

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/12/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Thiago Henrique Lemes

Atividade antifúngica, *in vitro*, de extratos de cultura de *Candida* spp. contra *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*

São José do Rio Preto
2019

Thiago Henrique Lemes

Atividade antifúngica, *in vitro*, de extratos de cultura de *Candida* spp. contra *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Margarete Teresa Gottardo de Almeida.

São José do Rio Preto
2019

L552a

Lemes, Thiago Henrique

Atividade antifúngica, in vitro, de extratos de cultura de *Candida* spp. contra *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum* / Thiago Henrique Lemes. -- São José do Rio Preto, 2019

63 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Margarete Teresa Gottardo de Almeida

1. Micologia médica. 2. Quorum sensing. 3. Dermatofitos. 4. *Candida*. 5. Agentes antimicrobianos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Thiago Henrique Lemes

Atividade antifúngica, *in vitro*, de extratos de cultura de *Candida* spp. contra *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Margarete Teresa Gottardo de Almeida
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP
Orientador

Prof. Dr. João Roberto Antonio
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Prof. Dr. Matheus Aparecido dos Santos Ramos
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara-UNESP/FCFAR

São José do Rio Preto
25 de junho de 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, gratidão por todas as conquistas, ingresso e conclusão deste trabalho, por me abençoar grandemente e me conceder o privilégio da vida. Por me cercar de pessoas maravilhosas que me ensinam muito todos os dias.

À minha tia Rozanda Parro Rodrigues, por simplesmente existir, por ser minha mãe, por todo o ensinamento e embasamento dado. Por todo amor, carinho, dedicação. Pelas horas não dormidas nos momentos de doença, pelo suporte financeiro resultando em várias horas extras de trabalho e muito cansaço, para tornar possível a realização desse projeto. Palavras não serão suficientes para expressar o quanto sou grato por essa mãe maravilhosa no qual sou extremamente abençoado em ter, muito obrigado, você é minha inspiração.

Às minhas avós (*in memoriam*) Otaira Rosa Parro e Inês da Silva Lemes, vocês fazem muita falta, obrigado por todo o ensinamento e amor depositado em mim, vocês são mulheres excepcionais, uma grande inspiração.

Aos meus pais Rosângela Maria Parro e José Roberto Jacinto Lemes por todo carinho e apoio no decorrer da minha vida, por me ensinar todos os valores importantes contribuindo para a pessoa que sou hoje.

À minha família pelo suporte emocional nas horas mais difíceis.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Margarete Teresa Gottardo de Almeida, pela oportunidade e confiança na minha capacidade para a realização desse projeto. Agradeço pelo ensino, paciência, dedicação, carinho e disponibilidade. Também pelo auxílio nas horas mais difíceis contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional. Meus mais profundos e sinceros agradecimentos.

À Prof^a. Dr^a. Elza Maria Castilho, pelo acolhimento, carinho e ajuda. Eternamente grato por todo auxílio dado no decorrer desse projeto. Muito obrigado.

À Luceli Ferreira de Souza por todo o auxílio e companheirismo para com esse projeto. Pela paciência em ensinar. Sua atenção e dedicação foram fundamentais para a realização dessa pesquisa. Pessoa excepcional.

Aos meus amigos de laboratório Natalia Seron, Bianca Gottardo, Mariela Domiciano, Taiza Maschio, João Paulo Zen, Letícia Bianco, Cleuzenir Toschi Gomes Barbieri, da Conceição, Beatriz Gomes Ricardo, Camila Silva, Veridianna Pattini, Juliana Finoti, Cleiriane Lúcia, Marcos Garcia, Crislene Barbosa de Almeida, Diego Maximiano Luciani Gaspar de Toledo, Evelyn Martins, Letícia Mozanner, Gabriela Byzynski pelo companheirismo, ajuda e auxílio na realização do projeto. Obrigado pelos ótimos momentos de descontração durante todo esse tempo.

À Maicon Henrique Caetano e Emília Cristina Gianizella, dois grandes amigos, irmãos, parceiros, formando um trio de cumplicidade nunca visto. Agradeço a amizade de vocês, os conselhos, conversas e ótimos momentos juntos.

Ao Prof. Dr. Luis Octávio Regasini, Guilherme Silva Torrezan e Carlos Roberto Polaquini pela realização e ajuda com as análises químicas. Obrigado pelo tempo de ensino e experiência.

