

ESTUDO SOBRE A EFICÁCIA ANTIFÚNGICA DA TERAPIA FOTODINÂMICA ASSOCIADA A NANOFIBRAS COM ERITROSINA B

Letícia Carolinne Rissi Zanelli (PIBIC/CNPq/UEM), Wilker Caetano (DQI/UEM), Thais Lazzarotto Braga (DQI/UEM), Milena Thais Francisco da Silva (DQI/UEM), Juliana Aparecida Fernandes (DAB/UEM), Patrícia de Souza Bonfim de Mendonça (Coorientador), Terezinha Inez Estivalet Svidzinski (Orientador).
E-mail: terezinha.svidzinski@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá; Centro de Ciências da Saúde; Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina; Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde e Subárea: Microbiologia, Microbiologia Aplicada

Palavras-chave: Inativação Fotodinâmica, Onicomicose, Dermatomicose

RESUMO

A Eritrosina B (ERI), um corante rosa-cereja da família dos xantenos, pode ser utilizada como fotossensibilizador (FS) na Terapia Fotodinâmica (TFD). A TFD envolve a aplicação de um FS que, ao absorver luz em um comprimento de onda específico, produz espécies reativas de oxigênio que eliminam células-alvo. Infecções causadas por espécies do gênero *Trichophyton* são difíceis de tratar devido à crescente resistência antifúngica das drogas convencionais. Neste sentido, a busca por novas opções terapêuticas é importante, assim o objetivo deste projeto é testar a eficiência antifúngica da TFD com ERI incorporada a sistemas nanopoliméricos. *T. rubrum* foi cultivado no meio de cultura Ágar Batata Dextrose, pelas técnicas de Pour Plate e estrias descontínuas, sendo esta última mais prática e eficiente para padronizar o crescimento. Diferentes tempos de incubação e irradiação foram testados, e a condição de 15 minutos de incubação seguidos de 20 minutos de irradiação com LED verde proporcionou a formação de halo de inibição de aproximadamente 30 mm ao redor da nanofibra com ERI, indicando atividade antifúngica. Dessa forma, a associação de ERI a nanofibras mostra-se promissora como plataforma inovadora no tratamento de infecções dermatofíticas, embora estudos adicionais sejam necessários para otimizar formulações e condições experimentais, visando maior eficácia e aplicabilidade clínica.

INTRODUÇÃO

Trichophyton rubrum é um fungo dermatófito que causa infecções na pele, unhas e couro cabeludo, sendo um dos principais responsáveis por onicomicoses e outras infecções cutâneas em humanos. A transmissão ocorre por contato direto entre pessoas ou com superfícies contaminadas. O tratamento de *T. rubrum* é desafiador devido à resistência de várias cepas e ao número limitado de antifúngicos.¹ A Terapia

Fotodinâmica (TFD) tem se destacado como uma nova abordagem terapêutica, combinando um fotossensibilizador (FS), luz e oxigênio gerando reações que eliminam microrganismos. Como a TFD não se baseia em um alvo celular específico, a chance de desenvolvimento de resistência é menor. A Eritrosina B (ERI), um corante rosa-cereja aprovado pela FDA para uso alimentício, tem sido usada como FS na TFD devido à sua eficácia contra diferentes microrganismos.² Embora ainda haja poucas informações sobre sua eficácia contra *T. rubrum*, dados preliminares sugerem que as cepas desse fungo respondem de maneira variada a tratamentos antifúngicos e à TFD. Portanto, explorar o uso da TFD associada à ERI, especialmente em tecnologias como nanofibras (NANO) para "curativos médicos", pode representar uma nova estratégia promissora para o tratamento de micoses causadas por *T. rubrum*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Microorganismo

Foi utilizada uma cepa de *Trichophyton rubrum*, armazenada pelo Laboratório de Micologia Médica, UEM, a -80°C.

Fotossensibilizador e fonte de luz

A Eritrosina B foi fornecida pelo Núcleo de Pesquisa em Sistemas Fotodinâmicos (NUPESF-UEM). A luz utilizada foi um LED (Light Emitting Diode), de cor verde (510nm), desenvolvida pelo Laboratório de Físico-Química da UEM.

Avaliação susceptibilidade antifúngica da TFD+ERI+Nanofibras em meio sólido sobre Trichophyton rubrum

Primeiramente foi testada a técnica de *Pour Plate*. Foi preparado o inóculo fúngico em um tubo falcon na concentração $2,0 \times 10^7$ Unidades Formadoras de Colônia (UFC)/mL, transferido 1,5 mL desse inóculo para um novo tubo falcon contendo 20 mL de Ágar Batata Dextrose (PDA) fundido numa temperatura adequada, aproximadamente 37°C, depois homogeneizado. O tubo falcon contendo o inóculo+PDA foi vertido em uma placa média, esperou-se o meio solidificar e foi aplicado 1 cm² da NANO. Além da técnica de *Pour Plate*, foi utilizada a técnica de esgotamento por estrias, a qual um swab foi embebido no inóculo previamente preparado na concentração de $2,0 \times 10^7$ UFC/mL, e depois passado em placa média de PDA por estrias descontínuas, espalhando o conteúdo por toda a extensão do Ágar, logo após aplicada 1 cm² da NANO com e sem ERI. Os tempos de incubação testados foram de 15 e 30 minutos e os de irradiação de 20 e 40 minutos. A atividade antifúngica foi determinada pela detecção do halo de inibição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, este trabalho buscou padronizar diferentes formas de semeadura do fungo *T. rubrum*, a fim de encontrar aquela que melhor atendesse os objetivos práticos para avaliar as NANO. Tradicionalmente, para a avaliação da difusão de um

