

Biomedicina e Farmácia: Aproximações

Fabício Loreni da Silva Cerutti

Cristiane Rickli Barbosa

Lais Daiene Cosmoski

(Organizadores)

 **Atena**
Editora

Ano 2018

Fabrcio Loreni da Silva Cerutti
Cristiane Rickli Barbosa
Lais Daiene Cosmoski
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações

**Atena Editora
2018**

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615	Biomedicina e farmácia: aproximações / Organizadores Fabrício Loreni da Silva Cerutti, Cristiane Rickli Barbosa, Lais Daiene Cosmoski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. Inclui bibliografia ISBN 978-85-85107-20-8 DOI 10.22533/at.ed.208182808 1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Cerutti, Fabrício Loreni da Silva. II. Barbosa, Cristiane Rickli. III. Cosmoski, Lais Daiene. CDD 610
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

E-mail: contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Em ciências da saúde destacam-se as áreas de Farmácia e Biomedicina. Desta forma, torna-se imprescindível o conhecimento acerca de análise clínicas e biotecnologia de fármacos.

A Coletânea Nacional “A Biomedicina e Farmácia Aproximações” é um e-book composto por 21 artigos científicos que abordam assuntos atuais, como a análise de produtos naturais, biotecnologia de fármacos, processos de isolamento, purificação caracterização de elementos biotecnológicos de fontes naturais, avaliação da utilização de novas tecnologias para fins farmacêuticos, avanços em análises clínicas, entre outros.

Mediante a importância, necessidade de atualização e de acesso a informações de qualidade, os artigos elencados neste e-book contribuirão efetivamente para disseminação do conhecimento a respeito das diversas áreas da farmácia e da biomedicina, proporcionando uma visão ampla sobre esta área de conhecimento.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Prof. MSc. Fabrício Loreni da Silva Cerutti

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAI (<i>EUTERPE OLERACEA</i>)	
<i>Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa</i>	
<i>Jamicelly Rayanna Gomes da Silva</i>	
<i>Yasmim Dayane Leal Paixão</i>	
<i>Alane Alexandra da Silva Oliveira</i>	
<i>Maria Adriana Ferreira Farias</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	
CAPÍTULO 2	9
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE EXTRATOS DE <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> PARA PRODUÇÃO DE XAROPE COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	
<i>Marília Gomes dos Santos</i>	
<i>Mayludson Moreira de Andrade</i>	
<i>Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
CAPÍTULO 3	19
EFEITOS TERAPÊUTICOS DO FRUTO DA ACEROLEIRA (<i>MALPIGHIA GLABRA L.</i>)	
<i>Brunna Larissa de Souza Melo Ferreira</i>	
<i>Maria Eduarda Silva Amorim</i>	
<i>Joice Luiza Pereira da Silva</i>	
<i>Maria Fernanda Ferreira de Lima</i>	
<i>Yago Eudvan Neves</i>	
<i>Vanessa Camylla Bernardo de Oliveira</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	
CAPÍTULO 4	27
ESTUDO DO EFEITO CITOTÓXICO DA CURCUMINA EM PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES SOBRE LINHAGEM DE CÉLULAS TUMORAIS HRT-18	
<i>Daniel Brustolin Ludwig</i>	
<i>Thaysa Ksiaskiewicz Karam</i>	
<i>Katia Sabrina Paludo</i>	
<i>Rubiana Mara Mainardes</i>	
<i>Najeh Maissar Khalil</i>	
CAPÍTULO 5	38
NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA CARAMBOLA (<i>AVERRHOA CARAMBOLA L.</i>) EM PACIENTES QUE APRESENTAM LESÃO RENAL	
<i>Yasmim Dayane Leal Paixão</i>	
<i>Jamicelly Rayanna Gomes da Silva</i>	
<i>Maria Eduarda Silva Amorim</i>	
<i>Joice Luiza Pereira da Silva</i>	
<i>Izabella Cinthia Tôrres de Vasconcelos</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	

