



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

"*Candida*-associated denture stomatitis - the molecular mechanisms in response to antimicrobial therapy"

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:
Estevam Nascimento Mariano

Viseu, 2024



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

**"*Candida*-associated denture stomatitis -
the molecular mechanisms in response to
antimicrobial therapy"**

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Estevam Nascimento Mariano

Orientador:

Professora Doutora Ana Sofia Duarte

Coorientador: Professora Doutora Patrícia Fonseca

Professora Doutora Raquel Silva

Viseu, 2024

Membros do Júri das Provas Públicas

Presidente: Prof. Doutor Luis Silvas Santos

Arguente: Prof. Doutora Isabel Miranda

Orientador: Prof. Doutora Ana Sofia Duarte

Data das provas públicas: 25 / 07 / 2024

Validação e confirmação pelos serviços
escolares:

“O que conta na vida não é o ponto de partida, mas sim a jornada. Caminhando e semeando, no final você terá o que colher”
Cora Coralina

Dedico a Família

Agradecimentos

Gostaria de iniciar expressando a minha profunda gratidão à minha orientadora, Prof.^a Doutora Ana Sofia Duarte, cujo apoio e profissionalismo foram cruciais ao longo desta jornada. A sua orientação e dedicação permitiram-me alcançar os objetivos propostos com confiança e clareza.

À Prof.^a Doutora Patrícia Fonseca e Prof.^a Doutora Raquel Silva, minhas coorientadoras, agradeço pela constante motivação e pelo auxílio fornecido durante o desenvolvimento deste trabalho. A sua cooperação foi fundamental para a realização deste trabalho.

Aos meus pais e aos meus avós, tenho o mais profundo agradecimento e reconhecimento. Durante essa jornada, apesar da distância, foram parte fundamental em todo o processo, sempre me apoiando com todo carinho, amor e dedicação.

Aos meus irmãos, expresso a minha sincera gratidão pelo amor e apoio inestimáveis. A sua presença foi fundamental para a concretização dos meus objetivos.

Por fim, agradeço a todos os meus amigos que sempre me incentivaram e apoiaram nesta jornada académica.

Resumo

Introdução: A candidíase oral, uma infecção fúngica causada principalmente pela *Candida albicans*, apresenta diferentes manifestações clínicas, acometendo a região oral e outras partes do corpo, principalmente em pacientes imunocomprometidos. O diagnóstico dessa infecção deve ser preciso e as opções terapêuticas são fundamentais. Os tratamentos atuais incluem os Azóis, Polienos e Equinocandinas. Porém, a resistência antifúngica, principalmente aos Azóis, tem dificultado o tratamento, evidenciando a importância de novas alternativas terapêuticas.

Materiais e Métodos: A seleção dos artigos para esta revisão sistemática foi realizada de forma independente, seguindo as normas PRISMA e utilizado o modelo PICO, com a finalidade de definir a questão da investigação. Esta pesquisa foi conduzida em março de 2024 nas bases de dados *PubMed/MEDLINE*, *Scopus* e *WebOfScience*, utilizando os termos MeSH. Os critérios de inclusão e exclusão foram definidos a fim de garantir a relevância dos estudos. Os dados foram extraídos e organizados na plataforma Rayyan para seleção e análise dos artigos.

Resultados: Um total de 44 artigos foram selecionados e organizados por ordem alfabética, para coleta de dados gerais como ano de publicação, título e objetivos. Foram avaliadas as prevalências das espécies, da terapêutica e de genes em *C. albicans*, bem como as prevalências da terapêutica e de genes em *C. glabrata* e *C. dubliniensis*.

Objetivos: O objetivo deste estudo foi reunir evidência científica sobre os mecanismos de resistência fúngica, focando nas alterações moleculares associadas à terapias antimicrobianas, avaliando as prevalências destas alterações.

Conclusão: A candidíase oral, atualmente, tem demonstrado um desafio crescente em consequência da capacidade de adquirir resistência dessas espécies de *Candida*. Genes como *Erg11*, *FKS1*, *FKS2*, *MDR1*, *CDR1* e *CDR2* foram descritos como genes relacionados a resistência. Além disso, abordagens terapêuticas como a Terapia Fotodinâmica mediada por curcumumina, Histatina 5, Éster Fenílico do Ácido Cafeico e Tiazuron demonstraram potencial no combate a essas infecções.

Palavras-Chave: Antimicótico, terapia fotodinâmica antimicrobiana, antifúngicos, candidíase, resistência a fármacos.

Abstract

Introduction: Oral candidiasis, a fungal infection caused mainly by *Candida albicans*, has different clinical manifestations, affecting the oral region and other parts of the body, especially in immunocompromised patients. The diagnosis of this infection must be precise and therapeutic options are essential. Current treatments include azoles, polyenes and echinocandins. However, antifungal resistance, especially to azole, has made treatment difficult, highlighting the importance of new therapeutic alternatives.

Materials and Methods: The selection of articles for this systematic review was carried out independently by researchers, following the PRISMA standard and using the PICO model in order to define the research question. This search was conducted in March 2024 in *PubMed/MEDLINE*, *Scopus* and *WebOfScience* databases, using MeSH terms. Inclusion and exclusion criteria were defined in order to guarantee the relevance of the studies. The data was extracted and organized using the Rayyan platform for selection and analysis of the articles.

Results: A total of 44 articles were selected and organized in alphabetical order to collect general data, including the year of publication, title, and objectives. The evaluation focused on the prevalence of species, genes, and therapeutics in *C. albicans*, as well as the prevalence of genes and therapeutics in *C. glabrata* and *C. dubliniensis*.

Objectives: The aim of this study was to gather scientific evidence on the mechanisms of fungal resistance, focusing on the molecular alterations associated with antimicrobial therapies and assessing the prevalence of these alterations.

Conclusion: Oral candidiasis is currently proving to be an increasing challenge because of the ability of the *Candida* species to acquire resistance. Genes such as *Erg11*, *FKS1*, *FKS2*, *MDR1*, *CDR1* and *CDR2* have been described as related to resistance. In addition, therapeutic approaches such Photodynamic Therapy mediated by curcumin, Histatin 5, Caffeic Acid Phenethyl Ester and Tidiiazurin have shown potential in combating these infections.

Keywords: Antimycotic, antimicrobial photodynamic therapy, antifungals, candidiasis, drug resistance.

ÍNDICE

Índice de Tabelas e Figuras.....	XIX
Lista de Siglas, Abreviaturas e Acrónimos.....	XXI
1. Introdução.....	1
1.1 Candidíase oral: manifestações clínicas e diagnóstico.....	3
1.2 Manifestações cutâneas e mucosas da infecção por <i>Candida</i>	3
1.3 Resistência antifúngica, desafios e urgência de soluções inovadoras.	4
1.4 Espécies de <i>Candida</i> e mecanismos de resistência.....	4
1.5 Opções de tratamento de infecções por <i>Candida</i>	5
1.6 Estratégias terapêuticas emergentes e controlo da disseminação....	7
1.7 Desafios atuais e futuros na gestão da candidíase.....	7
2. Objetivos.....	9
3. Materiais e Métodos.....	13
3.1 Questão investigação.....	15
3.2 Estratégias de pesquisa.....	15
3.3 Critérios de pesquisa, de exclusão e seleção de estudos.....	16
3.4 Extração de dados.....	17
4. Resultados.....	19
4.1 Resultados da pesquisa.....	21
4.2 Características dos estudos.....	22
5. Discussão.....	29
6. Conclusão.....	37
7. Bibliografia.....	41
8. Anexos.....	51

Índice de Tabelas e Figuras

FIGURA 1 – Seleção dos artigos.....	15
FIGURA 2 – Fluxograma da seleção dos artigos	16
FIGURA 3 – Prevalência das espécies.....	17
FIGURA 4 – Prevalência da terapêutica em <i>C. albicans</i>	18
FIGURA 5 – Prevalência dos genes identificados em <i>C. albicans</i>	20
FIGURA 6 – Prevalência da terapêutica em <i>C. glabrata</i> e <i>C. dubliniensis</i>	21
FIGURA 7 – Prevalência dos genes identificados em em <i>C. glabrata</i> e <i>C. dubliniensis</i>	22
TABELA 1 – Estratégias de Pesquisa.....	12
TABELA 2 – Resultados da Pesquisa.....	15
TABELA Anexo I – Dados gerais dos artigos incluídos na revisão sistemática..	46
TABELA Anexo II – Terapêuticas e efeitos nos mecanismos moleculares de resistência em <i>C. albicans</i>	50
TABELA Anexo III – Terapêuticas e efeitos nos mecanismos moleculares de resistência em <i>C. glabrata</i> e <i>C. dubliniensis</i>	54

Lista de Siglas, Abreviaturas e Acrónimos

ABC-T – *ATP Binding Cassette Transporter*

ALS3 – *Agglutinin-Like Sequence 3 gene*

CaCDR1 – *Candida Drug Resistance 1 ABC transporter*

CaCDR2 – *Candida Drug Resistance 2 ABC transporter*

CAPE – *Caffeic Acid Phenethyl Ester*

CdMDR1 – *Candida dubliniensis Multidrug Resistance 1*

CDR1 – *Candida Drug Resistance 1*

CDR2 – *Candida Drug Resistance 2*

CgDR1 – *Candida glabrata Drug Resistance 1*

CgDR2 – *Candida glabrata Drug Resistance 2*

CgPDR1 – *Candida glabrata Pleiotropic Drug Resistance 1*

CUR-PDT – *Curcumin-Mediated Photodynamic Therapy*

EFG1 – *EFG1 Gene (Morphological Transition Regulator in Candida albicans)*

ERG11 – *ERG11 Gene (Encodes Lanosterol 14- α -Demethylase Enzyme)*

FKS1 – *FKS1 Gene (Encodes Subunit 1 of β -1,3-Glucan Synthase)*

FKS2 – *FKS2 Gene (Encodes Subunit 2 of β -1,3-Glucan Synthase)*

HWP1 – *HWP1 Gene (Encodes Hyphal Wall Protein 1)*

MDR1 – *Multidrug Resistance 1 Gene*

MeSH – *Medical Subject Headings*

MFS-T – *Major Facilitator Superfamily Transporter*

PC450 – *Cytochrome P450*

PICO – *Population, Intervention, Comparison, Outcome*

PRISMA – *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*

TAC1 – *TAC1 Gene (Transcriptional Activator of Efflux Genes)*

TDZ – *Thidiazuron*

UPC2 – *UPC2 Gene (Transcriptional Regulator of Efflux Genes)*

HIV/AIDS – *Human Immunodeficiency Virus / Acquired Immunodeficiency Syndrome*

1. Introdução

1.1 Candidíase oral: manifestações clínicas e diagnóstico

A candidíase oral, uma infecção fúngica bastante comum, ocorre devido ao crescimento desmedido e desordenado de espécies de *Candida* (*Candida* spp.), sendo a *Candida albicans* (*C. albicans*) a principal responsável conforme indicado por estudos epidemiológicos conduzidos nos Estados Unidos da América, na Europa, e no Médio Oriente. As manifestações clínicas desta patologia são diversas, e elas são classificadas em candidíase oral primária e secundária ^(1,2).

Na forma primária, destacam-se a candidíase pseudomembranosa, eritematosa, hiperplásica, candidíase multifocal crónica (estomatite protética), quelite angular, glossite rombóide ⁽²⁾.

Já na candidíase oral secundária, as lesões, além de acometerem tecidos orais e periorais, incidem também em outras regiões do corpo. Dessa forma, diagnosticar com precisão torna-se essencial e as opções terapêuticas abrangem desde práticas de higiene oral até tratamentos farmacológicos tópicos e sistêmicos ^(1,2).

1.2 Manifestações cutâneas e mucosas da infecção por *Candida*

Além da candidíase oral se poder manifestar cutaneamente, afeta também as mucosas ou órgãos, sendo um resultado do crescimento de diversas espécies de *Candida*. Indivíduos em grupos de risco abrangem desde portadores de HIV/SIDA, pacientes transplantados e até diabéticos. Durante o curso da infecção, os agentes patógenos são capazes de aderir aos recetores e a várias proteínas presentes na matriz extracelular, facilitando assim um aumento de biofilme nos tecidos oral e genital. ^(1,2)

Os sinais e sintomas englobam manchas brancas, prurido, ardor, e por vezes, sangramento. O diagnóstico envolve exame clínico visual, tátil e análise microscópica. Diversos anti-fúngicos têm como alvos distintas vias biossintéticas do patógeno, como Equinocandinas, Azóis (ex.: Fluconazol; Voriconazol; Posaconazol; Isavuconazol; itraconazol; Cetaconazol), Polienos e 5-flucitosina ⁽³⁻⁷⁾.

1.3 Resistência antifúngica: desafios e urgência de soluções inovadoras

A inquietação quanto à resistência a esses tratamentos, especialmente aos Azóis, evidencia a urgência de abordagens terapêuticas inovadoras. Estas espécies de *Candida*, que fazem parte integrante da flora normal humana, ou seja, comensais, residem tanto na pele quanto nos tratos gastrointestinal e genital. Entretanto, em pacientes mais suscetíveis, como os idosos, os imunocomprometidos e os hospitalizados, a *Candida* poderá desencadear uma infecção ⁽¹⁾.

A invasão do organismo por este agente patogénico é uma das infecções fúngicas mais prevalentes globalmente ^(7,8). A candidíase representa um desafio significativo para a saúde pública e para os profissionais da área da saúde. Este fungo, um comensal benigno da microbiota humana, age como um agente patógeno oportunista quando as condições são propícias à sua proliferação ⁽⁴⁾.

1.4 Espécies de *Candida* e mecanismos de resistência

Entre as distintas espécies de *Candida*, a *Candida albicans* é a mais frequentemente isolada (37%) em amostras clínicas. Seguida por espécies não *albicans*, como a *Candida glabrata* (27%), a *Candida parapsilosis* (14%), a *Candida tropicalis* (8%), a *Candida krusei* (2%), *Candida dubliniensis* (2%) e *Candida lusitanae* (2%) ⁽⁴⁾.

A maior prevalência de *C. albicans* justifica-se pelas suas características, que incluem um elevado grau de virulência e uma grande capacidade de aderência comparativamente com às outras espécies. Este fungo é dimórfico, ou seja, dependendo das condições ambientais pode adotar a forma de levedura ou de hifa ⁽⁴⁾.

