DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE FUNGOS DO GÊNERO *FUSARIUM SPP.* PRESENTES NO SOLO DE ÁREAS URBANAS E RURAIS DE MARINGÁ-PR.

Julia Capeleti Lenardon, Vitória Nodari de Oliveira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Vinicius Alexandre Poli, Isabela Barros Cheder (Co-orientadora). Terezinha Inez Estivalet Svidzinski (Orientadora) E-mail: terezinha.svidzinski@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Da Saúde, Maringá, PR.

Microbiologia; Biologia e Fisiologia dos Micro-organismos

Palavras-chave: Onicomicose; *Fusarium*; Solo;

RESUMO

Fusarium spp. é um gênero de fungos filamentosos relacionado a perdas econômicas expressivas para o setor agropecuário. Este fitopatógeno está intimamente atrelado ao conceito de Saúde Única, uma vez que é responsável também por diversas manifestações clínicas em humanos. Entre outras destaca-se, a onicomicose, cuja incidência em pacientes imunocompetentes no município de Maringá, Estado do Paraná, é superior à encontrada em outras partes do mundo. Essa cidade é proeminente no cenário agropecuário brasileiro e, por conseguinte, faz uso extensivo de agrotóxicos como os fungicidas. O objetivo deste PIBIC foi investigar a frequência de fungos do gênero *Fusarium* no solo da região de Maringá, PR e determinar o perfil de resistência a antifúngicos clássicos. De um total de 96 fungos isolados e identificados, após duas coletas realizadas em cinco pontos da região de Maringá, dois eram do gênero *Fusarium* (2,08%). Constatou-se que, enquanto o isolado obtido de solo da cidade, foi inibido pelos fármacos azólicos e pela anfotericina-B, nenhum antifúngico exerceu ação inibitória sobre o isolado encontrado em área agricultável. Os resultados observados possivelmente são fruto da pressão seletiva causada por defensivos agrícolas, ainda que haja necessidade de estudos mais robustos para que se comprove esta relação.

INTRODUÇÃO

Maringá, município localizado no estado do Paraná que exerce intensa atividade agrícola, chama a atenção a onicomicose ungueal causada por *Fusarium* spp.. Em pacientes imunocompetentes, foi registrada uma incidência de 7,5%, maior do que a encontrada na literatura em outras partes do mundo (GUILHERMETTI et al., 2007). Além da relevância para a saúde humana, *Fusarium* spp. provoca perdas agropecuárias significativas devido à contaminação por micotoxinas. (QIU *et al.,* 2020), de forma que defensivos agrícolas são amplamente empregados na tentativa de refrear o crescimento deste fitopatógeno. É possível que o cenário particular de Maringá e o uso extensivo de pesticidas nas lavouras do município sejam correlatos.

À vista disso, este projeto visa investigar a presença de *Fusarium* spp. no solo, bem como seu perfil de resistência a antifúngicos empregados na prática clínica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta, diluição e cultura das amostras de solo.

O projeto teve início a partir da primeira coleta de amostras do solo, correspondente ao final do outono. Três pontos de coleta representavam o perímetro urbano, enquanto dois outros pontos abrangiam o perímetro rural, totalizando cinco pontos distintos. Com auxílio de um trado, foram coletados aproximadamente 100 g de solo superficial e de profundidade de 20 cm. As amostras foram acondicionadas em tubos estéreis e armazenadas em baixa temperatura (-20ºC) até o momento do processamento. A segunda coleta, equivalente ao verão, foi efetuada similarmente.

Para a cultura das amostras, utilizou-se uma suspensão de 5g de solo em água destilada e antimicrobianos. Alíquotas da suspensão pura e das diluições 10^3, 10^4, e 10^5 foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Batata comercial (na primeira coleta). Na segunda coleta, optou-se por utilizar a suspensão pura e as diluições 10^1, 10^2, e 10^3 para semeadura em placas. À cada ponto de coleta correspondia quatro placas, totalizando 40 placas de Petri que foram levadas para incubação em temperatura ambiente e monitoradas diariamente durante 25 dias a fim de detectar precocemente o crescimento dos microrganismos. O tempo de incubação variou de acordo com os grupos de microrganismos isolados.

Isolamento dos fungos e identificação morfológica.

Após o crescimento, fragmentos de colônias de interesse foram isolados em ágar Batata comercial com o intuito de obter culturas puras. Ao todo, foram obtidos 96 isolados fúngicos. A fim de triar e identificar cada colônia, foram avaliados diversos aspectos macro e micromorfológicos. Sendo assim, dois isolados foram identificados presuntivamente como pertencentes ao gênero *Fusarium* (2,08%). Ambos foram isolados em culturas realizadas de região urbana, do solo superficial. Assim, o isolado de Nº 6 e o Nº 95 foram usados para dar segmento ao estudo.

Teste de susceptibilidade a antifúngicos.

O teste de susceptibilidade avaliou a atividade antifúngica do itraconazol (ITRA), voriconazol (VOR), do fluconazol (FLU), do posaconazol (POS) e da anfotericina B (AMB), a fim de determinar a concentração inibitória mínima (MIC) destes fármacos frente aos fungos selecionados como pertencentes ao gênero Fusarium. O teste foi baseado no método de microdiluição em caldo, segundo o protocolo M38 do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), adequado conforme necessário. *Candida krusei* ATCC 6258 foi usada como controle de reação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os fármacos testados demonstraram ação inibitória contra o isolado Nº 6, sendo que os triazóis apresentaram menores valores de CIM quando comparados a anfotericina-B. Em contraponto, a maior concentração testada para cada fármaco não exerceu atividade inibitória sobre o isolado Nº 95.