CAPÍTULO 6	45
TOXICIDADE DE <i>ECHINACEA PURPUREA</i> FRENTE À <i>ARTEMIA SALINA</i>	
<i>Denise Michelle Indras</i>	
<i>Julio Cezar dos Santos</i>	
<i>Priscila da Caz</i>	
<i>Victor Mateus Prasniewski</i>	
<i>Fernanda Coleraus Silva</i>	
<i>Ana Maria Itinose</i>	
CAPÍTULO 7	53
CARACTERIZAÇÃO DE INFECÇÃO PULMONAR EXPERIMENTAL POR <i>PAECILOMYCES VARIOTII</i> EM ANIMAIS NORMAIS E IMUNOCOMPROMETIDOS	
<i>Isaac Loreiro Cabral</i>	
<i>Izabela Virgínia Staffen</i>	
<i>José Henrique Fermino Ferreira dos Santos</i>	
<i>Thiago Oliveira dos Santos</i>	
<i>Eduardo Alexandre Loth</i>	
<i>Rafael Andrade Menolli</i>	
CAPÍTULO 8	63
LECTINAS VEGETAIS COMO FERRAMENTAS TERAPÊUTICAS: UMA REVISÃO	
<i>Juliete Lira de Souza Lima</i>	
<i>Isabella Coimbra Vila Nova</i>	
<i>Welton Aaron de Almeida</i>	
<i>Jeine Emanuele Santos da Silva</i>	
<i>Emmanuel Viana Pontual</i>	
<i>Joaquim Evêncio Neto</i>	
CAPÍTULO 9	79
ABORDAGENS DAS DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS	
<i>Suelem Leite da Silva</i>	
<i>Dagoberto Riva</i>	
<i>Simona Renz Baldin</i>	
<i>Sônia de Lucena Mioranza</i>	
CAPÍTULO 10	90
AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE FERRITINA E COLESTEROL LDL EM PACIENTES ATENDIDOS PELO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO OESTE DO PARANÁ	
<i>Fernanda Weyand Banhuk</i>	
<i>Dayane Bassotto da Costa</i>	
<i>Taimara Brustolin</i>	
<i>Taise Regina Ficagna</i>	
<i>Thiago Luiz Fucuta de Moraes</i>	
CAPÍTULO 11	98
OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ELLMAN PARA A DETERMINAÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE EM ERITRÓCITOS	
<i>Fabiana Sari Ferreira</i>	
<i>Fernanda Coleraus Silva</i>	
<i>Ana Maria Itinose</i>	
<i>Carla Brugin Marek</i>	

CAPÍTULO 12 104

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STABILITY INDICATING HPLC METHOD FOR DETERMINATION OF DAPAGLIFLOZIN IN TABLETS

Rafaela Zielinski Carvalho de Meira
Larissa Sakis Bernardi
Paulo Renato de Oliveira

CAPÍTULO 13 105

O EMPREGO DA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) NA DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS PARA RASTREAMENTO DE DOENÇAS

Irthylla Nayalle da Silva Muniz
Alane Alexandra da Silva Oliveira
Izabella Cinthia Tôrres Vasconcelos
Júlia Samara Ferreira da Silva
Layza Fernanda Gomes Bezerra
Raíssa Ferreira Soares
José Carlos Bernardo da Silva Filho
Carlos Eduardo Miranda de Sousa

CAPÍTULO 14 110

EFICIÊNCIA DA MICROENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE *SPRAY DRYING*

Rosane Vaniski
Cristiane Canan
Deisy Alessandra Drunkler

CAPÍTULO 15 123

ANÁLISE DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE AMOXICILINA, COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE PALMARES –PE.

Letícia Emanuele de Farias Barros
Ádila Priscila Felix do Nascimento
Stephanny de Fátima Alves da Silva
Ana Catarina Simonetti
Risonildo Pereira Cordeiro

CAPÍTULO 16 132

ANÁLISE DA ROTULAGEM DE PRODUTOS NUTRACÊUTICOS CONTENDO ÔMEGA-3 COMERCIALIZADOS EM CELEIROS DA CIDADE DE CASCAVEL-PR

Simona Renz Baldin
Gabrielle Racoski Custódio
Jaqueline Franciele Caetano de Oliveira
Luciana Oliveira de Fariña

CAPÍTULO 17 143

INATIVAÇÃO DE CONSERVANTES DE CREMES COMERCIAIS CONTENDO PROBIÓTICOS PARA AVALIAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE SUA VIABILIDADE

Ana Caroline da Costa
Luciana Oliveira de Fariña
Suzana Bender
Helena Teru Takahashi Mizuta

CAPÍTULO 18	148
FORMAÇÃO DE BIOFILMES POR LEVEDURAS PATOGÊNICAS	
<i>Izabel Almeida Alves</i>	
<i>Luciana Teresinha Adams Langer</i>	
<i>Raiza Lima do Carmo</i>	
<i>Keli Jaqueline Staudt</i>	
CAPÍTULO 19	169
BIOSSEGURANÇA NOS CENTROS DE EMBELEZAMENTO E ESTÉTICA DO MUNICÍPIO DE CASCAVEL- PR	
<i>Vanessa Bordin</i>	
<i>Débora Cristina Ignácio Alves</i>	
<i>Leda Aparecida Vanelli Nabuco de Gouvêa</i>	
<i>Maristela Salete Maraschin</i>	
CAPÍTULO 20	180
DESENVOLVIMENTO DE PLANO OPERATIVO PARA PROMOÇÃO DO USO RACIONAL DE ANTIMICROBIANOS NA FARMÁCIA BÁSICA DE UM MUNICÍPIO DO MARANHÃO: RELATO DE EXPERIÊNCIA	
<i>Nágila Caroline Fialho Sousa</i>	
<i>Isabella Fernandes da Silva Figueiredo</i>	
<i>Mizael Calácio Araújo</i>	
<i>Saulo José Figueiredo Mendes</i>	
CAPÍTULO 21	190
AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DESINFECÇÃO DE ARTIGOS SEMICRÍTICOS EM UM HOSPITAL ESCOLA	
<i>Jéssica Rosin</i>	
<i>Fabiana Gonçalves de Oliveira Azevedo Matos</i>	
<i>Debora Cristina Ignácio Alves</i>	
<i>Fabiana Severino Kupka</i>	
<i>Jéssica Martins Valter</i>	
<i>Adriana Souza</i>	
SOBRE OS ORGANIZADORES	201