Aos professores Dr^o. João Paulo Zen e Dr^a. Márcia Maria Costa Nunes Soares por participarem da banca examinadora de qualificação, contribuindo com a melhoria deste projeto.

Aos membros da comissão examinadora deste trabalho, Prof. Dr^o. João Roberto Antônio e Prof. Dr^o. Matheus Aparecido dos Santos Ramos, pelo aceite do convite e por dispensarem seu tempo na correção deste trabalho, agregando experiência e conhecimento ao mesmo.

Ao Laboratório de Microbiologia e à FAMERP, pela infraestrutura de ensino e pesquisa, essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, professores, coordenadores e equipe técnica, pela disponibilidade, dedicação aos alunos e prontidão em esclarecer todas as dúvidas.

Enfim, a todos os meus amigos, colegas e professores que não foram citados, mas que fizeram parte da minha formação e acreditaram em meu potencial.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

Onicomicoses são infecções de unhas causadas principalmente por fungos dermatófitos, seguidos de leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos (FFNDs). Caracterizam-se por serem infecções persistentes, de terapêutica prolongada com altas taxas de recorrência, falhas no seu diagnóstico e tratamento podem causar danos irreversíveis à placa ungueal. Na prática clínica é comum o achado de dois ou mais organismos responsáveis pela etiologia de onicomicoses. Nestes eventos, as interações interespecíficas conduzem respostas fisiológicas dos microrganismos com produção de moléculas difusíveis, denominadas moléculas de *quorum sensing* (QSMs), fundamentais para a sobrevivência microbiana em ambientes competitivos. De fato, nos últimos anos, novas QSMs fúngicas têm sido estudadas e descritas como potenciais agentes antimicrobianos. O presente estudo avaliou a atividade antifúngica dos extratos obtidos de cultura de *Candida albicans* e *C. parapsilosis* contra linhagens de dermatófitos, tal como seu efeito sinérgico com fluconazol e toxicidade. As culturas foram submetidas à filtração em sistema fechado, seguido por extração líquido-líquido, utilizando acetato de etila. A atividade antifúngica, *in vitro*, foi avaliada por microdiluição, obtendo-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de cada extrato contra linhagens clínicas de *Trichophyton rubrum* e *T. mentagrophytes*, além dos efeitos associados com fluconazol, por ensaio *Checkerboard*. Para avaliação de toxicidade, utilizou-se modelo invertebrado de *Galleria mellonella*. Os extratos de *C. albicans* e *C. parapsilosis* apresentaram CIM entre 250-2000 µg/mL contra as linhagens de dermatófitos, com efeito potencializado quando associado ao fluconazol, confirmando sinergismo. Os extratos apresentaram baixa toxicidade nas concentrações inibitórias mínimas. Futuramente, o isolamento e identificação dos compostos dos extratos possibilitarão novas abordagens terapêuticas no controle de infecções fúngicas.

Palavras-chave: Micologia médica. *Quorum sensing*. Dermatófitos. *Candida*. Agentes antimicrobianos.

ABSTRACT

Onychomycosis are nail infections caused primarily by dermatophyte fungi, followed by yeasts and non-dermatophyte filamentous fungi. They are characterized by being persistent infections, by the prolonged therapy with high recurrence episodes, failures in the diagnosis and treatment; which can cause irreversible damage to the nail plate. In clinical practice, it is common for two or more organisms to be involved with onychomycosis. The interspecies interactions in infections of mixed etiology are mediated by small diffusible molecules called quorum sensing molecules (QSMs) and are fundamental for the survival of these microorganisms in competitive environments. In recent years, new fungal QSMs have been studied and described as potential antimicrobial agents. The present study evaluated the antifungal activity of the extracts obtained from the culture of *Candida albicans* and *C. parapsilosis* against strains of dermatophytes. To obtain the fungal extracts, the cultures were subjected to closed-loop filtration, followed by liquid-liquid extraction using ethyl acetate. The Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of each extract was evaluated by the microdilution technique against clinical strains of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* and in association with fluconazole, by the Checkerboard assay. To evaluate the toxicity of the extracts, an invertebrate model of *Galleria mellonella* was used. The extracts of *C. albicans* and *C. parapsilosis* showed MICs ranging from 250 to 2000 µg/mL. When associated with fluconazole, they expressed results showing a predominantly synergistic effect in all the evaluated combinations. Toxicity assays with *G. mellonella* demonstrated low toxicity of the extracts. In the future, the isolation and identification of the extract compounds will allow new therapeutic approaches in the control of fungal infections.