Apesar de não existirem *breakpoints* específicos para avaliar a susceptibilidade do gênero *Fusarium*, é possível comparar os resultados obtidos a ECVs (*Epidemiological Cutoff Values* = Pontos de corte epidemiológicos) estabelecidos na literatura. Considerando o isolado Nº 6, para todos os antifúngicos estudados, a CIM observada foi menor que o ECV determinado para as espécies de *Fusarium* mais frequentemente isoladas na prática clínica (Espinel-Ingroff *et al.,* 2016). Em contraste, o isolado Nº 95 apresentou CIM maior que os ECVs estipulados para os cinco fármacos de interesse. É importante destacar que *Candida krusei* ATCC 6258, incluída como controle da reação, apresentou CIMs dentro da faixa estabelecida pelo CLSI para todos os antifúngicos testados.

Tabela 1

Espécie fúngica	Itraconazol	Fluconazol	Posaconazol	Voriconazol	Anfotericina-B
Candida krusei	0,25 µg/mL	0,25 µg/mL	0,25 µg/mL	0,25 µg/mL	0,5 µg/mL
Fusarium sp. (Isolado Nº 6)	0,5 µg/mL	0,5 µg/mL	0,5 µg/mL	0,25 µg/mL	1 µg/mL
Fusarium sp. (Isolado Nº 95)	≥ 16 ug/mL	≥ 64 ug/mL	≥ 16 ug/mL	≥ 16 ug/mL	≥ 16 ug/mL

Concentração inibitória mínima (CIM) de diferentes antifúngicos frente a *Candida krusei* ATCC 6258 e *Fusarium* spp. (isolado Nº 6 e isolado Nº 95), determinada pelo método de microdiluição em caldo.

Applebach *et al.,* (2025) observou que regiões agrícolas que utilizavam azólicos extensamente no controle de fitopatógenos demonstraram maior incidência de espécies resistentes a estes fármacos. Nenhum dos dois isolados de *Fusarium* foram encontrados na região rural (supostamente onde há maior uso de fungicidas), embora o isolado de Nº 95 tenha sido obtido do solo de uma lavoura de milho (cereal bastante associado a esse gênero), reforçando a ideia da pressão seletiva exercida sobre os agrotóxicos. Considerando a propagação dos conídios deste fungo pelo ar, registrar a presença deste gênero, especialmente de cepas resistentes, na área urbana, onde encontram-se os pacientes imunocomprometidos, com risco de infecção grave, é de relevância e requer atenção especial.

CONCLUSÕES

Enquanto o espécime obtido do perímetro urbano sofreu inibição por todos os cinco fármacos de interesse médico, os antifúngicos estudados não inibiram o fungo isolado de área agricultável, reforçando a ideia de que o perfil de resistência clínico seja influenciado pelo uso de agrotóxicos, conforme já constatado na literatura. Considerando o impacto destes achados, os testes, já realizados em duplicatas, estão sendo repetidos em dias diferentes a fim de comprovar a reprodutibilidade dos resultados. Além disso, à vista que este trabalho foi realizado a partir de apenas dois exemplares distintos, há necessidade de estudos mais robustos para que esta relação seja comprovada e extrapolada para a região de Maringá-PR como um todo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por meio da concessão de bolsa de iniciação científica (PIBIC/CNPQ-FA-UEM) vinculada à Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob orientação da Prof. Dra. Terezinha Inez Estivalet Svidzinski e dos co-orientadores Dra. Isabella Letícia Barros Cheder e Me. Vinicius Alexandre Poli. Ademais, este projeto foi possibilitado através do auxílio das pesquisadoras Vitória Nodari de Oliveira, Me. Natália Mestre Braz e Joana Gomes Vieira.

REFERÊNCIAS

GUILHERMETTI, E.; TAKAHACHI, G.; SHINOBU, C. S. SVIDZINSKI, T. I. E. Fusarium spp. as agents of onychomycosis in immunocompetent hosts. **International Journal of Dermatology**, v. 46, n. 8, p. 822–826, 21 jul. 2007. DOI: 10.1111/j.1365-4632.2007.03120.x.

QIU, J.; LU, Y.; HE, D.; LEE, Y.-W.; JI, F.; XU, J.; SHI, J. Fusarium fujikuroi species complex associated with rice, maize, and soybean from Jiangsu Province, China: Phylogenetic, pathogenic, and toxigenic analysis. **Plant disease**, v. 104, n. 8, p. 2193–2201, 2020. DOI: 10.1094/PDIS-09-19-1909-RE.

ESPINEL-INGROFF, A. et al. International Evaluation of MIC Distributions and Epidemiological Cutoff Value (ECV) Definitions for Fusarium Species Identified by Molecular Methods for the CLSI Broth Microdilution Method. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 2, p. 1079–1084, fev. 2016.

APPLEBACH, Emilie et al. Prevalence and diversity of antifungal resistance in Fusarium isolates across clinical and agricultural settings in the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 69, n. 12, p. e0120825-e0120825, 18 nov. 2025.