CARACTERIZAÇÃO DE INFECÇÃO PULMONAR EXPERIMENTAL POR *PAECILOMYCES VARIOTII* EM ANIMAIS NORMAIS E IMUNOCOMPROMETIDOS

Isaac Loreiro Cabral

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

Izabela Virgínia Staffen

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

José Henrique Fermino Ferreira dos Santos

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Cascavel – Paraná

Thiago Oliveira dos Santos

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

Eduardo Alexandre Loth

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Cascavel – Paraná

Rafael Andrade Menolli

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

RESUMO: O fungo *Paecilomyces variotii* é um fungo ambiental que é encontrado ubiquamente e podem entrar em contato constantemente com trabalhadores de vários setores. São poucos os modelos existentes para caracterizar infecções

fúngicas aéreas e este trabalho buscou caracterizar o potencial infeccioso dos conídios do fungo em modelo animal. Camundongos C57BL/6 foram imunossuprimidos com ciclofosfamida (250 mg/kg) em duas doses, pré e pós-infecção. Animais imunossuprimidos e normais foram infectados por nebulização dos conídios fúngicos em uma câmara fechada, sendo mantidos lá por 2 horas. Após o período de infecção, foram retirados os pulmões de um animal e colocados em cultura, para avaliar a viabilidade dos fungos. Após dez dias da infecção, os demais animais foram sacrificados e realizados cortes histológicos dos pulmões para visualização da presença de estruturas fúngicas, além de coletado sangue dos mesmos para verificar presença de anticorpos. Os resultados mostraram que o fungo *P. variotii* se mostrou infectante para os animais, com os pulmões dos animais normais exibindo estruturas fúngicas, sendo essa infecção mais alastrada no animal imunossuprimido. Além disso, quando os soros dos animais foram testados contra polissacarídeos de fungos, foi evidenciada a produção de IgG no animal normal.

PALAVRAS-CHAVE: Infecção fúngica; fungos anemófilos; imunossupressão; modelo experimental.

1 | INTRODUÇÃO

Existem poucos modelos experimentais para estudo de infecções fúngicas em indivíduos imunocompetentes ou sadios para fungos anemófilos e estabelecer novas maneiras para entender essa relação é importante, uma vez que uma série de profissões são expostas rotineiramente a estruturas dos fungos, com por exemplo, o trabalhador de aviário. Ele tem uma rotina de tarefas variadas em que entra em contato com poeiras (aerossóis) contendo agentes microbianos como bactérias e fungos. A existência dessa poeira em suspensão deve-se principalmente à viragem da cama do aviário, atividade que, dependendo da fase de crescimento dos animais, é realizada até diariamente. É relatado neste tipo de ambiente produtivo a presença de fungos patogênicos ou potencialmente patogênicos pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Curvularia*, *Paecilomyces* e *Aspergillus* (RODRIGUES MARCONDES et al., 2008).

O fungo *Paecilomyces variotii* é um fungo filamentosso saprofítico, hialino e assexuado que é encontrado no solo, ar e vegetação em decomposição ao redor do mundo (TAN et al., 1992), sendo conhecido por causar infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos (WALSH et al., 2004), e vários surtos foram documentados como causados por *P. variotii* (KUNSTÝR et al., 1997). O pulmão é o órgão mais comumente afetado e a infecção fúngica pulmonar é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos (LOW; ROTSTEIN, 2011). A doença ocorre quando há um desequilíbrio na interação hospedeiro-patógeno, com os mecanismos de proteção do hospedeiro sendo vencidos pela virulência do patógeno.

O objetivo deste trabalho deste é apresentar um modelo experimental de infecção fúngica pelas vias aéreas de camundongos.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Fungo: uma cepa de *P. variotii* (número IOC-4185) foi obtida da Coleção de Culturas de Fungos Filamentosos da Fundação Oswaldo Cruz, realizado cultivo em Ágar Batata Dextrose (BDA) e estocada à 8°C.

Infecção e Imunossupressão dos animais: camundongos da linhagem C57BL/6 foram utilizados para a infecção com *P. variotii*. Os animais foram divididos em quatro grupos (n=5 por grupo), sendo no primeiro grupo realizada imunossupressão e a infecção pelo fungo. Já o segundo grupo foi apenas infectado, enquanto o terceiro grupo foi apenas imunossuprimido. Um quarto grupo foi utilizado como controle, não sendo imunossuprimido nem exposto ao fungo. A imunossupressão foi realizada aplicando-se ciclofosfamida (20 mg/mL) na dose de 250 mg/kg de animal, em duas doses, três dias antes e um dia após a infecção, para manutenção do estado imunossuprimido, conforme VALLOR et al., 2008. A imunossupressão foi acompanhada pela contagem