Dentre os antifúngicos, são de eleição os medicamentos da classe dos Azóis, como o fluconazol, o itraconazol e o cetoconazol. No entanto, a resistência a estes medicamentos tem sido amplamente documentada, comprometendo a eficácia dos tratamentos convencionais ⁽³⁾. Esta resistência, em muito dos casos, é agravada em populações de risco como é o caso de pacientes imunocomprometidos, em terapia antibiótica de amplo espectro, ou mesmo diabéticos ^(3,9).

A maioria das doenças causadas pelas diversas espécies de *Candida*, é decorrente da formação de biofilme - muitas das células que o compõem são geneticamente resistentes à anfotericina b e ao fluconazol ⁽¹⁰⁾. Além disso, a formação de biofilmes fúngicos é um fator agravante na recorrência das infecções crônicas e na resistência, pois a sua matriz celular restringe a penetração dos agentes antifúngicos. Dessa maneira, estudos demonstraram que os agentes antifúngicos se difundem muito lentamente através destes biofilmes mistos, favorecendo o crescimento dos fungos ⁽¹¹⁾.

A resistência antifúngica pode ser resultado de diversos meios adaptativos das diferentes espécies de *Candida*. Estes mecanismos incluem alterações genéticas que conferem resistência, bem como a aquisição dela através da contínua exposição a antifúngicos. Mutações nos genes reguladores da expressão de bombas de efluxo e alvos específicos dos fármacos, como as enzimas ligadas à síntese de ergosterol, têm sido associadas a resistência ^(3, 9).

Dessa forma, nota-se que a falha terapêutica se deve a diversos fatores, como a condição imunológica, a biodisponibilidade, os baixos níveis de células CD4+, a formação de biofilme, a farmacocinética dos medicamentos, e a plasticidade celular⁽¹¹⁾.

A resistência adquirida por diferentes isolados de *C. albicans*, pode ocorrer devido à expressão aumentada de bombas de efluxo, que são transportadores de membrana codificados por exemplo pela expressão de genes *CaCDR1* e *CaCDR2*, detetadas em *C. albicans* resistentes a Azóis. O uso contínuo de Azóis, como o fluconazol, pode levar à resistência, sendo a enzima Erg11 relacionada com essa resistência. Essa enzima do citocromo P450 regula uma etapa na via biosintética do ergosterol, ou seja, níveis de ergosterol diminuem quando Erg11 é inibido pelos Azóis (ex.: *C. albicans* resistentes a Azóis podem apresentar a expressão do gene *CaErg11* aumentada). Além disso, a enzima Erg3 também desempenha um papel crucial na resistência dos Azóis, convertendo episterol em ergosta-5,7,24 trienol, durante a biossíntese do ergosterol ^(3,11).

1.5 Opções de tratamento de infecções por *Candida*

Além do correto diagnóstico, o tratamento correto das infecções causadas por espécies de *Candida* também é fundamental para evitar a resistência. Pois,

em algumas espécies, como a *Candida krusei* (*C. krusei*), apresentam resistência natural ao fluconazol.

Dentre as opções de tratamento, temos três principais classes de fármacos antifúngicos que são os Polienos, as Equinocandinas e os Azóis. O mecanismo de ação dos Polienos baseia-se na ligação aos ergosteróis presentes na membrana celular dos fungos. Essa interação conduz à formação de poros na membrana, resultando na lise celular. Além disso, também demonstraram eficácia ao inibir β -1,3 betaglucano, outro componente crucial da parede celular fúngica. As Equinocandinas atuam primariamente inibindo a síntese β -1,3 betaglucano, interferindo na formação da parede celular fúngica.

Os Azóis por sua vez, tem ação na biossíntese do ergosterol, um componente fundamental da membrana celular. Este grupo inibe a enzima Erg11, que é responsável pela cascata de formação do ergosterol, resultando em danos na membrana celular. A inibição desta via metabólica conduz à acumulação de intermediários esteróis tóxicos para a célula fúngica ⁽³⁾.

Porém, atualmente, a primeira linha terapêutica são os triazóis, que inibem a biossíntese do ergosterol, inibindo a enzima Erg11. Quando ocorre a inibição desta enzima, observamos uma atividade fungistática do fármaco. A síntese do ergosterol acontece inicialmente quando o escaleno é convertido pela escaleno epoxidase em epóxido de escaleno, a sua conversão por esta enzima é alvo de diversos antifúngicos para inibir a síntese do ergosterol. Depois, o epóxido de escaleno é convertido em ianosterol ⁽³⁾.

O ianosterol será convertido em zimosterol pela enzima PC450 14 α -desmetilase, que também são alvos de antifúngicos, principalmente dos Azóis. Por sua vez, o zimosterol sofrerá ação da 14 α -redutase e uma isomerização, pela enzima 8,7-isomerase, para ser transformada em ergosterol. A mudança de posição de ligação presente na enzima 14 α -desmetilase, resulta na diminuição da afinidade dos antifúngicos azólicos ou até na perda de eficácia do fármaco. Esta alteração enzimática dá-se por mutação do gene que codifica para a enzima Erg11 ⁽³⁾.

Outro mecanismo de resistência a esses fármacos são as bombas de efluxo, quando um composto azólico se liga ao recetor fúngico, aumentará conseqüentemente, o número de bombas de efluxo, resultando na translocação do medicamento para o exterior da célula ⁽³⁾.

Em *C. albicans*: (Bomba de efluxo → Mdr1p /Tipo de bomba → MFS-T/ Organismo → *C. albicans*); (Bomba efluxo → Cdr1p, Cdr2p/ Tipo de bomba -> ABC-T/ Organismo → *Candida albicans*). Aqui são evidenciados os tipos de bombas que desempenham um papel importante na resistência. Existem as MFS-T (*Major Facilitator Superfamily-Transporter*), que são bombas de efluxo, como a Mdr1p, e as bombas ABC-T (*ATP-Binding Cassete Transporter*), como as Cdr1p e Cdr2p.

1.6 Estratégias terapêuticas emergentes e controle da disseminação

Com a finalidade de solucionar essas adversidades, a investigação está voltada para o desenvolvimento de novos antifúngicos, explorando alvos moleculares distintos dos medicamentos já existentes ⁽⁹⁾.

Medidas preventivas, como a implementação rigorosa de práticas de controle de infecções em âmbito hospitalar, são essenciais para conter a disseminação de estirpes resistentes. Além disso, o diagnóstico rápido e preciso de estirpes resistentes também desempenha um papel crucial na orientação do tratamento, permitindo a adaptação e adesão às estratégias terapêuticas ⁽⁹⁾.

1.7 Desafios atuais e futuros na gestão da candidíase

Diante deste cenário desafiador, a pesquisa clínica e a busca por novas terapêuticas são cruciais para o combate à resistência. Além disso, a compreensão aprofundada dos mecanismos subjacentes à resistência antifúngica e o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos também são importantes para combater o agente patogênico. Dessa forma, assegurando novas abordagens eficazes e sustentáveis no controle dessa infecção fúngica é de elevada relevância clínica ^(5, 9).

Portanto, estudar, analisar e compreender como o mecanismo de resistência acontece e tentar encontrar forma de impedir com que ela se desenvolva, utilizando outros fármacos por exemplo, é de extremo interesse na atualidade ⁽⁹⁾.

Em resumo, a candidíase, especialmente quando associada à *Candida albicans*, continua a desafiar os profissionais de saúde devido à sua prevalência e à crescente resistência antifúngica. A busca por abordagens terapêuticas inovadoras, juntamente com uma gestão cuidadosa da resistência, é fundamental para enfrentar de forma eficaz essa infecção fúngica.

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho é reunir a evidência científica sobre os mecanismos de resistência fúngica, através de uma revisão sistemática da literatura, para compreender a resistência antifúngica, uma preocupação na comunidade médica e científica. Deste modo, é necessário focar nas alterações moleculares associadas às terapias antimicrobianas, avaliando assim a prevalência destas alterações nas várias espécies estudadas.

3. Materiais e Métodos

A seleção dos estudos a incluir nesta revisão sistemática foi realizada por investigadores, de modo independente, de acordo com as normas PRISMA (*Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*), e a questão de investigação foi definida pelo acrónimo PICO (*Population, Intervention, Comparison, Outcome*). Conforme Cochrane Handbook (12), uma revisão sistemática consiste em compilar, unir todas as evidências empíricas das quais cumpram certos critérios específicos de elegibilidade. Essa abordagem é essencial para expor de maneira precisa as questões de pesquisa.

Ao identificar, avaliar e sintetizar os estudos relevantes sobre um tema específico, a revisão sistemática da literatura é considerada um método fiável e preciso. Porém, essa abordagem exige a implementação de estratégias de pesquisa detalhada, visando a redução de viés. Desta forma, será possível qualificar e quantificar os artigos, extrair dados e compilar os resultados de maneira a responder à questão central da investigação. Essa revisão sistemática foi registada na base de dados OSF.

3.1 Questão investigação

A formulação da pergunta desta pesquisa neste estudo adere ao modelo PICO, considerando os seguintes elementos: População (*Candida spp* resistentes), Intervenção (Antimicrobianos no tratamento de estomatite protética), Comparação (*Candida spp* sensíveis) e Resultado (Variação do genótipo).

A questão formulada é “Haverá efeito dos antimicrobianos no genótipo de *Candida spp.* durante o tratamento da Estomatite Protética, quando ocorre uma alteração de fenótipo sensível para fenótipo resistente?”

3.2 Estratégias de pesquisa

Nesta revisão sistemática, foi realizada uma pesquisa em março de 2024, de modo a responder às questões da investigação na *PubMed/MEDLINE*. A pesquisa foi estendida em duas bases de dados adicionais: *Scopus* e *Web of Science*. Após realizar a pesquisa nas referidas bases de dados, os estudos identificados foram registados e formatados no *software Microsoft Excel*.

Foram utilizados os seguintes termos MeSH: “Oral candidiasis”, “Stomatitis”; ”antimicrobial”, “antifungal” e “antimycotic”, utilizando o operador

booleano “OR” entre os termos. Os termos “resistance” e “genes” foram usados, recorrendo ao operador booleano “AND” ente eles. Em seguida, uniram-se os termos MeSH com “AND”, como representado na Tabela 1 (Estratégias de Pesquisa).

Tabela 1: Estratégias de Pesquisa

Pubmed/MEDLINE, Scopus e Web of Science®
Estratégias de pesquisa
(“Oral candidiasis” OR “Stomatitis”) AND resistance AND genes AND (antimicrobial OR antifungal OR antimycotic)

3.3 Critérios de pesquisa exclusão e seleção de estudos

Com base nas perguntas da pesquisa e o foco central da temática deste estudo, foram estabelecidos critérios para inclusão e exclusão de artigos. O objetivo principal é delinear, de maneira precisa, a seleção dos estudos identificados durante a pesquisa.

Critérios de inclusão:

- Artigos que apresentem texto integral;
- Artigos que identifiquem alterações genotípicas relacionadas a resistência antifúngica;
- Artigos em Língua Inglesa e Portuguesa;
- Artigos que identifiquem alvos terapêuticos em potencial;
- Artigos que investigam a eficácia dos antifúngicos nos tratamentos.

Critérios de exclusão:

- Artigos que não avaliam a resistência em espécies de *Candida*;
- Revisões da literatura;
- Artigos que não abordem candidíase oral;
- Publicações que não apresentem resultados sobre resistência a antimicóticos.

3.4 Extração de dados

Os dados essenciais para este estudo foram extraídos dos artigos selecionados para a revisão sistemática e organizados numa tabela usando a ferramenta *online* Rayyan ⁽¹³⁾. Posteriormente, foram analisados elementos como a prevalência da terapêutica e dos genes associados à resistência, particularmente, em *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. dubliniensis*.

4. Resultados

Neste capítulo, são abordados os resultados dos dados recolhidos nos estudos incluídos para esta revisão. Esses dados estão organizados de forma a permitir uma visão clara das informações obtidas em cada estudo, endossando uma revisão sistemática detalhada

4.1 Resultados da pesquisa

A metodologia utilizada seguiu as diretrizes PRISMA, assegurando uma revisão sistemática com o mínimo de viés. Foram selecionadas três bases de dados principais: *PubMed/MEDLINE*, *Web of Science* e *Scopus*, nas quais se extraíram os artigos de acordo com a estratégia de pesquisa (Tabela 2).

Tabela 2: Resultados da pesquisa

Estratégia de Pesquisa	PubMed/ MEDLINE	Scopus	WebOfScience
("Oral candidiasis" OR Stomatitis) AND resistance AND genes AND (antimicrobial OR antifungal OR antimycotic)	267 Artigos	70 artigos	50 artigos

Após a eliminação dos artigos duplicados e triplicados foi realizada a análise dos artigos por meio da leitura dos títulos e resumos, recorrendo à ferramenta *online* Rayyan. Com isso, o processo da pesquisa seguindo a metodologia PRISMA é representado pelo gráfico e pelo fluxograma que se seguem (Figura1 e Figura 2).

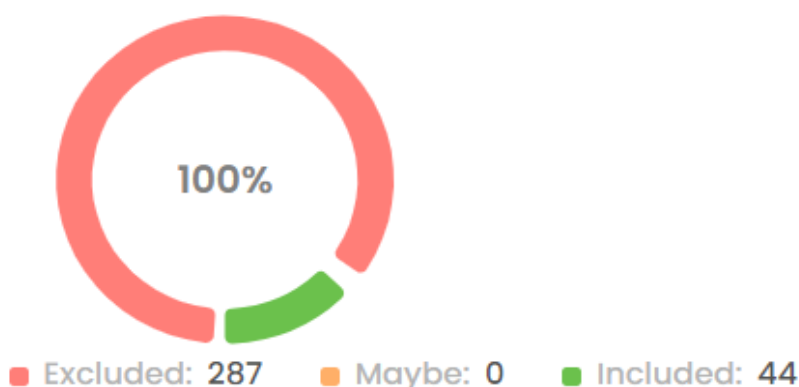


Figura 1: Seleção dos estudos: Artigos incluídos e excluídos ao longo das etapas da revisão sistemática.

