Dermatology And Venereology**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 170-174, fev. 2006. Wiley.

LIPNER, Shari R.; SCHER, Richard K.. Onychomycosis. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 80, n. 4, p. 853-867, abr. 2019. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2018.05.1260>.

LOPES, J.P. et al. Opportunistic pathogen *Candida albicans* elicits a temporal response in primary human mast cells. **Sci. Rep.** 5, 12287; doi: 10.1038/srep12287 (2015).

MAGALHÃES, Geraldo Magela; SUCCI, Isabel Cristina Brasil; SOUSA, Maria Auxiliadora Jeunon. Subsídios para o estudo histopatológico das lesões ungueais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 78, n. 1, p. 49-61, fev. 2003. FapUNIFESP (SciELO).

<http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962003000100005>.

MARTINS, Edna Alves; GUERRER, Leticia Vieira; CUNHA, Keith Cássia; SOARES, Márcia Maria Costa Nunes; ALMEIDA, Margarete Teresa Gottardo de. Onicomicose: estudo clínico, epidemiológico e micológico no município de são josé do rio preto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, [S.L.], v. 40, n. 5, p. 596-598, out. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822007000500022>.

MORRIS-JONES, Rachael; GOMEZ, Beatriz L.; DIEZ, Soraya; URAN, Martha; Stephen D.; CASADEVALL, Arturo; NOSANCHUK, Joshua D.; HAMILTON, Andrew J.. Synthesis of Melanin Pigment by *Candida albicans* In Vitro and during Infection. *Infection And Immunity*, [S.L.], v. 73, n. 9, p. 6147-6150, set. 2005. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.73.9.6147-6150.2005>.

MUKHERJEE, Pranab K.; LEIDICH, Steven D.; ISHAM, Nancy; LEITNER, Ingrid; RYDER, Neil S.; GHANNOUM, Mahmoud A.. Clinical *Trichophyton rubrum* Strain Exhibiting Primary Resistance to Terbinafine. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 82-86, jan. 2003. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.47.1.82-86.2003>.

PEREIRA, Fillipe de Oliveira. **Antifungal activity of the essential oil of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor on dermatophytes of the genus *Trichophyton***. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

PEREIRA, Fillipe de Oliveira. **Investigation of the mechanism of antifungal activity of monoterpenes against strains of *Trichophyton rubrum***. 2012. 181 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

PERUSINHA, C. Galhardas; ROSADO, C.; LENCASTRE, A.. Novos Avanços no Tratamento da Onicomicose. *Journal Of The Portuguese Society Of Dermatology And Venereology*, [S.L.], v. 77, n. 3, p. 239-243, 10 out. 2019. Portuguese Society of Dermatology and Venereology.

PIMENTA, Camila de Almeida Perez. **Desenvolvimento e avaliação de desempenho de formulações ungueais à base de terbinafina**. 2022. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S.. Evaluation of Broth Microdilution Antifungal Susceptibility Testing Conditions for *Trichophyton rubrum*. *Journal Of Clinical Microbiology*, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 1917-1920, abr. 2005. American Society for Microbiology.

SCHALKA, Sergio; NUNES, Samanta; GOMES NETO, Antonio. Comparative clinical evaluation of efficacy and safety of a formulation containing ciclopirox 8% in the form of a therapeutic nail lacquer in two different posologies for the treatment of onychomycosis of the toes. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, [S.L.], v. 87, n. 1, p. 19-25, fev. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962012000100002>.

SEGAL R, et al. Treatment of Candida nail infection with terbinafine. **J Am Acad Dermatol**. 1996 Dec;35(6):958-61. doi: 10.1016/s0190-9622(96)90120-6.

SILVA, Juliana Leal Monteiro da; DOIMO, Gabriela; FARIA, Daniele Pedroso. Uso de ondas de alta frequência no tratamento de onicomicose: comunicação preliminar de três casos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 86, n. 3, p. 598-600, jun. 2011.

SILVA, Sofia Teixeira e. **Alterações ungueais**. 2014. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Egas Moniz School Of Health And Science, Portugal, 2014.

SINGAL, Archana; KHANNA, Deepshikha. Onychomycosis: diagnosis and management. **Indian Journal Of Dermatology, Venereology, And Leprology**, [S.L.], v. 77, n. 6, p. 659, 2011. Scientific Scholar. <http://dx.doi.org/10.4103/0378-6323.86475>.

SMYTHE, Bell et al. Candida como agente causal de onicomicosis en pies. **Dermatol. Venez**, Venezuela, v. 1, n. 42, p. 25-29, jul. 2004.

SOMENZI, Carlos César et al. Características Particulares da Micologia Clínica e o Diagnóstico Laboratorial de Micoses Superficiais. **NewsLab**, Belo Horizonte, v. 77, n. 2, p. 106-118, set. 2006.

SOUZA, L. W. F.; SOUZA, S. V. T.; BOTELHO, A. C. C. Endonyx toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye. **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v.88, n.6, Rio de Janeiro, 2013. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20132180>

TÄUBER, A.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. In vitro permeation and penetration of ciclopirox olamine from poloxamer 407-based formulations - Comparison of isolated human stratum corneum, bovine hoof plates and keratin films. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 489, n. 1-2, p. 73-82, 15 jul. 2015.

THATAI, P.; SAPRA, B. Transungual Gel of Terbinafine Hydrochloride for the Management of Onychomycosis: Formulation, Optimization, and Evaluation. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, n. 6, p. 2316-2328, 23 ago. 2017.

THOMAS, J. et al. REVIEW ARTICLE: toenail onychomycosis. **Journal Of Clinical Pharmacy And Therapeutics**, [S.L.], v. 35, n. 5, p. 497-519, 13 set. 2010. **Hindawi Limited**. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2710.2009.01107.x>.

TORRES, B. F. **Sensibilidade antifúngica de los dermatofitos**. 2005. Tese de doutorado. Universidade Rovira i Virgili, Reus (Espanha)