dos leucócitos a partir da coleta de sangue da cauda do animal, em três momentos: antes de iniciar a imunossupressão, no dia da infecção e três dias após a segunda dose do medicamento. Para a infecção fúngica foi utilizado método adaptado daquele relatado por SHEPPARD et al., 2004, sendo então todos os animais acondicionados em uma câmara plástica fechada e transparente na qual uma mangueira saída de um nebulizador permite a entrada do vapor contendo os conídios fúngicos (Figura 1). Os animais permaneceram ali durante duas horas, sendo que na primeira hora receberam o inóculo via nebulização na dose aproximada de 10^9 conídios totais. Passadas duas horas, um animal por grupo foi eutanasiado para a extração do pulmão, sendo estes submetidos à cultura em BDA, com um pulmão de cada animal sendo macerado e adicionado à salina estéril (1mL), com esta mistura sendo plaqueada em BDA e deixada em estufa bacteriológica a 28°C por 72h. Os demais animais de cada grupo foram eutanasiados após 10 dias da infecção e os pulmões retirados e submetidos e realizados cortes histológicos dos mesmos e os cortes histológicos foram corados pelas técnicas de H&E e prata-metenamina (PM). Os resultados foram analisados qualitativamente quanto ao crescimento do fungo, presença de estruturas fúngicas e infiltrado celular no pulmão. Todos os procedimentos com animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Animais da Unioeste (Certificado número 10/16 CEUA).

Ensaio imunoenzimático: com o intuito de verificar a resposta dos animais para a infecção pelo fungo *P. variotii*, o sangue dos animais foi coletado por punção cardíaca ao final dos dez dias de infecção e submetido a um ensaio imunoenzimático (ELISA) tendo como objetivo a detecção de anticorpos antipolissacarídeo fúngico. O polissacarídeo utilizado como antígeno para o ensaio foi obtido conforme OSAKU et al., 2017, no qual o fungo foi submetido a cultivo submerso em meio de cultura otimizado para seu crescimento. Após 5 dias, o meio foi filtrado e ao sobrenadante foi adicionado etanol na proporção 3:1 para precipitação do polissacarídeo. O etanol foi evaporado por rotaevaporação e o líquido restante foi liofilizado. O polissacarídeo resultante foi identificado como β -(1>6) -Glucana. O ELISA utilizado foi um ensaio indireto para detecção de Imunoglobulinas G (IgG), utilizando-se de um conjugado anti-IgG marcado com peroxidase, sendo determinada a quantidade de anticorpo pela leitura colorimétrica em leitora de microplacas. A padronização do ensaio e a confecção de um controle positivo para o teste foram feitos em trabalho anterior (MENOLLI et al., 2014).



Figura 1 – Esquema experimental da infecção dos animais com *P. variotii*.

Avaliação estatística: os dados das contagens de leucócitos e das leituras espectrofotométricas do ELISA foram analisados estatisticamente por comparação de médias por meio do teste de ANOVA com pós-teste de Tukey, ao nível de 95% de significância, sendo significativas resultados com $p < 0,05$.

3 | RESULTADOS

Imunossupressão: a figura 2 mostra as contagens de leucócitos nos dias -4, 0 e 4 pós-infecção, evidenciando o sucesso no procedimento de imunossupressão ao qual os animais foram submetidos utilizando-se o medicamento ciclofosfamida. Não se verifica diferença antes do uso do medicamento e é alcançada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos imunossuprimidos e normais após 4 e 8 dias da aplicação da ciclofosfamida.

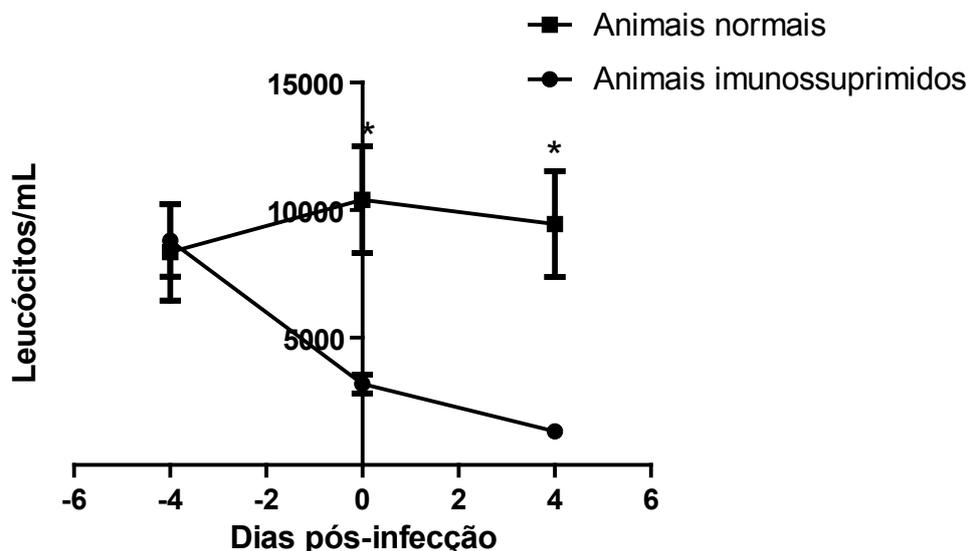


Figura 2 – Número de leucócitos/mL de camundongos normais ou imunossuprimidos, submetidos à infecção por *Paecilomyces variotii*. * representa diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos normal e imunossuprimido.

Infecção pelo fungo *P. variotii*: o modelo empregado neste trabalho para realizar uma infecção pelas vias aéreas de camundongos utilizando nebulização de conídios fúngicos se mostrou viável, uma vez que houve crescimento (Figura 3) do fungo em cultura após 72h do cultivo dos pulmões dos animais que havia inalados recentemente a carga microbiana. O crescimento de *P. variotii* aconteceu nos pulmões submetidos ao cultivo tanto do animal imunossuprimido quanto do normal.