antifúngico é utilizado a técnica de semeadura por esgotamento das estrias (Intra et al., 2019; Singh et al., 2007). Entretanto, não é uma prática comum para fungos filamentosos como *T. rubrum*. Assim, foi testado a semeadura por *pour plate* e esgotamento por estrias. De acordo com os resultados obtidos na figura 1 A e B foi possível observar um crescimento fúngico satisfatório de *T. rubrum*, com a visualização de um tapete fúngico homogêneo por toda extensão da placa, em ambas metodologias utilizadas. Embora ambos os métodos tenham apresentado resultados semelhantes quanto ao crescimento fúngico, o método de semeadura por estrias (Figura 1 B) demonstrou vantagens significativas em relação à praticidade e otimização do tempo, reduzindo a complexidade do procedimento sem comprometer a qualidade dos resultados. Logo, ele foi o escolhido para os próximos ensaios.



Figura 1- Padronização do método de semeadura para *Trichophyton rubrum* em meio sólido para teste da eficiência antifúngica de Nanofibras com Eritrosina. A) Nanofibra sem ERIB na metodologia de *Pour Plate* B) Nanofibra sem ERIB na metodologia de Estrias descontínuas

Após padronização do crescimento fúngico, buscou-se encontrar, entre diferentes condições de incubação e irradiação, aquela que fosse capaz de fotoativar a NANO+ERIB e gerar um halo de inibição do crescimento fúngico. Entre os parâmetros testados, a figura 2 mostra o melhor resultado obtido, com 15 minutos de incubação no escuro à 25°C e irradiação de 20 minutos, potência da luz verde a 80%.

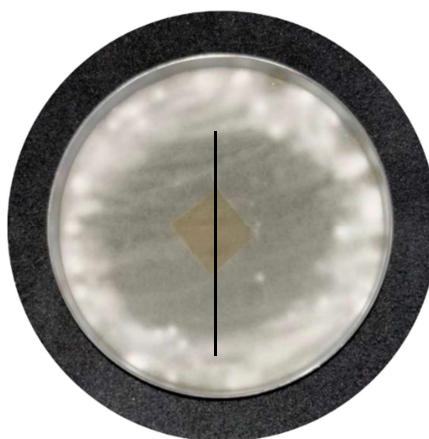


Figura 2 – Atividade antifúngica da Fotoativação de Nanofibra impregnada com Eritrosina B em meio sólido com 15 minutos de incubação e 20 minutos de irradiação.

É possível observar a formação de um halo de inibição do crescimento fúngico com um diâmetro aproximado de 30mm. Na literatura (Veras et al., 2016) obtiveram halos claros de inibição com NANO contendo agentes antifúngicos, evidenciando o potencial das NANO como plataformas terapêuticas, diferenciando-se pelo mecanismo. Os resultados do presente estudo sugerem uma abordagem inovadora e seletiva, que pode superar limitações de resistência e toxicidade se houver otimização dos parâmetros experimentais.

CONCLUSÕES

A incorporação de ERI em NANO mostrou atividade antifúngica contra *T. rubrum*, evidenciada pela formação de halo de inibição. Essa associação demonstra-se promissora para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas no tratamento de infecções dermatofíticas, embora mais estudos sejam necessários para otimizar a formulação e ampliar sua aplicabilidade clínica.

AGRADECIMENTOS

Laboratório de Micologia Médica, Físico-Química e NUFESP - UEM. CNPq e Fundação Araucária. CNPq/Universal 408561/2023-8.

REFERÊNCIAS

1. CONRADO, P. C. V. et al. **Promising onychomycosis treatment with hypericin-mediated photodynamic therapy: Case reports.** Photodiagnosis and photodynamic therapy. v. 42, n. 103498, p. 103498, 2023.
2. YASSUNAKA, N. N.; DE FREITAS, C. F.; RABELLO, B. R.; SANTOS, P. R.; CAETANO, W.; HIOKA, N.; NAKAMURA, T. U.; DE ABREU FILHO, B. A.; MIKCHA, J. M. G. **Photodynamic Inactivation Mediated by Erythrosine and Its Derivatives on Food-borne Pathogens and Spoilage Bacteria.** ERIr. Microbiol.2015, 71 (2), 243–251.
3. SINGH, J.; ZAMAN, M.; GUPTA, A. K. **Evaluation of microdilution and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of dermatophytes.** Medical Mycology, v. 45, n. 7, p. 595-602, nov. 2007. DOI: 10.1080/13693780701549364.
4. INTRA, J.; SARTO, C.; MAZZOLA, S.; FANIA, C.; TIBERTI, N.; BRAMBILLA, P. **In vitro activity of antifungal drugs against *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* spp. by E-test method and non-supplemented Mueller-Hinton agar plates.** Mycopathologia, v. 184, n. 4, p. 517-523, ago. 2019. DOI: 10.1007/s11046-019-00360-9.
5. VERAS, F. F.; ROGGIA, I.; PRANKE, P.; PEREIRA, C. N.; BRANDELLI, A. **Inhibition of filamentous fungi by ketoconazole-functionalized electrospun nanofibers.** European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 84, p. 70-76, 2016. DOI:

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.01.014>