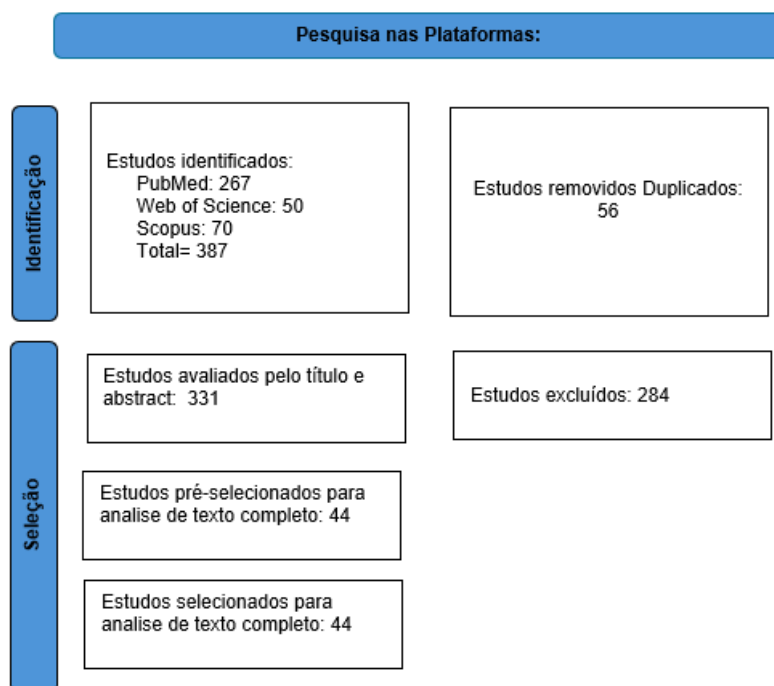


Figura 2: Fluxograma da seleção dos artigos: Processo de exclusão inclusão dos artigos na revisão sistemática, mostrando o número de estudos identificados, excluídos e incluídos em cada etapa

Relativamente a concordância entre os examinadores, foi calculado o coeficiente de *Kappa* com a finalidade de avaliar o processo de seleção dos artigos. Durante a primeira fase de seleção, onde foram realizadas as decisões a partir da leitura do resumo do artigo, o valor *Kappa* foi de 0,77 o que corresponde a um nível moderado de concordância. Na segunda fase, foram resolvidos os conflitos onde foi acordado uma nova triagem onde o valor de *Kappa* foi de 0,92 representando um nível quase perfeito de concordância.

4.2 Características dos estudos

Neste estudo, os artigos científicos incluídos foram organizados por ordem alfabética do nome do título. Foram coletados outros dados gerais, como o ano de publicação, o título do artigo e os objetivos de cada artigo selecionado, que se encontram descritos na Tabela do Anexo I.

Resumidamente, os estudos têm como objetivo investigar os mecanismos moleculares da estomatite protética associados à *Candida* em resposta à terapia antimicrobiana.

Na Figura 3, é representado um gráfico referente à prevalência das espécies analisadas nos estudos. Entre as espécies que na literatura mais

frequentemente são associadas a infecções estão a *Candida albicans*, a mais prevalente, seguida da *Candida glabrata*, da *Candida parapsilosis*, da *Candida tropicalis* e da *Candida dubliniensis*. O gráfico ilustra a prevalência das espécies de *Candida* nos estudos desenvolvidos, mostrando a distribuição de *C. albicans*, de *C. glabrata* e de *C. dubliniensis*. Este gráfico resume os dados de prevalência das espécies de *Candida* nos 44 artigos revistos, enfatizando as diferentes abordagens e os resultados encontrados na literatura atual sobre infecções por *Candida* e a resposta aos tratamentos antimicrobianos.

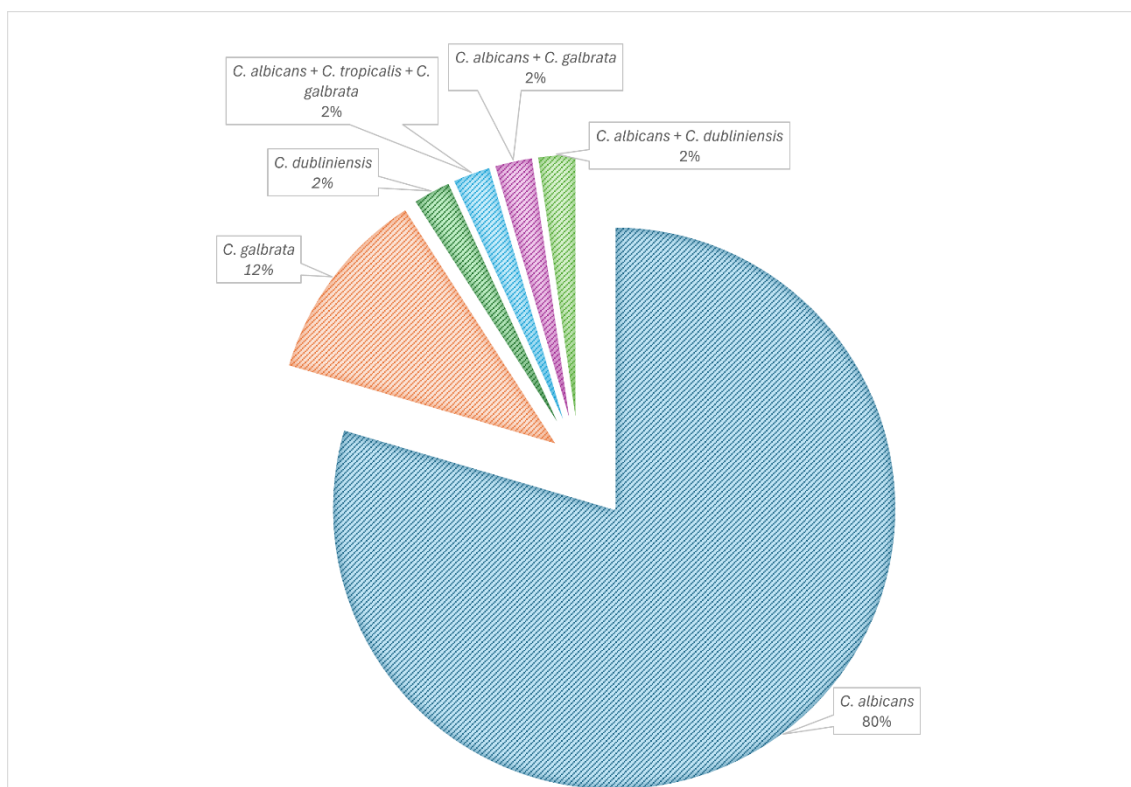


Figura 3: Prevalência das espécies de *Candida* nos artigos analisados

Com os dados apresentados na Tabela do Anexo II, é possível observar uma variedade de abordagens terapêuticas e seus efeitos sobre os mecanismos moleculares que surgem como consequência das terapias utilizadas no tratamento da candidíase, especificamente causada por *Candida albicans*, *Candida glabrata* ou *Candida tropicalis* ou *Candida dubliniensis*. A Tabela em causa evidencia uma série de tratamentos antimicrobianos e como eles influenciam a expressão de diferentes genes relacionados com a resistência antifúngica nas várias espécies. Nesta tabela, estão representadas abordagens terapêuticas, onde é possível constatar que o fluconazol é o fármaco mais frequentemente relacionado com a resistência em *C. albicans*.

A Figura 4 complementa essa análise, mostrando a prevalência das terapias avaliadas. Isto fornece uma representação visual da distribuição das intervenções terapêuticas e a sua relevância no contexto da pesquisa sobre candidíase em *C. albicans*, *C. glabrata* ou *C. tropicalis* ou *Candida dubliniensis*. Juntos, esses oferecem uma compreensão mais completa dos avanços e das lacunas no conhecimento sobre tratamentos para essa condição clínica específica.

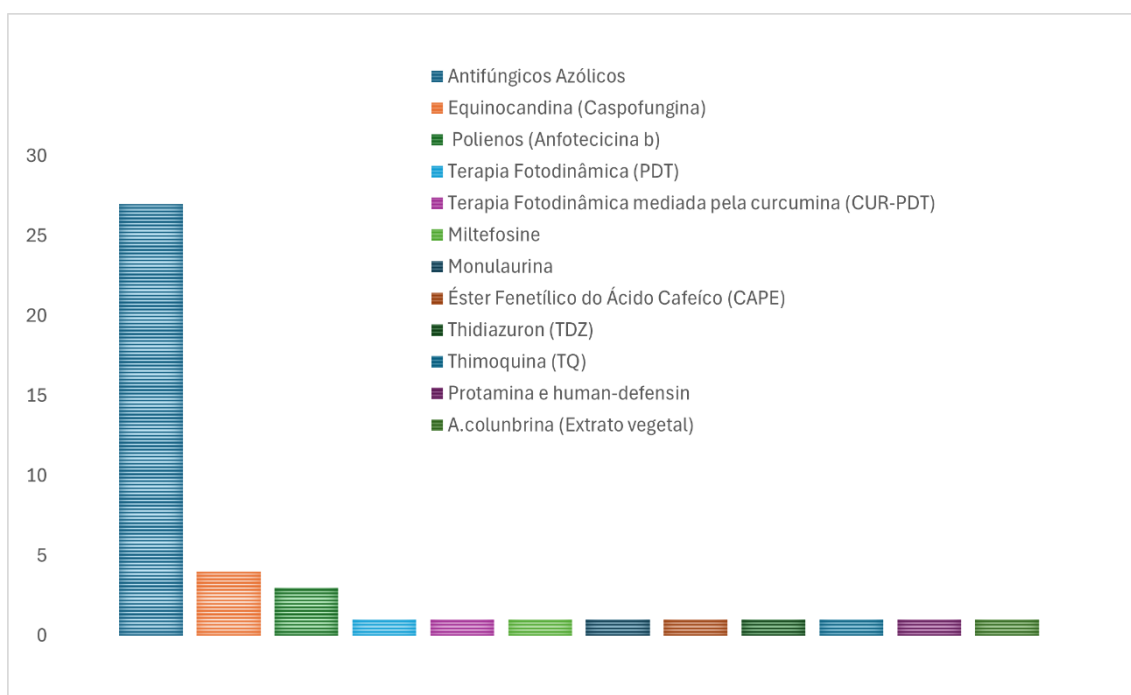


Figura 4: Prevalência das estratégias terapêuticas usadas contra *C. albicans*

A Figura 5 representa a prevalência dos genes identificados nos estudos avaliados, fornecendo uma visão global das frequências relativas a alterações moleculares induzidas pela terapia antimicrobiana. Esta identificação permite uma análise mais detalhada e comparativa das diferentes terapias e os seus impactos nos mecanismos genéticos subjacentes à resistência antifúngica em *C. albicans*, *C. glabrata* ou *C. tropicalis*. Nesta figura, constata-se que os genes *ERG11*, *MDR1* e *CDR1/CDR2* são os mais frequentes relacionados com a resistência.

O gene *ERG11* apresenta a maior frequência entre os genes listados, com 20 ocorrências, dos 38 estudos analisados. Isso indica que o gene *ERG11* é prevalente dentro do conjunto de dados pesquisados. Esta alta frequência

reforça a importante função desempenhada pelo gene no mecanismo de resistência aos antifúngicos em *C.albicans* ⁽¹⁴⁾.

Em seguida, temos os genes *MDR1*, *CDR1* e *CDR2*, com frequências de 17, 17 e 15, respectivamente. Esses genes também são bastante prevalentes, representando um significativo conjunto de dados adquiridos. Suas frequências, embora menores do que a do gene *ERG11*, ainda indicam relevância em relação a outros genes listados ^(15,16).

Os genes *EFG1* e *TAC1* apresentam frequências de 4 cada um. Embora mais baixas em comparação com *ERG11*, *MDR1*, *CDR1* e *CDR2*, ainda são relativamente altas em relação a outros genes da lista. Essa frequência demonstra que esses genes podem desempenhar papéis específicos em processos biológicos relevantes ^(17,18).

Os genes *ALS3*, *HWP1* e *BCR1* têm frequências de 3 cada um. Esses genes, apesar de menos prevalentes do que os mencionados acima, ainda aparecem em ocorrências, o que pode indicar sua importância em contextos específicos ^(18,19).

Prosseguindo, temos uma série de genes com frequências de 2, como *SAP2*, *EAP1*, *UME6*, *ECE1*, *ACC1*, *ADP1*, *SYA1*, *VPS13*, *SAP-1*, *PLB-1* e *SAP5* foram identificados nos estudos ^(17,20,21).

Por último, há uma série de genes com frequências de 1, como *SAP1*, *ADH1*, *HGC1*, *CDRZ*, *DUR3*, *DUR31*, *CgDR1*, *PUP1*, *AAT1*, *MPI*, *ZWF1*, *BENr*, *PAP1*, *PIK1*, *OBP*, *ERK1*, *GLN4*, *RPN2*, *NMT1*, *LYS1*, *ALS1*, *EPA1*, *YWP1*, *BGR1*, *CPH1*, *NDT80*, *ROB1*, *TEC1*, *PBL2*, *LIP9*, *CDR1/CDR2*, *MRR1*, *ALS5*, *ALS7*, *HYR3*, *FGR14*, *FGR28*, *EFH*, *YAK1*, *AXL1*, *ERG3*, *ERG25*, *NRGP1*, *EPA6*, *EPA7*, *CAT1*, *FKS1*, *PIL1*, *YCK2*, *VPS51*, *UEC1*, *ATM1*, *CLP1*, *CDC47* e *LPE10*. Apesar de cada um desses genes tenham frequências menores, o seu papel biológico não deve ser desconsiderado, pois podem selecionar funções específicas em contextos celulares ou fisiológicos, abrindo possibilidades para terapias alternativas ⁽²²⁾.

