

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 30/09/2027.



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia aplicadas à
Farmácia**

ANA KARLA LIMA FREIRE CABRAL

**AVALIAÇÃO DO BIOFILME DE *Paracoccidioides brasiliensis* MONO E MULTI
ESPÉCIE PARA O ESTUDO DA PARACOCCIDIOIDOMICOSE ORAL E DE
NOVOS ANTIFÚNGICOS**

Araraquara

2025

ANA KARLA LIMA FREIRE CABRAL

**AVALIAÇÃO DO BIOFILME DE *Paracoccidioides brasiliensis* MONO E MULTI ESPÉCIE
PARA O ESTUDO DA PARACOCCIDIOIDOMICOSE ORAL E DE NOVOS
ANTIFÚNGICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como pré-requisito à obtenção do título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração: Análises Clínicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria José Soares
Mendes Giannini

Araraquara

2025

C117a Cabral, Ana Karla Lima Freire.
Avaliação do biofilme de *Paracoccidioides brasiliensis* mono e multi espécie para o estudo da paracoccidioidomicose oral e de novos antifúngicos / Ana Karla Lima Freire Cabral. – Araraquara, 2025.
181 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de concentração: Análises Clínicas.

Orientadora: Maria José Soares Mendes Giannini.

1. Biofilmes. 2. *Paracoccidioides brasiliensis* – Estudos experimentais. 3. Cândida. 4. 2-hidroxichalcona. 5. Modelo tridimensional. 6. Mucosa bucal. 7. Expressão gênica. I. Giannini, Maria José Soares Mendes, orient. II. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara
Kazumi Tomoyose - CRB 8/10904

CAPES: 33004030081P7
Esta ficha não pode ser modificada

IMPACTO POTENCIAL DA PESQUISA

A pesquisa em Paracoccidioidomicose é relevante por tratar de uma doença com grande impacto sobre os indivíduos e crescente atenção quanto à sua notificação. O estudo esclarece a patogênese oral, identifica biomarcadores relacionados à infecção, propõe alternativas terapêuticas *in vitro* e avança no desenvolvimento de um modelo tridimensional de interação patógeno-hospedeiro.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Research on Paracoccidioidomycosis is highly relevant, as it addresses a disease with significant impact on affected individuals and growing attention regarding its notification. This study elucidates the oral pathogenesis, identifies biomarkers related to infection, proposes *in vitro* therapeutic alternatives, and advances the development of a three-dimensional pathogen-host interaction model.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AVALIAÇÃO DO BIOFILME DE *Paracoccidioides brasiliensis* MONO E MULTI ESPÉCIE PARA O ESTUDO DA PARACOCCIDIOIDOMICOSE ORAL E DE NOVOS ANTIFÚNGICOS.

AUTORA: ANA KARLA LIMA FREIRE CABRAL

ORIENTADORA: MARIA JOSÉ SOARES MENDES GIANNINI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARIA JOSÉ SOARES MENDES GIANNINI (Participação Presencial)
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP Campus de Araraquara

Prof. Dr. RODRIGO ALEX ARTHUR (Participação Virtual)
Faculdade de Odontologia / Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. ÁNGEL AUGUSTO GONZÁLEZ MARÍN (Participação Virtual)
Escuela de Microbiología / Universidad de Antioquia (UdeA) - Colômbia

Prof. Dr. THIAGO APARECIDO DA SILVA (Participação Presencial)
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da UNESP

Araraquara, 30 de setembro de 2025.

Dedico este trabalho aos meus filhos, meus maiores companheiros neste Doutorado, razão do meu amor maior e da minha perseverança, que me inspiram todos os dias a seguir em frente com coragem e esperança.

À memória de minha mãe, cuja presença permanece viva em mim, tanto em suas lições, quanto em seu exemplo de que sempre valeu a pena estudar! Todo o seu amor e bondade me trouxeram até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, toda honra e toda glória! A Ele que me salvou, sustentou e me ajudou! A Ele que me consolou e me deu a oportunidade de ser corajosa e perseverante na caminhada do meu Doutorado longe de casa. A Ele que, com todo o seu infinito amor e misericórdia, cuidou de mim, dos meus filhos e do fruto do meu trabalho. Que o Nome dEle seja louvado para todo o sempre. Obrigada, Senhor Jesus!!

Aos meus pais, Ana Rita (*in memorian*) e José Plácido, a jornada até aqui não teria sido possível sem o amor, o apoio e os seus ensinamentos. À minha amada irmã, Karina. Pai, muito obrigada. Obrigada por continuar cuidando de nós na ausência dela. Mãe, quanta saudade eu sinto. A senhora segue viva nas minhas lembranças mais profundas. Sou uma filha muito feliz por tê-la tido como mãe, porque a sua força, dedicação e amor incondicional continuam sendo a minha inspiração diária. Muitas vezes me perguntei como conciliar o doutorado e as crianças, e a resposta sempre foi a força do seu exemplo, que cuidava, incansavelmente, de mim e da minha irmã, entre estudar e trabalhar. Eu te amo desde o dia do meu nascimento e mesmo que não possa mais te ver e ouvir a sua voz, nunca haverá data marcada para o fim do meu amor por você. Sei que de onde estiver, está comigo e orgulhosa do caminho que percorri.

Aos meus amores, Valentina, Alexandre e Fernando, que vivenciaram junto comigo a distância, a saudade de casa e do papai. Filhos, vocês são fortes, vocês são abençoados. Vocês são a minha maior motivação e a razão para sempre persistir, mesmo diante de tantas dificuldades. Cada sorriso, cada abraquinho, cada palavra de carinho me deu forças para seguir em frente. Conciliar tudo isso com a maternidade não foi fácil, mas olhar para vocês me fez lembrar todos os dias do porquê valia a pena. Essa conquista também pertence a vocês, que foram meus companheiros mais especiais no Doutorado. Deus abençoe vocês três todos os dias! Com todo o amor do mundo, mamãe!

Ao meu esposo Wagner, que mesmo diante da distância e saudade de nós quatro, manteve-se como o meu maior alicerce, especialmente, nestes últimos anos. Obrigada pelo amor e pelas orações.

A minha babá Karol, que não mediu esforços para ajudar a cuidar das crianças na minha ausência. Sem você, tudo seria mais difícil, Ka. Muitas bênçãos na sua vida!!

À minha querida orientadora Profa. Dra. Maria José Soares Mendes Giannini, como expressar em palavras toda a gratidão que sinto? Seu apoio, paciência e incentivo tornaram minha jornada muito mais leve e significativa. Obrigada por acreditar em mim e no meu trabalho, Profa. Por cada conselho, por cada palavra de encorajamento e, principalmente, por me guiar com tanto carinho e sabedoria. A senhora não foi apenas minha orientadora, mas uma verdadeira inspiração. Levo comigo tudo o que aprendi ao seu lado, e sou imensamente grata por tê-la tido nessa caminhada. Vou sentir muita saudade. A senhora é uma joia preciosa, que tem luz própria e ilumina a vida de todos nós, seus alunos. Serei sempre grata a Deus pela sua vida e pela da sua família, que também é muito especial para mim. Sinto-me honrada por ter sido sua aluna.

À Profa. Dra. Ana Marisa Fusco Almeida, também pela oportunidade em trabalhar em conjunto e aprendizado, pelo carinho, pelas dicas, por toda a ajuda dispensada a mim e por fazer inspirar a todos nós com sua oratória.

Ao Prof. Andrei Moroz por permitir o uso da linhagem celular e o uso do Laboratório de Anticorpos Monoclonais. Ao Prof. Luís Octávio Regasini pela síntese da substância utilizada nos ensaios.

Aos prezados Professores que compuseram as minhas bancas de qualificação e defesa, além de minha orientadora: Prof. Dr. Ángel Augusto González Marín, Prof. Dr. Rodrigo Alex Arthur, Prof. Dr. Thiago Aparecido da Silva e Prof. Dr. Haroldo Oliveira, pelas contribuições, tempo dispensado na leitura e discussão da minha Tese. Minha gratidão eterna!

À minha irmã científica Débora Marques, que sorte a minha ter conhecido você, amiga! Seu apoio, suas palavras de incentivo e até aqueles momentos de risadas de tantas histórias fizeram toda a diferença. Nos dias difíceis, você esteve ali para me lembrar do quanto eu era capaz, e nos dias bons, comemorou cada pequena conquista comigo. Seu carinho e amizade tornaram esse caminho muito mais leve e especial. Obrigada por confiar no meu trabalho, por buscar minhas opiniões sobre os experimentos, por me ensinar e por querer aprender comigo! Obrigada por cuidar quando eu não pude, por continuar quando eu não pude, essa sem dúvida é uma grande prova de amizade e desejo pelo bem do seu próximo. Você tem um coração generoso! Obrigada por tudo! Eu sempre estarei aqui. Conte comigo. Saudades.

À minha também querida amiga Cláudia Tavares, conhecer você foi um presente. Desde o início, você me ensinou, ofereceu apoio, conselhos e, principalmente, sua amizade incondicional. Nos momentos de cansaço, suas palavras me deram força; nas incertezas, sua presença foi um lembrete de que eu não estava sozinha. Obrigada por cada gesto de carinho, por me ouvir, por torcer por mim e por tentar falar o meu “R” (rsrsrs). Vou sentir sua falta. Deixo meu abraço e beijo no Augusto e na Sosô também.

Também agradeço ao Kelvin, por tudo o que me ensinou sobre o mundo da biologia celular, do *Paracoccidioides* e da *Galleria*, pela troca de experiências e por ter me acompanhado em tantas etapas dos experimentos e análises. Sem dúvida, a sua visão, atenção e competência te levarão para ótimos lugares, e é o que eu desejo profundamente, porque és merecedor de muito sucesso.

À Bia Chiari, minha primeira aluna de IC em Araraquara, que esteve ao meu lado na rotina do laboratório e dos ensaios com Pb e *Candida*. Você foi essencial para o desenvolvimento desse trabalho e espero que tenha grande prosperidade na sua carreira, onde você estiver.

Aos meus queridos Matheus Bordoy e Bruno Bulgarelli, que tornaram os meus dias mais felizes e descontraídos no laboratório. Por toda a ajuda e raciocínio em cima dos experimentos. Por terem trilhado caminhos que nos abriram a visão sobre como continuar. Teteu, obrigada pelas conversas maduras e de coração aberto, pelos abraços fraternos e pelas palavras de carinho. Você é um menino tão generoso, tão bom. Só merece coisas boas!! Bruninho, que sempre me manda mensagem, que busca meus conselhos e confia no meu trabalho, você é trabalha com muita excelência! A pesquisa é fácil quando você está, sempre te digo o quanto és excepcional!! Os dois são como filhos para mim. Brilhem nos seus doutorados!! Desejo todo o bem e sucesso.

À minha amiga Jenyffie, que tanto me ensinou sobre os biofilmes, técnicas e tirou minhas dúvidas e sempre me dedicou atenção quando precisei. À minha grande amiga Laís que me incentivou, encorajou e impulsionou a conduzir meus experimentos com independência e confiança, que os nossos laços e amizade continuem da mesma forma que é até hoje. À Lígia, que tanto me ensinou sobre testes

de toxicidade e sensibilidade, controle físico-químico de substâncias, e por tantos momentos de descontração e amizade.

À Caroline Marcos e Kaila Medina pela paciência, por me ensinarem o manuseio de *Paracoccidioides* e colaboração.

Aos amigos do Laboratório de Micologia Clínica e Núcleo de Proteômica, especialmente à Rô, que me acolheu na Micologia com todo carinho assim que cheguei. À Nicoli, que é excelente, sempre solícita e pronta a ajudar, ganhei uma amiga inesquecível conhecendo você. Ao Paulo pelo bom convívio.

Ao meu amigo Gabriel (Gabe) que esteve ali desde o início doando sua amizade, preocupação, respeito e consideração, partilhando suas dúvidas e confiando no meu trabalho, obrigada pela parceria! Se boa parte das pessoas tivesse o seu bom coração, estaríamos sempre bem e melhor, sucesso, querido amigo!!

Ao William pelos ensinamentos no zebrafish, análises, pelos momentos de descontração e risos. Ao Henrique por compartilhar comigo o cuidado com Pb e pela ajuda na manutenção do zebrafish, quando a semana apertava. À Rafaela pelos registros do fungo. À Carol Pires por me receber sempre com um sorriso no rosto e um abraço; à Samanta pela alegria, pelo sorriso largo e por mostrar a sua força e seu raciocínio em pesquisa; à Mirela e Júlia pelo imenso carinho e respeito e pelo apoio laboratorial diário nesse último ano, vocês são muito queridas e quero vê-las sempre bem!! E aos demais colegas que não citei, por ora, mas que estão guardados na minha lembrança. Obrigada!

Meu sincero agradecimento à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” por ter sido o espaço onde pude crescer academicamente e realizar esta pesquisa. Sou grata pela estrutura, pelas oportunidades e pelo conhecimento adquirido ao longo desses anos.

Aos professores do PPG-BBAF pelos seus conhecimentos e atenção, e a todos os funcionários da FCF/UNESP.

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

Agradeço, especialmente, à Universidade Federal do Amazonas (UFAM) por me conceder o afastamento para a realização do Doutorado, permitindo que eu me dedicasse integralmente a essa etapa acadêmica importante para a minha carreira. Sou grata pelo suporte institucional e pelo meu vínculo na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, que foram essenciais para a concretização desta conquista.

RESUMO

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica que afeta, primariamente, os pulmões, com envolvimento da cavidade oral, onde *Candida albicans* existe como comensal. O objetivo deste trabalho foi desenvolver esferoide de queratinócitos para avaliar a infecção por células planctônicas e de biofilme de *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb18) monoespécie e misto com *Candida albicans* para o estudo da paracoccidioidomicose oral, bem como o tratamento com novo composto. Foi também estudada a expressão de genes relacionados a virulência dos dois microrganismos nas condições do estudo. A superfície onde houve maior formação de biomassa para todos os biofilmes foi a membrana de nitrocelulose, demonstrado tanto metabolicamente quanto estruturalmente. Quanto à resina acrílica, o biofilme misto de pré-formação demonstrou maior atividade metabólica e biomassa. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelaram biofilmes densos e aderentes, compostos por uma rede de interação isoladamente e entre os dois fungos. Foi obtido um modelo tridimensional (3D) de mucosa oral funcional e estável, a partir de células NOK-si, em densidade de 6×10^4 células/poço, capaz de reproduzir in vitro, interações complexas entre *P. brasiliensis* e *C. albicans*. O modelo 3D manteve morfologia e viabilidade celular ao longo de sete dias, suportando colonização fúngica, o que possibilita o uso como ferramenta experimental adequada para estudos da interação patógeno-hospedeiro e avaliação de terapias antifúngicas. A MEV demonstrou a interação de blastoconídios de ambas as espécies com o modelo 3D, indicando adaptações que favorecem a colonização e a formação de biofilmes, a partir de células planctônicas. A análise genômica do biofilme de *P. brasiliensis* revelou expressão aumentada de genes relacionados à adesão, metabolismo e modulação da parede celular. Já *C. albicans* manteve o gene produtor de candidalísina, uma toxina peptídica, sob alta expressão em todas as condições experimentais. Na infecção do modelo tridimensional, os genes *PbGP43* e *ECE1* mantiveram-se altamente expressos, sugerindo papel relevante na coinfeção e potencial como alvos terapêuticos. Os modelos in vivo de *Danio rerio* e *G. mellonella* foram úteis para pré-selecionar substâncias que podem seguir na busca de novos antifúngicos. Esses achados contribuíram para a compreensão dos mecanismos de colonização e coinfeção oral na PCM, fornecendo base para o desenvolvimento e avaliação para novas substâncias antifúngicas em condições inerentes à interação patógeno-hospedeiro.

Palavras-chaves: Biofilmes; *Paracoccidioides brasiliensis*; *Candida*; 2-hidroxichalcona; Modelo tridimensional; Mucosa bucal; Expressão gênica.

ABSTRACT

Paracoccidioidomycosis (PCM) is a systemic mycosis that primarily affects the lungs and may also involve the oral cavity, where *Candida albicans* is commonly found as a commensal. This study aimed to develop keratinocyte spheroids to evaluate the infection of planktonic and biofilm cells of *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb18), either as a monospecies or in combination with *Candida albicans*, for the investigation of oral paracoccidioidomycosis, as well as treatment with a novel compound. The expression of virulence-associated genes in both microorganisms was also analyzed under the experimental conditions. Among the tested substrates, nitrocellulose membranes supported the highest biomass formation for all biofilms, as demonstrated both metabolically and structurally. On acrylic resin, preformed mixed biofilms displayed greater metabolic activity and biomass. Scanning electron microscopy (SEM) images revealed dense, adherent biofilms, composed of an interaction network within and between the two fungi. A functional and stable three-dimensional (3D) oral mucosa model was established from NOK-si cells at a density of 6×10^4 cells/well, capable of reproducing in vitro complex interactions between *P. brasiliensis* and *C. albicans*. The 3D model maintained morphology and cell viability over seven days, supporting fungal colonization, and thus served as a suitable experimental tool for pathogen–host interaction studies and evaluation of antifungal therapy. SEM analysis revealed interactions between blastoconidia from both species and the 3D model, indicating adaptive responses that promote colonization and biofilm formation from planktonic cells. Genomic analysis of *P. brasiliensis* biofilms revealed an increase in the expression of genes associated with adhesion, metabolism, and cell wall remodeling. *C. albicans* consistently maintained high expression of the gene encoding candidalysin, a peptide toxin, under all experimental conditions. During the infection of the 3D model, the PbGP43 and ECE1 genes remained highly expressed, suggesting a significant role in co-infection and potential as therapeutic targets. In vivo models using *Danio rerio* and *Galleria mellonella* have proven helpful for pre-screening candidate compounds for antifungal development. Collectively, these findings advance the understanding of oral colonization and co-infection mechanisms in PCM and provide an experimental foundation for the development and assessment of novel antifungal agents under conditions that closely mimic pathogen-host interactions.