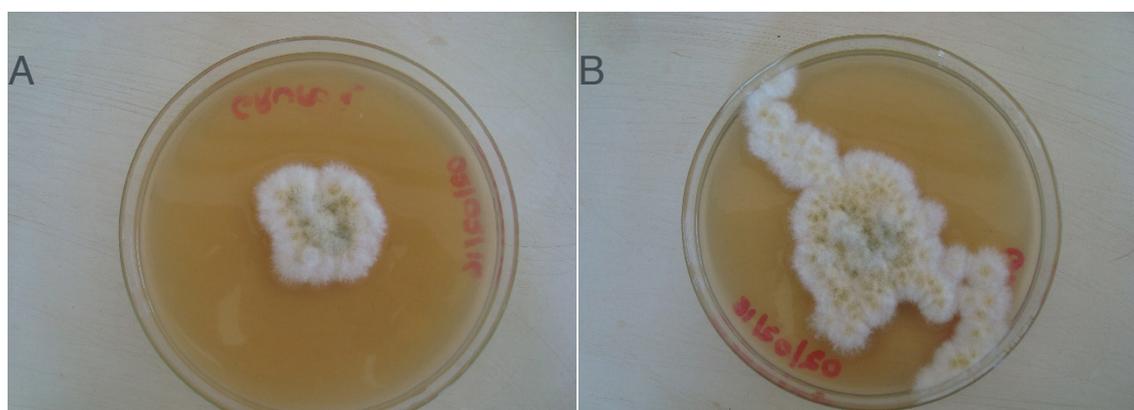


Figura 3 – Cultivo em Ágar Batata Dextrose (28°C/72h) dos pulmões retirados de animais recém-expostos ao fungo *Paecilomyces variotii* durante duas horas em ambiente fechado (10^9 conídios). A – Pulmão de animal imunossuprimido. B – Pulmão de animal normal.

Após dez dias do inóculo dos conídios nas vias aéreas dos animais, os mesmos foram sacrificados e tiveram seus pulmões retirados para produção de lâminas para avaliação histológica. As mesmas mostram sob a coloração de PM (Figura 4) que houve sucesso na infecção fúngica, com estruturas do fungo instaladas no tecido pulmonar. Um crescimento mais acentuado nos pulmões dos animais imunossuprimidos/infectados é visualizado (Fig. 4A), porém sem diferença para os animais normais/infectados (Fig. 4B), os quais também mostram a presença de *P. variotii* passados os dez dias pós-

infecção. Pulmões de animais dos grupos imunossuprimido/não infectado (Fig. 4C) e normal/não infectado (Fig. 4D) mostram não haver estruturas fúngicas nos mesmos.

Já a coloração por H&E evidencia um parênquima mais espesso/denso com alvéolos menores e um aparecimento de infiltrado celular no interstício pulmonar dos animais infectados (Figura 5A e B) comparado aos animais não infectados (Figura 5C e D), com diferença significativa entre os mesmos. Já entre os animais infectados (imunossuprimidos ou normais), apesar de haver maior celularidade no tecido do animal normal, não é possível verificar diferenças entre estes grupos.

Produção de anticorpos antipolissacarídeo de *P. variotii*: com os soros obtidos ao final dos dez dias de infecção, realizou-se um ELISA indireto tendo como antígeno um polissacarídeo produzido *in vitro* por *P. variotii*. Como mostra a Figura 6, os soros dos animais do grupo 2 (infectado/normal) reagiram mais fortemente ao antígeno do que os demais grupos, mostrando uma absorvância muito próxima ao controle positivo. O grupo 1, que também foi infectado, porém estava imunossuprimido, mostrou reatividade comparável ao controle negativo e aos grupos não infectados (grupos 3 e 4).