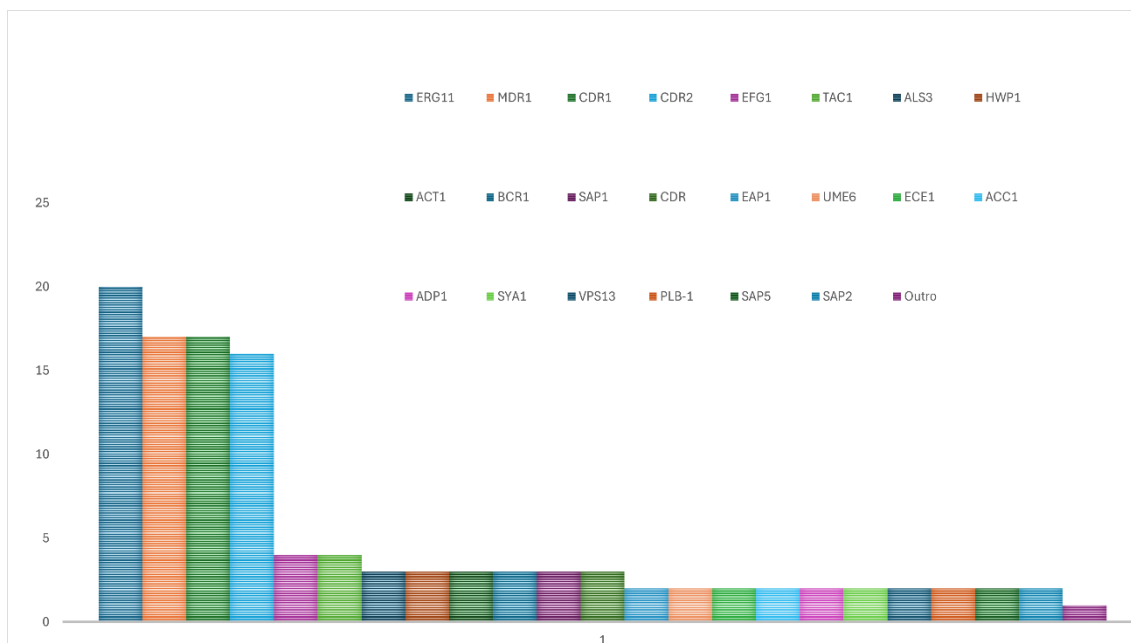


Figura 5: Prevalência dos genes identificados em *C. albicans*: análise das alterações moleculares mais frequentemente descritas nos diversos artigos incluídos na revisão sistemática.

Na Tabela do Anexo III é possível observar a variedade de abordagens terapêuticas e os seus efeitos sobre os mecanismos moleculares envolvidos na candidíase, causada por *C. glabrata* e *C. dubliniensis*. A análise dessas espécies foi feita separadamente devido às diferenças nos mecanismos associados a resistência e a sua prevalência. A tabela evidencia tratamentos e como eles afetam a expressão de diferentes genes relacionados com a resistência antifúngica nesses organismos. Nesta tabela, estão também representadas abordagens terapêuticas onde se pode constatar que o fluconazol é o tratamento antimicrobiano mais prevalente em estudos sobre *C. glabrata* e *C. dubliniensis*.

Complementando estas informações, o gráfico da Figura 6 retrata a prevalência das diferentes terapias estudadas ou avaliadas. Esta representação gráfica oferece uma percepção sobre quais as terapias que têm sido mais exploradas na pesquisa e no tratamento sobre candidíase relacionada em *C. glabrata* e *C. dubliniensis*. Conjuntamente, esses dados fornecem uma visão abrangente das estratégias terapêuticas avaliadas e a sua importância na pesquisa clínica nessas condições.

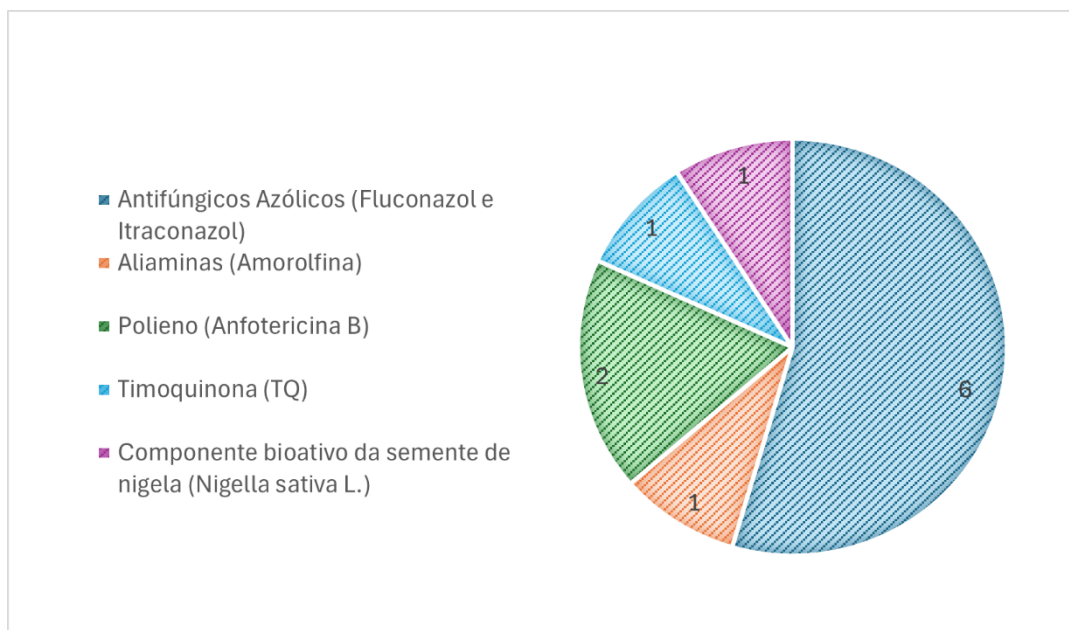


Figura 6: Prevalência das estratégias terapêuticas usadas contra a *C. glabrata* e a *C. dubliniensis*

A Figura 7 apresenta uma visão das alterações moleculares em *C. glabrata* e *C. dubliniensis*, evidenciando as prevalências dos genes identificados. Podemos identificar alguns dos mecanismos relacionados com a resistência antifúngica desses microrganismos. Neste gráfico, constata-se que os genes *CgCDR1/CgCDR2* e *CgPDR1* são os mais frequentemente relacionados com a resistência na *C. glabrata*. Na diversidade de genes representados, todos se referem a situações de alteração da expressão em resposta à terapia antimicrobiana, com exceção dos genes *ERG11* e *CgPDR1* (Anexo II).

O gene *CgCDR1/CgCDR2* apresenta a maior frequência entre os genes listados, com 5 ocorrências, dos 6 estudos analisados. Isso indica que o gene *CgCDR1/CgCDR2* é frequente nos dados pesquisados. Esta alta frequência demonstra a importante função realizada pelo gene no mecanismo de resistência aos antifúngicos na *C. glabrata* ⁽²³⁾.

Em seguida, temos os genes *CgPDR1* e *CgSNQ2*, com frequências de 2 cada um. Esses genes também são bastante prevalentes, representando um conjunto significativo de dados adquiridos. As suas frequências, embora menores do que a do gene *CgCDR1/CgCDR2*, ainda indicam relevância em relação a outros genes listados ⁽²³⁾.

Os genes *PDH1*, *CgERG11*, *CdMDR1*, *CgYOR1*, *CgYBT1*, *CdCdr1*, *CgQDR2*, *CgRTA1*, *ERG11*, *EPA7*, *PDR1*, *KEX2* e *EPA6* apresentam frequências de 1 cada um.



Figura 7: Prevalência dos genes identificados em *C. glabrata* e *C. dubliniensis*.

5. Discussão

As infecções causadas pelo género *Candida* representam um desafio crescente na prática clínica, devido à resistência aos antifúngicos. As espécies mais prevalentes são, por ordem decrescente, a *C. albicans*, a *C. glabrata*, a *C. parapsilosis*, a *C. tropicalis* e a *C. dubliniensis*. Este estudo avalia as alterações moleculares (alterações de expressão de genes e/ou mutações) que contribuem para a resistência antifúngica, ressaltando a importância de compreender esses mecanismos com a finalidade de desenvolver novas estratégias terapêuticas (15,24).

A resistência antifúngica em *Candida* pode surgir rapidamente devido à característica haplóide de algumas espécies, como a *C. glabrata*, possibilitando que uma única mutação recessiva se manifeste fenotipicamente. Em contrapartida, as espécies diplóides podem necessitar de duas cópias do gene mutado para expressar a resistência (25). Este fenómeno evidencia a importância de identificar mutações específicas e de compreender como estas influenciam na resistência antifúngica (20,21,22,23).

A análise realizada neste estudo, permitiu-nos selecionar artigos que avaliassem as propriedades dos mecanismos moleculares relacionados com a resistência antifúngica, através da avaliação de alterações genéticas (mutações) e moleculares (alteração de expressão de genes) em espécies de *Candida*, utilizando diferentes abordagens terapêuticas. Este método permitiu avaliar as evidências sobre os mecanismos relacionados com a resistência antifúngica. Assim, a identificação de mutações e a compreensão das alterações de expressão génica são cruciais para o desenvolvimento de terapias alternativas. Tendo em conta que, nos vários artigos selecionados, foram encontradas algumas estratégias alternativas de terapias antimicrobianas e das alterações moleculares, a discussão seguirá focando nas propostas terapêuticas de primeira linha, como antifúngicos azólicos, equinocandinas e polienos.

Os antifúngicos azólicos têm como mecanismo de ação a inibição da produção de ergosterol por meio da inibição da enzima 14 α -desmetilase, codificada pelo gene *ERG11* (26,27). Essa ação inibe a formação apropriada da membrana celular fúngica, levando à inibição do crescimento e replicação do fungo. Os antifúngicos azólicos podem ser subdivididos em dois grupos: os imidazóis e os triazóis, com esta última categoria, incluindo o fluconazol, o posaconazol, o voriconazol e o itraconazol, representando a segunda geração

desses agentes. Esta classe de antifúngicos é frequentemente utilizada como primeira linha de tratamento devido à sua bio-segurança e à relação custo-benefício. No entanto, a resistência a estes antifúngicos é alarmante pois, está frequentemente associada a mutações no gene *ERG11*. As alterações neste gene podem resultar numa enzima mutada, reduzindo a afinidade dos fármacos azólicos e comprometendo a eficácia do tratamento ^(28,30).

No estudo foram identificadas 20 substituições de aminoácidos na proteína codificada pelo gene *ERG11* em *C. albicans*, cada uma delas com variadas consequências genéticas. Mutações neste gene, tais como Y132H, K128T, D278N, G464S, V437I, G1390A, T1140C, T1203C e A1440G foram observadas. Estas mutações provocam alterações estruturais na enzima 14- α -desmetilase, contribuindo para a resistência aos Azóis. Num dos estudos ⁽¹⁶⁾, foram descritas 5 mutações (D116E, K128T, E266D, V437I, V488I) que não haviam sido descritas até 2013 ^(26,28,29,31,32).

Além disso, a sobreexpressão de genes como *MDR1*, *CDR1* e *CDR2* também está associada à resistência ⁽³³⁾. Estes genes codificam bombas de efluxo que expulsam os antifúngicos das células, consequentemente aumentando a resistência. As mutações nos fatores de transcrição, como *UPC2* e *TAC1*, mencionadas em alguns estudos aumentam a expressão desses genes, contribuindo para o fenótipo de resistência ^(16,27,35).

As Equinocandinas, como a caspofungina, pertencentes a outro grupo de antifúngicos, atuam através da inibição da enzima β -1,3-glucano sintetase, a qual é essencial para a síntese da parede celular dos fungos. A resistência a estes antifúngicos é frequentemente atribuída a mutações nos genes *FKS1* e *FKS2*, que codificam subunidades da β -1,3-glucano sintetase, diminuindo a eficácia das Equinocandinas ⁽³⁶⁾. Mutações específicas, como D116E, G450E e G307S, foram identificadas contribuindo para a resistência ^(10,34).

A resistência às Equinocandinas pode também ser mediada pela sobreexpressão de bombas de efluxo. Alterações na expressão de genes como o *MDR* e o *CDR* resultam na remoção dos fármacos das células fúngicas, reduzindo a sua concentração intracelular e comprometendo a sua eficácia. Por conseguinte, a compreensão destes mecanismos é crucial para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas ^(10,25,32).

Os Polienos, como a anfotericina B, são capazes de se ligarem ao ergosterol na membrana das células fúngicas, resultando na formação de poros e consequentemente lise celular. No entanto, a sua utilização é limitada devido à significativa toxicidade. As mutações em genes como o *ERG11*, o *CAT1*, o *BCR1* e o *EFG1* foram identificadas como potenciais contribuintes para a resistência aos Polienos ^(14,29).

A resistência aos Polienos, embora menos comum, está associada a alterações na via do ergosterol. Mutações em genes como *ERG3* e *ERG5* resultam em modificações na biossíntese do ergosterol, reduzindo a afinidade dos Polienos e promovendo resistência ⁽²⁰⁾.

Da análise das frequências dos genes (Figura 4 e Figura 6), é possível observar uma ampla variedade de prevalências, diminuindo a diversidade de funções e importâncias biológicas desses genes dentro do contexto estudado. Esta análise fornece uma visão abrangente da distribuição dos genes dentro do conjunto de dados desenvolvidos, gerando esclarecimentos importantes para pesquisas futuras sobre expressão gênica e regulação biológica. Deste modo, iremos abordar a importância e a função dos genes mais prevalentes.

No contexto de *C. albicans*, e como referido anteriormente, os genes *CDR1* e *CDR2* codificam bombas de efluxo que removem os antifúngicos das células fúngicas, contribuindo para a resistência. As mutações nos reguladores da transcrição, como *UPC2* e *TAC1*, aumentam a expressão dos genes de efluxo, promovendo o fenótipo resistente ⁽³⁶⁾. A sobreexpressão destes genes é um mecanismo comum de resistência na *C. albicans*. A resistência mediada por *CDR1* e *CDR2* é um desafio significativo no tratamento de infecções fúngicas. A capacidade da *C. albicans* de bombear eficientemente os antifúngicos, leva a tratamentos menos eficazes e a uma crescente taxa de falha terapêutica. Como consequência, o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas que sejam capazes de inibir a função dessas bombas de efluxo ou evitar sua superexpressão torna-se indispensável ^(2,3).

O gene *MDR1* tem a função de codificar uma bomba de efluxo pertencente à família *ATP-Binding Cassette* (ABC), que utiliza a energia da hidrólise do ATP, transportando substâncias tóxicas para fora da célula fúngica. A sobreexpressão deste gene pode reduzir a eficácia dos antifúngicos azólicos, contribuindo para a resistência. Geralmente, a resistência e a mutação estão relacionadas com a

alta exposição aos antifúngicos azólicos por grandes períodos. Levando assim a uma adaptação e resistência adquirida das células fúngicas (22,29).