Keywords: Biofilms; *Paracoccidioides brasiliensis*; *Candida*; 2-hydroxychalcone; Three-dimensional model; Oral mucosa; Gene expression.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição epidemiológica das espécies patogênicas do gênero <i>Paracoccidioides</i>	26
Figura 2 - Fase leveduriforme de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	27
Figura 3 - Estrutura química da 2-hidroxichalcona	37
Figura 4 - Embriões de zebrafish.....	39
Figura 5 - Resinas acrílicas em forma de pó (esquerda) e líquida (centro) utilizadas para confecção dos corpos de prova (direita) e desenvolvimento dos biofilmes	47
Figura 6 - Cinética de formação, atividade metabólica e quantificação de biomassa dos biofilmes monoespécies e mistos em membrana de nitrocelulose (acima) e resina acrílica (abaixo)	59
Figura 7 - Micrografias eletrônicas de biofilmes de <i>P. brasiliensis</i> (Pb18) com 72 h de incubação (A e C) e 120 h (B e D) em membrana de nitrocelulose	61
Figura 8 - Micrografias eletrônicas de biofilmes de <i>C. albicans</i> (ATCC 90028) com 72 h de incubação em membrana de nitrocelulose (A e C) e resina acrílica (B e D)	62
Figura 9 - Micrografias eletrônicas dos biofilmes mistos com 120 horas de incubação em membrana de nitrocelulose (A, <i>P. brasiliensis</i> e <i>C. albicans</i> simultâneos) e resina acrílica (B, <i>P. brasiliensis</i> e <i>C. albicans</i> simultâneos; e C, <i>P. brasiliensis</i> e com pré-formação de <i>C. albicans</i>).....	64
Figura 10 - Micrografias multifotônicas dos biofilmes monoespécie	65
Figura 11 - Micrografias multifotônicas do biofilme misto simultâneo (A) e de pré-formação (B).....	66
Figura 12 - Formação de esferoides de células NOK (queratinócitos orais normais) em diferentes concentrações celulares (3×10^4 e 6×10^4 células/poço) ao longo de sete dias de cultivo.....	67
Figura 13 - Parâmetros morfológicos da caracterização dos esferoides de células NOK-si.....	68
Figura 14 - Viabilidade celular (%) de células NOK-si em monocamadas e esferoides	70
Figura 15 . Micrografias eletrônicas dos esferoides não infectados (controles) de queratinócitos orais	71
Figura 16 - Micrografias eletrônicas dos esferoides de células NOK (3×10^4 células/poço) infectados pela forma planctônica de <i>C. albicans</i>	72
Figura 17 - Micrografias eletrônicas dos esferoides de células NOK (6×10^4 células/poço) infectados pela forma planctônica de <i>C. albicans</i>	73
Figura 18 - Micrografias eletrônicas dos esferoides de células NOK (6×10^4 células/poço) infectados por biofilme de <i>C. albicans</i>	74
Figura 19 - Micrografias eletrônicas dos esferoides infectados por <i>P. brasiliensis</i> na densidade de 3×10^4 células/poço.....	76
Figura 20 - Micrografias eletrônicas dos esferoides infectados por <i>P. brasiliensis</i> na densidade de 6×10^4 células/poço.....	76
Figura 21 - Micrografias eletrônicas dos esferoides de células NOK (6×10^4 células/poço) infectados por biofilme misto simultâneo de <i>C. albicans</i> e <i>P. brasiliensis</i>	77

Figura 22 - Micrografias eletrônicas dos esferoides de células NOK (6×10^4 células/poço) infectados por biofilme misto de pré-formação de <i>C. albicans</i> e <i>P. brasiliensis</i>	78
Figura 23 - Micrografia multifotônica do esferoide de células NOK (6×10^4 células/poço) sadio.....	79
Figura 24 - Diluições seriadas em cDNA para validação dos oligonucleotídeos	88
Figura 25 - Eletroferogramas dos RNAs das amostras extraídas.....	93
Figura 26 - Curvas-padrão para validação dos oligonucleotídeos desenhados para os genes de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> L34, AGS1, Enolase, FKS1, GEL3 e PbGP43 obtidas a partir de diluições seriadas ($\log_{10}$) do cDNA.	95
Figura 27 - Curvas-padrão para validação dos oligonucleotídeos desenhados para os genes de <i>C. albicans</i> GAPDH, ALS1, ALS3 e ECE1.....	96
Figura 28 - Curvas de dissociação obtidas por PCR em tempo real (RT-qPCR) para validação dos oligonucleotídeos dos genes-alvo analisados em <i>P. brasiliensis</i> , que incluiu AGS1, Enolase, FKS1, GEL3, GP43, 14-3-3 e o gene de referência L34.....	97
Figura 29 - Curvas de dissociação obtidas por PCR em tempo real (RT-qPCR) para validação dos oligonucleotídeos dos genes-alvo analisados em <i>C. albicans</i> , que incluiu ALS1, ALS3 e ECE1 e o gene de referência GAPDH.	98
Figura 30 - Análise da expressão relativa dos genes selecionados nas formas planctônica e de biofilme monoespécie, de 144 horas, de <i>P. brasiliensis</i> por RT-qPCR.....	100
Figura 31 - Análise da expressão relativa dos genes selecionados nas formas planctônica e de biofilme monoespécie de 48 horas de <i>C. albicans</i> por RT-qPCR.	102
Figura 32 - Análise da expressão relativa dos genes selecionados para o biofilme misto simultâneo (S) de 120 horas por RT-qPCR.	105
Figura 33 - Análise da expressão relativa dos genes selecionados para o biofilme misto de pré-formação (PF) de 120 horas por RT-qPCR.	108
Figura 34 - Análise da expressão relativa dos genes selecionados na infecção dos esferoides de NOK por biofilme monoespécie de <i>P. brasiliensis</i> (painel A), por biofilme misto simultâneo (S) (painel B) e por biofilme misto de pré-formação (PF) (painel C) por RT-qPCR.....	111
Figura 35 - Análise da expressão relativa dos genes selecionados na infecção dos esferoides de NOK por biofilme monoespécie de <i>C. albicans</i> (painel A), por biofilme misto simultâneo (S) (painel B) e por biofilme misto de pré-formação (PF) (painel C) por RT-qPCR.....	113
Figura 36 - Efeito da 2-chalcona, anfotericina B, itraconazol nos biofilmes maduros mono-espécie de <i>P. brasiliensis</i> (Pb18), <i>C. albicans</i> ATCC 90028 e mistos formados em duas condições, simultâneo (S) e de pré-formação (PF).	127
Figura 37 - Citotoxicidade no modelo tridimensional de células NOK expostas às concentrações inibitórias mínimas (MIC) necessárias para inibir <i>P. brasiliensis</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) com os compostos 2-hidroxichalcona, itraconazol e anfotericina B.	130
Figura 38 - Análise de toxicidade da 2-hidroxichalcona (2-HC) em embriões de zebrafish das concentrações em torno da CIM frente a <i>P. brasiliensis</i>	132
Figura 39 - Análise de toxicidade de 2-HC em embriões de zebrafish das concentrações em torno da CIM frente a <i>C. albicans</i> (ATCC 90028).....	133

Figura 40 - Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier de larvas de <i>Galleria mellonella</i> avaliadas quanto à toxicidade de anfotericina B (A), itraconazol (B) e 2-hidroxichalcona (C).	134
Figura 41 - Curvas de sobrevivência de larvas de <i>G. mellonella</i> infectadas com células planctônicas de <i>P. brasiliensis</i> (A), <i>C. albicans</i> (B) e com as duas espécies na condição simultânea (C) e de pré-formação (D) tratadas com 50 mg/Kg e 100 mg/kg de 2-hidroxichalcona.	136
Figura 42 - Curvas de sobrevivência de larvas de <i>G. mellonella</i> infectadas com células planctônicas de <i>P. brasiliensis</i> (A e B), <i>C. albicans</i> (B e C), e infecção mista nas condições simultânea (E e F) e de pré-formação (G e H).	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros morfológicos analisados para a caracterização do modelo 3D de esferoides de queratinócitos orais normais (NOK)	69
Tabela 2 - Parâmetros para desenho dos primers	84
Tabela 3 - Oligonucleotídeos utilizados na qRT-PCR para <i>Candida albicans</i> e <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	86
Tabela 4 - Mix de SYBR e molde	89
Tabela 5 - Reação para a Validação dos Oligonucleotídeos	89
Tabela 6 - Componentes da Reação de PCR em Tempo Real	90
Tabela 7 - Leitura das amostras em espectrofotômetro de RNA de <i>Candida</i> e de <i>Paracoccidioides</i> , nas formas planctônica, de biofilme mono e misto de infecção em esferóide na forma de adição simultânea (S) e em pré-formação (PF)	92
Tabela 8 - Valores de inclinação da reta (<i>slope</i>), eficiência de amplificação (%) e coeficiente de determinação (R^2)	94
Tabela 9 - Composição do Meio Embriônico 50x para testes de toxicidade no modelo zebrafish	121
Tabela 10 - Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) e Concentração Fungicida Mínima ($\mu\text{g/mL}$) de 2-hidroxichalcona e os controles anfotericina B e itraconazol contra <i>C. albicans</i> e <i>P. brasiliensis</i>	124
Tabela 11 - Concentração inibitória mínima séssil, expressa em $\mu\text{g/mL}$, de 2-hidroxichalcona capazes de reduzir pelo menos 50% das atividades metabólicas de biofilmes monoespécies de <i>P. brasiliensis</i> (Pb18) e <i>C. albicans</i> ATCC 90028, e biofilmes mistos formados em duas condições: simultâneo (S) e de pré-formação de <i>C. albicans</i> acrescido de <i>P. brasiliensis</i> após 12 horas (PF), desenvolvidos em membrana de nitrocelulose e resina acrílica.	128
Tabela 12 - Correspondência entre as doses (mg/kg) e as concentrações ($\mu\text{g/mL}$) em relação à CIM dos microrganismos, que foram efetivamente injetadas nas larvas de <i>G. mellonella</i>	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitro
2D	Bidimensional
2-HC	2-Hidroxichalcona
3'-HC	3'- hidroxichalcona
3D	Tridimensional
A549	Linhagem de adenocarcinoma de pulmão
AGS1	<i>1,3-α-Glucan Synthase</i>
ALS1	<i>Agglutinin-like sequence 1</i>
ALS3	<i>Agglutinin-like sequence 3</i>
AMB	Anfotericina B
ANOVA	Análise de Variância
ASD	Ágar Sabouraud Dextrose
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
CaCl₂	Cloreto de Cálcio
cDNA	Ácido Desoxirribonucleico complementar
CDR1	<i>Candida</i> Drug Resistance 1
CDR2	<i>Candida</i> Drug Resistance 1
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CFSE	Carboxyfluorescein Succinimidyl Ester
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIMS₅₀	Concentração Inibitória Mínima Séssil 50%
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CLSM	Confocal Laser Scanning Microscopy
CO₂	Dióxido de carbono
CVCL	Código de Identificação de Linhagem Celular
DAF	Diacetato de Fluoresceína

DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
<i>ECE1</i>	<i>Extent of Cell Elongation 1</i>
Efg1	Enhanced Filamentous Growth 1
EPS	Exopolissacarídeos
FCFAr	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara
FITC	Isotiocianato de Fluoresceína
<i>FKS1</i>	<i>1,3-β-Glucan Synthase</i>
FOAr	Faculdade de Odontologia de Araraquara
<i>GAPDH</i>	<i>Glyceraldehyde-3-Phosphate dehydrogenase</i>
GCN4	General Control Nonderepressible 4
GEL3	<i>1,3- β- glucanosyltransferase</i>
gp43	Glicoproteína 43 kDa
H	Horas
Hp_f	Horas pós-fertilização
Hwp1	Hyphal wall protein 1
ITZ	Itraconazol
KCl	Cloreto de potássio
kDa	Quilodalton
Kg	Quilograma
<i>L34</i>	<i>Ribosomal protein L34</i>
LDH	Lactato Desidrogenase
MDR	Multidrug Resistance
MEC	Matriz Extracelular
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligrama

MgCl₂	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitros
NaCl	Cloreto de sódio
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nm	Nanomêtro
NOK-si	Queratinócitos Orais Normais imortalizados
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development Test Guideline
pb	Pares de base
Pb18	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> cepa 18
PBS	Phosphate Buffered Saline (Solução Salina Tamponada com Fosfato)
PCM	Paracoccidioidomicose
PCR	Polymerase Chain Reaction
PS1	Espécie filogenética 1
PS2	Espécie filogenética 2
PS3	Espécie filogenética 3
PS4	Espécie filogenética 4
Ra	Rugosidade média
RIN	RNA Integrity Number
RNA	Ácido Ribonucleico
RT-qPCR	Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction
Rob1	Regulator of biofilms 1
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
S1a	Espécie 1a
S1b	Espécie 1b
SAP	Secreted Aspartyl Proteinase
SAP2	Secreted Aspartyl Proteinase 2
SBS	Sequencing by Synthesis
SFB	Soro Fetal Bovino

Tec1	Transcriptional Enhancer of Colonies 1
UNESP	Universidade Estadual Paulista
V	Volume
VPS51	<i>Vacuolar Protein Sorting 51</i>
XTT	2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[carbonilo(fenilamino)]-2H-tetrazólio-hidróxido
YCK2	<i>Casein Kinase 2</i>
ZEFT	Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 MICRORGANISMOS	25
1.1.1 <i>Paracoccidioides</i> spp.	25
1.1.2 <i>Candida</i> spp.	29
1.2 PARACOCCIDIOIDOMICOSE	31
1.2.1 Paracoccidioidomicose aerodigestivo superior	32
1.3 BIOFILMES E SUPORTES PARA FORMAÇÃO	33
1.4 ANTIFÚNGICOS CONVENCIONAIS E ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA PARA PCM	34
1.4.1 Chalconas	36
1.5 MODELOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS	37
1.5.1 Cultura celular	38
1.5.2 <i>Danio rerio</i>	38
1.5.3 <i>Galleria mellonella</i>	39
1.6 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DE GENES COMO FERRAMENTA NO AVANÇO DAS PESQUISAS EM BIOFILMES	40
2 HIPÓTESE	42
3 JUSTIFICATIVA	43
4 PARTE I: CARACTERIZAÇÃO DO BIOFILME POLIMICROBIANO DE PARACOCCIDIOIDES BRASILENSIS E CANDIDA ALBICANS EM SUBSTRATOS DE RESINA ACRÍLICA E MEMBRANA DE NITROCELULOSE E INTERAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO EM MODELO TRIDIMENSIONAL DE CÉLULAS DE MUCOSA ORAL.	45
4.1 OBJETIVOS	45
4.1.1 Objetivo geral	45
4.1.2 Objetivos específicos	45
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.2.1 Microrganismos	45
4.2.2 Linhagem celular	45
4.2.3 Substratos para o desenvolvimento do modelo multiespécie	46
4.2.3.1 Confecção dos corpos de prova de resina acrílica	46
4.2.3.1.1 Processo de polimerização	46
4.2.3.2 Membrana de nitrocelulose	48
4.2.4 Formação do biofilme e parâmetros de avaliação	48
4.2.4.1 Formação dos biofilmes monoespécies	48

4.2.4.1.1 <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	48
4.2.4.1.2 <i>Candida albicans</i>	49
4.2.4.2 Formação dos biofilmes mistos	49
4.2.5 Quantificação da biomassa	49
4.2.6 Determinação da atividade metabólica do biofilme	50
4.2.7 Análise estrutural dos biofilmes	50
4.2.7.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	50
4.2.7.2 Microscopia multifotônica	51
4.2.7.2.1 Biofilmes monoespécies e mistos.....	51
4.2.8 Avaliação do potencial de colonização e invasão de queratinócitos orais normais humanos(NOK-si) na forma de esferóide	52
4.2.8.1 Padronização do modelo de cultura celular tridimensional (3D) de células NOK-si	53
4.2.8.2 Caracterização dos esferóides	54
4.2.8.3 Interação do modelo 3D de células NOK-si com <i>P. brasiliensis</i> nas formas planctônica e de biofilme monoespécie	55
4.2.8.3.1 Infecção das células NOK-si com a forma planctônica de <i>P. brasiliensis</i> ...	55
4.2.8.3.2 Infecção das células NOK-si com biofilme monoespécie de <i>P. brasiliensis</i>	55
4.2.8.4 Interação do modelo 3D de células NOK-si com <i>C. albicans</i> nas formas planctônica e de biofilme monoespécie	56
4.2.8.4.1 Infecção das células NOK-si com a forma planctônica de <i>C. albicans</i>	56
4.2.8.4.2 Infecção das células NOK-si com biofilme de <i>C. albicans</i>	56
4.2.8.5 Interação do modelo 3D de células NOK-si com biofilmes mistos	56
4.2.9 Microscopia eletrônica de varredura do modelo tridimensional	57
4.2.10 Microscopia multifotônica no modelo tridimensional.....	57
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE I	58
4.3.1 Atividade metabólica e biomassa fúngica dos biofilmes em membrana de nitrocelulose e resina acrílica	58
4.3.2 Análise estrutural dos biofilmes	60
4.3.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	60
4.3.2.2 Microscopia multifóton dos biofilmes	64
4.3.3 Modelo tridimensional de mucosa oral	66
4.3.3.1 Caracterização dos esferóides	66
4.3.3.2 Microscopia eletrônica da interação fúngica com o modelo tridimensional de queratinócitos orais	70
4.3.3.3 Microscopia multifoton do modelo tridimensional de queratinócitos orais	78