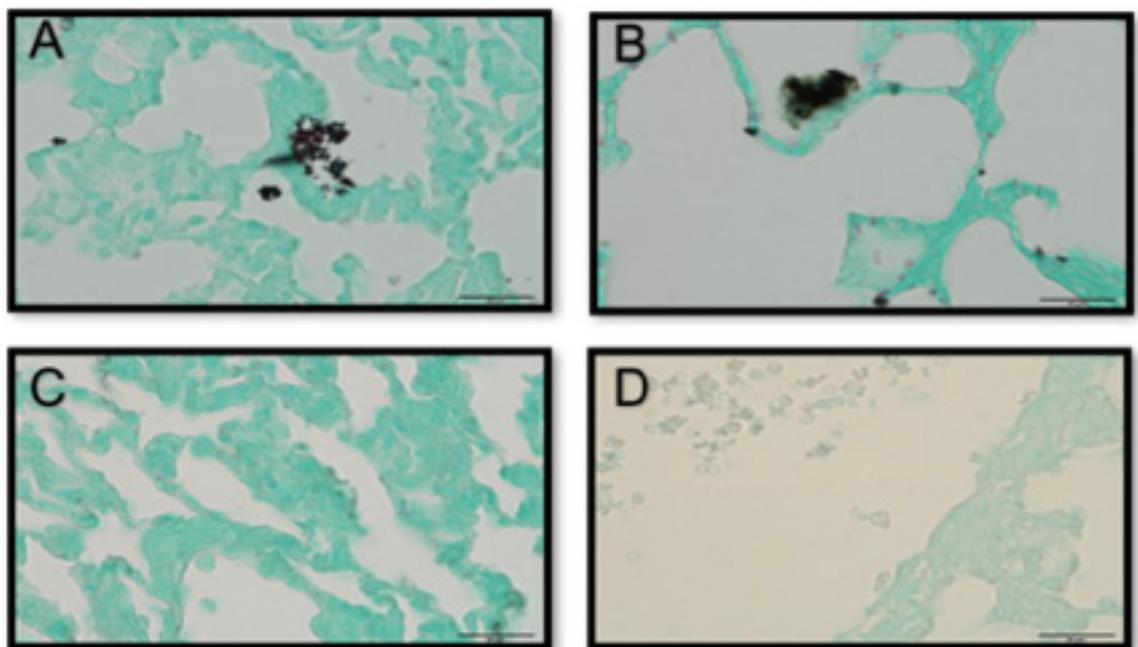


Figura 4 – Fotomicrografia (aumento 400x) de lâminas histológicas de pulmões de camundongos corados pela técnica de prata-metenamina: **A** – grupo infectado e imunossuprimido; **B** – grupo infectado e normal; **C** – grupo não infectado e imunossuprimido; **D** – grupo não infectado e normal.

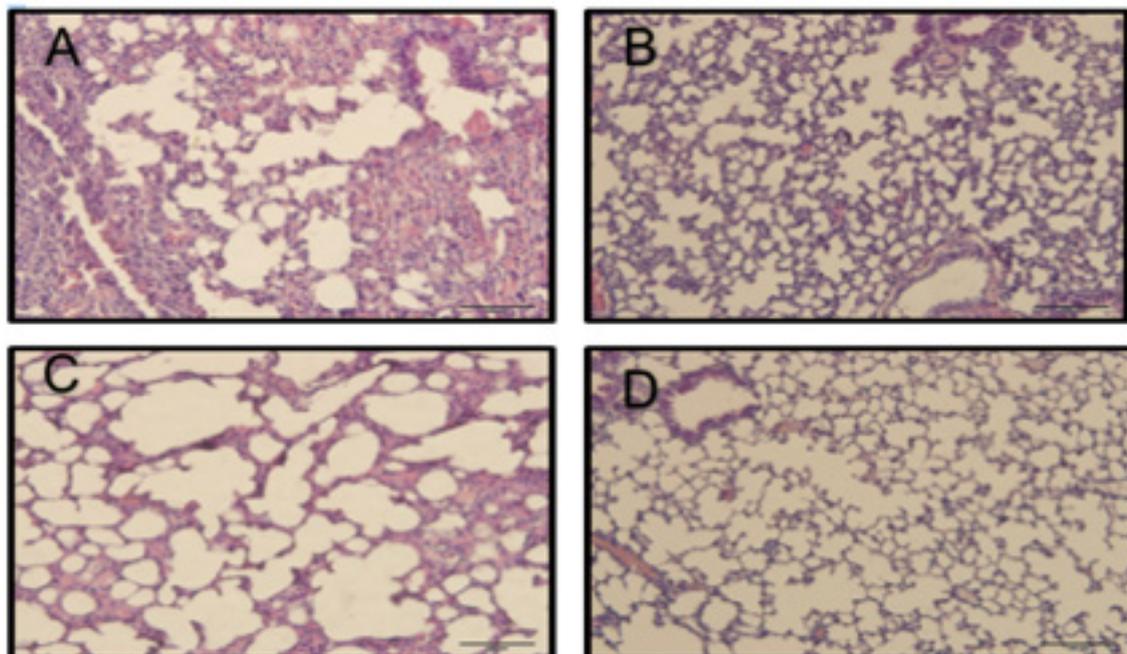


Figura 5 – Fotomicrografia (aumento 400x) de lâminas histológicas de pulmões de camundongos corados pela técnica de H&E: **A** – grupo infectado e imunossuprimido; **B** – grupo infectado e normal; **C** – grupo não infectado e imunossuprimido; **D** – grupo não infectado e normal.