O gene *EFG1* regula a transição morfológica (levedura para hifa) da *C. albicans*, influenciando a adesão, a formação de biofilme e a resistência antifúngica (29,37). A regulação da expressão de genes como o *CDR1*, o *CDR2*, o *FKS1* e o *ALS3* por *EFG1* pode aumentar a resistência, destacando a importância deste gene na virulência fúngica. Por exemplo, o gene *EFG1* pode induzir a expressão de bombas de efluxo (*CDR1/CDR2*), que são proteínas responsáveis por bombear o antifúngico para fora das células. Também regula a expressão de genes (*FKS1* e *ALS3*) envolvidos na modificação dos componentes da parede celular fúngica, tornando menos suscetíveis às terapias (14,20,38).

O gene *TAC1* ativa a regulação da transcrição de genes que codificam bombas de efluxo, como *CDR1* e *CDR2* (39). A sobreexpressão de *TAC1* pode aumentar ainda mais a produção destes genes, contribuindo para a resistência antifúngica da *C. albicans* (35).

O gene *ALS3* codifica uma proteína de adesão que é crucial para a virulência dos fungos. Apesar de não estar relacionada diretamente com a resistência antifúngica, a *ALS3* contribuiu para a adesão às células hospedeiras e a formação de biofilmes, o que pode proteger as células fúngicas de ambientes adversos, incluindo na presença de antifúngicos (16,40).

A resistência associada aos biofilmes é um desafio no tratamento de infecções causadas por *C. albicans*.

A formação de biofilme é uma importante estratégia de resistência observada em espécies de *Candida*. Genes, como o *HWP1* e o *ALS3*, são fundamentais para a adesão e a formação de biofilme, fornecendo uma barreira física contra os antifúngicos, protegendo as células fúngicas (32,40).

Os biofilmes são frequentemente encontrados em dispositivos médicos, como próteses dentárias, onde podem ser uma fonte persistente de infecção. Devido à sua resistência aumentada, as infecções relacionadas aos biofilmes são mais difíceis de tratar e empregam abordagens terapêuticas mais agressivas e prolongadas. Dessa forma, como descritos nos estudos como potenciais terapêuticos o Estér Fenillico de Ácido Cafeíco (CAPE) e o Thidiazuron pois o

gene *ALS3* foi subexpresso, fazendo com que a célula fúngica não conseguisse ter a correta adesão para a criação do biofilme. A resistência a esta nova abordagem não foi detetada ^(11,40,41).

O gene *HWP1* codifica uma proteína de adesão essencial para a formação de biofilme em *C. albicans*. A sobreexpressão da *HWP1* pode contribuir para a resistência, tornando-o um alvo importante para estratégias terapêuticas, como foram descritos nos estudos sobre os potenciais terapêuticos o Estér Fenílico de Ácido Cafeíco (CAPE) e o Thidiazurom, uma vez que o gene *HWP1* foi subexpresso, sem que tenha sido expressa resistência e esta nova abordagem.

Embora o gene *HWP1* não esteja envolvido diretamente na resistência a antifúngicos através de mecanismos como efluxo de fármacos, a sua função na adesão e formação de biofilmes é crucial para a resistência indireta. Por isso, o *HWP1* é um alvo importante para estratégias terapêuticas que visam prevenir a formação de biofilmes ou romper biofilmes já formados, melhorando assim a eficácia dos tratamentos antifúngicos ^(41,42).

A resistência na *C. glabrata* tem emergido em ambiente clínico em que a resistência antifúngica é frequentemente mediada pela sobreexpressão de bombas de efluxo e mutações pontuais em genes alvo ^(41,42). A prevalência de mutações no gene *CgPDR1* é um exemplo, uma vez que regula a expressão de múltiplos genes de efluxo, aumentando a resistência. Com isso, mutações no gene *CgPDR1* identificadas resultam na substituição dos aminoácidos S391L, F575L, N764I, R772I e G943S. Além disso, os genes *CgSNQ2*, *CgCDR1/CgCDR2* e *PDH1* também foram frequentemente descritos, muitas vezes em sobreexpressão ^(43,44).

Na *C. dubliniensis*, a resistência antifúngica é também mediada pela sobreexpressão de genes de efluxo e mutações em genes alvo. Porém, a mutação mais prevalente foi no gene *CdMDR1*, que regula a expressão de genes de efluxo, aumentando a resistência por meio de substituições nos aminoácidos D32G, T68S, A105, T307I e E415K. Além disso, o gene *CdCDR1/CgCDR2* foi descrito em sobreexpressão, conferindo a resistência ⁽³⁰⁾.

A resistência antifúngica é um desafio na prática clínica, devido à capacidade das espécies de *Candida* desenvolverem rapidamente mecanismos moleculares de adaptação à presença de fármacos. A identificação de mutações

específicas e a compreensão das alterações na expressão gênica são fundamentais para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

As novas estratégias terapêuticas devem focar-se na inibição da função das bombas de efluxo, na capacidade de formação de biofilmes ou na prevenção da sobreexpressão dos genes de resistência. A monitorização da expressão destes genes como o da expressão de *CDR1* e *CDR2* em isolados clínicos pode ajudar a prever a resistência aos antifúngicos e orientar as escolhas de tratamento ^(18,19).

A identificação de novas mutações e o entendimento das alterações génicas envolvidas também podem levar ao desenvolvimento de terapias mais eficazes.

A fim de combater a resistência, novas estratégias terapêuticas estão a surgir, incluindo Terapia Fotodinâmica Mediada por Curcumina (CUR-PDT) ⁽⁴⁵⁾, Histatina 5 ⁽⁴⁶⁾, Éster Fenílico do Ácido Cafeico (CAPE) ⁽⁴⁷⁾ e Tidiazuron (TDZ) ⁽⁴⁰⁾. Estas abordagens demonstraram potencial ao reduzir a expressão de genes envolvidos na resistência e na formação de biofilme, que, como referido, são essenciais para a virulência das células fúngicas.

A subexpressão de genes como *EFG1*, *HWP1*, *ALS1* e *ALS3* sugere que essas terapias têm a eficácia em inibir a adesão e a capacidade de resistência das células fúngicas, suportando a pesquisa por terapias alternativas para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes.

Como referido anteriormente, um mecanismo de resistência aos medicamentos na *C. albicans* é a regulação positiva de genes que codificam o efluxo bombas que expulsam compostos tóxicos para fora da célula. O gene *MDR1* é um mediador da resistência ao fluconazol e outros compostos tóxicos em *C. albicans* ^(22,29).

Dessa maneira, a Terapia Fotodinâmica inibiu a expressão do gene *MDR1*, podendo contribuir para impedir a barreira do biofilme função e reduzindo assim a resistência aos medicamentos. Esta terapia pode interagir com componentes nas superfícies celulares e regular a expressão desses genes, regulando negativamente a expressão de genes associados com a adesão (*ALS3*, *EAP1* e *HWP1*), invasão (*SAP1* e *SAP2*) e resistência a medicamentos (*MDR1*) de *C. albicans*, que poderiam, em conjunto, inibir ainda mais a formação de biofilmes ⁽²⁴⁾.

6. Conclusão

Na atual conjuntura, as infecções causadas pelo gênero *Candida* representam uma adversidade crescente devido à rápida capacidade e potencial de adquirir resistência.

Neste estudo, foram destacadas as principais mutações e alterações de expressão que contribuíram para a resistência em *Candida*. Genes como *ERG11*, *FKS1*, *FKS2*, *MDR1*, *CDR1* e *CDR2* estão intimamente relacionados com a resistência. Uma melhor compreensão das alterações moleculares nestes e noutros genes torna-se fulcral para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas.

Este estudo permitiu concluir que abordagens terapêuticas como a Terapia Fotodinâmica Mediada por Curcumina (CUR-PDT), Histatina 5, Éster Fenílico do Ácido Cafeico (CAPE) e Tidiazuron (TDZ) demonstraram potencial no combate a essas infecções, reduzindo a expressão de genes envolvidos na resistência e na formação de biofilme.

Esta revisão sistemática permitiu evidenciar que a resistência antifúngica é um problema complexo e multifacetado. Também que, um melhor entendimento sobre os mecanismos moleculares, nomeadamente, a expressão de genes relacionados com a resistência, pode contribuir para monitorização e melhor gestão de terapêuticas.

7. Bibliografia

1. Samaranayake LP, Keung Leung W, Jin L. Oral mucosal fungal infections. *Periodontol* 2000. 2009 Feb;49:39-59
2. Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, Nishimoto AT, Barker KS, Rogers PD. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans* *Candida* Species. *Front Microbiol.* 2017 Jan 12;7:2173. doi: 10.3389/fmicb.2016.02173. PMID: 28127295; PMCID: PMC5226953.
3. Bhattacharya S, Sae-Tia S, Fries BC. Candidiasis and Mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics (Basel).* 2020 Jun 9;9(6):312. doi: 10.3390/antibiotics9060312. PMID: 32526921; PMCID: PMC7345657.
4. Cardoso Bensusan E, Araujo Soares J, Giorgetti L, Antunes de Macêdo-Sales P. *Candida auris*: Multidrug resistance and new treatment strategies . *Rev. Bras. Ciênc. Biomed.* [Internet]. 13º de dezembro de 2022 [citado 24º de janeiro de 2024];3(1):E0682022.
5. Kessler SQS, Lang PM, Dal-Pizzol TS, Montagner F. Resistance profiles to antifungal agents in *Candida albicans* isolated from human oral cavities: systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 2022 Nov;26(11):6479-6489.
6. Qiu J, Roza MP, Colli KG, Dalben YR, Maifrede SB, Valiatti TB, Novo VM, Cayô R, Grão-Velloso TR, Gonçalves SS. *Candida*-associated denture stomatitis: clinical, epidemiological, and microbiological features. *Braz J Microbiol.* 2023 Jun;54(2):841-848. doi: 10.1007/s42770-023-00952-0. Epub 2023 Mar 20. PMID: 36940013; PMCID: PMC10234952.
7. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2012 Mar;36(2):288-305. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x. Epub 2011 Jun 6. PMID: 21569057.
8. Saunus JM, Kazoullis A, Farah CS. Cellular and molecular mechanisms of resistance to oral *Candida albicans* infections. *Front Biosci.* 2008 May 1;13:5345-58. doi: 10.2741/3085. PMID: 18508591.
9. Perlin, D. S., Zhai, B., Hohl, T. M., Gabaldón, T., Lopes Colombo, A., Hoenigl, M., & Arastehfar, A. (2013). *0:00:00 O Comentários*. <https://doi.org/10.1016/Escola>
10. Pristov, K. E., & Ghannoum, M. A. (2019). Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 25, Issue 7, pp. 792–798). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>
11. Fan et. al 2022 Fan F, Liu Y, Liu Y, Lv R, Sun W, Ding W, Cai Y, Li W, Liu X, Qu W. *Candida albicans* biofilms: antifungal resistance, immune evasion, and

- emerging therapeutic strategies. *Int J Antimicrob Agents*. 2022 Nov-Dec;60(5-6):106673.
12. Higgins JPT, Green S (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011. Available from www.handbook.cochrane.org.
 13. Mourad Ouzzani, Hossam Hammady, Zbys Fedorowicz, and Ahmed Elmagarmid. Rayyan — a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews* (2016) 5:210, DOI: 10.1186/s13643-016-0384-4
 14. Chau AS, Mendrick CA, Sabatelli FJ, Loebenberg D, McNicholas PM. Application of real-time quantitative PCR to molecular analysis of *Candida albicans* strains exhibiting reduced susceptibility to azoles. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jun;48(6):2124-31. doi: 10.1128/AAC.48.6.2124-2131.2004. PMID: 15155210; PMCID: PMC415610.
 15. Cowen LE, Sanglard D, Calabrese D, Sirjusingh C, Anderson JB, Kohn LM. Evolution of drug resistance in experimental populations of *Candida albicans*. *J Bacteriol*. 2000 Mar;182(6):1515-22. doi: 10.1128/JB.182.6.1515-1522.2000. PMID: 10692355; PMCID: PMC94447
 16. Salari S, Khosravi AR, Mousavi SA, Nikbakht-Brojeni GH. Mechanisms of resistance to fluconazole in *Candida albicans* clinical isolates from Iranian HIV-infected patients with oropharyngeal candidiasis. *J Mycol Med*. 2016 Mar;26(1):35-41. doi: 10.1016/j.mycmed.2015.10.007. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26627124
 17. Siikala E, Bowyer P, Richardson M, Saxen H, Sanglard D, Rautemaa R. ADH1 expression inversely correlates with CDR1 and CDR2 in *Candida albicans* from chronic oral candidosis in APECED (APS-I) patients. *FEMS Yeast Res*. 2011 Sep;11(6):494-8. doi: 10.1111/j.1567-1364.2011.00739.x. Epub 2011 Jun 16. PMID: 21585651
 18. Aboualigahdari E, Tahmasebi Birgani M, Fatahinia M, Hosseinzadeh M. Transcription Factors of CAT1, EFG1, and BCR1 Are Effective in Persister Cells of *Candida albicans*-Associated HIV-Positive and Chemotherapy Patients. *Front Microbiol*. 2021 Aug 24;12:651221. doi: 10.3389/fmicb.2021.651221. PMID: 34512562; PMCID: PMC8425484.
 19. Ma J, Shi H, Sun H, Li J, Bai Y. Antifungal effect of photodynamic therapy mediated by curcumin on *Candida albicans* biofilms in vitro. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019 Sep;27:280-287. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.06.015. Epub 2019 Jun 21. PMID: 31233886.