4.4 CONCLUSÕES DA PARTE I	79
5 PARTE II: EXPRESSÃO GÊNICA DAS FORMAS PLANCTÔNICAS E DE BIOFILME DE <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> E <i>Candida albicans</i>	80
5.1 OBJETIVOS.....	80
5.1.1 Objetivo geral.....	80
5.1.2 Objetivos específicos	80
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	80
5.2.1 Obtenção das Amostras de RNA.....	80
5.2.2 Extração e quantificação das amostras	81
5.2.3 Avaliação da integridade e qualidade do RNA tratado.....	82
5.2.4 Tratamento do RNA com DNase	83
5.2.5 Síntese de DNA complementar (cDNA).....	83
5.2.6 Oligonucleotídeos	84
5.2.6.1 Desenho dos oligonucleotídeos	84
5.2.6.2 Validação dos Oligonucleotídeos	88
5.2.7 PCR quantitativa em tempo real com transcrição reversa (RT-qPCR)	90
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE II.....	91
5.3.1 Quantificação das amostras	91
5.3.2 Eletroferogramas das amostras.....	92
5.3.3 Curvas-padrão e eficiência dos oligonucleotídeos	94
5.3.4 Análise comparativa da expressão gênica de <i>P. brasiliensis</i> e <i>C. albicans</i> em formas planctônicas, biofilmes e durante a infecção de esferoides de NOK por RT-qPCR.....	98
5.4 CONCLUSÕES DA PARTE II	114
6 PARTE III: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE HIDROXICHALCONA EM BIOFILMES MISTOS DE <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> E <i>Candida albicans</i> E ESTUDO DA TOXICIDADE E EFICÁCIA EM MODELOS ALTERNATIVOS	115
6.1 OBJETIVOS	115
6.1.1 Objetivo geral	115
6.1.2 Objetivos específicos.....	115
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	115
6.2.1 Antifúngicos e derivado de chalcona	115
6.2.2 Determinação da sensibilidade fúngica.....	116
6.2.2.1 Concentração inibitória mínima (CIM) para <i>Candida albicans</i>	116
6.2.2.2 Concentração inibitória mínima (CIM) para <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	117
6.2.2.3 Concentração fungicida mínima para <i>C. albicans</i> e <i>P. brasiliensis</i>	118

6.2.3 Avaliação do efeito antimicrobiano da chalcona e outros compostos sobre os biofilmes	118
6.2.4 Interação das substâncias antifúngicas com o modelo tridimensional de células de mucosa oral	119
6.2.5 Toxicidade <i>in vivo</i> utilizando o modelo <i>Danio rerio</i> (zebrafish)	120
6.2.5.1 Ensaio da toxicidade de fármacos e de compostos em zebrafish	120
6.2.6 Ensaio da atividade de fármacos em <i>Galleria mellonella</i> e interação fungo-hospedeiro.....	122
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE III	123
6.3.1 Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) frente à hidroxichalcona contra <i>Candida albicans</i> e <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .	123
6.3.2 Atividade anti-biofilme de 2-hidroxichalcona	124
6.3.3 Interação dos antifúngicos com modelo 3D de células de mucosa oral	129
6.3.4 Ensaio da toxicidade de fármacos e de compostos em <i>Danio rerio</i> (zebrafish)	130
6.3.5 Toxicidade e eficácia de 2-hidroxichalcona no modelo <i>Galleria mellonella</i>	133
6.4 CONCLUSÕES DA PARTE III	139
7 PRODUÇÃO CIENTÍFICA	140
REFERÊNCIAS	146

1 INTRODUÇÃO

1.1 MICRORGANISMOS

1.1.1 *Paracoccidioides* spp.

O gênero *Paracoccidioides* (Filo: Ascomycota; Classe: Eurotiomycetes; Ordem: Onygenales; Família Ajellomycetaceae) (Untereiner *et al.*, 2004) é composto por fungos termodimórficos, que podem apresentar duas fases distintas a depender da temperatura, a fase leveduriforme (L) a 37°C e a fase micelial (M) em torno de 25°C, sendo que propágulos da fase M são infectantes para o homem e animais (Martinez, 2004; Restrepo *et al.*, 2014).

Inicialmente, os isolados latino-americanos foram analisados geneticamente e a partir daí propuseram quatro espécies filogenéticas para *Paracoccidioides brasiliensis*: S1 (a e b) (espécie 1a e 1b), PS2 (espécie filogenética 2), PS3 (espécie filogenética 3) e PS4 (espécie filogenética 4) (Matute *et al.*, 2006a; 2006b).

O grupo S1 (PS1) diz respeito a uma população monofilética recombinante, ou seja, que compartilha um ancestral comum exclusivo e que apresenta alta variabilidade genética devido à recombinação frequente. O que difere dos grupos PS2, PS3 e PS4 que são parafiléticos clonais, ou seja, possuem um ancestral comum, e de pouca variabilidade genética, pois são geneticamente idênticos (Hahn *et al.*, 2022).

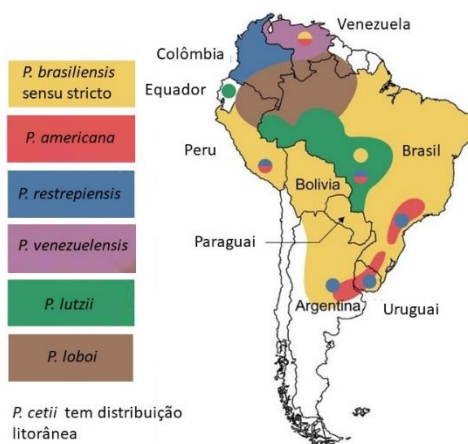
Recentemente, o gênero *Paracoccidioides* foi reclassificado em sete espécies: *Paracoccidioides brasiliensis* (S1/S1a e S1b), *Paracoccidioides americana* (PS2), *Paracoccidioides restrepiensis* (PS3), *Paracoccidioides venezuelensis* (PS4), *Paracoccidioides lutzii* (Matute *et al.*, 2006a; Carrero *et al.*, 2008; Teixeira *et al.*, 2009; Marini *et al.*, 2010; De Macedo *et al.*, 2016; Muñoz *et al.*, 2016; Turissini *et al.*, 2017; Rosa-Júnior *et al.*, 2019, Kruschewsky *et al.*, 2023), além das espécies *Paracoccidioides lobo* (anteriormente *Lacazia lobo*) e *Paracoccidioides cetii*, expandindo a diversidade filogenética do gênero (Rodrigues *et al.*, 2023). Deve-se destacar que as duas últimas até hoje não foram cultivadas.

O complexo *Paracoccidioides* compreende espécies com distribuições geográficas específicas (Figura 1). *Paracoccidioides brasiliensis* sensu stricto (S1) está amplamente distribuído no Brasil, especialmente nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, além de ser encontrado na Argentina, Bolívia, Paraguai, Peru, Uruguai e Venezuela (Roberto *et al.*, 2021; Hahn *et al.*, 2022). *P. americana* (PS2) ocorre em várias regiões da América Latina, embora de forma menos frequente, com registros

no Brasil, Uruguai e Venezuela (Roberto *et al.*, 2021).

Espécies alopátricas como *P. restrepiensis* e *P. venezuelensis* apresentam restrições geográficas (Matute *et al.*, 2006a; Teixeira *et al.*, 2014), sendo encontradas prioritariamente, na Colômbia e na Venezuela, respectivamente. *P. lutzii* tem uma predominância no Centro-Oeste brasileiro, com casos relatados na Amazônia e no Peru (Marques-da-Silva *et al.*, 2012; Hahn *et al.*, 2019). Além destas, tem-se *P. cetii*, encontrado em golfinhos, que é registrado em áreas litorâneas da América Latina, enquanto *P. lobo* está associado à bacia hidrográfica amazônica, Peru, Colômbia e Venezuela (Vilela *et al.*, 2021; Krakhecke-Teixeira *et al.*, 2022).

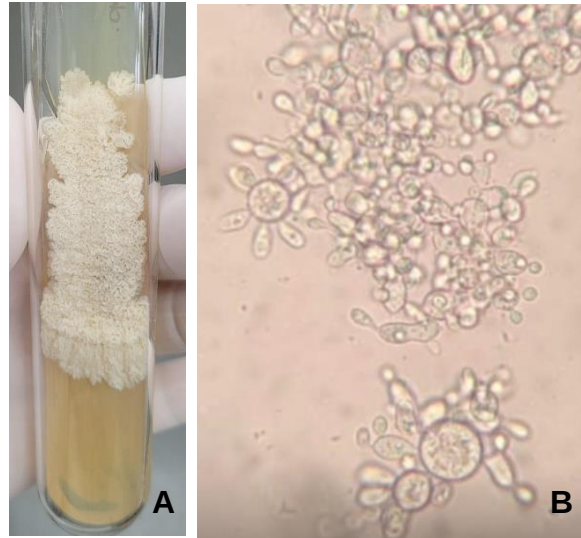
Figura 1 - Distribuição epidemiológica das espécies patogênicas do gênero *Paracoccidioides*



Fonte: adaptado de Rodrigues *et al.*, 2023.

Apesar da quantidade de espécies patogênicas, a paracoccidioidomicose (PCM) ainda é causada em larga escala por *P. brasiliensis*, portanto segue a descrição deste agente etiológico. Quanto às características macromorfológicas da colônia filamentosa, estas são de coloração branca, textura cotonosa, relevo irregular e rugoso, e de micélio aéreo curto, e o reverso varia de bege a marrom. Microscopicamente, na fase miceliar observam-se hifas hialinas septadas, finas e com presença de conídios, clamidoconídios terminais ou intercalares. Essa é a fase capaz de infectar o organismo do hospedeiro (Gauthier, 2015; Restrepo; Cano; Gonzalez, 2015). Já as colônias leveduriformes têm coloração bege, textura cremosa e relevo cerebriforme (Figura 2a). Na análise microscópica, são identificadas formas leveduriformes de formato esférico ou oval (4 a 40 µm), com paredes espessas e refringentes, frequentemente exibindo múltiplos brotamentos que formam uma estrutura característica semelhante a uma roda de leme (Figura 2b) (Martinez, 2004).

Figura 2 - Fase leveduriforme de *Paracoccidioides brasiliensis*



Fonte: Fotografia de Rafaela Santos

Legenda: A) Macroscopia (esquerda) e B) microscopia óptica (direita).

P. brasiliensis já foi recuperado de amostras de tecidos de animais envolvidos no ciclo infeccioso como o tatu-de-nove-bandas (*Dasypus novemcinctus*) (Bagagli *et al.*, 2021) e tatu-de-cauda-nua-do-norte (*Cabassus centralis*) (Corredor *et al.*, 2005).

Existe uma necessidade de entendimento a respeito de como ocorre essa interação do patógeno com o hospedeiro, mas sabe-se que os metabólitos secretados pela célula, a estrutura da superfície da célula hospedeira, bem como proteínas da matriz extracelular (MEC), podem facilitar a identificação de moléculas produzidas pelos patógenos que estejam envolvidas no processo de adesão (Mendes-Giannini *et al.*, 2006). A virulência é um evento múltiplo que envolve a expressão de vários genes em diferentes estágios da infecção (Da Silva *et al.*, 2013), que influencia na capacidade de aderir e invadir barreiras impostas pelos tecidos (Mendes-Giannini *et al.*, 1994; 2006). Este fungo também apresenta a capacidade de sobreviver e se multiplicar dentro de fagócitos e células epiteliais de mamíferos. Vários fatores determinantes da virulência em *Paracoccidioides* spp., como dimorfismo, mudanças na composição da parede celular, adesinas e a formação de biofilme têm sido relatados e podem desempenhar um papel relevante em sua patogênese (Mendes-Giannini *et al.*, 2008; Sardi *et al.*, 2015; Camacho; Niño-Vega, 2017; Catanna *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2020).

No processo de patogênese da PCM, já foram descritas adesinas em *Paracoccidioides* spp., e essas caracterizações foram realizadas, na maioria das vezes, utilizando as cepas Pb18 (*P. brasiliensis* isolado 18) e PI01 (*P. lutzii* isolado 1).

São elas: glicoproteína 43 (GP43) (Hanna; Monteiro da Silva; Mendes-Giannini, 2000; Mendes-Giannini *et al.*, 2006), enolase (Marcos *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2024b), proteína 14-3-3 (30 kDa) (Andreotti *et al.*, 2005; Sardi *et al.*, 2024) e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) (Barbosa *et al.*, 2006).

A interação entre *Paracoccidioides brasiliensis* e células hospedeiras inicia-se por mecanismos de adesão mediados por glicolipídios de membrana e proteínas da MEC, como laminina, fibronectina e fibrinogênio, que atuam como receptores para o fungo (Vicentini *et al.*, 1994; Mendes-Giannini *et al.*, 2008). Moléculas de superfície, como a glicoproteína gp43 (Lopes *et al.*, 1994; Vicentini *et al.*, 1994), a enzima multifuncional GAPDH (Barbosa *et al.*, 2006) e a proteína PbHad32p (Hidrolase de 32 kDa de *P. brasiliensis*) (González *et al.*, 2005; Hernández *et al.*, 2010; 2012), funcionam como adesinas, promovendo a ligação a componentes da MEC e favorecendo a colonização inicial. Além disso, conídios do patógeno podem interagir com proteínas plasmáticas, causando sua depleção, portanto, levando à hipocoagulação, o que sugere um ambiente favorável à disseminação hematogênica (Tamayo *et al.*, 2013).

Após a adesão, o fungo desencadeia processos de remodelação do citoesqueleto em células epiteliais pulmonares, associados ao recrutamento de integrinas $\alpha 3$ e $\alpha 5$ em microdomínios de membrana, o que resulta na secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e IL-8 (BARROS *et al.*, 2016). Paralelamente, mecanismos de evasão imune, como a secreção de fosfolipase B (PLB), aumentam a internalização em macrófagos e reduzem a expressão de mediadores pró-inflamatórios, modulando a resposta do hospedeiro e favorecendo a persistência do fungo (Soares *et al.*, 2010).

Os biofilmes são comunidades altamente estruturadas de microrganismos ligados a uma superfície (células sésseis) envoltos em uma MEC autoproduzida, composta por polissacarídeos, proteínas e eDNA (Flemming; Neu; Wozniak, 2007).

O primeiro relato sobre produção de biofilme *in vitro* por *Paracoccidioides brasiliensis* foi feito por Sardi *et al.* (2015), que o caracterizaram metabólica e estruturalmente por microscopia. Também já foi relatado que *P. brasiliensis* produziu biofilme *in vivo* em uma prótese vascular retirada de um indivíduo do sexo masculino (Cattana *et al.*, 2017).

Carlton Braz Derissi (2018) verificou a capacidade de formação de biofilme por *P. brasiliensis* em fios de sutura *in vitro* e *in vivo*, comparando a cepa silenciada para

a adesina 14-3-3 (Pb14-3-3 aRNA) com a cepa selvagem de Pb18 (Marcos *et al.*, 2016). Outros estudos foram conduzidos sequencialmente com essa espécie pelo grupo, tanto avaliando o comportamento do biofilme monoespécie (Sardi *et al.*, 2024) quanto o de biofilmes mistos (Oliveira *et al.*, 2020; Medina-Alarcón *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2024b).

Além disso, diversos estudos sobre biofilmes têm sido conduzidos para destacar a relevância desse fator de virulência. Exemplos incluem pesquisas envolvendo biofilmes de dermatófitos (Costa-Orlandi *et al.*, 2014; 2020; Bila *et al.*, 2021; Belizário *et al.*, 2024), *Histoplasma capsulatum* (Fregonezi *et al.*, 2020; Gonçalves *et al.*, 2020; Pitangui *et al.*, 2021; Pires *et al.*, 2024), *Candida* spp. (Garcia *et al.*, 2020) e *Cryptococcus neoformans* (Singulani *et al.*, 2021; De Lima Gualque *et al.*, 2024).

1.1.2 *Candida* spp.

As espécies de *Candida* (Filo Ascomycota; Classe Saccharomycetes; Ordem Saccharomycetales; Família Saccharomycetaceae) são responsáveis pela maioria das infecções humanas causadas por patógenos fúngicos. Entre elas, destacam-se *Candida albicans*, a causa mais frequente de infecções oportunistas e outras espécies emergentes, como *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis* (Pappas *et al.*, 2018; Lopes; Lionakis, 2021).