Keywords: Medical mycology. *Quorum sensing*. Dermatophytes. *Candida*. Antimicrobial agents.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Anatomia da unha	11
2.2 Epidemiologia e etiologia das onicomicoses	12
2.4 Manifestações clínicas das onicomicoses	14
2.5 Diagnóstico das onicomicoses	15
2.6 Tratamento das onicomicoses	15
2.7 <i>Quorum sensing</i> em fungos	18
2.8 <i>Quorum sensing</i> em onicomicoses	19
3. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	21
4. OBJETIVO	22
4.1 Objetivos específicos	22
5. METODOLOGIA	23
5.1 Linhagens clínicas.....	23
5.2 Preparação do inóculo e obtenção dos extratos de leveduras	23
5.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	23
5.4 <i>Checkerboard</i>	24
5.5 Caracterização química dos extratos	26
5.6 Testes de toxicidade com <i>Galleria mellonella</i>	27
CAPÍTULO 2 - ARTIGO	28
6. In vitro antifungal activity of <i>Candida</i> spp. extracts against <i>Trichophyton rubrum</i> and <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	29
Abstract	30
Introduction	31
Materials and method.....	32
Results	36
Discussion	38
Conclusion	41
References.....	43
CAPÍTULO 3	54
7. CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

Onicomicoses são infecções de unhas causadas por fungos dermatófitos, leveduras, fungos filamentosos não dermatófitos (FFNDs). Correspondem a 50% de todas as desordens de unhas e 30% de todas as infecções fúngicas cutâneas (GUPTA; VERSTEEG; SHEAR, 2017).

Trata-se de um grave problema de saúde pública por gerar custos aos serviços de saúde e ocasionar a perda de produtividade dos indivíduos acometidos (VLAHOVIC, 2016), além do impacto psicossocial negativo associado ao desconforto, baixa autoestima com significantes efeitos em sua qualidade de vida (GUPTA; MAYS, 2018).

Os fungos dermatófitos correspondem ao principal grupo de agentes etiológicos das onicomicoses, com destaque para as espécies *Trichophyton mentagrophytes* e *T. rubrum*. Leveduras do gênero *Candida spp*, principalmente *C. albicans* e *C. parapsilosis*, eventualmente podem também estar associadas a essas infecções (GHANNOUM; ISHAM, 2014).

Em nichos anatômicos de infecção de populações mistas de microrganismos, as interações físico-químicas são mediadas pela produção de pequenas moléculas difusíveis (QSMs) em um mecanismo conhecido por *Quorum sensing* (QS). Essas QSMs apresentam concentração dependente da densidade populacional e são responsáveis por regular diversos processos celulares como fatores de virulência, esporulação e formação de biofilmes. Esse sistema é fundamental para a interferência e sobrevivência das populações em ambientes competitivos (GUPTA; DAIGLE; CARVIEL, 2016).

Entre as principais QSMs descritas recentemente para fungos, destacam-se o farnesol e o tirosol, produzidos por *C. albicans*, as oxilipinas produzidas por algumas espécies de *Aspergillus spp.* e o peptídeo QSP1, envolvido na virulência de *Cryptococcus neoformans* (DIXON; HALL, 2015).

Nas infecções ungueais, o ambiente fisiológico deve ser explorado, uma vez que novas moléculas de resposta antifúngica podem estar presentes e se constituírem como alternativa para novas abordagens terapêuticas.

6. CONCLUSÕES

Os extratos de *C. albicans* e *C. parapsilosis* apresentam atividade antifúngica contra *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* e podem influenciar no diagnóstico laboratorial das onicomicoses. Novos estudos devem ser conduzidos para identificação e isolamento dos compostos presentes nos extratos. A combinação dos extratos com fluconazol demonstrando o efeito sinérgico contra linhagens de dermatófitos, tal como a não toxicidade em *G. mellonella*, possibilitará seu uso para novas abordagens terapêuticas no controle das onicomicoses.

Referências

ABARZÚA-ARAYA, A. et al. *Candida parapsilosis* and *Candida guilliermondii*: emerging pathogens in nail candidiasis. **Indian Journal of Dermatology**, v. 59, n. 1, p. 24, 2014.