20. Marr KA, Lyons CN, Rustad TR, Bowden RA, White TC. Rapid, transient fluconazole resistance in *Candida albicans* is associated with increased mRNA levels of CDR. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998 Oct;42(10):2584-9. doi: 10.1128/AAC.42.10.2584. Erratum in: *Antimicrob Agents Chemother* 1999 Feb;43(2):438. Rustad T [corrected to Rustad TR]. PMID: 9756759; PMCID: PMC105901.
21. Metzgar D, van Belkum A, Field D, Haubrich R, Wills C. Random amplification of polymorphic DNA and microsatellite genotyping of pre- and posttreatment isolates of *Candida* spp. from human immunodeficiency virus-infected patients on different fluconazole regimens. *J Clin Microbiol.* 1998 Aug;36(8):2308-13. doi: 10.1128/JCM.36.8.2308-2313.1998. PMID: 9666011; PMCID: PMC105037.
22. Park H, Liu Y, Solis N, Spotkov J, Hamaker J, Blankenship JR, Yeaman MR, Mitchell AP, Liu H, Filler SG. Transcriptional responses of *Candida albicans* to epithelial and endothelial cells. *Eukaryot Cell.* 2009 Oct;8(10):1498-510. doi: 10.1128/EC.00165-09. Epub 2009 Aug 21. PMID: 19700637; PMCID: PMC2756863
23. Pinjon E, Jackson CJ, Kelly SL, Sanglard D, Moran G, Coleman DC, Sullivan DJ. Reduced azole susceptibility in genotype 3 *Candida dubliniensis* isolates associated with increased CdCDR1 and CdCDR2 expression. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 Apr;49(4):1312-8. doi: 10.1128/AAC.49.4.1312-1318.2005. PMID: 15793103; PMCID: PMC1068639.
24. Wu MY, Xu X, Hu R, Chen Q, Chen L, Yuan Y, Li J, Zhou L, Feng S, Wang L, Chen S, Gu M. A Membrane-Targeted Photosensitizer Prevents Drug Resistance and Induces Immune Response in Treating Candidiasis. *Adv Sci (Weinh).* 2023 Dec;10(35):e2207736. doi: 10.1002/advs.202207736. Epub 2023 Oct 24. PMID: 37875397; PMCID: PMC10724446.
25. Cowen LE, Sanglard D, Calabrese D, Sirjusingh C, Anderson JB, Kohn LM. Evolution of drug resistance in experimental populations of *Candida albicans*. *J Bacteriol.* 2000 Mar;182(6):1515-22. doi: 10.1128/JB.182.6.1515-1522.2000. PMID: 10692355; PMCID: PMC94447
26. Li X, Brown N, Chau AS, López-Ribot JL, Ruesga MT, Quindos G, Mendrick CA, Hare RS, Loebenberg D, DiDomenico B, McNicholas PM. Changes in susceptibility to posaconazole in clinical isolates of *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother.* 2004 Jan;53(1):74-80. doi: 10.1093/jac/dkh027. Epub 2003 Dec 4. PMID: 14657086.
27. Sanglard D, Ischer F, Monod M, Bille J. Cloning of *Candida albicans* genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of CDR2, a new

- multidrug ABC transporter gene. *Microbiology (Reading)*. 1997 Feb;143 (Pt 2):405-416. doi: 10.1099/00221287-143-2-405. PMID: 9043118
28. Martínez M, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, Bachmann SP, Perea S, Ruesga MT, Patterson TF. Heterogeneous mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from an HIV-infected patient on continuous fluconazole therapy for oropharyngeal candidosis. *J Antimicrob Chemother*. 2002 Mar;49(3):515-24. doi: 10.1093/jac/49.3.515. PMID: 11864952.
29. Franz R, Ruhnke M, Morschhäuser J. Molecular aspects of fluconazole resistance development in *Candida albicans*. *Mycoses*. 1999;42(7-8):453-8. doi: 10.1046/j.1439-0507.1999.00498.x. PMID: 10546486.
30. Ma J, Shi H, Sun H, Li J, Bai Y. Antifungal effect of photodynamic therapy mediated by curcumin on *Candida albicans* biofilms in vitro. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019 Sep;27:280-287. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.06.015. Epub 2019 Jun 21. PMID: 31233886.
31. Lopez-Ribot JL, McAtee RK, Lee LN, Kirkpatrick WR, White TC, Sanglard D, Patterson TF. Distinct patterns of gene expression associated with development of fluconazole resistance in serial *Candida albicans* isolates from human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998 Nov;42(11):2932-7. doi: 10.1128/AAC.42.11.2932. PMID: 9797228; PMCID: PMC105968.
32. Bachmann SP, Patterson TF, López-Ribot JL. In vitro activity of caspofungin (MK-0991) against *Candida albicans* clinical isolates displaying different mechanisms of azole resistance. *J Clin Microbiol*. 2002 Jun;40(6):2228-30. doi: 10.1128/JCM.40.6.2228-2230.2002. PMID: 12037093; PMCID: PMC130826
33. Sanglard D, Kuchler K, Ischer F, Pagani JL, Monod M, Bille J. Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995 Nov;39(11):2378-86. doi: 10.1128/AAC.39.11.2378. PMID: 8585712; PMCID: PMC162951.
34. Oliveira Carvalho V, Okay TS, Melhem MS, Walderez Szeszs M, del Negro GM. The new mutation L321F in *Candida albicans* ERG11 gene may be associated with fluconazole resistance. *Rev Iberoam Micol*. 2013 Jul-Sep;30(3):209-12. doi: 10.1016/j.riam.2013.01.001. Epub 2013 Feb 9. PMID: 23402828.
35. Gallè F, Sanguinetti M, Colella G, Di Onofrio V, Torelli R, Rossano F, Liguori G. Oral candidosis: characterization of a sample of recurrent infections and study of resistance determinants. *New Microbiol*. 2011 Oct;34(4):379-89. Epub 2011 Oct 31. PMID: 22143811

36. Martínez M, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, Bachmann SP, Perea S, Ruesga MT, Patterson TF. Heterogeneous mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from an HIV-infected patient on continuous fluconazole therapy for oropharyngeal candidosis. *J Antimicrob Chemother.* 2002 Mar;49(3):515-24. doi: 10.1093/jac/49.3.515. PMID: 11864952.
37. Vasicek EM, Berkow EL, Flowers SA, Barker KS, Rogers PD. UPC2 is universally essential for azole antifungal resistance in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell.* 2014 Jul;13(7):933-46. doi: 10.1128/EC.00221-13. Epub 2014 Mar 21. PMID: 24659578; PMCID: PMC4135735.
38. McManus BA, McGovern E, Moran GP, Healy CM, Nunn J, Fleming P, Costigan C, Sullivan DJ, Coleman DC. Microbiological screening of Irish patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy reveals persistence of *Candida albicans* strains, gradual reduction in susceptibility to azoles, and incidences of clinical signs of oral candidiasis without culture evidence. *J Clin Microbiol.* 2011 May;49(5):1879-89. doi: 10.1128/JCM.00026-11. Epub 2011 Mar 2. PMID: 21367996; PMCID: PMC3122648.
39. Seleem D, Chen E, Benso B, Pardi V, Murata RM. In vitro evaluation of antifungal activity of monolaurin against *Candida albicans* biofilms. *PeerJ.* 2016 Jun 22;4:e2148. doi: 10.7717/peerj.2148. PMID: 27366648; PMCID: PMC4924139
40. Harikrishnan P, Arayambath B, Jayaraman VK, Ekambaram K, Ahmed EA, Senthilkumar P, Ibrahim HM, Sundaresan A, Thirugnanasambantham K. Thidiazuron, a phenyl-urea cytokinin, inhibits ergosterol synthesis and attenuates biofilm formation of *Candida albicans*. *World J Microbiol Biotechnol.* 2022 Sep 17;38(12):224. doi: 10.1007/s11274-022-03410-5. PMID: 36114903
41. Vila TV, Chaturvedi AK, Rozental S, Lopez-Ribot JL. In Vitro Activity of Miltefosine against *Candida albicans* under Planktonic and Biofilm Growth Conditions and In Vivo Efficacy in a Murine Model of Oral Candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Dec;59(12):7611-20. doi: 10.1128/AAC.01890-15. Epub 2015 Sep 28. PMID: 26416861; PMCID: PMC4649157.
42. Tantivitayakul P, Lapidattanakul J, Kaypetch R, Muadcheingka T. Missense mutation in CgPDR1 regulator associated with azole-resistant *Candida glabrata* recovered from Thai oral candidiasis patients. *J Glob Antimicrob Resist.* 2019 Jun;17:221-226. doi: 10.1016/j.jgar.2019.01.006. Epub 2019 Jan 15. PMID: 30658200.
43. Bader O, Schaller M, Klein S, Kukula J, Haack K, Mühlischlegel F, Korting HC, Schäfer W, Hube B. The KEX2 gene of *Candida glabrata* is required for cell

- surface integrity. *Mol Microbiol.* 2001 Sep;41(6):1431-44. doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02614.x. PMID: 11580846.
44. Tsai HF, Sammons LR, Zhang X, Suffis SD, Su Q, Myers TG, Marr KA, Bennett JE. Microarray and molecular analyses of the azole resistance mechanism in *Candida glabrata* oropharyngeal isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Aug;54(8):3308-17. doi: 10.1128/AAC.00535-10. Epub 2010 Jun 14. PMID: 20547810; PMCID: PMC2916311.
 45. Tati S, Jang WS, Li R, Kumar R, Puri S, Edgerton M. Histatin 5 resistance of *Candida glabrata* can be reversed by insertion of *Candida albicans* polyamine transporter-encoding genes *DUR3* and *DUR31*. *PLoS One.* 2013 Apr 22;8(4):e61480. doi: 10.1371/journal.pone.0061480. PMID: 23613860; PMCID: PMC3632557.
 46. de Barros PP, Rossoni RD, Garcia MT, Kaminski VL, Loures FV, Fuchs BB, Mylonakis E, Junqueira JC. The Anti-Biofilm Efficacy of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) *In Vitro* and a Murine Model of Oral Candidiasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021 Aug 2;11:700305. doi: 10.3389/fcimb.2021.700305. PMID: 34408988; PMCID: PMC8366685.
 47. Hatami F, Manifar S, Asghari-Paskiabi F, Bagheri Amiri F, Nojoumi SA, Jahanshiri Z. Molecular mechanisms of azole resistance in *Candida glabrata* isolated from oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients. *Arch Oral Biol.* 2023 Oct;154:105757. doi:
 48. Walsh TJ, Kasai M, Francesconi A, Landsman D, Chanock SJ. New evidence that *Candida albicans* possesses additional ATP-binding cassette MDR-like genes: implications for antifungal azole resistance. *J Med Vet Mycol.* 1997 Mar-Apr;35(2):133-7. PMID: 9147273.
 49. Manoharlal R, Gorantala J, Sharma M, Sanglard D, Prasad R. PAP1 [poly(A) polymerase 1] homozygosity and hyperadenylation are major determinants of increased mRNA stability of *CDR1* in azole-resistant clinical isolates of *Candida albicans*. *Microbiology (Reading).* 2010 Feb;156(Pt 2):313-326. doi: 10.1099/mic.0.035154-0. Epub 2009 Nov 12. PMID: 19910410.
 50. Siikala E, Rautemaa R, Richardson M, Saxen H, Bowyer P, Sanglard D. Persistent *Candida albicans* colonization and molecular mechanisms of azole resistance in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) patients. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Dec;65(12):2505-13. doi: 10.1093/jac/dkq354. Epub 2010 Sep 28. PMID: 20876623.
 51. Maebashi K, Kudoh M, Nishiyama Y, Makimura K, Kamai Y, Uchida K, Yamaguchi H. Proliferation of intracellular structure corresponding to reduced affinity of

- fluconazole for cytochrome P-450 in two low-susceptibility strains of *Candida albicans* isolated from a Japanese AIDS patient. *Microbiol Immunol.* 2003;47(2):117-24. doi: 10.1111/j.1348-0421.2003.tb02794.x. PMID: 12680714.
52. Katirae F, Khalaj V, Khosravi AR, Hajiabdolbaghi M. Sequences type analysis of *Candida albicans* isolates from Iranian human immunodeficiency virus infected patients with oral candidiasis. *Acta Med Iran.* 2014;52(3):187-91. PMID: 24901719.
53. Perepnikhatka V, Fischer FJ, Niimi M, Baker RA, Cannon RD, Wang YK, Sherman F, Rustchenko E. Specific chromosome alterations in fluconazole-resistant mutants of *Candida albicans*. *J Bacteriol.* 1999 Jul;181(13):4041-9. doi: 10.1128/JB.181.13.4041-4049.1999. PMID: 10383973; PMCID: PMC93895.
54. Maheronnaghsh M, Teimoori A, Dehghan P, Fatahinia M. The evaluation of the overexpression of the ERG-11, MDR-1, CDR-1, and CDR-2 genes in fluconazole-resistant *Candida albicans* isolated from Ahvazian cancer patients with oral candidiasis. *J Clin Lab Anal.* 2022 Feb;36(2):e24208. doi: 10.1002/jcla.24208. Epub 2022 Jan 8. PMID: 34997991; PMCID: PMC8842164.
55. Ford CB, Funt JM, Abbey D, Issi L, Guiducci C, Martinez DA, Delorey T, Li BY, White TC, Cuomo C, Rao RP, Berman J, Thompson DA, Regev A. The evolution of drug resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. *Elife.* 2015 Feb 3;4:e00662. doi: 10.7554/eLife.00662. PMID: 25646566; PMCID: PMC4383195.
56. Nouri N, Mohammadi SR, Beardsley J, Aslani P, Ghaffarifar F, Roudbary M, Rodrigues CF. Thymoquinone Antifungal Activity against *Candida glabrata* Oral Isolates from Patients in Intensive Care Units-An In Vitro Study. *Metabolites.* 2023 Apr 21;13(4):580. doi: 10.3390/metabo13040580. PMID: 37110238; PMCID: PMC10143056.
57. Maia CMA, Pasetto S, Nonaka CFW, Costa EMMB, Murata RM. Yeast-Host Interactions: *Anadenanthera colubrina* Modulates Virulence Factors of *C. albicans* and Inflammatory Response *In Vitro*. *Front Pharmacol.* 2021 Jun 8;12:629778. doi: 10.3389/fphar.2021.629778. PMID: 34168555; PMCID: PMC8217765.