Quanto às características macromorfológicas, *Candida albicans* apresenta colônias de cor bege, textura cremosa e relevo plano, sem pigmento difuso. Microscopicamente, possui blastoconídios com brotamentos esféricos medindo de 2 a 8 µm, podendo formar pseudo-hifas a hifas verdadeiras (Lacaz *et al.*, 2002).

C. albicans explora a transição dimórfica, de levedura para a filamentosa, como estratégia para promover sua patogenicidade, sendo ainda o principal agente etiológico de candidose (Wang; Lu, 2025). Essa espécie está presente como comensal na população humana e coloniza de forma assintomática os tratos oral, gastrointestinal e genital (Beigi *et al.*, 2004; Bougnoux *et al.*, 2006; Araújo; Henriques; Silva, 2017).

As infecções por *C. albicans* podem apresentar-se de formas clínicas variadas, desde infecções brandas em pele e mucosas, até infecções invasivas (Naglik; Challacombe; Hube, 2003). Entre as manifestações mais comuns destacam-se a candidose oral, com placas esbranquiçadas removíveis ou áreas eritematosas na

mucosa (Baumgardner, 2019); a candidose cutânea e intertriginosa (Lu *et al.*, 2023), caracterizada por eritema e prurido em regiões de dobras; vulvovaginite (Denning *et al.*, 2018), balanite (Lisboa *et al.*, 2010); onicomicose em região proximal da unha, geralmente por ocasião de paroníquia persistente (Piraccini; Alessandrini, 2015) e formas sistêmicas, potencialmente graves, com envolvimento multiorgânico (Ricotta *et al.*, 2021; Lu *et al.*, 2023).

A cavidade bucal é colonizada por diferentes espécies microbianas organizadas geralmente em forma de biofilme (Escapa *et al.*, 2018). *C. albicans* é uma das mais abundantes do microbioma bucal e agente da candidose (Ramage *et al.*, 2004; Millsop; Fazel, 2016; Fangtham; Magder; Petri, 2014; Cornely *et al.*, 2025). Esta espécie tem capacidade de aderir principalmente aos tecidos moles e às superfícies de próteses (Xu *et al.*, 2014). Há evidências da coexistência de *C. albicans* com outros fungos e organismos de diferentes reinos, que podem afetar tanto a dinâmica do crescimento do biofilme quanto o curso e a gravidade das lesões da mucosa, conforme revisado por Negrini, Koo e Arthur (2019).

A candidose oral pode ser classificada em primária ou secundária, conforme sua origem e extensão clínica. A forma primária limita-se à cavidade oral, manifestando-se apenas localmente. Já a forma secundária está associada à infecção sistêmica, nas quais a cavidade oral é acometida como parte de um quadro infeccioso disseminado (Talapko *et al.* 2021).

A forma primária apresenta ainda subtipos específicos: candidose pseudomembranosa, eritematosa aguda, eritematosa crônica e hiperplásica, cada um com sinais clínicos diferenciados, intensidade inflamatória variável e impacto distinto sobre a qualidade de vida do paciente (Lewis; Williams, 2017).

A forma clínica mais frequentemente observada da candidose oral é a pseudomembranosa, caracterizada pelo aparecimento de placas esbranquiçadas aderidas à mucosa. Essas lesões podem ser removidas com facilidade, uma vez que o comprometimento fúngico se restringe às camadas superficiais do epitélio (Hellstain; Marek, 2019).

Já a forma eritematosa aguda pode surgir após o uso de antibióticos ou outros fármacos imunossupressores. Clinicamente, o indivíduo apresenta mucosa eritematosa, sem placas esbranquiçadas, com dor e sensação de queimação, com intensa hipersensibilidade (Baumgardner, 2019).

Dentre essas manifestações, a forma eritematosa crônica é a que acomete em indivíduos que utilizam próteses dentárias, geralmente de acrílico. Este material polimérico favorece a adesão e formação de biofilme de *C. albicans*, criando um microambiente propício à colonização persistente. Nessa condição, a infecção geralmente se restringe à mucosa palatina coberta pela prótese, geralmente assintomático (O'donnell *et al.*, 2015; Hellstain; Marek, 2019; Gad; Fouda, 2020). Fatores adicionais, como higiene oral inadequada, uso prolongado da prótese e ajustes incorretos, aumentam a susceptibilidade à colonização fúngica e ao desenvolvimento da candidose protética (Talapko *et al.* 2021).

A candidose hiperplásica oral é uma forma crônica da infecção por *Candida*, caracterizada por placas brancas espessas e aderidas à mucosa, que não se desprendem com raspagem. Afeta a mucosa jugal, e diferente de outras formas clínicas, essa manifestação apresenta um componente inflamatório persistente e pode representar risco potencial de transformação maligna, exigindo acompanhamento clínico rigoroso (Lagha; Cain; Jones, 2025).

1.2 PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), *Paracoccidioides* spp. foram incluídos na lista de patógenos fúngicos prioritários, por causarem a Paracoccidioidomicose (PCM) e esta ser considerada a mais importante micose sistêmica endêmica na América Latina, além de outros fatores que envolvem o fato de ser ocasionada por um patógeno primário, mas que também afeta imunocomprometidos, e que traz risco de vida e sequelas para os indivíduos afetados, mesmo com tratamento disponível (Who, 2022).

É uma doença causada por sete diferentes espécies, dentre estas, *P. brasiliensis* e *P. lutzii* são as prevalentes no Brasil (Turissini *et al.*, 2017; Hrycyk *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2023).

A infecção é ocasionada pela inalação dos propágulos fúngicos suspensos no ar da fase miceliar. Os fungos são frequentemente encontrados em solos, portanto o maior risco de infecção está diante dos trabalhadores rurais e da construção civil, pois estão em contato constante com partículas aéreas (Dos Santos *et al.*, 2003; Bellissimo-Rodrigues *et al.*, 2011; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017).

Portanto, o pulmão é o órgão de infecção primária e pode ocorrer a disseminação através da via hematogênica para outros nichos dos órgãos do corpo,

como pele, mucosas de vias aéreas e a cavidade oral, onde formam lesões granulomatosas ulceradas e hemorrágicas (Negroni, 1993; Armas *et al.*, 2012). Porém, essa predileção por determinados sítios corporais varia de acordo com a tolerância do fungo a várias condições, como aumento da temperatura (Kanetsuna *et al.*, 1972; Campos *et al.*, 2008) influências hormonais (Restrepo *et al.*, 1984; Aristizabal *et al.*, 1998; Shankar *et al.*, 2011) e resposta imune (De Castro *et al.*, 2013; Mendes *et al.*, 2017; Burger, 2021; Hahn *et al.*, 2022; Preite *et al.*, 2024).

A paracoccidioidomicose manifesta-se em duas principais formas clínicas: a forma aguda, predominante em crianças e jovens de ambos os sexos, e a forma crônica, que ocorre principalmente em homens adultos. Na forma crônica, observa-se frequentemente a disseminação primária pulmonar para outros sítios secundários (Brazão-Silva *et al.*, 2011; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017; Hahn *et al.*, 2022).

1.2.1 Paracoccidioidomicose aerodigestivo superior

O comprometimento das cavidades nasais, oral, faringe e laringe constituem o grupo envolvido no trato aerodigestivo superior. É importante ressaltar que as amostras coletadas, oriundas dos indivíduos acometidos por estes quadros de PCM, são de fácil acesso para um diagnóstico preciso e têm grande relevância clínica e epidemiológica, pois são evidentes as sequelas causadas por essa micose, mesmo com o seguimento terapêutico correto (Hahn *et al.*, 2022). As lesões aparecem na gengiva e no palato podendo também se estender aos lábios (Trindade *et al.*, 2017), estes locais apresentam lesões granulomatosas, infiltradas e ulceradas e muitas vezes com a perda dos dentes dos indivíduos acometidos, pois a destruição do tecido ocasiona a perda óssea periodontal, com consequente mobilidade dentária, após a exposição da raiz (Sposto *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2007).

É importante ressaltar que a maioria das pessoas que procura o diagnóstico da PCM crônica refere que a busca é ocasionada pelo processo doloroso nas lesões orais e pela perda dos dentes (Brazão-Silva *et al.*, 2011).

Considerando que *Candida* e *Paracoccidioides* podem coexistir na cavidade oral, Oliveira *et al.* (2020) mostraram que biofilme misto de *P. brasiliensis* com *C. albicans* apresentou maior biomassa e maior atividade metabólica. Portanto, ambos os fungos podem interagir, impulsionando o crescimento do biofilme que, por sua vez, poderia levar à exacerbação dos sintomas clínicos.

1.3 BIOFILMES E SUPORTES PARA FORMAÇÃO

Os biofilmes começaram a ser observados como uma capacidade bacteriana de desenvolver e aderir a quase todas as superfícies (López, Vlamakis; Kolter, 2010). Porém, muitos fungos clinicamente importantes, como *Aspergillus* (Seidler; Salvenmoser; Muller, 2008; Beauvais; Latgé, 2015; Liu *et al.*, 2022), *Candida* (Al-Fattani; Douglas, 2006; Pappas *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2020), *Cryptococcus* (Martinez; Casadevall, 2015; De Lima Gualque *et al.*, 2024), *Histoplasma* (Pitangui *et al.*, 2012; Gonçalves *et al.*, 2020; Pires *et al.*, 2024), *Paracoccidioides* (Sardi *et al.*, 2015; 2024; Cattana *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2020; Medina-Alarcón *et al.*, 2021), *Pneumocystis* (Cushion; Collins; Linke, 2009), dentre outros, também foram relatados formando biofilmes.

A massa do biofilme corresponde a 70 a 95% de matriz polimérica extracelular, e geralmente apresenta glucanas, mananas e quitina em sua constituição (Mitchell *et al.*, 2015; Zarnowski *et al.*, 2018).

A capacidade dos microrganismos de formar biofilmes exerce um impacto significativo na evolução clínica do paciente, tanto na progressão da infecção quanto na eficácia do tratamento. Isso ocorre porque as células associadas a biofilmes apresentam maior resistência aos medicamentos antifúngicos em comparação com as células planctônicas, e este é um fator de virulência muito importante a ser considerado. Essa resistência está relacionada à estrutura tridimensional do biofilme, à presença de células com metabolismo reduzido nas camadas mais profundas e ao microambiente protetor proporcionado pela matriz extracelular (Fanning; Mitchell, 2012; Nobile; Johnson, 2015; Ponde *et al.*, 2021; Kaur; Nobile, 2023).

A topografia das superfícies de fixação para células planctônicas pode influenciar diretamente os estágios iniciais da formação de biofilmes, enquanto as características químicas dessas superfícies podem modular a adesão celular, promovendo a formação de comunidades mais organizadas. Assim, as propriedades físico-químicas das superfícies de adesão representam um fator crucial na formação de biofilmes. Essa organização potencialmente aprimora a comunicação entre as células, favorecendo o desenvolvimento e a estabilidade do biofilme (Zhao; Sun; Liu, 2023).

Biofilmes são comumente encontrados na superfície de instrumentos hospitalares e tecidos corporais, na indústria, em unidades de processamento de alimentos e em ambientes naturais (Schulze *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2024). Dessa

forma, a investigação de diferentes superfícies de adesão e a identificação de características que favorecem ou inibem a formação de biofilmes oferecem novas perspectivas para estratégias de controle e manejo desses agregados microbianos.

Para isso, a resina acrílica, material amplamente empregado na prática odontológica para reabilitação de pacientes edêntulos, portanto indicada para confecção de próteses totais e parciais removíveis, já vem sendo utilizada como *scaffold* para a formação de biofilmes de *Candida* (Oliveira *et al.*, 2024a; Tasso *et al.*, 2024a; 2024b). A resina acrílica foi sintetizada pela primeira vez em 1900 e é obtida por meio da polimerização dos monômeros de metacrilato de metila (MMA). Ela é composta por dois componentes, um em forma de pó (PMMA – polimetilmetacrilato) e outro na forma líquida (monômero de MMA) (Sastri, 2022).

A reação de polimerização é ativada pela presença de peróxido de benzoíla e passa por diferentes fases: arenosa, filamentosa, plástica e por último, sólida.

Muitos trabalhos já vêm sendo feitos utilizando a resina acrílica, como superfície para formação de biofilmes, pois é sabido que essas próteses são suportes afetados, principalmente por *Candida* (Wady *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2024a; Tasso *et al.*, 2024a; 2024b). Porém, não se têm estudos que associem essa superfície com *Paracoccidioides*.

Quanto à nitrocelulose, trata-se de um polímero, derivado da celulose, inflamável e resultado da nitração de algodão, serragem e amido (Nevell, 1985). Quimicamente, é um éster nitrado inorgânico de celulose obtido através da mistura de ácido sulfúrico e nítrico (McKeen, 2017).

O uso da membrana de nitrocelulose, como base dos experimentos, diz respeito à captura e à imobilização de moléculas específicas (Mattar *et al.*, 2020), especialmente proteínas, DNA e RNA (Tonkinson; Stillman, 2002), que testam a adesão das células e consequente formação do biofilme ou apresentem resposta sobre este biomaterial, fornecendo uma simulação das ligações biomoleculares e interações biológicas.

1.4 ANTIFÚNGICOS CONVENCIONAIS E ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA PARA PCM

As opções para o tratamento da paracoccidioidomicose são limitadas na prática, apesar de haver estudos que indicam que as espécies de *Paracoccidioides* têm sensibilidade a outros antifúngicos (Restrepo *et al.* 1980; 1987; Naranjo *et al.*,

1990; Diaz *et al.*, 1992; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2002; Queiroz-Teles *et al.*, 2007; De Almeida-Campos *et al.*, 2023). Tem-se disponível o uso de itraconazol, cotrimoxazol (sulfametoxazol-trimetoprima) e anfotericina B (desoxicolato e formulações lipídicas) (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017).

O itraconazol é o medicamento de primeira escolha no tratamento da PCM (Brasil, 2022). Trata-se de um antifúngico sintético, da classe dos triazóis, que bloqueia a biossíntese do ergosterol por inibição da enzima 14- α -desmetilase dependente de citocromo P450 (CYP450) (Odds; Brown; Gow, 2003).

Quimicamente, a desmetilação do lanosterol fúngico é um processo em duas etapas que depende do oxigênio e da forma reduzida da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato hidrogenado (NADPH). Durante esse processo, o nitrogênio presente no anel triazólico do antifúngico liga-se ao ferro do grupo heme da enzima 14- α -desmetilase, bloqueando a oxidação do grupo metila. Esse bloqueio leva ao acúmulo de metabólitos derivados do lanosterol, que são tóxicos para a membrana celular fúngica, portanto reduzem os níveis de ergosterol, resultando em um efeito fungistático (Sagatova *et al.*, 2015).

Cotrimoxazol, que também é preconizado como tratamento da PCM (Brasil, 2022), é uma combinação de dois antibióticos: sulfametoxazol (uma sulfonamida) e trimetoprima (inibidor da diidrofolato redutase). O mecanismo de ação desse fármaco, envolve a interferência na síntese de ácido fólico, essencial para a produção de DNA, RNA e proteínas (Church *et al.*, 2015).

Por atuar como análogo do ácido para-aminobenzoico (PABA), o sulfametoxazol compete com ele pela enzima diidrofolato sintase; isso impede a formação de ácido diidrofólico, precursor de ácido fólico nos fungos. Já trimetoprima inibe a diidrofolato redutase, a enzima responsável pela conversão do ácido diidrofólico em ácido tetraidrofólico, a forma ativa do ácido fólico, necessária para a síntese dos nucleotídeos. Embora cada agente isolado seja fungistático, o bloqueio dessas duas enzimas, sinergicamente, resulta em atividade fungicida quando combinados (Wormser; Keusch; Hell, 1982).

Também para as formas graves, como PCM aguda e os casos neurológicos, a anfotericina B (AMB) é a mais utilizada (Brasil, 2022). Este antifúngico natural, originado de *Streptomyces nodosus*, que pertence à classe dos polienos, possui um anel lactona como grupo farmacofórico (Gupta; Sauder; Shear, 1994), e apresenta dois mecanismos de ação distintos. O primeiro envolve a interação das moléculas de

anfotericina B com o ergosterol, um componente específico da bicamada lipídica das células fúngicas. Devido à sua natureza anfipática, a região hidrofóbica da anfotericina B liga-se ao ergosterol, enquanto sua região hidrofílica, rica em grupos hidroxila, orienta-se para o meio aquoso, possibilitando a formação de poros na membrana plasmática. Esses poros permitem o escape de íons como K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- e de glicose, resultando na perda da integridade osmótica e culminando na morte celular do fungo. Além disso, AMB promove o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), que causam danos ao DNA, proteínas, mitocôndrias e membrana celular (Mesa-Arango; Scorzoni; Zaragoza, 2012).

1.4.1 Chalconas

Os estudos sobre as implicações da formação dos biofilmes no estabelecimento da doença e a sua influência no tratamento e na resistência aos antimicrobianos são de extrema relevância. Atualmente, os fármacos disponíveis no arsenal terapêutico são usados na forma planctônica do fungo e tem-se assim recidivas importantes e que sugerem a pouca eficácia destes antifúngicos, além de sugerir a possibilidade de estarmos diante de outras formas de associação entre microrganismos (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017). Portanto, há necessidade de estratégias inovadoras e novos fármacos antifúngicos.