AFFELDT, K. J.; BRODHAGEN, M.; KELLER, N. P. Aspergillus oxylipin signaling and quorum sensing pathways depend on G protein-coupled receptors. **Toxins**, v. 4, n. 9, p. 695–717, 2012.

ALBUQUERQUE, P. et al. Quorum sensing-mediated , cell density-dependent regulation of growth and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **mBio**, v. 5, n. 1, p. 1–15, 2014.

ALBUQUERQUE, P.; CASADEVALL, A. Quorum sensing in fungi--a review. **Medical mycology**, v. 50, n. 4, p. 337–45, 2012.

ALEM, M. A. S. et al. Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development. **Eukaryotic Cell**, v. 5, n. 10, p. 1770–1779, 2006.

ARAÚJO, M. et al. Evaluation of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhl. extract as antifungal and in treatment of vulvovaginal candidiasis. **Medical mycology**, v. 53, p. 673–682, 2013.

BIASI-GARBIN, R. P. et al. Antifungal potential of plant species from brazilian caatinga against dermatophytes. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 58, n. 1, p. 18–22, 2016.

BINDER, U.; MAURER, E.; LASS-FLÖRL, C. *Galleria mellonella*: An invertebrate model to study pathogenicity in correctly defined fungal species. **Fungal Biology**, v. 120, n. 2, p. 288–295, 2016.

BRASCH, J. et al. Acyclic sesquiterpenes released by *Candida albicans* inhibit growth of dermatophytes. *Medical mycology*, v. 52, p. 46–55, 2013.

CHACON, A. et al. Psychosocial impact of onychomycosis : a review. **International Journal of Dermatology**, v. 52, p. 1300–1307, 2013.

CHADEGANIPOUR, M.; MOHAMMADI, R. Causative agents of onychomycosis: a 7-year study. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 30, n. 6, 2016.

CHIACCHIO, N. et al . An observational and descriptive study of the epidemiology of and therapeutic approach to onychomycosis in dermatology offices in Brazil. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 88, supl. 1, p. 3-11, 2013.

CLSI. M27-A3 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; approved standard— third edition. **Clinical and Laboratory Standard Institute**, v. 28, n. 14, p. 29, 2008.

CLSI. M38-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard—Second Edition. **Clinical and Laboratory Standard Institute**, v. 28, n. 16, p. 29, 2008.

CORDEIRO, R. et al. Farnesol inhibits in vitro growth of the *Cryptococcus neoformans* species complex with no significant changes in virulence-related exoenzymes. **Veterinary Microbiology**, v. 159, n. 3–4, p. 375–380, 2012.

DA CUNHA, K. C. et al. Fast identification of dermatophytes by MALDI-TOF/MS using direct transfer of fungal cells on ground steel target plates. **Mycoses**, v. 61, n. 9, p. 691–697, 2018.

DE AGUIAR PERES, N. T. et al. Dermatofitos: Interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657–667, 2010.

DE BERKER, D. Nail anatomy. **Clinics in Dermatology**, v. 31, n. 5, p. 509–515, 2013.

DE CARVALHO RIBEIRO, C. S. et al. Descriptive study of onychomycosis in a hospital in São Paulo. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, 2015.

DE TOLEDO, L. G. et al. Essential oil of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle: A strategy to combat fungal infections caused by *Candida* species. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 8, 2016.

DEMBSKEY, N.; ABRAHAMSE, H. Laser therapy for the treatment of onychomycosis: best evidence based practice or not? **Clinical Research on Foot & Ankle**, v. 4, n. 4, p. 10–12, 2016.

DIDEHDAR, M. et al. Caractérisation des dermatophytes cliniquement importants dans le nord de l'Iran en utilisant la PCR-RFLP de la région ITS. **Journal de Mycologie Medicale**, v. 26, n. 4, p. 345-350, 2016.

DIXON, E. F.; HALL, R. A. Noisy neighbourhoods: *Quorum sensing* in fungal-polymicrobial infections. **Cellular Microbiology**, v. 17, n. 10, p. 1431–1441, 2015.

EGBE, N. E. et al. Farnesol inhibits translation to limit growth and filamentation in *C. albicans* and *S. cerevisiae*. **Microbial Cell**, v. 4, n. 9, p. 294–304, 2017.