8. Anexos

Anexo I: Dados gerais dos artigos incluídos na revisão sistemática: ano de publicação, título e objetivos

Artigo	Referência	Ano	Título	Objetivo
1	24	2023	A Membrane-Targeted Photosensitizer Prevents Drug Resistance and Induces Immune Response in Treating Candidiasis	desenvolver um fotossensibilizador direcionado à membrana para prevenir a resistência a medicamentos e induzir uma resposta imune no tratamento da candidíase promovendo a eliminação eficiente de biofilmes de <i>Candida albicans</i> .
2	17	2011	<i>ADH1</i> expression inversely correlates with <i>CDR1</i> and <i>CDR2</i> in <i>Candida albicans</i> from chronic oral candidosis in APECED (APS-I) patients.	analisar a expressão do gene <i>ADH1</i> em <i>Candida albicans</i> isolada de pacientes com APECED e a resistência aos azóis, especificamente em relação aos genes <i>CDR1</i> e <i>CDR2</i> , que estão ligados à resistência aos azóis.
3	19	2019	Antifungal effect of photodynamic therapy mediated by curcumin on <i>Candida albicans</i> biofilms in vitro	investigar o efeito antifúngico da terapia fotodinâmica (PDT) mediada por curcumina (CUR) em biofilmes de <i>Candida albicans</i> in vitro. O estudo analisa a eficácia do CUR-PDT em biofilmes de <i>C. albicans</i> , incluindo cepas clínicas isoladas de pacientes com HIV e líquen plano oral, e investiga as mudanças genéticas nos genes relacionados ao biofilme após um CUR-PDT.
4	14	2004	Application of real-time quantitative PCR to molecular analysis of <i>Candida albicans</i> strains exhibiting reduced susceptibility to azoles.	investigar os mecanismos de resistência a antifúngicos em <i>C. albicans</i> , especialmente em relação aos azóis, utilizando análises de expressão gênica e identificação de mutações genéticas associadas à resistência.
5	26	2004	Changes in susceptibility to posaconazole in clinical isolates of <i>Candida albicans</i> .	caracterizar os mecanismos moleculares responsáveis pela redução da suscetibilidade aos azóis em isolados clínicos de <i>Candida albicans</i>
6	27	1997	Cloning of <i>Candida albicans</i> genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of <i>CDR2</i> , a new multidrug ABC transporter gene.	investigar o papel do gene <i>CDR2</i> na resistência de <i>Candida albicans</i> a agentes antifúngicos azólicos, como o fluconazol
7	31	1998	Distinct patterns of gene expression associated with development of fluconazole resistance in serial <i>Candida albicans</i> isolated from human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis.	avaliar os padrões de expressão gênica associados ao desenvolvimento de resistência ao fluconazol em isolados sequenciais de <i>Candida albicans</i> encontrados em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana com candidíase orofaríngea.
8	15	2000	Evolution of drug resistance in experimental populations of <i>Candida albicans</i>	determinar o papel da chance na evolução da resistência ao azol em populações experimentais do fungo <i>Candida albicans</i> , onde a mutação era a única fonte de variabilidade genética
9	28	2002	Heterogeneous mechanisms of azole resistance in <i>Candida albicans</i> clinical isolates from an HIV-infec	descrever os mecanismos heterogêneos de resistência ao azol em isolados clínicos de <i>Candida albicans</i> de um paciente infectado pelo HIV em terapia contínua com fluconazol para candidose orofaríngea, investigando o impacto da terapia específica na resistência ao antifúngico.
10	45	2013	Histatin 5 Resistance of <i>Candida glabrata</i> Can Be Reversed by Insertion of <i>Candida albicans</i> Polyamine Transporter-Encoding Genes <i>DUR3</i> and <i>DUR31</i>	Investigar a resistência de <i>Candida glabrata</i> à Histatina 5, uma proteína com atividade antifúngica potente, e explorar os mecanismos subjacentes à baixa captação de Histatina 5 por <i>C. glabrata</i> em comparação com <i>C. albicans</i> .
11	25	2006	<i>Candida albicans</i> strain maintenance, replacement, and microvariation demonstrated by multilocus sequence typing	identificar os mecanismos, como recombinação e conversão gênica, que trazem para essa diversidade genética e enfatizar a importância de sistemas de tipagem para estudos clínicos e

				epidemiológicos relacionados às infecções causadas por <i>Candida albicans</i> .
12	32	2002	In vitro activity of caspofungin (MK-0991) against <i>Candida albicans</i> clinical isolates displaying different mechanisms of azole resistance	relatar a atividade in vitro da caspofungina contra isolados clínicos de <i>Candida albicans</i> , incluindo aqueles resistentes aos azóis, e fornecer evidências de que a caspofungina não é um substrato para transportadores de múltiplas drogas.
13	41	2015	In vitro activity of miltefosine against <i>Candida albicans</i> under planktonic and biofilm growth conditions and in vivo efficacy in a murine model of oral candidiasis	caracterizar a atividade in vitro da Miltefosina contra <i>Candida albicans</i> em condições de crescimento planctônico e de biofilme, além de avaliar a eficácia in vivo em um modelo murino de candidíase oral.
14	39	2016	In vitro evaluation of antifungal activity of monolaurin against <i>Candida albicans</i> biofilms	avaliar a atividade antifúngica da monolaurina contra biofilmes de <i>Candida albicans</i> , bem como investigar seu impacto potencial na expressão de citocinas pró-inflamatórias e enzimas virulentas secretadas por <i>Candida albicans</i> .
15	33	1995	Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in <i>Candida albicans</i> isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters.	investigar os mecanismos de resistência ao fluconazol em cepas de <i>C. albicans</i> isoladas de pacientes com AIDS, com foco nos transportadores multidrogas <i>CDR1</i> e <i>BENr</i> .
16	16	2016	Mechanisms of resistance to fluconazole in <i>Candida albicans</i> clinical isolates from Iranian HIV-infected patients with oropharyngeal candidiasis.	avaliar a expressão dos genes <i>CDR1</i> , <i>CDR2</i> , <i>MDR1</i> e <i>ERG11</i> em isolados clínicos de <i>Candida albicans</i> obtidos de pacientes infectados pelo HIV no Irã para compreender os mecanismos de resistência ao fluconazol.
17	44	2010	Microarray and molecular analyses of the azole resistance mechanism in <i>Candida glabrata</i> oropharyngeal isolates.	Investigar as mutações em <i>CgPDR1</i> e os mecanismos reguladores subjacentes à resistência aos azóis em <i>Candida glabrata</i> , analisando a expressão gênica, mutações genéticas e perfis de resistência em isolados clínicos.
18	38	2011	Microbiological screening of Irish patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy reveals persistence of <i>Candida albicans</i> strains, gradual reduction in susceptibility to azoles, and incidences of clinical signs of oral candidiasis without culture evidence	analisar a situação de <i>Candida</i> oral em pacientes irlandeses com APECED e investigar o impacto da terapia antifúngica intermitente nos padrões de suscetibilidade ao azol dos isolados de <i>Candida</i> .
19	42	2019	Missense mutation in <i>CgPDR1</i> regulator associated with azole-resistant <i>Candida glabrata</i> recovered from Thai oral candidiasis patients	avaliar os perfis de suscetibilidade aos azóis e caracterizar os mecanismos de resistência aos azóis em isolados clínicos de <i>Candida</i> não <i>albicans</i> (NAC) orais.
20	29	1999	Molecular aspects of fluconazole resistance development in <i>Candida albicans</i> .	Investigar o desenvolvimento de resistência ao fluconazol em isolados de <i>Candida albicans</i> , especialmente em pacientes com candidíase orofaríngea recorrente, através da análise molecular de genes de resistência e padrões de expressão.
21	47	2023	Molecular mechanisms of azole resistance in <i>Candida glabrata</i> isolated from oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients.	avaliar os mecanismos moleculares de cepas de <i>Candida glabrata</i> resistentes ao voriconazol isolados de pacientes com candidíase orofaríngea em cabeça e pescoço, bem como avaliar os fatores de virulência.
22	36	2002	Molecular mechanisms of fluconazole resistance in <i>Candida dubliniensis</i> isolates from human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis	Investigar os mecanismos moleculares de resistência ao fluconazol em isolados de <i>Candida dubliniensis</i> de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) com candidíase orofaríngea.
23	48	1997	New evidence that <i>Candida albicans</i> possesses additional ATP-binding cassette MDR-like genes: implications for antifungal azole resistance	determinar se <i>C. albicans</i> possui genes homólogos ao gene <i>MDR1</i> P-glicoproteína humana, buscando caracterizar a resistência ao fluconazol por meio de sequências pequenas homólogas que indicam a presença de uma família de genes em <i>C. albicans</i> contendo o motivo do cassete de ligação de ATP.

24	35	2011	Oral candidosis: characterization of a sample of recurrent infections and study of resistance determinants	caracterizar infecções recorrentes de candidíase oral e estudar os determinantes de resistência, utilizando técnicas como eletroforese de cariotipagem, polimorfismo de fragmentos de restrição e RT-PCR para identificar possíveis mecanismos subjacentes à recorrência da candidíase
25	49	2010	PAP1 [poly(A) polymerase 1] homozygosity and hyperadenylation are major determinants of increased mRNA stability of <i>CDR1</i> in azole-resistant clinical isolates of <i>Candida albicans</i> .	Investigar os mecanismos moleculares subjacentes à estabilidade aumentada do mRNA do gene <i>CDR1</i> em isolados resistentes de <i>Candida albicans</i> .
26	50	2010	Persistent <i>Candida albicans</i> colonization and molecular mechanisms of azole resistance in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) patients.	analisar a persistência da colonização por <i>Candida albicans</i> em pacientes com APECED, investigar se cepas epidêmicas estão presentes na população finlandesa com APECED e examinar os mecanismos moleculares por trás da resistência ao azol nessas cepas.
27	51	2010	Proliferation of intracellular structure corresponding to reduced affinity of fluconazole for cytochrome P-450 in two low-susceptibility strains of <i>Candida albicans</i> isolated from a Japanese AIDS patient.	Investigue o mecanismo de resistência ao fluconazol em isolados de <i>Candida albicans</i> com redução na suscetibilidade ao medicamento
28	21	1998	Random amplification of polymorphic DNA and microsatellite genotyping of pre- and posttreatment isolates of <i>Candida spp.</i> From human immunodeficiency virus-infected patients on different fluconazole regimens.	explorar o efeito da administração diária versus semanal de fluconazol na sensibilidade de cepas colonizadoras de <i>Candida spp.</i> em pacientes infectados pelo HIV, coletando culturas basais e de 6 meses para análise molecular por RAPD e microsátélites, a fim de investigar o desenvolvimento de resistência ao fluconazol.
29	20	1998	Rapid, transient fluconazole resistance in <i>Candida albicans</i> is associated with increased mRNA levels of <i>CDR</i>	investigar a resistência transitória ao fluconazol em <i>Candida albicans</i> e sua associação com níveis aumentados de mRNA da bomba de efluxo <i>CDR</i> .
30	23	2005	Reduced azole susceptibility in genotype 3 <i>Candida dubliniensis</i> isolates associated with increased <i>CdCDR1</i> and <i>CdCDR2</i> expression	Investigar os mecanismos de resistência às drogas azólicas em isolados clínicos de <i>Candida dubliniensis</i> , com foco na superexpressão de <i>CdMDR1</i> como um mecanismo de resistência ao fluconazol.
31	52	2014	Sequences type analysis of <i>Candida albicans</i> isolates from Iranian human immunodeficiency virus infected patients with oral candidiasis	avaliar a diversidade e as relações genéticas entre os isolados de <i>Candida albicans</i> recuperados da cavidade oral de pacientes com HIV no Irã, utilizando a tipagem por sequência multilocus (MLST). A intenção era contribuir para o estabelecimento de um banco de dados genéticos centrais de patógenos fúngicos no Irã.
32	53	1999	Specific chromosome alterations in fluconazole-resistant mutants of <i>Candida albicans</i>	investigar as alterações cromossômicas em mutantes de <i>Candida albicans</i> relacionadas à resistência ao fluconazol.
33	46	2021	The Anti-Biofilm Efficacy of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) In Vitro and a Murine Model of Oral Candidiasis.	Investigar a eficácia do ácido caféico fenetil éster (CAPE) no combate aos biofilmes de <i>Candida albicans</i> in vitro e em um modelo murino de candidíase oral, com foco na prevenção e tratamento da infecção por <i>Candida</i> .
34	54	2022	The evaluation of the overexpression of the <i>ERG11</i> , <i>MDR1</i> , <i>CDR1</i> , and <i>CDR2</i> genes in fluconazole-resistant <i>Candida albicans</i> isolated from Ahvazian cancer patients with oral candidiasis	investigar a resistência ao fluconazol em <i>Candida albicans</i> isoladas de pacientes com câncer oral, analisando a expressão dos genes <i>ERG11</i> , <i>MDR1</i> , <i>CDR1</i> e <i>CDR2</i> e avaliando a influência de diferentes tipos de câncer e tratamentos quimioterápicos na expressão desses genes
35	55	2015	The evolution of drug resistance in clinical isolates of <i>Candida albicans</i>	estudar a evolução da resistência ao fluconazol em <i>Candida albicans</i> , analisando mutações genéticas persistentes e recorrentes em isolados clínicos, investigar os mecanismos moleculares envolvidos na

				resistência às drogas e na adaptação ao hospedeiro.
36	43	2001	The KEX2 gene of <i>Candida glabrata</i> is required for cell surface integrity	analisar o papel do gene KEX2 em <i>Candida glabrata</i> , investigando sua influência na previsão e patogenicidade da levedura. Além disso, o estudo busca identificar possíveis proteínas-alvo do Kex2 e entender como a falta ou redução do processamento de proteínas pode afetar suas atividades biológicas.
37	34	2013	The new mutation L321F in <i>Candida albicans</i> ERG11 gene may be associated with fluconazole resistance.	Investigar as mutações no gene ERG11 em isolados clínicos de <i>Candida albicans</i> , <i>glabrata</i> e <i>tropicalis</i> previamente examinados quanto à sensibilidade ao fluconazol
38	40	2022	Thidiazuron, a phenyl-urea cytokinin, inhibits ergosterol synthesis and attenuates biofilm formation of <i>Candida albicans</i>	Investigar as interações moleculares e os efeitos do Thidiazuron na expressão gênica e formação do biofilme de <i>Candida albicans</i> , visando compreender seu potencial como agente antifúngico
39	56	2023	Thymoquinone Antifungal Activity against <i>Candida glabrata</i> Oral Isolates from Patients in Intensive Care Units—An In Vitro Study	avaliar a atividade antifúngica e antibiofilme da timoquinona (TQ) contra <i>Candida glabrata</i> , um patógeno de alta prioridade da OMS, como uma possível candidata a terapêutica para combater a candidíase oral.
40	18	2021	Transcription Factors of CAT1, EFG1, and BCR1 Are Effective in Persister Cells of <i>Candida albicans</i> -Associated HIV-Positive and Chemotherapy Patients	estudar as células persistentes de <i>Candida albicans</i> , analisando a resistência dessas células a compostos antifúngicos e investigando as diferenças fenotípicas entre isolados persistentes e não persistentes
41	30	2011	Transcriptional regulation of drug-resistance genes in <i>Candida albicans</i> biofilms in response to antifungals	estudar a influência do modo de crescimento na expressão transcricional de genes associados à resistência a medicamentos em <i>Candida albicans</i> , incluindo o gene PIL1, que codifica a proteína de ligação à equinocandina específica de hifas (Pil1p), e testar a resposta de biofilmes de <i>C. albicans</i> a três classes de antifúngicos: azóis, polienos e equinocandinas.
42	22	2009	Transcriptional Responses of <i>Candida albicans</i> to Epithelial and Endothelial Cells	investigar e comparar as respostas transcricionais de <i>Candida albicans</i> a células epiteliais e endoteliais, entendendo as interações patogênicas específicas em diferentes ambientes hospedeiros.
43	37	2014	UPC2 Is Universally Essential for Azole Antifungal Resistance in <i>Candida albicans</i>	investigar a relação do gene UPC2 com a suscetibilidade ao fluconazol, especialmente em cepas de <i>Candida albicans</i> resistentes aos azóis.
44	57	2021	Yeast-Host Interactions: <i>Anadenanthera colubrina</i> Modulates Virulence Factors of <i>C. albicans</i> and Inflammatory Response In Vitro	avaliar os efeitos do extrato de <i>Anadenanthera colubrina</i> nos fatores de virulência de <i>Candida albicans</i> e na interação entre o patógeno e o hospedeiro durante uma infecção fúngica.