Muitas estruturas têm sido investigadas na química medicinal, para que novas sugestões terapêuticas sejam aventadas (Zhuang *et al.*, 2017).

As chalconas são compostos polifenólicos precursores de flavonoides, amplamente encontrados em plantas, frutos, chás e alimentos a base de soja (Karimi-Sales *et al.*, 2018; Elkanzi *et al.*, 2022).

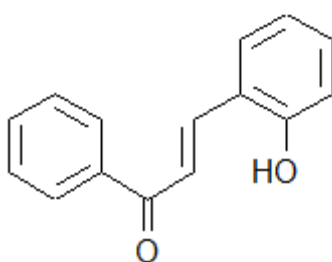
Estruturalmente, consistem em uma cetona contendo dois anéis aromáticos conectados por um sistema carbonílico α,β -insaturado, caracterizado como 1,3-difenil-2-propen-1-ona. Essa configuração estrutural confere às chalconas uma ampla diversidade química e atividades biológicas relevantes, pois estão em conjugação contínua (Rammohan *et al.*, 2020). Esse aspecto pode estar relacionado ao seu baixo potencial redox, à elevada estabilidade e à capacidade de realizar reações de transferência de elétrons (Gaonkar; Vignesh, 2017). Assim, as chalconas são uma classe promissora de compostos com potencial terapêutico contra várias doenças, infecciosas ou não.

Essas aplicações medicinais são as mais variadas, como atividades anticancerígenas e antioxidantes (Seba *et al.*, 2018; Dos Santos *et al.*, 2019), anti-inflamatórias (Fernandes *et al.*, 2021), antidiabéticas (Hsieh *et al.*, 2012; Abbasi *et al.*, 2024), antimaláricos (Qin *et al.*, 2020), antiprotozoários (Batovska *et al.*, 2006; Passalacqua *et al.*, 2015), antibacterianas (Medina-Alarcón *et al.*, 2020; 2021; SATOKATA *et al.*, 2022) e antifúngicas (Melo *et al.*, 2017; Medina-Alarcón *et al.*, 2020; 2021; Bila *et al.*, 2021; Maschio-Lima *et al.*, 2024), dentre outras.

Em relação às propriedades antifúngicas, o estudo de López *et al.* (2001) sugeriu que o mecanismo de ação das chalconas envolve a inibição das enzimas quitina sintase-1 e $\beta(1,3)$ -glucana sintase, responsáveis por catalisar a síntese dos polissacarídeos quitina e $\beta(1,3)$ -glucana, respectivamente, ambos essenciais para a estrutura da parede celular fúngica.

As chalconas são sintetizadas por meio da reação de condensação de Claisen-Schmidt (Zeraik *et al.*, 2012). Essa reação envolve a condensação de acetofenonas e aldeídos na presença de catalisadores ácidos ou básicos, utilizando solventes polares e temperaturas entre 50°C e 100°C por várias horas (Zeraik *et al.*, 2012; Gaonkar; Vignesh, 2017). A chalcona que foi sintetizada para este estudo foi a 2-hidroxichalcona (2-HC) (Figura 3).

Figura 3 - Estrutura química da 2-hidroxichalcona



Fonte: Autora Via Bkchem.

1.5 MODELOS ALTERNATIVOS AO USO DE ANIMAIS

O uso de animais na pesquisa é crucial para o avanço do conhecimento (Sneddon, Halsey; Bury, 2017) em muitas áreas, porém alinhados ao avanço na busca de novos tratamentos, também buscam-se métodos alternativos ao uso de animais não-mamíferos, bem como a associação desses resultados em modelos celulares (Fusco-Almeida *et al.*, 2023), para isso dispõe-se de testes em zebrafish (*Danio rerio*) e *Galleria mellonella*. Ambas as plataformas foram usadas na avaliação de novas substâncias antifúngicas contra *Paracoccidioides* spp. (De Lacorte Singulani *et al.*,

2016).

1.5.1 Cultura celular

Os modelos de cultura celular 2D, embora amplamente utilizados, apresentam limitações significativas quando comparados aos modelos animais pré-clínicos, especialmente em relação à complexidade dos processos fisiológicos. As interações célula a célula e a modulação imunológica observadas *in vivo* não são simuladas de forma eficaz nesses sistemas. Em contrapartida, os modelos de cultura 3D têm ganhado destaque por sua capacidade de replicar características estruturais e funcionais mais próximas do ambiente biológico natural, proporcionando interações celulares mais robustas e uma melhor representação da fisiologia (Prasad *et al.*, 2021; Shah *et al.*, 2023).

O estudo de Vaso *et al.* (2022) apontou que os esferoides podem ser utilizados na triagem de novos compostos, pois são menos susceptíveis ao efeito tóxico, quando comparados às monocamadas, simulando de forma mais fidedigna o ambiente fisiológico, pois as células secretam a MEC na qual residem e podem interagir com células de seu microambiente original (Friedrich *et al.*, 2009; Fennema *et al.*, 2013).

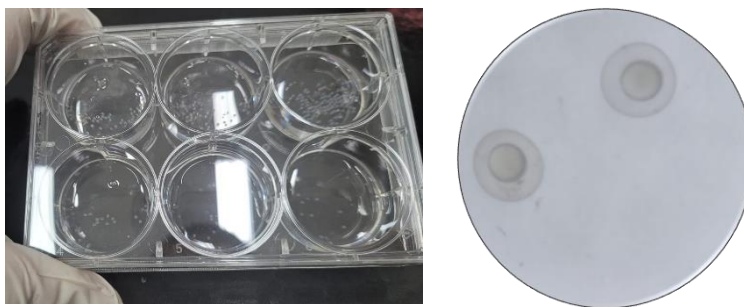
1.5.2 *Danio rerio*

O zebrafish (*Danio rerio*), pertencente à família Cyprinidae (Creaser, 1934), ordem Cypriniformes (Brasil, 2023), é amplamente utilizado em estudos genéticos e vem ganhando destaque pela sua aplicabilidade em investigações toxicológicas (Hill *et al.*, 2005). Esse modelo apresenta benefícios expressivos em relação a outros vertebrados, pois permite a elucidação de respostas relevantes em triagens de compostos terapêuticos (Choi *et al.*, 2021; Kandasamy *et al.*, 2022).

O modelo zebrafish apresenta diversas vantagens, incluindo seu pequeno tamanho, facilidade de manutenção e alimentação, alta taxa de fertilidade e capacidade de reprodução em condições controladas. Além disso, o desenvolvimento embrionário externo e a transparência dos embriões permitem a observação direta de processos biológicos (Muth-Köhne *et al.*, 2012) (Figura 4). Esse modelo tem sido amplamente utilizado com sucesso em estudos de toxicidade e teratogenicidade, fornecendo resultados rápidos e eficientes sobre efeitos tóxicos e a relação dose-resposta de substâncias (He *et al.*, 2014; De Lacorte-Singulani *et al.*, 2016; Breeta *et al.*, 2018; Jarque *et al.*, 2020; Priya *et al.*, 2023).

Testes em embriões de zebrafish oferecem um modelo robusto para avaliações toxicológicas, sendo aplicados no estudo de diversos compostos, incluindo chalconas, que têm sua toxicidade avaliada em pesquisas recentes (Chen *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2014; Medina-Alarcón *et al.*, 2020; Ferreira *et al.*, 2021; De Souza *et al.*, 2022).

Figura 4 - Embriões de zebrafish



Fonte: Autora

1.5.3 *Galleria mellonella*

G. mellonella é um inseto pertencente à subfamília Galleriinae, da família Pyralidae e da ordem Lepidoptera, amplamente reconhecido como uma praga natural de colmeias. O ciclo de vida dessa espécie inclui as fases de ovo, larva, pupa e adulta. As larvas possuem coloração bege, medem aproximadamente 3 cm de comprimento e, em sua fase mais desenvolvida, podem pesar entre 300 e 500 mg (Cutuli *et al.*, 2019).

Este modelo in vivo apresenta vantagens em relação aos modelos mamíferos. O ciclo de vida dura em média 8 semanas e o inseto é de fácil acondicionamento, manutenção e reprodução (Kwadha *et al.*, 2017), além de não haver restrições legais e éticas, como as que existem quanto ao uso de animais vertebrados (Kavanagh; Sheehan, 2018) e também pela capacidade do uso de muitas larvas, que aumenta a confiabilidade dos resultados (Allegra *et al.*, 2018).

As pesquisas têm se concentrado no uso das larvas adultas, tanto pela facilidade de manipulação dessa fase em relação às vias de administração de substâncias quanto pela possibilidade de investigação da resposta imune (Fusco-Almeida *et al.*, 2023).

Embora os mamíferos possuam uma resposta imune adaptativa e sejam filogeneticamente distantes dos insetos, ambos compartilham respostas imunes inatas funcionais semelhantes, o que torna este modelo uma ferramenta vantajosa para esta

comparação frente às injúrias (Serrano *et al.*, 2023). Nesse contexto, o modelo permite a extração da hemolinfa para estudo dos hemócitos, que desempenham funções de defesa, além da avaliação das reações de melanização na cutícula do inseto, fornecendo correlações positivas para a compreensão desses processos (Tsai; Loh; Proft, 2016).

No contexto de testes de toxicidade e eficácia, este modelo *in vivo* se destaca por estabelecer uma ponte entre os resultados observados *in vitro* e os ensaios realizados em vertebrados. Ele permite a exclusão de compostos com potencial tóxico e a seleção daqueles que justificam estudos adicionais em modelos mamíferos. Essa abordagem contribui para a redução do uso de mamíferos em ensaios pré-clínicos, promovendo uma diminuição nos custos associados à pesquisa e ao desenvolvimento de novos bioativos farmacológicos (Desbois; Coote, 2012). Portanto, esse modelo fornece um meio rápido e confiável para avaliar a toxicidade *in vivo*, e os resultados mostram correlações com linhagens celulares (Allegra *et al.*, 2018).

Também há estudos de virulência que investigaram o potencial infeccioso de espécies de *Paracoccidioides* e outros fungos, bem como de possibilidades de tratamento. Nesse contexto foram avaliadas as curvas de sobrevivência de larvas infectadas e tratadas, cargas fúngicas, exames histológicos, quantificação e densidade de hemócitos, o que traz inúmeras possibilidades sobre o potencial desse modelo na seleção e elucidação de mecanismos de novos medicamentos (Thomaz *et al.*, 2013; Cordero *et al.*, 2016; De Lacorte-Singulani *et al.*, 2016; Fernandes *et al.*, 2024)

Por tudo isso, o uso das larvas de *Galleria* leva a um rápido desenvolvimento no processo investigativo de novas substâncias, sendo um requisito importante para os testes pré-clínicos em vertebrados (Piatek; Sheehan; Kavanagh, 2021).

1.6 ANÁLISE DE EXPRESSÃO DE GENES COMO FERRAMENTA NO AVANÇO DAS PESQUISAS EM BIOFILMES

Os fenótipos das células de biofilme são totalmente distintos dos observados em células planctônicas, por isso detalhar o nível de expressão gênica é importante. Esse fato tem grande relevância clínica, uma vez que os biofilmes são mais tolerantes aos agentes antimicrobianos e menos suscetíveis aos mecanismos de defesa do hospedeiro (Costerton *et al.*, 1995; Oshiro *et al.*, 2019). No campo clínico, essas

infecções são altamente importantes e muitas vezes são ignoradas, apesar das consequências devastadoras se não forem tratadas de forma adequada (Hui; Gifford; Rhodes, 2024).

Estudos têm sido conduzidos com o objetivo de identificar genes envolvidos na patogênese da paracoccidioidomicose em resposta a diversos estímulos e durante a infecção (Felipe *et al.*, 2005; Bailão *et al.*, 2006; Tavares *et al.*, 2007; Lacerda Pigosso *et al.*, 2017), no entanto, o conhecimento da expressão gênica envolvida na formação de biofilmes por *Paracoccidioides* refere-se a aumento da expressão dos genes *GP43*, enolase, *GAPDH*, aspartil proteinase (Sardi *et al.*, 2015), *GEL3*, *14-3-3*, *AGS1* e *FKS1* e diminuição de *KRE6* (Oliveira *et al.*, 2024b)

Dessa forma, ferramentas ômicas podem ser empregadas para a obtenção das diferenças entre a assinatura transcricional, traducional e metabólica de um microrganismo em biofilmes e em crescimento planctônico. Esses dados são úteis para a descoberta de genes homólogos, detecção de polimorfismo e *splicing* de RNAm, identificação de moléculas candidatas a vacinas, novos alvos de fármacos, predição de genes e estudos de expressão (Felipe *et al.*, 2005).

REFERÊNCIAS

- ABBASI, S. A. *et al.* Molecular modeling and synthesis of novel benzimidazole-derived thiazolidinone bearing chalcone derivatives: a promising approach to develop potential anti-diabetic agents. **Zeitschrift für naturforschung c journal of biosciences**, v. 80, p. 375-390, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/znc-2024-0202>. Acesso em: 06 fev. 2025.
- AL-FATTANI, M. A.; DOUGLAS, L. J. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. **Journal of medical microbiology**, v. 55, n. 8, p. 999–1008, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46569-0>. Acesso em: 20 set. 2024.
- ALLEGRA, E. *et al.* *Galleria mellonella* larvae allow the discrimination of toxic and non-toxic chemicals. **Chemosphere**, v. 198, p. 469–472, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.175>. Acesso em: 28 set. 2024.
- ALONSO, M. F. *et al.* Macrophage migration is impaired within *Candida albicans* biofilms. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 3, n. 3, p. 31, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof3030031>. Acesso em: 20 set. 2024.
- AMARAL, R. L. F. *et al.* Comparative analysis of 3D bladder tumor spheroids obtained by forced floating and hanging drop methods for drug screening. **Frontiers in physiology**, v. 8, p. 605, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00605>. Acesso em: 03 out. 2024.
- ANDRADE, J. T. *et al.* Design, synthesis, biological activity and structure-activity relationship studies of chalcone derivatives as potential anti-*Candida* agents. **The journal of antibiotics**, v. 71, n. 8, p. 702–712, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41429-018-0048-9>. Acesso em: 08 ago. 2024.
- ANDREOTTI, P. F. *et al.* Isolation and partial characterization of a 30 kDa adhesin from *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microbes and infection**, v. 7, n. 5–6, p. 875–881, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.02.005>. Acesso em: 08 ago. 2024.
- ARANTES, T. D. *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis* and *Paracoccidioides lutzii*, a secret love affair. **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 57, n. 19, p. 25–30, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000700006>. Acesso em: 12 jun. 2025.
- ARAÚJO, D.; HENRIQUES, M.; SILVA, S. Portrait of *Candida* species biofilm regulatory network genes. **Trends in microbiology**, v. 25, n. 1, p. 62–75, 2017.
- ARISTIZABAL, B. H. *et al.* Morphological transition of *Paracoccidioides brasiliensis* conidia to yeast cells: in vivo inhibition in females. **Infection and immunity**, v. 66, n. 11, p. 5587–5591, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.66.11.5587-5591.1998>. Acesso em: 14 jun. 2024.

ARMAS, M. *et al.* Pulmonary paracoccidioidomycosis: A case report with high-resolution computed tomography findings: Paracoccidioidomicose pulmonar: relato de caso clínico com alterações na tomografia computadorizada de alta resolução. **Revista portuguesa de pneumologia**, v. 18, n. 4, p. 190–193, 2012.

BAGAGLI, E. *et al.* Paracoccidioides brasiliensis Isolated from Nine-Banded Armadillos (*Dasypus novemcinctus*) Reveal Population Structure and Admixture in the Amazon Basin. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 1, p. 54, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7010054>. Acesso em: 22 mar. 2025.

BAILÃO A. M., *et al.* Differential gene expression by Paracoccidioides brasiliensis in host interaction conditions: representational difference analysis identifies candidate genes associated with fungal pathogenesis. **Microbes and infection**, v. 8, p. 2686–2697, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.07.019>. Acesso em: 22 mar. 2025.

BAJUNAID, S. O. How effective are antimicrobial agents on preventing the adhesion of *Candida albicans* to denture base acrylic resin materials? A systematic review. **Polymers**, v. 14, n. 5, p. 908, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym14050908>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BARBOSA, M. S. *et al.* Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of Paracoccidioides brasiliensis is a cell surface protein involved in fungal adhesion to extracellular matrix proteins and interaction with cells. **Infection and immunity**, v. 74, n. 1, p. 382–389, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.74.1.382-389.2006>. Acesso em: 16 jun. 2025.

BARROS, B. C. S. C. *et al.* Paracoccidioides brasiliensis induces recruitment of $\alpha 3$ and $\alpha 5$ integrins into epithelial cell membrane rafts, leading to cytokine secretion. **Microbes and infection**, v. 18, n. 1, p. 68–77, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.09.003>. Acesso em: 16 jun. 2025.

BARTNICKA, D. *et al.* Adhesive protein-mediated cross-talk between *Candida albicans* and Porphyromonas gingivalis in dual species biofilm protects the anaerobic bacterium in unfavorable oxic environment. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 4376, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40771-8>. Acesso em: 08 jun. 2025.

BATOVSKA, D. *et al.* Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. **Bioorganic and medicinal chemistry letters**, v. 14, n. 5, p. 1538-1545, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.10.005>. Acesso em: 08 jun. 2025.