ELY, J. W.; ROSENFELD, S.; STONE, M. S. Diagnosis and management of tinea infections. **American Family Physician**, v. 90, n. 10, 2014.

FISCHER, G. J.; KELLER, N. P. Production of cross-kingdom oxylipins by pathogenic fungi: an update on their role in development and pathogenicity. **Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 254–264, 2016.

GHANNOUM, M.; ISHAM, N. Fungal nail infections (onychomycosis): a never-ending story? **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 6, p. e1004105, 2014.

GONZÁLEZ-SERVA, A. Scher and daniel's nails. **Springer International Publishing**, ed. 4, p. 38-82, 2018.

GUPTA, A. K.; DAIGLE, D.; CARVIEL, J. L. The role of biofilms in onychomycosis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 6, 2016.

GUPTA, A. K.; FOLEY, K. A.; VERSTEEG, S. G. New antifungal agents and new formulations against dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1–2, 2017.

GUPTA, A. K.; MAYS, R. R. The impact of onychomycosis on quality of life: a systematic review of the available literature. **Skin Appendage Disorders**, v. 1, p. 1–9, 2018.

GUPTA, A. K.; PAQUET, M. Management of onychomycosis in Canada in 2014. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 19, n. 3, 2015.

GUPTA, A. K.; VERSTEEG, S. G.; SHEAR, N. H. Onychomycosis in the 21st century: an update on diagnosis, epidemiology, and treatment. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 21, n. 6, p. 525-539, 2017.

HALL, G. S. Interactions of yeasts, moulds, and antifungal agents: how to detect resistance. **Springer Science & Business Media**, p. 151-158, 2011

HASSAN ABDEL-RHMAN, S.; MOSTAFA EL-MAHDY, A.; EL-MOWAFY, M. Effect of tyrosol and farnesol on virulence and antibiotic resistance of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–7, 2015.

HOMER, C. M. et al. Intracellular action of a secreted peptide required for fungal virulence. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 6, p. 849–864, 2016.

HORNBY, J. M. et al. *Quorum Sensing* in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 7, p.

2982–2992, 2001.

INOUE, Y.; TOGASHI, N.; HAMASHIMA, H. Farnesol-induced disruption of the *Staphylococcus aureus* cytoplasmic membrane. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 5, p. 653–6, 2016.

KHOSRAVI, A. R. et al. Yeasts as important agents of onychomycosis: *in vitro* activity of Propolis against yeasts isolated from patients with nail infection. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 19, n. 1, p. 57–62, 2013.

KOSTOULIAS, X. et al. Impact of a cross-kingdom signaling molecule of *Candida albicans* on *Acinetobacter baumannii* physiology. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 1, p. 161–167, 2016.

KUMAR, S. N. et al. Activity and synergistic interactions of stilbenes and antibiotic combinations against bacteria *in vitro*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 11, p. 3143–3150, 2012.

KUTLUBAY, Z. et al. Acral manifestations of fungal infections. **Clinics in Dermatology**, p. 28–39, 2016.

LEEYAPHAN, C. et al. Onychomycosis: A study of self-recognition by patients and quality of life. **Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology**, v. 81, n. 3, p. 270, 2015.

LUSIANA; REICHL, S.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. Infected nail plate model made of human hair keratin for evaluating the efficacy of different topical antifungal formulations against *Trichophyton rubrum* *in vitro*. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 3, 2013.

MARAKI, S.; MAVROMANOLAKI, V. E. Epidemiology of onychomycosis in Crete, Greece: a 12-year study. **Mycoses**, v. 59, n. 12, p. 798–802, 2016.

MARTINEZ-ROSSI, N. M.; PERES, N. T. A.; ROSSI, A. pathogenesis of dermatophytosis: sensing the host tissue. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1–2, 2017.

MONTEIRO, D. R. et al. Effect of tyrosol on adhesion of *Candida albicans* and *Candida glabrata* to acrylic surfaces. **Medical Mycology**, v. 53, n. 7, p. 656–665, 2015.

MONTEIRO, D. R. et al. Antifungal activity of tyrosol and farnesol used in combination against *Candida* species in the planktonic state or forming biofilms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 2, p. 392–400, 2017.

MOTAMEDI, M. et al. Growing incidence of non-dermatophyte onychomycosis in Tehran, Iran. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 9, n. 8, 2016.