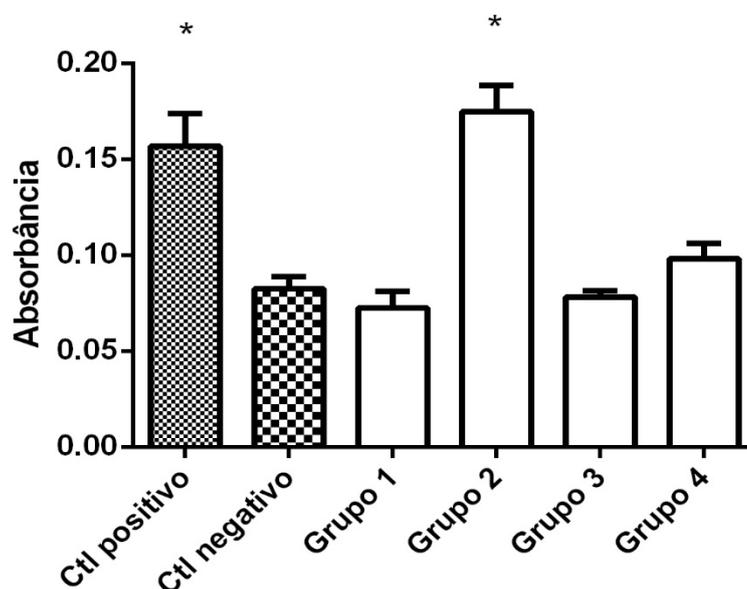


Figura 6 – Reação imunoenzimática indireta realizada com soros de camundongos contra antígeno polissacarídico produzido *in vitro* por *Paecilomyces variotii*. Grupo 1 – animais infectados e imunossuprimidos; Grupo 2 – animais infectados e normais; Grupo 3 – animais não infectados e imunossuprimidos; Grupo 4 – animais não infectados e normais. * representa diferença significativa ($p < 0,05$) dos grupos controle positivo e 2 frente aos demais grupos.

4 | DISCUSSÃO

Uma baixa taxa de incidência e virulência é observada nas infecções por *P. variotii*, e isso é devido a aspectos do hospedeiro, porém em indivíduos imunocomprometidos,

essa infecção pode ter sérias consequências, como hialohifomicoses (HOUBRAKEN et al., 2010), sinusite (GUCALP et al., 1996), endocardite (HALDANE et al., 1974) ou pneumonia (DHARMASENA; DAVIES; CATOVSKY, 1985). Isso preocupa, uma vez que trabalhadores de aviários, que estejam com o sistema imune debilitado e entram cotidianamente em contato com conídios destes fungos, podem desenvolver patologias severas.

Apesar dos modelos de infecções fúngicas aéreas existentes focarem em patógenos oportunistas mais habituais como o *Aspergillus fumigatus* (SHEPPARD et al., 2004), é importante a aplicação destas técnicas em microrganismos menos conhecidos, porém capazes de causar infecções em imunocomprometidos, como é o *P. variotii*. A aplicação de conídios fúngicos nebulizados em um ambiente fechado, como utilizado aqui, foi capaz de fazer tais estruturas chegarem e se instalarem nos pulmões dos animais, como demonstrado nos resultados. Isso, porém, não garante que a presença do fungo seria capaz de levar a uma pneumonia ou a morte do camundongo, como demonstrado por *A. fumigatus*. Isso é reforçado pelo encontro de estruturas de *P. variotii* em pulmões de animais de laboratório como um contaminante (KUNSTÝR et al., 1997), com poucos danos a eles, exceção a casos de dermatite ocorridos.

A imunossupressão causada pela ciclofosfamida é bastante eficaz e induz rapidamente um estado com baixíssimo número de leucócitos sanguíneos (HUNNINGHAKE; FAUCI, 1976)i.p., principalmente de neutrófilos, como demonstrado nos grupos nos quais foram administrados o medicamento. O uso de ciclofosfamida é uma das causas de infecções oportunistas pelos fungos (WALSH et al., 2004) e a carga fúngica parece ser bastante importante para que a presença do fungo passe a ser uma infecção em modelos imunossuprimidos (DIXON; POLAK; WALSH, 1989).

O modelo desenvolvido aqui se mostrou bastante prático e barato, de forma a investigar com facilidade a capacidade de fungos filamentosos ubíquos como é o caso do *P. variotii*, em infectar as vias aéreas de indivíduos expostos. A carga fúngica utilizada foi bastante próxima daquela observada na exposição humana (SHEPPARD et al., 2006) porém, devido à baixa virulência do fungo aqui utilizado, nenhuma morte foi observada no período analisado. Este modelo também permite uma homogeneidade da carga fúngica nos pulmões dos animais, diferente de outros modelos, como por exemplo, a instilação nasal ou infecção venosa (GRAYBILL et al., 1998; KIRKPATRICK et al., 2000)

Alterações nos tecidos pulmonares dos animais infectados verificadas nos cortes histológicos corados por H&E são semelhantes aquelas observadas por KUNSTÝR et al., 1997 com leve edema e infiltrado perivascular. Isso difere em parte dos achados na aspergilose, na qual se encontra um infiltrado proeminente, porém quando analisadas sob a coloração específica para fungos (PM), são bastante semelhantes, sendo necessário nestes casos a cultura para diferenciar infecções por ambas (SANGOI et al., 2009).

O contato com fungos anemófilos pelas vias aéreas é bastante comum em algumas profissões como lenhadores ou trabalhadores de aviários (EDUARD; SANDVEN; LEVY, 1992; RODRIGUES MARCONDES et al., 2008), porém raros são os relatos de infecções causadas por esses fungos, uma vez que é necessária um estado imunossuprimido bastante acentuado do paciente para o aparecimento de manifestações (LEE et al., 2002). Contudo, o sistema imune dos indivíduos expostos é estimulado pelos conídios fúngicos, sendo possível identificar a presença de anticorpos (RYDJORD et al., 2007), como os encontrados neste trabalho, da classe IgG, os quais foram identificados somente nos animais imunocompetentes.