BAUMGARDNER, D. J. Oral fungal Microbiota: To thrush and beyond. **Journal of patient-centered research and reviews**, v. 6, n. 4, p. 252–261, 2019.

BEAUVAIS, A.; LATGÉ, J.P. Aspergillus biofilm in vitro and in vivo. **Microbiology spectrum**, v. 3, n. 4, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mb-0017-2015>. Acesso em: 17 jun. 2025.

BEIGI, R. H. *et al.* Vaginal yeast colonization in nonpregnant women: a longitudinal study. **Obstetrics and gynecology**, v. 104, n. 5 Pt 1, p. 926–930, 2004.

BELIZARIO, J. A. *et al.* Exploring the Complexity of the Interaction between *T. rubrum* and *S. aureus*/*S. epidermidis* in the Formation of Polymicrobial Biofilms. **Microorganisms**, v. 12, n. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010191>. Acesso em: 10 jul. 2024.

BELLISSIMO-RODRIGUES, F.; MACHADO, A. A.; MARTINEZ, R. Paracoccidioidomycosis epidemiological features of a 1,000-cases series from a hyperendemic area on the southeast of Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 85, n. 3, p. 546–550, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0084>. Acesso em: 01 fev. 2025.

BIAŁKOWSKA, K. *et al.* Spheroids as a type of three-dimensional cell cultures- examples of methods of preparation and the most important application. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 17, p. 6225, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21176225>. Acesso em: 10 abr. 2025.

BILA, N. M. **Avaliação do efeito da 2-chalcona mediada pela terapia fotodinâmica nos biofilmes mono e dual-espécies de *Candida* spp. e dermatófitos e mecanismos de interação desses microrganismos no biofilme misto**. 2022. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2022.

BILA, N. M. *et al.* 2-hydroxychalcone as a potent compound and photosensitizer against dermatophyte biofilms. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 11, p. 679470, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.679470>. Acesso em: 10 set. 2024.

BILA, N. M. *et al.* Toxicological assessment of 2-hydroxychalcone-mediated photodynamic therapy: Comparative in vitro and in vivo approaches. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 12, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121523>. Acesso em: 20 jun. 2025.

BOUGNOUX, M.E. *et al.* Multilocus sequence typing reveals intrafamilial transmission and microevolutions of *Candida albicans* isolates from the human digestive tract. **Journal of clinical microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1810–1820, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.44.5.1810-1820.2006>. Acesso em: 20 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica**. 1. ed. Brasília: MCTI, 2023. Disponível em: https://www.gov.br/mcti/pt-br/composicao/conselhos/concea/arquivos/arquivo/publicacoes-do-concea/guia_concea_1ed_animais-ensino_ou_pesquisa_2023.pdf. Acesso em: 14 ago. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Tratamento da paracoccidioidomicose**. [S.l]: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/p/pcm/tratamento>. Acesso em: 15 set. 2024.

BRAZÃO-SILVA, M. T. *et al.* Paracoccidioidomycosis: a series of 66 patients with oral lesions from an endemic area: Oral paracoccidioidomycosis. **Mycoses**, v. 54, n. 4, p. e189–e195, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2010.01873.x>. Acesso em: 14 jul. 2023.

BREETA, E. *et al.* Non-toxic and non teratogenic extract of Thuja orientalis L. inhibited angiogenesis in zebra fish and suppressed the growth of human lung cancer cell line. **Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & pharmacotherapy]**, v. 106, p. 699–706, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.010>. Acesso em: 11 set. 2024.

BRITO, A. C. M. *et al.* Adesão de biofilmes monoespécie de Streptococcus mutans e Candida albicans em diferentes superfícies de resinas compostas convencionais e bulk fill. **Revista de odontologia UNESP**, p. 49:e20200015, 2020.

BRYCE, G. *et al.* Contemporary root canal irrigants are able to disrupt and eradicate single- and dual-species biofilms. **Journal of endodontics**, v. 35, n. 9, p. 1243–1248, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.05.034>. Acesso em: 11 set. 2024.

BUCHS, R. *et al.* Host–pathogen interaction reconstituted in three-dimensional cocultures of mucosa and Candida albicans. **Tissue engineering. Part C, Methods**, v. 24, n. 7, p. 412–417, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2018.004>. Acesso em: 11 set. 2024.

BURGER, E. Paracoccidioidomycosis protective immunity. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 2, p. 137, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7020137>. Acesso em: 14 abr. 2025.

BUSTIN, S. A. *et al.* The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical chemistry**, v. 55, n. 4, p. 611–622, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>. Acesso em: 02 jul. 2025.

BUSTIN, S. A.; HUGGETT, J. qPCR primer design revisited. **Biomolecular detection and quantification**, v. 14, p. 19–28, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2017.11.001>. Acesso em: 02 jul. 2025.

CAMACHO, E.; NIÑO-VEGA, G. A. Paracoccidioides spp.: Virulence factors and immune-evasion strategies. **Mediators of inflammation**, v. 2017, p. 5313691, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/5313691>. Acesso em: 18 abr. 2024

CAMPOS, C. B. L. *et al.* Evidence for the role of calcineurin in morphogenesis and calcium homeostasis during mycelium-to-yeast dimorphism of Paracoccidioides brasiliensis. **Eukaryotic cell**, v. 7, n. 10, p. 1856–1864, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/ec.00110-08>. Acesso em: 14 jun. 2024.

CARLTON BRAZ DERISSI, J. **Comparação entre a cepa selvagem e silenciada de *Paracoccidioides brasiliensis* e influência da proteína 14-3-3 na formação de biofilmes**. 2018. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2018.

CARRERO, L. L. *et al.* New *Paracoccidioides brasiliensis* isolate reveals unexpected genomic variability in this human pathogen. **Fungal genetics and biology: FG & B**, v. 45, n. 5, p. 605–612, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2008.02.002>. Acesso em: 14 jun. 2024.

CASAROTO, A. R. *et al.* *Candida albicans*-cell interactions activate innate immune defense in human palate epithelial primary cells via nitric oxide (NO) and β -defensin 2 (hBD-2). **Cells (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 7, p. 707, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells8070707>. Acesso em: 14 jun. 2024.

CATTANA, M. E. *et al.* In Vivo *Paracoccidioides* sp. Biofilm on Vascular Prosthesis. **Mycopathologia**, v. 182, n. 7–8, p. 747–749, 2017.

CHANDRA, J. *et al.* Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. **Journal of dental research**, v. 80, n. 3, p. 903–908, 2001b. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/00220345010800031101>. Acesso em: 14 jun. 2024.

CHANDRA, J. *et al.* Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. **Journal of bacteriology**, v. 183, n. 18, p. 5385–5394, 2001a. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.183.18.5385-5394.2001>. Acesso em: 08 set. 2024.

CHEN, Y.H. *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory effect of chalcone and chalcone analogues in a zebrafish model. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 18, n. 2, p. 2052–2060, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules18022052>. Acesso em: 02 jul. 2023.

CHOI, T.Y. *et al.* Zebrafish as an animal model for biomedical research. **Experimental & molecular medicine**, v. 53, n. 3, p. 310–317, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00571-5>. Acesso em: 02 jul. 2023.

CHURCH, J. A. *et al.* The expanding role of co-trimoxazole in developing countries. **The lancet infectious diseases**, v. 15, n. 3, p. 327–339, 2015. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71011-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71011-4). Acesso em: 02 jul. 2023.

CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved Standard -3th. ed. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.

CONSANI, R. L. X. *et al.* Effect of aluminium oxide particle sandblasting on the artificial tooth-resin bond. **Journal of investigative and clinical dentistry**, v. 1, n. 2,

p. 144–150, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.2041-1626.2010.00027.x>. Acesso em: 12 set. 2024.

COOPER, M. L. *et al.* Cytotoxicity to cultured human keratinocytes of topical antimicrobial agents. **The journal of surgical research**, v. 48, n. 3, p. 190–195, 1990.

CORDERO, R. J. B. *et al.* Enhanced virulence of *Histoplasma capsulatum* through transfer and surface incorporation of glycans from *Cryptococcus neoformans* during co-infection. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 21765, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep21765>. Acesso em: 13 jul. 2024

CORNELY, O. A. *et al.* Global guideline for the diagnosis and management of candidiasis: an initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM. **The lancet infectious diseases**, v. 25, n. 5, p. e280–e293, 2025. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(24\)00749-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(24)00749-7). Acesso em: 12 ago. 2025.

CORREDOR, G. G. *et al.* The naked-tailed armadillo *Cabassous centralis* (Miller 1899): a new host to *Paracoccidioides brasiliensis*. Molecular identification of the isolate. **Medical mycology**, v. 43, n. 3, p. 275–280, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13693780412331271090>. Acesso em: 08 set. 2024.

COSTA-ORLANDI, C. B. *et al.* In vitro characterization of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* biofilms. **Biofouling**, v. 30, p. 719–727, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08927014.2014.919282>. Acesso em: 08 set. 2024.

COSTA-ORLANDI, C. B. *et al.* Incorporation of nonyl 3,4-dihydroxybenzoate into nanostructured lipid systems: Effective alternative for maintaining anti-dermatophytic and antibiofilm activities and reducing toxicity at high concentrations. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1154, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01154>. Acesso em: 08 set. 2024.

COSTERTON, J. W. *et al.* Microbial biofilms. **Annual review of microbiology**, v. 49, p. 711–745, 1995.
Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.49.100195.003431>. Acesso em: 08 set. 2024.

CREASER, C. W. The technic of handling the zebra fish (*Brachydanio rerio*) for the production of eggs which are favorable for embryological research and are available at any specified time throughout the year. **Copeia**, v. 1934, n. 4, p. 159, 1934.

CUI, X.; HARTANTO, Y.; ZHANG, H. Advances in multicellular spheroids formation. **Journal of the royal society, Interface**, v. 14, n. 127, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rsif.2016.0877>. Acesso em: 11 set. 2024.

CUNHA-AZEVEDO, E. P. *et al.* In vitro antifungal activity and toxicity of itraconazole in DMSA-PLGA nanoparticles. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 11, n. 3, p. 2308–2314, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.3576>. Acesso em: 11 set. 2024.

CUSHION, M. T.; COLLINS, M. S.; LINKE, M. J. Biofilm formation by *Pneumocystis* spp. **Eukaryotic cell**, v. 8, n. 2, p. 197–206, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/ec.00202-08>. Acesso em: 14 ago. 2024.

CUTULI, M. A. *et al.* *Galleria mellonella* as a consolidated in vivo model hosts: New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. **Virulence**, v. 10, n. 1, p. 527–541, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1621649>. Acesso em: 18 ago. 2024.

DA SILVA, J. F. *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis* 30 kDa adhesin: identification as a 14-3-3 protein, cloning and subcellular localization in infection models. **PloS one**, v. 8, n. 4, p. e62533, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062533>. Acesso em: 18 jun. 2025.

DE ALMEIDA-CAMPOS, L. *et al.* Nanotechnology-based approaches for voriconazole delivery applied to invasive fungal infections. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 266, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010266>. Acesso em: 15 jan. 2023.

DE BARROS, P. P. *et al.* *Candida* biofilms: an update on developmental mechanisms and therapeutic challenges. **Mycopathologia**, v. 185, n. 3, p. 415–424, 2020.

DE CASTRO, L. F. *et al.* Characterization of the immune response in human paracoccidioidomycosis. **The Journal of infection**, v. 67, n. 5, p. 470–485, 2013.

DE LACORTE-SINGULANI, J. *et al.* Evaluation of the efficacy of antifungal drugs against *Paracoccidioides brasiliensis* and *Paracoccidioides lutzii* in a *Galleria mellonella* model. **International journal of antimicrobial agents**, v. 48, n. 3, p. 292–297, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.05.012>. Acesso em: 10 ago. 2024.

DE LIMA GUALQUE, M. W. *et al.* Peptides from *Galleria mellonella* against *Cryptococcus* spp: toxicity in three-dimensional cell cultures and *G. mellonella*. **Future microbiology**, p. 1–11, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17460913.2024.2421632>. Acesso em: 30 nov. 2024.

DE MACEDO, P. M. *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis* PS2: First autochthonous paracoccidioidomycosis case report in Rio de Janeiro, Brazil, and literature review. **Mycopathologia**, v. 181, n. 9–10, p. 701–708, 2016.

DE OLIVEIRA, H. C. *et al.* *Paracoccidioides*-host interaction: An overview on recent advances in the paracoccidioidomycosis. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1319, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01319>. Acesso em: 10 ago. 2024.

DE SOUZA, P. S. *et al.* Chalcones against the hallmarks of cancer: a mini-review. **Natural product research**, v. 36, n. 18, p. 4803–4820, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2000980>. Acesso em: 14 out. 2024.

DECARLI, M. C. *et al.* Cell spheroids as a versatile research platform: formation mechanisms, high throughput production, characterization and applications. **Biofabrication**, v. 13, n. 3, p. 032002, 2021.

<https://doi.org/10.1088/1758-5090/abe6f2>. Acesso em: 08 set. 2024.

DENNING, D. W. *et al.* Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. **The Lancet infectious diseases**, v. 18, n. 11, p. e339–e347, 2018.

DESBOIS, A. P.; COOTE, P. J. Utility of greater wax moth larva (*Galleria mellonella*) for evaluating the toxicity and efficacy of new antimicrobial agents. Em: **Advances in applied microbiology**. [s.l.] Elsevier, p. 25–53, 2012. Disponível:

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394805-2.00002-6>. Acesso em: 14 jul. 2025.

DIAS, K. C. *et al.* Development and characterization of a 3D oral mucosa model as a tool for host-pathogen interactions. **Journal of microbiological methods**, v. 152, p. 52–60, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.07.004>. Acesso em: 11 set. 2024.

DIAS, K. C.; BARBUGLI, P. A.; VERGANI, C. E. Insights into the activation of oral keratinocyte cell death by *Candida albicans* and *Staphylococcus*

aureus biofilms. **Biofouling**, v. 37, n. 9–10, p. 975–983, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1080/08927014.2021.1994959>. Acesso em: 11 set. 2024.

DIAZ, M. *et al.* A Pan-American 5-year study of fluconazole therapy for deep mycoses in the immunocompetent host. Pan-American Study Group. **Clinical infectious diseases: an official publication of the infectious diseases society of America**, v. 14 Suppl 1, p. S68-76, 1992. Disponível:

https://doi.org/10.1093/clinids/14.Supplement_1.S68. Acesso em: 12 jun. 2024.

DONLAN, R. M. Biofilms: microbial life on surfaces. **Emerging infectious diseases**, v. 8, n. 9, p. 881–890, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>. Acesso em: 14 set. 2024.

DONOFRIO, F. C. *et al.* Enolase from *Paracoccidioides brasiliensis*: isolation and identification as a fibronectin-binding protein. **Journal of Medical Microbiology**, v.

58, n. Pt 6, p. 706–713, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.003830-0>. Acesso em: 10 ago. 2024.

DOS SANTOS, K. S. *et al.* Alginate-based 3D A549 cell culture model to study *Paracoccidioides* infection. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 6, 2023.

Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9060634>. Acesso em: 08 nov. 2024.

DOS SANTOS, M. B. *et al.* Antiproliferative activity and p53 upregulation effects of chalcones on human breast cancer cells. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 34, n. 1, p. 1093–1099, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1615485>. Acesso em: 11 set. 2024.

DOS SANTOS, W. A. *et al.* Association between smoking and paracoccidioidomycosis: a case-control study in the State of Espírito Santo, Brazil. **Cadernos de saúde pública**, v. 19, n. 1, p. 245–253, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2003000100027>. Acesso em: 14 jun. 2024.

DURNER, J. *et al.* Eluted substances from unpolymerized and polymerized dental restorative materials and their Nernst partition coefficient. **Dental materials: official publication of the academy of dental materials**, v. 26, n. 1, p. 91–99, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.08.014>. Acesso em: 10 out. 2024.

DUVAL, K. *et al.* Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture. **Physiology (Bethesda, Md.)**, v. 32, n. 4, p. 266–277, 2017.

DZOBO, K.; DANDARA, C. The extracellular matrix: Its composition, function, remodeling, and role in tumorigenesis. **Biomimetics (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 2, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomimetics8020146>. Acesso em: 11 set. 2024.

EDMONDSON, R. *et al.* Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. **Assay and drug development technologies**, v. 12, n. 4, p. 207–218, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/adt.2014.573>. Acesso em: 11 set. 2024.

EIDT, G. *et al.* Role of *Candida albicans* on enamel demineralization and on acidogenic potential of *Streptococcus mutans* in vitro biofilms. **Journal of applied oral science**, v. 27, p. e20180593, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0593>. Acesso em: 14 ago. 2024.

ELKANZI, N. A. A. *et al.* Synthesis of chalcones derivatives and their biological activities: A review. **ACS omega**, v. 7, n. 32, p. 27769–27786, 2022.

ELLS, T. C.; TRUELSTRUP-HANSEN, L. Strain and growth temperature influence *Listeria* spp. attachment to intact and cut cabbage. **International journal of food microbiology**, v. 111, n. 1, p. 34–42, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.033>. Acesso em: 14 ago. 2024.

ENGKU NASRULLAH SATIMAN, E. A. F. *et al.* The role of *Candida albicans* candidalysin *ECE1* gene in oral carcinogenesis. **Journal of oral pathology & medicine**, v. 49, n. 9, p. 835–841, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jop.13014>. Acesso em: 08 jul. 2025.