NARAIN, U.; BAJAJ, A. Onychomycosis: role of non-dermatophytes. **International Journal of Advances in Medicine**, v. 3, n. 3, p. 643–647, 2016.

PIRACCINI, B.; ALESSANDRINI, A. Onychomycosis: a review. **Journal of Fungi**, v. 1, n. 1, p. 30–43, 2015.

RAMOS, R. R. et al. Photodynamic action of protoporphyrin IX derivatives on *Trichophyton rubrum*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 2, p. 135–140, 2016.

RENEWICK, J. et al. Susceptibility of larvae of *Galleria mellonella* to Infection by *Aspergillus fumigatus* is dependent upon stage of conidial germination. **Mycopathologia**, v. 161, n. 6, p. 377–384, 2006.

RIEKHOF, W. R.; NICKERSON, K. W. *Quorum sensing* in *Candida albicans*: farnesol versus farnesoic acid. **FEBS Letters**, v. 591, n. 12, p. 1637–1640, 2017.

ROSEN, T. et al. Onychomycosis: epidemiology, diagnosis, and treatment in a changing landscape. **Journal of Drugs in Dermatology : JDD**, v. 14, n. 3, p. 223–33, 2015.

SAEEDI, P.; SHAVANDI, A.; MEREDITH-JONES, K. Nail Properties and bone health: a review. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 9, n. 2, p. 31, 2018.

SANER, M. V; KULKARNI, A. D.; PARDESHI, C. V. Insights into drug delivery across the nail plate barrier. **Journal of Drug Targeting**, v. 2330, n. 9, 2014.

SCORZONI, L. et al. Antifungal therapy: new advances in the understanding and treatment of mycosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1–23, 2017.

SHARMA, R.; JANGID, K. Fungal metabolites. **Cham: Springer International Publishing**, 2017.

SHENOY, M. M.; SHENOY, M. S. Fungal nail disease (onychomycosis); challenges and solutions. **Archives of Medicine and Health Sciences**, v. 2, n. 1, p. 48, 2014.

SINGAL, A.; KHANNA, D. Onychomycosis: diagnosis and management. **Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology**, v. 77, n. 6, p. 659, 2011.

SPILIOPOULOU, A. et al. Evaluation of a commercial PCR test for the diagnosis of dermatophyte nail infections. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, n. 1, 2015.

SURENDRAN, K. et al. A clinical and mycological study of dermatophytic infections. **Indian Journal of Dermatology**, v. 59, n. 3, p. 262, 2014.

SURYAWANSHI, R. S. et al. Onychomycosis: dermatophytes to yeasts: an experience in and around Mumbai, Maharashtra, India. **International Journal of Research in Medical Sciences**, v. 5, n. 5, p. 1959, 2017.

TCHERNEV, G. et al. Onychomycosis: Modern diagnostic and treatment approaches. **Wien Med Wochenschr**, v. 63, n. 1, p. 1-12, 2013.

TOSTI, A.; ELEWSKI, B. E. Onychomycosis: practical approaches to minimize

relapse and recurrence. **Skin Appendage Disorders**, v. 2, n. 1–2, p. 83–87, 2016.

VASCONCELLOS, C. et al. Identification of fungi species in the onychomycosis of institutionalized elderly. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 377–380, 2013.

VERRIER, J.; MONOD, M. Diagnosis of dermatophytosis using molecular biology. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1–2, 2017.

VLAHOVIC, T. C. Onychomycosis: evaluation, treatment options, managing recurrence, and patient outcomes. **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v. 33, n. 3, p. 305-18, 2016.

WANG, X. et al. Farnesol induces apoptosis-like cell death in the pathogenic fungus *Aspergillus flavus*. **Mycologia**, v. 106, n. 5, p. 881–888, 2014.

WEBER, K. et al. Secretion of E,E-farnesol and biofilm formation in eight different *Candida* species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 5, p. 1859–1861, 2008.

WU, F.; FENG, J.; SANG, H. Pseudo-clubbing complicated by dermatophyte onychomycosis. **Annals of Dermatology**, v. 26, n. 2, p. 271–273, 2014.

ZALACAIN, A. et al. Clinical laser treatment of toenail onychomycoses. **Lasers in Medical Science**, v. 33, n. 4, p. 927-933, 2017.