Anexo II: Terapêuticas e efeitos nos mecanismos moleculares de resistência em *C. albicans*

Artigo	Terapia	Genes	Alterações Moleculares
1	Terapia Fotodinâmica (PDT)	<i>SAP1, SAP2 e MDR1 e ALS3, EAP1, HWP1</i>	Alteração de expressão: MDR1 Subexpressão
2	Antifúngicos Azólicos	<i>ADH1, CDR1 e CDR2</i>	Alteração de expressão: <u>ADH1:</u> Subexpressão <u>CDR1/CDR2:</u> Sobreexpressão
3	Terapia Fotodinâmica mediada pela Curcumina (CUR-PDT)	<i>EFG1, UME6, HGC1 e ECE1</i>	Alteração de expressão: Subexpressão
4	Antifúngicos Azólicos (Fluconazol, Posaconazol e Voriconazol)	<i>ERG11, MDR1, CDR1 e CDR2.</i>	Mutações identificadas: <u>ERG11:</u> K128T, Y132H, Y257H, G405F, G448V, G450E, G464S, A61V, H283R, S405F, V452A, V509M Alteração de expressão: <u>MDR1, CDR1, CDR2</u> Sobreexpressão
5	Antifúngicos Azólicos (Fluconazol, Voriconazol, Posaconazol e Itraconazol)	<i>ERG11, CDR1, CDR2, MDR1</i>	Mutações identificadas: <u>ERG11:</u> K128T, Y132H, D278N, G464S Alteração de expressão <u>CDR1, CDR2 e MDR1</u>
6	Antifúngicos Azólicos	<i>CDRZ, CDR2</i>	Alteração de expressão: <u>CDRZ:</u> Sobreexpressão
7	Antifúngicos Azólicos (Fluconazol)	<i>ERG11, MDR1, CDR1 e CDR2</i>	Mutação identificada: <u>ERG11:</u> V437I Alteração de expressão:
8	Antifúngicos Azólicos (Fluconazol, Cetoconazol e Itraconazol)	<i>ERG11, MDR1 e CDR1, CDR2</i>	Alteração de expressão: <u>MDR, CDR:</u> Sobreexpressão
9	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11, MDR e CDR</i>	Mutação identificada: <u>ERG11:</u> G1390A, G464S, C1110T, T1140C, T1203C, A1440G. Alteração de expressão: <u>MDR, CDR:</u> Sobreexpressão
10	Histatina 5	<i>DUR3 e DUR31 CgDR1 e PUP1</i>	Alteração de expressão: expressão dos genes CaDUR3 e CaDUR31 em <i>Candida glabrata</i> é

			significativamente reduzida em comparação com a sua expressão em <i>Candida albicans</i>
11	Antifúngico Azólico (Fluconazol e Itraconazol)	<i>AAT1, ACC1, ADP1, MPI, SYA1, VPS13 e ZWF1</i>	Alteração de expressão: perda de heterozigidade (LOH), recombinação, conversão gênica e mudanças de ploidia cromossômica
12	Equinocandina (Caspofungina)	<i>CDR, MDR e ERG11</i>	Mutações identificadas: <u>ERG11:</u> D116E, G450E, G307S, <u>MDR1:</u> Y132F, <u>CDR:</u> F449S, T229A Alteração de expressão: <u>MDR, CDR:</u> Sobreexpressão
13	Miltefosine	<i>ERG11, MDR1, CDR1 e CDR2</i>	Mutações identificadas: F449S, T229A, V437I, F126L, K143R, K128T Alteração de expressão: <u>MDR, CDR:</u> Sobreexpressão
14	Monolaurine	<i>SAP1, PLB1 e ACT1</i>	Alteração de expressão: demonstrou regulação negativa genes <u>IL-1α</u> e <u>IL-1β</u>
15	Antifúngicos Azólicos	<i>CDR1 e BENr</i>	Alteração de expressão: <u>CDR1 e BENr:</u> Sobreexpressão
16	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11, MDR1, CDR1 e CDR2</i>	Alteração de expressão: <u>CDR1/CDR2, MDR1:</u> Sobreexpressão
18	Antifúngico Azólico (Fluconazol, Cetoconazol e Miconazol)	<i>CDR2, TAC1, MDR1 e ERG11</i>	Mutações identificadas: <u>TAC1:</u> A736V <u>CDR1 e CDR2:</u> Sobreexpressão
20	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>CDR1, CDR2 e MDR1</i>	Alteração de expressão: <u>MDR1:</u> Sobreexpressão
22	Antifúngico Azólico (Fluconazol, Voriconazol, Posaconazol e Itraconazol)	<i>ERG11, MDR1 e CDR1</i>	Mutações identificadas: <u>ERG11:</u> T374, C378A, A1192G, T1310C Alteração de expressão: <u>MDR1 e CDR1:</u> Sobreexpressão
23	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>MDR1</i>	MDR1
24	Antifúngico Azólico	<i>MDR1 e CDR1, CDR2</i>	Alteração de expressão: <u>MDR1 e CDR1/CDR2</u> Sobreexpressão
25	Antifúngico Azólico (Fluconazol) Aliaminas (Terbinafina) e	<i>CDR1 PAP1, PIK1, OBP</i>	As alterações de expressão: hiperadenilação do poli(A) do mRNA CDR1 em isolados

	antibiótico (Cicloheximida)		resistentes, sendo ~35-50% mais longo, e a observação de que a mutação heterozigótica PAP1-a não afetou a estabilidade dos transcritos CDR1
26	Antifúngicos Azólicos (Fluconazol, Posaconazol, Voriconazol) e Equinocandinas (Caspofungina) e Polienos (Anfotericina B)	<i>TAC1, ERG11 CDR1, CDR2 e MDR</i>	Mutações identificadas: <i>TAC1</i> : A736T, N977D, N972S, E461K, R673Q, H741Y, S108N, P276L, S290C, F973S, N740S, N740D <i>ERG11</i> : Y132F, H283R, G450E, D153E, S405F, V488I, G464S Alteração de expressão: <i>MDR1</i> e <i>CDR1/CDR2</i> : Superexpressão dos genes
27	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11</i>	Mutações identificadas: <i>ERG11</i> : E266D e V488I K143R , E266D, V404L
28	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERK1</i>	<i>ERK1</i>
29	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11, CDR, MDR1</i>	Mutações identificadas: <i>ERG11</i> : D116E, T462C, A504G, C558T, C805T, A1167G, C1257T, A1587G e T1617C Alteração de expressão: Superexpressão dos genes <i>MDR1</i> e <i>CDR</i>
31	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ACC1, VPS13, GLN4, ADP1, RPN2 e SYA1</i>	<i>VPS13, ACC1</i>
32	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11, CDR1, CDR2 e MDR1, NMT1, LYS1</i>	Alteração de expressão: Aumento dos níveis de mRNA de <i>ERG16, CDR</i> e <i>MDR1</i>
33	Éster Fenetílico do Ácido Caféico (CAPE)	<i>ALS1, ECE1, EPA1, HWP1, YWP1, BCR1, BGR1, CPH1, EFG1, NDT80, ROB1, TEC1, UME6, SAP2, SAP5, PBL2 e LIP9</i>	Alteração de expressão: <i>BCR1, BGR1, CPH1, EFG1, NDT80, ROB1, TEC1, UME6</i> subexpressão <i>ALS1, EPA1</i> e <i>YWP1, ECE1, HWP1, EFG1</i> e <i>UME6</i> , também foram regulamentados negativamente
34	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11, CDR1, CDR2 e MDR1</i>	Alteração de expressão: sobreexpressão dos genes <i>ERG11, CDR1/CDR2</i> e <i>MDR1</i>
35	Antifúngico Azólico (Fluconazol), Equinocandina (Caspofungina)	<i>ERG11, TAC1, MRR1, ALS3, ALS5, ALS7, HYR3, FGR14, FGR28, EFH, BCR1 e YAK1 AXL1</i>	gene <i>AXL1</i> regulado positivamente, gene <i>ERG11</i> afetado em 70% dos pacientes com alterações persistentes, gene <i>HYR3</i> Foi persistentemente mutado

37	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11</i>	Mutações identificadas: <u>ERG11</u> : D116E, K128T, E266D, V437I, V488I, L321F, A61V, Y132F, R467I e S279F (<i>C. albicans</i>) e Y221F, K344T, V362M, R371S, (<i>C. tropicalis</i>)
38	Thidiazuron (TDZ)	<i>ERG3, ERG11, ERG25, ALS3, EAP1, EFG1, NRG1, HWP1, SAP5, ACT1</i>	Alteração de expressão: <u>ERG3, ERG11, ERG25, ALS3, EAP1, EFG1, HWP1, SAP5</u> (Subexpressão) <u>NRG1</u> (Sobreexpressão)
40	Anfotericina B, Cetoconazol e Caspofungina	<i>CAT1, BCR1 e EFG1</i>	Alteração de expressão: <u>CAT1, BCR1, EFG1</u> (Sobreexpressão)
41	anfotericina B, cetoconazol e caspofungina	<i>CDR1, CDR2, MDR1, ERG11, FKS1 e PIL1</i>	Alteração de expressão: CDR1, CDR2, MDR1, ERG11, FKS1 (Subexpressão) e PIL1 (Sobreexpressão)
42	protamine and human-defensin 2.	<i>YCK2, VPS51, UEC1, ATM1, CLP1, CDC47, LPE10</i>	Alteração de expressão: YCK2, VPS51 e UEC1, ATM1, CLP1, CDC47, LPE10 (Sobreexpressão)
43	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11, TAC1, CDR1, CDR2, MDR1</i>	Mutações identificadas A643V (<u>Upc2p</u>) (<u>MRR1</u>) P683S e (<u>TAC1</u>) G980E, (<u>ERG11</u>) K143R
44	A. colubrina (extrato vegetal)	<i>SAP1, PLB1 e ACT1</i>	Alteração de expressão: genes <u>SAP-1</u> e <u>PLB-1</u> Subexpressão

Anexo III: Terapêuticas e efeitos nos mecanismos moleculares de resistência em *C. glabrata* (A) e *C. dubliniensis* (B)

(A)

Artigo	Terapia	Genes	Alteração Génica
17	Antifúngicos Azólicos	<i>CgCDR1</i> , <i>CgPDR1</i> , <i>PDH1</i> e <i>CgSNQ2</i>	Mutações identificadas: <i>CgPDR1</i> : S391L, F575L, N764I, R772I e G943S Alteração de expressão: Superexpressão <i>CgCDR1</i> , <i>PDH1</i> e <i>CgSNQ2</i> .
19	Antifúngicos Azólicos	<i>CgPDR1</i> , <i>CgERG11</i> , <i>CgCDR1</i> , <i>CgCDR2</i> , <i>CgSNQ2</i> , <i>CgYOR1</i> , <i>CgYBT1</i> , <i>CgQDR2</i> e <i>CgRTA1</i>	Mutações identificadas: <u><i>CgPDR1</i></u> : N768D, E818K Alteração de expressão: <u><i>CgPDR1</i></u> , (ganhos de função GOF) <u><i>CgCDR1</i></u> , <u><i>CgCDR2</i></u> (sobreexpressão), <u><i>CgSNQ2</i></u> , <u><i>CgYOR1</i></u> , <u><i>CgYBT1</i></u> , <u><i>CgQDR2</i></u> e <u><i>CgRTA1</i></u>
21	Antifúngico Azólico (Fluconazol)	<i>ERG11</i> , <i>CDR1</i> e <i>PDR1</i>	Mutações identificadas: <u><i>ERG11</i></u> : H257P, Q47H, S487Y e I285N Alteração de expressão: Superexpressão dos genes <u><i>CDR1</i></u> e <u><i>MDR1</i></u>
36	Antifúngicos Azólicos Aliaminas (Amorolfina) e Polieno (Anfotericina B)	<i>KEX2</i>	<i>KEX2</i>
39	Timoquinona (TQ), fluconazol (FLZ), Itraconazol (ITZ), anfotericina B (AMB) e componente bioativo da semente de nigela (<i>Nigella sativa</i> L.)	<i>EPA6</i> e <i>EPA7</i>	Alteração de expressão: Overexpression <u><i>EPA6</i></u> <u><i>EPA7</i></u> se manteve

(B)

Artigo	Terapia	Genes	Alteração Génica
30	Antifúngicos Azólicos	<i>CdMDR1</i> , <i>CdCDR1</i> / <i>CdCDR2</i>	Mutações identificadas: <u><i>CdMDR1</i></u> : D32G, T68S, A105, T307I e E415K Alteração de expressão: Superexpressão <i>CdCDR1</i> , <i>CdCDR2</i>