ESCAPA, I. F. *et al.* New insights into human nostril microbiome from the expanded human oral microbiome database (eHOMD): a resource for the microbiome of the human aerodigestive tract. **Msystems**, v. 3, n. 6, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msystems.00187-18>. Acesso em: 05 set. 2024.

FALSETTA, M. L. *et al.* Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. **Infection and**

immunity, v. 82, n. 5, p. 1968–1981, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.00087-14>. Acesso em: 08 set. 2024.

FAN, Y. *et al.* Hyphae-specific genes HGC1, ALS3, HWP1, and *ECE1* and relevant signaling pathways in *Candida albicans*. **Mycopathologia**, v. 176, n. 5–6, p. 329–335, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11046-013-9684-6>. Acesso em: 14 jul. 2025.

FANGTHAM, M.; MAGDER, L. S.; PETRI, M. A. Oral candidiasis in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 23, n. 7, p. 684-90, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/096120331452524>. Acesso em: 06 out. 2024.

FANNING, S.; MITCHELL, A. P. Fungal biofilms. **PLoS pathogens**, v. 8, n. 4, p. e1002585, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002585>. Acesso em: 06 out. 2024.

FAVA-NETTO, C. *et al.* The polysaccharidic antigen from *Paracoccidioides brasiliensis*. Study of the time of cultivation necessary for the preparation of the antigen. **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 11, n. 3, p. 177–181, 1969.

FELIPE, M. S. *et al.* Functional genome of the human pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **FEMS immunology and medical microbiology**, v.45, n. 3, p.369–381, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.femsim.2005.05.013>. Acesso em: 14 jun. 2025.

FENG, W. *et al.* Relationships between Secreted Aspartyl Proteinase 2 and General Control Nonderepressible 4 gene in the *Candida albicans* resistant to itraconazole under planktonic and biofilm conditions. **Brazilian journal of microbiology**, v. 54, n. 2, p. 619–627, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-023-00961-z>. Acesso em: 20 jul. 2025.

FENNEMA, E. *et al.* Spheroid culture as a tool for creating 3D complex tissues. **Trends in biotechnology**, v. 31, n. 2, p. 108–115, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.12.003>. Acesso em: 12 ago. 2024.

FERNANDES, L. S. *et al.* Bioprospecting, synergistic antifungal and toxicological aspects of the hydroxychalcones and their association with azole derivatives against *Candida* spp. for treating vulvovaginal candidiasis. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 7, p. 843, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16070843>. Acesso em: 30 set. 2024.

FERNANDES, L.S. **Avaliação da eficácia terapêutica e segurança toxicológica do sistema lipídico nanoestruturado contendo 2-hidroxichalcona por métodos alternativos para o tratamento da candidose**. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2022.

FERNANDES, N. A. R. *et al.* Chalcone T4, a novel chalconic compound, inhibits inflammatory bone resorption in vivo and suppresses osteoclastogenesis in

vitro. **Journal of periodontal research**, v. 56, n. 3, p. 569–578, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jre.12857>. Acesso em: 14 jul. 2024.

FERREIRA, M. K. A. *et al.* Chalcones reverse the anxiety and convulsive behavior of adult zebrafish. **Epilepsy & behavior: E&B**, v. 117, n. 107881, p. 107881, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.107881>. Acesso em: 25 set. 2024.

FISHER, M. F.; RAO, S. S. Three-dimensional culture models to study drug resistance in breast cancer. **Biotechnology and bioengineering**, v. 117, n. 7, p. 2262–2278, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bit.27356>. Acesso em: 25 set. 2024.

FLEMMING, H.C.; NEU, T. R.; WOZNIAK, D. J. The EPS matrix: the “house of biofilm cells”. **Journal of bacteriology**, v. 189, n. 22, p. 7945–7947, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.00858-07>. Acesso em: 25 set. 2024.

FLISFISCH, S. *et al.* Effects of fluorides on *Candida albicans*. **Oral diseases**, v. 14, n. 4, p. 296–301, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2007.01385.x>. Acesso em: 14 ago. 2024.

FLOYD, H. E. E. *et al.* Standardisation of high throughput microdilution antifungal susceptibility testing for *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. **Scientific reports**, v. 14, n. 1, p. 23407, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-74068-2>. Acesso em: 14 ago. 2024.

FREGONEZI, N. F. *et al.* Heat shock protein 60, insights to its importance in *Histoplasma capsulatum*: from biofilm formation to host-interaction. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, p. 591950, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.591950>. Acesso em: 01 set. 2024.

FRIEDRICH, J. *et al.* Spheroid-based drug screen: considerations and practical approach. **Nature protocols**, v. 4, n. 3, p. 309–324, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.226>. Acesso em: 08 ago. 2024.

FU, Y. *et al.* Expression of the *Candida albicans* gene *ALS1* in *Saccharomyces cerevisiae* induces adherence to endothelial and epithelial cells. **Infection and immunity**, v. 66, n. 4, p. 1783–1786, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.66.4.1783-1786.1998>. Acesso em: 14 ago. 2025.

FUSCO-ALMEIDA, A. M. *et al.* Alternative non-mammalian animal and cellular methods for the study of host-fungal interactions. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 9, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9090943>. Acesso em: 01 fev. 2024.

GAD, M. M.; FOUDA, S. M. Current perspectives and the future of *Candida albicans*-associated denture stomatitis treatment. **Dental and medical problems**, v. 57, n. 1, p. 95–102, 2020.

GAFFAR, N. R.; VALAND, N.; VENKATRAMAN GIRIJA, U. Candidiasis: Insights into virulence factors, complement evasion and antifungal drug resistance. **Microorganisms**, v. 13, n. 2, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020272>. Acesso em: 01 abr. 2025.

GAONKAR, S. L.; VIGNESH, U. N. Synthesis and pharmacological properties of chalcones: a review. **Research on chemical intermediates**, v. 43, n. 11, p. 6043–6077, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11164-017-2977-5>. Acesso em: 01 fev. 2024.

GARCIA, L. M. *et al.* A two-way road: antagonistic interaction between dual-species biofilms formed by *Candida albicans*/*Candida parapsilosis* and *Trichophyton rubrum*. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1980, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01980>. Acesso em: 15 set. 2024.

GAUTHIER, G. M. Dimorphism in fungal pathogens of mammals, plants, and insects. **PLoS pathogens**, v. 11, n. 2, p. e1004608, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004608>. Acesso em: 15 set. 2024.

GOES, T. *et al.* New developments of RNAi in *Paracoccidioides brasiliensis*: prospects for high-throughput, genome-wide, functional genomics. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 10, p. e3173, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003173>. Acesso em: 01 nov. 2024.

GONÇALVES, L. N. C. *et al.* Biofilm formation by *Histoplasma capsulatum* in different culture media and oxygen atmospheres. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1455, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01455>. Acesso em: 08 jul. 2024.

GONZÁLEZ, A. *et al.* Purification and partial characterization of a *Paracoccidioides brasiliensis* protein with capacity to bind to extracellular matrix proteins. **Infection and immunity**, v. 73, n. 4, p. 2486–2495, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.73.4.2486-2495.2005>. Acesso em: 23 nov. 2024.

GREEN, C. B. *et al.* RT-PCR detection of *Candida albicans* ALS gene expression in the reconstituted human epithelium (RHE) model of oral candidiasis and in model biofilms. **Microbiology (Reading, England)**, v. 150, n. Pt 2, p. 267–275, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/mic.0.26699-0>. Acesso em: 18 jun. 2025.

GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes and infection**, v. 18, n. 5, p. 310–321, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>. Acesso em: 14 ago. 2024.

GUPTA, A. K.; SAUDER, D. N.; SHEAR, N. H. Antifungal agents: an overview. Part I. **Journal of the american academy of dermatology**, v. 30, n. 5, p. 677–698, 1994.

HAHN, R. C. *et al.* Clinical and epidemiological features of paracoccidioidomycosis due to *Paracoccidioides lutzii*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 6, p.

e0007437, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007437>. Acesso em: 18 jun. 2025.

HAHN, R. C. *et al.* Paracoccidioidomycosis: current status and future trends. **Clinical microbiology reviews**, v. 35, n. 4, p. e0023321, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/cmr.00233-21>. Acesso em: 02 set. 2024.

HANNA, S. A.; MONTEIRO DA SILVA, J. L.; GIANNINI, M. J. Adherence and intracellular parasitism of *Paracoccidioides brasiliensis* in vero cells. **Microbes and infection**, v. 2, n. 8, p. 877–884, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00390-7](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00390-7). Acesso em: 02 set. 2024.

HE, J.H. *et al.* Zebrafish models for assessing developmental and reproductive toxicity. **Neurotoxicology and teratology**, v. 42, p. 35–42, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2014.01.006>. Acesso em: 14 jun. 2024.

HELLSTEIN, J. W.; MAREK, C. L. Candidiasis: red and white manifestations in the oral cavity. **Head and neck pathology**, v. 13, n. 1, p. 25–32, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12105-019-01004-6>. Acesso em: 08 jun. 2024.

HERNÁNDEZ, O. *et al.* A 32-kilodalton hydrolase plays an important role in *Paracoccidioides brasiliensis* adherence to host cells and influences pathogenicity. **Infection and immunity**, v. 78, n. 12, p. 5280–5286, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.00692-10>. Acesso em: 22 nov. 2024.

HERNÁNDEZ, O. *et al.* The hydrolase PbHAD32 participates in the adherence of *Paracoccidioides brasiliensis* conidia to epithelial lung cells. **Medical mycology**, v. 50, n. 5, p. 533–537, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13693786.2011.619583>. Acesso em: 22 nov. 2024.

HILL, A. J. *et al.* Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. **Toxicological sciences**, v. 86, n. 1, p. 6–19, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi110>. Acesso em: 08 jun. 2024.

HONG, G. *et al.* Influence of denture cleansers on the color stability of three types of denture base acrylic resin. **The journal of prosthetic dentistry**, v. 101, n. 3, p. 205–213, 2009. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(09\)60032-9](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(09)60032-9). Acesso em: 17 abr. 2024.

HRYCYK, M. F. *et al.* Ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*, *P. lutzii* and related species: infection in armadillos, soil occurrence and mycological aspects. **Medical mycology**, v. 56, n. 8, p. 950–962, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myx142>. Acesso em: 13 ago. 2024.

HSIEH, C.T. *et al.* Synthesis of chalcone derivatives as potential anti-diabetic agents. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 22, n. 12, p. 3912–3915, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.04.108>. Acesso em: 24 ago. 2024.

HUFFINES, J. T.; SCOFFIELD, J. A. Disruption of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergy by a commensal streptococcus. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 19661, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76744-5>. Acesso em: 13 ago. 2024.

HUI, S. T.; GIFFORD, H.; RHODES, J. Emerging antifungal resistance in fungal pathogens. **Current clinical microbiology reports**, v. 11, n. 2, p. 43–50, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40588-024-00219-8>. Acesso em: 24 ago. 2024.

HWANG, G. In it together: *Candida*–bacterial oral biofilms and therapeutic strategies. **Environmental microbiology reports**, v. 14, n. 2, p. 183–196, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13053>. Acesso em: 03 out. 2024.

IGNASIAK, K.; MAXWELL, A. *Galleria mellonella* (greater wax moth) larvae as a model for antibiotic susceptibility testing and acute toxicity trials. **BMC research notes**, v. 10, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2757-8>. Acesso em: 12 out. 2024.

IZUMIDA, F. E. *et al.* Surface roughness and *Candida albicans* biofilm formation on a reline resin after long-term chemical disinfection and toothbrushing. **The journal of prosthetic dentistry**, v. 112, n. 6, p. 1523–1529, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.06.001>. Acesso em: 03 out. 2024.

JACKSON, S. *et al.* Biofilm development by blastospores and hyphae of *Candida albicans* on abraded denture acrylic resin surfaces. **The journal of prosthetic dentistry**, v. 112, n. 4, p. 988–993, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.02.003>. Acesso em: 15 dez. 2024.

JAROS, J. *et al.* Revealing 3D ultrastructure and morphology of stem cell spheroids by electron microscopy. **Methods in molecular biology**, v. 1612, p. 417–431, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7021-6_30. Acesso em: 09 jan. 2025.

JARQUE, S. *et al.* Morphometric analysis of developing zebrafish embryos allows predicting teratogenicity modes of action in higher vertebrates. **Reproductive toxicology**, v. 96, p. 337–348, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.08.004>. Acesso em: 02 set. 2024.

JENSEN, C.; TENG, Y. Is it time to start transitioning from 2D to 3D cell culture? **Frontiers in molecular biosciences**, v. 7, p. 33, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00033>. Acesso em: 29 set. 2024.

JORGE, J. H. *et al.* Cytotoxicity of denture base acrylic resins: a literature review. **The journal of prosthetic dentistry**, v. 90, n. 2, p. 190–193, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0022-3913\(03\)00349-4](https://doi.org/10.1016/s0022-3913(03)00349-4). Acesso em: 10 jul. 2025.

KANDASAMY, T. *et al.* A review of zebrafish as an alternative animal model and its benefits over other animal models in various disease conditions. **Saudi journal of**

biomedical research, v. 7, n. 12, p. 355–359, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.36348/sjbr.2022.v07i12.005>. Acesso em: 15 dez. 2024.

KANETSUNA, F. *et al.* Biochemical studies on the thermal dimorphism of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of bacteriology**, v. 110, n. 1, p. 208–218, 1972. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.110.1.208-218.1972>. Acesso em: 03 jun. 2024.

KARIMI-SALES, E.; MOHADDES, G.; ALIPOUR, M. R. Chalcones as putative hepatoprotective agents: Preclinical evidence and molecular mechanisms. **Pharmacological research**, v. 129, p. 177–187, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.11.022>. Acesso em: 11 ago. 2024.

KARYGIANNI, L. *et al.* Biofilm matrixome: extracellular components in structured microbial communities. **Trends in microbiology**, v. 28, n. 8, p. 668–681, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.016>. Acesso em: 03 jun. 2024.

KAUR, J.; NOBILE, C. J. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. **Current opinion in microbiology**, v. 71, n. 102237, p. 102237, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102237>. Acesso em: 03 jun. 2024.

KAVANAGH, K.; SHEEHAN, G. The use of *Galleria mellonella* larvae to identify novel antimicrobial agents against fungal species of medical interest. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 4, n. 3, p. 113, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof4030113>. Acesso em: 14 dez. 2024.

KEREN, I. *et al.* Persister cells and tolerance to antimicrobials. **FEMS microbiology letters**, v. 230, n. 1, p. 13–18, 2004. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00856-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00856-5). Acesso em: 03 jun. 2024.

KHAING, E. M. *et al.* Nitrocellulose for prolonged permeation of levofloxacin HCl-salicylic acid in situ gel. **Polymers**, v. 16, n. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym16070989>. Acesso em: 23 out. 2024.

KIM, D. *et al.* *Candida albicans* stimulates *Streptococcus mutans* microcolony development via cross-kingdom biofilm-derived metabolites. **Scientific reports**, v. 7, p. 41332, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep41332>. Acesso em: 05 maio 2024.

KIM, E.S. *et al.* Inhibition of candidalysin production by methoxy-apo-enterobactin from *Streptomyces ambofaciens* CJD34 as a novel antifungal strategy against *Candida albicans*. **The journal of microbiology**, v. 63, n. 6, p. e2504019, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.71150/jm.2504019>. Acesso em: 25 set. 2025.

KIRK, N. M. *et al.* Cytotoxicity of cultured canine primary hepatocytes exposed to itraconazole is decreased by pre-treatment with glutathione. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, p. 621732, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.621732>. Acesso em: 04 abr. 2025.

KLOTZ, S. A. *et al.* *Candida albicans* Als proteins mediate aggregation with bacteria and yeasts. **Medical mycology**, v. 45, n. 4, p. 363–370, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13693780701299333>. Acesso em: 11 mar. 2025.

KONG, E. F. *et al.* Commensal protection of *Staphylococcus aureus* against antimicrobials by *Candida albicans* biofilm matrix. **mBio**, v. 7, n. 5, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mbio.01365-16>. Acesso em: 06 mar. 2023.

KRAKHECKE-TEIXEIRA, A. G. *et al.* Clinical and eco-epidemiological aspects of a novel hyperendemic area of paracoccidioidomycosis in the Tocantins-Araguaia basin (northern Brazil), caused by *Paracoccidioides* sp. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 5, p. 502, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof8050502>. Acesso em: 06 mar. 2023.

KRIEGER, L.; MOYSÉS, S.J.; MOYSÉS, T.S. **Materiais dentários**. São Paulo. Artes Médicas, 2013.

KRIFKA, S. *et al.* A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. **Biomaterials**, v. 34, n. 19, p. 4555–4563, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.03.019>. Acesso em: 06 jun. 2025.

KRUSCHEWSKY, W. L. L. *et al.* Paracoccidioidomycosis cases by *Paracoccidioides lutzii* in southeastern Brazil. **Brazilian journal of microbiology**, v. 54, n. 3, p. 1761–1767, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-023-01019-w>. Acesso em: 10 ago 2024.

KWADHA, C. A. *et al.* The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. **Insects**, v. 8, n. 2, p. 61, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects8020061>. Acesso em: 14 set. 2023.

LACAZ, C. S. *et al.* **Tratado de Micologia Médica**. São Paulo: Sarvier, 2002.