REFERÊNCIAS

DHARMASENA, F. M. C.; DAVIES, G. S. R.; CATOVSKY, D. *Paecilomyces variotii* pneumonia complicating hairy cell leukaemia. **British Medical Journal**, v. 290, n. March, p. 967–968, 1985.

DIXON, D. M.; POLAK, A.; WALSH, T. J. Fungus dose-dependent primary pulmonary aspergillosis in immunosuppressed mice. **Infection and immunity**, v. 57, n. 5, p. 1452–6, 1989.

EDUARD, W.; SANDVEN, P.; LEVY, F. Relationships between exposure to spores from *Rhizopus microsporus* and *Paecilomyces variotii* and serum IgG antibodies in wood trimmers. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 97, n. 4, p. 274–282, 1992.

GRAYBILL, J. R. et al. SCH56592 treatment of murine invasive aspergillosis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 42, n. 4, p. 539–542, 1998.

GUCALP, R. et al. *Paecilomyces* sinusitis in an immunocompromised adult patient: case report and review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 23, n. 2, p. 391–3, 1996.

HALDANE, E. V. et al. Prosthetic valvular endocarditis due to the fungus *Paecilomyces*. **Canadian Medical Association Journal**, v. 111, n. 9, p. 963–968, 1974.

HOUBRAKEN, J. et al. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 2754–61, 2010.

HUNNINGHAKE, G. W.; FAUCI, A. S. Quantitative and qualitative effects of cyclophosphamide administration on circulating polymorphonuclear leucocytes. **Immunology**, v. 31, n. 1, p. 139–144, 1976.

KIRKPATRICK, W. R. et al. Efficacy of SCH56592 in a rabbit model of invasive aspergillosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 3, p. 780–782, 2000.

KUNSTÝR, I. et al. Fungus *Paecilomyces*: a new agent in laboratory animals. **Laboratory animals**, v. 31, n. 1, p. 45–51, 1997.

LEE, J. et al. Delayed sternotomy wound infection due to *Paecilomyces variotii* in a lung transplant recipient. **The Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 21, n. 10, p. 1131–4, 2002.

LOW, C.-Y.; ROTSTEIN, C. Emerging fungal infections in immunocompromised patients. **F1000 Medicine Reports**, v. 3, n. July, p. 14, 2011.

MENOLLI, R. A. et al. Production , detection and cross-reactivity of anti-polysaccharide antibodies from environmental fungi. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 5, n. September, p. 815–822, 2014.

OSAKU, E. F. et al. β -(1→6)-d-glucan secreted during the optimised production of exopolysaccharides by *Paecilomyces variotii* has immunostimulatory activity. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, 2017.

RODRIGUES MARCONDES, N. et al. New feather-degrading filamentous fungi. **Microbial Ecology**, v. 56, n. 1, p. 13–7, 2008.

RYDJORD, B. et al. Antibody response to long-term and high-dose mould-exposed sawmill workers. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 66, n. 6, p. 711–718, 2007.

SANGOI, A. R. et al. Challenges and pitfalls of morphologic identification of fungal infections in histologic and cytologic specimens : A ten-year retrospective review at a single institution. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 131, n. 3, p. 364–375, 2009.

SHEPPARD, D. C. et al. Novel inhalational murine model of invasive pulmonary aspergillosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 5, p. 1908–1911, 2004.

SHEPPARD, D. C. et al. Standardization of an experimental murine model of invasive pulmonary aspergillosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 10, p. 3501–3, 2006.

TAN, T. Q. et al. *Paecilomyces lilacinus* catheter-related fungemia in an immunocompromised pediatric patient. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 9, p. 2479–2483, 1992.

VALLOR, A. C. et al. Assessment of *Aspergillus fumigatus* burden in pulmonary tissue of guinea pigs by quantitative PCR, galactomannan enzyme immunoassay, and quantitative culture. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 7, p. 2593–8, 2008.

WALSH, T. J. et al. Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. SUPPL. 1, p. 48–66, 2004.

SOBRE OS ORGANIZADORES

Fabício Loreni da Silva Cerutti Coordenador de Curso do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE). Professor adjunto do Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico (ILAPEO). Tecnólogo em Radiologia pela Universidade Tecnologia Federal do Paraná (UTFPR). Mestre e doutorando em Engenharia Biomédica pelo programa de Pós Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial (CPGEI) da UTFPR. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de diagnóstico por imagem, física nuclear, controle de qualidade e simulação computacional.

Cristiane Rickli Barbosa Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Fisioterapia. Professora adjunta da Unicesumar (Unidade Ponta Grossa), no curso de Bacharelado em Biomedicina. Bacharel em Biomedicina pela Unicesumar (Unidade Maringá). Mestre e Doutoranda em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Possui experiência no desenvolvimento de pesquisas na área de análises clínicas e avaliação de processos fisiopatológicos.

Lais Daiene Cosmoski Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Farmácia. Analista clínica no Laboratório do Hospital Geral da Unimed (HGU). Bacharel em Biomedicina pelas Universidades Integradas do Brasil (UniBrasil). Especialista em Circulação Extracorpórea pelo Centro Brasileiro de Ensinos Médicos (Cebramed) Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPG. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de avaliação clínico/laboratorial de processos fisiopatológicos.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-85107-20-8



9 788585 107208