LACERDA PIGOSSO, L. *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis* presents metabolic reprogramming and secretes a serine proteinase during murine infection. **Virulence** 8, 1417–1434, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1355660>. Acesso em: 14 set. 2023.

LAFLEUR, M. D.; KUMAMOTO, C. A.; LEWIS, K. *Candida albicans* biofilms produce antifungal-tolerant persister cells. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 50, n. 11, p. 3839–3846, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.00684-06>. Acesso em: 28 set. 2024.

LAGHA, J.; CAIN, E.; JONES, J. Chronic hyperplastic candidosis case series: an update on best practice. **Faculty dental journal**, v. 16, n. 1, p. 10–17, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1308/rcsfdj.2025.6>. Acesso em: 22 ago. 2025.

LEE, J. *et al.* In vitro toxicity testing of nanoparticles in 3D cell culture. **Small**, v. 5, n. 10, p. 1213–1221, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/smll.200801788>. Acesso em: 16 abr. 2025.

LEE, J.H. *et al.* Cytotoxicity and anti-inflammatory effects of zinc ions and eugenol during setting of ZOE in immortalized human oral keratinocytes grown as three-dimensional spheroids. **Dental materials**, v. 32, n. 5, p. e93-104, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.01.003>. Acesso em: 02 jun. 2025.

LEE, Y.T. *et al.* Toxicity assessments of chalcone and some synthetic chalcone analogues in a zebrafish model. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 19, n. 1, p. 641–650, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules19010641>. Acesso em: 02 jun. 2025.

LEON, C. G. *et al.* In vitro cytotoxicity of two novel oral formulations of amphotericin B (iCo-009 and iCo-010) against *Candida albicans*, human monocytic and kidney cell lines. **Lipids in health and disease**, v. 10, n. 1, p. 144, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-144>. Acesso em: 02 jun. 2025.

LEWIS, M. A. O.; WILLIAMS, D. W. Diagnosis and management of oral candidosis. **British dental journal**, v. 223, n. 9, p. 675–681, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.886>. Acesso em: 14 jun. 2025.

LI, H. *et al.* Interactions between *Candida albicans* and the resident microbiota. **Frontiers in microbiology**, v. 13, p. 930495, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.930495>. Acesso em: 28 jul. 2024.

LIN, R.Z. *et al.* Dynamic analysis of hepatoma spheroid formation: roles of E-cadherin and beta1-integrin. **Cell and tissue research**, v. 324, n. 3, p. 411–422, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00441-005-0148-2>. Acesso em: 23 jul. 2025.

LIN, R.Z.; CHANG, H.Y. Recent advances in three-dimensional multicellular spheroid culture for biomedical research. **Biotechnology journal**, v. 3, n. 9–10, p. 1172–1184, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/biot.200700228>. Acesso em: 14 jun. 2025.

LING, F. *et al.* Successful treatment of mixed pulmonary *Aspergillus* and *Mucor* infection using intrabronchial amphotericin B infusion: a case report and literature review. **BMC pulmonary medicine**, v. 24, n. 1, p. 436, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12890-024-03234-z>. Acesso em: 08 jan. 2024.

LISBOA, C. *et al.* *Candida* balanitis: risk factors. **Journal of the european academy of dermatology and venereology**, v. 24, n. 7, p. 820–826, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2009.03533.x>. Acesso em: 17 jul. 2025.

LIU, C. *et al.* Role of agglutinin-like sequence protein 3 (ALS3) in the structure and antifungal resistance of *Candida albicans* biofilms. **FEMS microbiology letters**, v. 368, n. 14, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab089>. Acesso em: 19 ago. 2025.

LIU, S. *et al.* Filamentous fungal biofilms: conserved and unique aspects of extracellular matrix composition, mechanisms of drug resistance and regulatory networks in *Aspergillus fumigatus*. **Npj biofilms and microbiomes**, v. 8, n. 1, p. 83,

2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41522-022-00347-3>. Acesso em: 19 ago. 2025.

LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. **Methods** vol. 25, p. 402–408, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>. Acesso em: 19 ago. 2025.

LOHSE, M. B. *et al.* Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. **Nature reviews microbiology**, v. 16, n. 1, p. 19–31, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.107>. Acesso em: 08 set. 2024.

LOPES, J. D. *et al.* Characterization of glycoprotein gp43, the major laminin-binding protein of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 27, n. 9, p. 2309–2313, 1994.

LOPES, J. P.; LIONAKIS, M. S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 89–121, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.107>. Acesso em: 08 set. 2024.

LÓPEZ, D.; VLAMAKIS, H.; KOLTER, R. Biofilms. **Cold spring harbor perspectives in biology**, v. 2, n. 7, p. a000398, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000398>. Acesso em: 19 fev. 2024.

LÓPEZ, S. N. *et al.* In vitro antifungal evaluation and structure–activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 9, n. 8, p. 1999–2013, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(01\)00116-X](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(01)00116-X). Acesso em: 19 fev. 2024.

LU, H. *et al.* Candidiasis: from cutaneous to systemic, new perspectives of potential targets and therapeutic strategies. **Advanced drug delivery reviews**, v. 199, n. 114960, p. 114960, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114960>. Acesso em: 06 nov. 2024.

LU, M. *et al.* Linezolid in combination with azoles induced synergistic effects against *Candida albicans* and protected *Galleria mellonella* against experimental candidiasis. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 3142, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03142>. Acesso em: 07 fev. 2024.

LUTZ, A. Uma micose pseudococcídica localizada na boca e observada no Brasil. Contribuição ao conhecimento das hifoblastomicoses americanas. **Brasil Médico**, p. 151–153, 1908.

MAHMOUDABADI, A. Z.; ZARRIN, M.; KIASAT, N. Biofilm formation and susceptibility to amphotericin B and fluconazole in *Candida albicans*. **Jundishapur journal of microbiology**, v. 7, n. 7, p. e17105, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5812/jjm.17105>. Acesso em: 07 fev. 2024.

MANNAN, M. *et al.* Host immune response against fungal biofilms. **Current opinion in microbiology**, v. 81, n. 102520, p. 102520, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102520>. Acesso em: 23 out. 2024.

MARCOS, C. M. *et al.* Decreased expression of 14-3-3 in *Paracoccidioides brasiliensis* confirms its involvement in fungal pathogenesis. **Virulence**, v. 7, n. 2, p. 72–84, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1122166>. Acesso em: 27 fev. 2023.

MARCOS, C. M. *et al.* Surface-expressed enolase contributes to the adhesion of *Paracoccidioides brasiliensis* to host cells. **FEMS yeast research**, v. 12, n. 5, p. 557–570, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2012.00806.x>. Acesso em: 27 fev. 2023.

MARCOS, C. M. *et al.* The multifaceted roles of metabolic enzymes in the *Paracoccidioides* species complex. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 719, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00719>. Acesso em: 27 fev. 2023.

MARINI, M. M. *et al.* Identification and characterization of Tc1/mariner-like DNA transposons in genomes of the pathogenic fungi of the *Paracoccidioides* species complex. **BMC genomics**, v. 11, n. 1, p. 130, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-130>. Acesso em: 27 fev. 2023.

MARQUES-DA-SILVA, S. H. *et al.* Occurrence of *Paracoccidioides lutzii* in the Amazon region: description of two cases. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 87, n. 4, p. 710–714, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0340>. Acesso em: 08 set. 2024.

MARRA, J. *et al.* Effect of an acrylic resin combined with an antimicrobial polymer on biofilm formation. **Journal of applied oral science**, v. 20, n. 6, p. 643–648, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1678-77572012000600009>. Acesso em: 08 set. 2024.

MARTINEZ, L. R.; CASADEVALL, A. Biofilm formation by *Cryptococcus neoformans*. In: **Microbial Biofilms**. Washington, DC, USA: ASM Press. p. 135–147. 2015.

MARTINEZ, L.R; CASADEVALL, A. Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* biofilms to antifungal agents *in vitro*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 50(3), p. 1021-1033, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.50.3.1021-1033.2006>. Acesso em: 15 ago. 2024.

MARTINEZ, R. Paracoccidioidomicose. In: SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. (eds). **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004. p. 202-21.

MARTINEZ-SUAREZ, J. V.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L. Patterns of in vitro activity of itraconazole and imidazole antifungal agents against *Candida albicans* with decreased susceptibility to fluconazole from Spain. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 39, n. 7, p. 1512–1516, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.39.7.1512>. Acesso em: 10 ago. 2024.

MARTORANO-FERNANDES, L. *et al.* *Candida albicans* Adhesins ALS1 and Hwp1 Modulate Interactions with *Streptococcus mutans*. **Microorganisms**, v. 11, n. 6, p. 1391, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061391>. Acesso em: 10 ago. 2024.

MASCHIO-LIMA, T. *et al.* Synergistic activity between conventional antifungals and chalcone-derived compound against dermatophyte fungi and *Candida* spp. **International microbiology**, v. 28, p. 265-275, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10123-024-00541-7>. Acesso em: 10 ago. 2024.

MASETTI, P.; SANITÁ, P. V.; JORGE, J. H. Dynamics and metabolic profile of oral keratinocytes (NOK-si) and *Candida albicans* after interaction in co-culture. **Biofouling**, v. 37, n. 5, p. 572–589, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08927014.2021.1941908>. Acesso em: 14 set. 2024.

MATHÉ, L.; VAN DIJCK, P. Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms. **Current genetics**, v. 59, n. 4, p. 251–264, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00294-013-0400-3>. Acesso em: 14 set. 2024.

MATTAR, H. *et al.* Nitrocellulose: structure, synthesis, characterization, and applications. **Water energy food environmental**, v. 3, p. 1–15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.18576/wefej/010301>. Acesso em: 14 set. 2024.

MATUTE, D. R. *et al.* Cryptic speciation and recombination in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis* as revealed by gene genealogies. **Molecular biology and evolution**, v. 23, n. 1, p. 65–73, 2006b. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/molbev/msj008>. Acesso em: 11 jul. 2024.

MATUTE, D. R. *et al.* Microsatellite analysis of three phylogenetic species of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of clinical microbiology**, v. 44, n. 6, p. 2153–2157, 2006a. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.02540-05>. Acesso em: 14 set. 2024.

MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119–128, 2013.

MCKEEN, L. W. Permeability Properties of Plastics and Elastomers. In: MCKEEN, L.W. **Environmental friendly polymers** 4th ed. Oxford: William Andrew, 2017. p. 305–323. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50859-9.00013-0>. Acesso em: 21 de outubro de 2024.

MEDINA, N. *et al.* MixInYeast: A multicenter study on mixed yeast infections. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 1, p. 13, 2020.

MEDINA-ALARCÓN, K. P. *et al.* Antifungal activity of 2'-hydroxychalcone loaded in nanoemulsion against *Paracoccidioides* spp. **Future microbiology**, v. 15, n. 1, p. 21–33, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/fmb-2019-0095>. Acesso em: 21 de outubro de 2024.

MEDINA-ALARCÓN, K. P. *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* and *Paracoccidioides brasiliensis* formation and treatment of mixed biofilm *in vitro*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 11, p. 681131, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.681131>. Acesso em: 21 de outubro de 2024.

MEHTA, G. *et al.* Opportunities and challenges for use of tumor spheroids as models to test drug delivery and efficacy. **Journal of controlled release**. v. 164, n. 2, p. 192–204, 2012.

MELO, W. C. M. A. *et al.* Selective photoinactivation of *Histoplasma capsulatum* by water-soluble derivatives chalcones. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 18, p. 232–235, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.03.001>. Acesso em: 27 maio 2024..

MENDES, R. P. *et al.* Paracoccidioidomycosis: current perspectives from Brazil. **The open microbiology journal**, v. 11, p. 224–282, 2017.

MENDES-GIANNINI, M. J. S. *et al.* Binding of extracellular matrix proteins to *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microbes and infection**, v. 8, n. 6, p. 1550–1559, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2006.01.012>. Acesso em: 14 ago. 2024.

MENDES-GIANNINI, M. J. S. *et al.* Infection and apparent invasion of Vero cells by *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of medical and veterinary mycology**. v. 32, n. 3, p. 189–197, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02681219480000251>. Acesso em: 05 jan. 2024.

MENDES-GIANNINI, M. J. S. *et al.* Interactions of *Paracoccidioides brasiliensis* with host cells: recent advances. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4–5, p. 237–248, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11046-007-9074-z>. Acesso em: 05 jan. 2024.

MESA-ARANGO, A. C.; SCORZONI, L.; ZARAGOZA, O. It only takes one to do many jobs: Amphotericin B as antifungal and immunomodulatory drug. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 286, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00286>. Acesso em: 16 jan. 2024.

MILLSOP, J. W.; FAZEL, N. Oral candidiasis. **Clinics in dermatology**., v. 34, n. 4, p. 487-94, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.02.022>. Acesso em: 14 set. 2024.

MITCHELL, K. F. *et al.* Community participation in biofilm matrix assembly and function. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, v. 112, n. 13, p. 4092–4097, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1421437112>. Acesso em: 14 set. 2024.

MORRIS, C.E.; MONIER, J., JACQUES, M. Methods for observing microbial biofilms directly on leaf surfaces and recovering them for isolation of culturable microorganisms. **Applied environmental microbiology**, v. 63, p. 1570-1576, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.63.4.1570-1576.1997>. Acesso em: 30 jun. 2024.

MOSHK SAYAN, K. *et al.* Spheroids-on-a-chip: recent advances and design considerations in microfluidic platforms for spheroid formation and culture. **Sensors and actuators: B chemical**, v. 263, p. 151–176, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.01.223>. Acesso em: 30 jun. 2024.

MOWAT, E. *et al.* Development of a simple model for studying the effects of antifungal agents on multicellular communities of *Aspergillus fumigatus*. **Journal of medical microbiology**, v. 56, p. 1205–1212, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47247-0>. Acesso em: 08 set. 2024.

MOYES, D. L. *et al.* Candidalysin is a fungal peptide toxin critical for mucosal infection. **Nature**, v. 532, n. 7597, p. 64–68, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature17625>. Acesso em: 30 ago. 2025.

MUKHERJEE, P. K. *et al.* Mechanism of fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms: phase-specific role of efflux pumps and membrane sterols. **Infection and immunity**, v. 71, n. 8, p. 4333–4340, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.71.8.4333-4340.2003>. Acesso em: 14 jul. 2025.

MUÑOZ, J. F. *et al.* Genome diversity, recombination, and virulence across the major lineages of *Paracoccidioides*. **mSphere**, v. 1, n. 5, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/msphere.00213-16>. Acesso em: 14 jul. 2025.

MUTH-KÖHNE, E. *et al.* The classification of motor neuron defects in the zebrafish embryo toxicity test (ZFET) as an animal alternative approach to assess developmental neurotoxicity. **Neurotoxicology and teratology**, v. 34, n. 4, p. 413–424, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2012.04.006>. Acesso em: 30 ago. 2025.

NAGLIK, J. R. *et al.* *Candida albicans*-epithelial interactions and induction of mucosal innate immunity. **Current opinion in microbiology**, v. 40, p. 104–112, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.10.030>. Acesso em: 02 jun. 2024.

NAGLIK, J. R.; CHALLACOMBE, S. J.; HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 67, n. 3, p. 400–28, table of contents, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mnbr.67.3.400-428.2003>. Acesso em: 02 jun. 2024.

NAILIS, H. *et al.* Development and evaluation of different normalization strategies for gene expression studies in *Candida albicans* biofilms by real-time PCR. **BMC molecular biology**, v. 7, n. 1, p. 25, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2199-7-25>. Acesso em: 07 jan 2025.

NAILIS, H. *et al.* Monitoring *ALS1* and *ALS3* gene expression during in vitro *Candida albicans* biofilm formation under continuous flow conditions. **Mycopathologia**, v. 167, n. 1, p. 9–17, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2012.04.006>. Acesso em: 30 ago. 2025.

NARANJO, M. S. *et al.* Treatment of paracoccidioidomycosis with itraconazole. **Journal of medical and veterinary mycology**, v. 28, n. 1, p. 67–76, 1990. Disponível

em: <https://doi.org/10.1080/02681219080000091>. Acesso em: 30 ago. 2025.

NEGRINI, T. C.; KOO, H.; ARTHUR, R. A. *Candida*-bacterial biofilms and host-microbe interactions in oral diseases. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 1197, p. 119–141, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-28524-1_10. Acesso em: 10 fev. 2024

NEGRONI, R. Paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis, Lutz's mycosis). **International journal of dermatology**, v. 32, n. 12, p. 847–859, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1993.tb01396.x>. Acesso em: 22 jan. 2022.

NETT, J. E. *et al.* Role of *FKS1p* and matrix glucan in *Candida albicans* biofilm resistance to an echinocandin, pyrimidine, and polyene. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 8, p. 3505–3508, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.00227-10>. Acesso em: 01 jun. 2025.

NEVELL, T. P. Cellulose and its derivatives: Chemistry, biochemistry and applications. **British polymer journal**, v. 17, n. 4, p. 378–378, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pi.4980170414>. Acesso em: 29 ago. 2024.

NISHIMURA, Y. *et al.* Using zebrafish in systems toxicology for developmental toxicity testing: zebrafish and developmental toxicity. **Congenital anomalies**, v. 56, n. 1, p. 18–27, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cga.12142>. Acesso em: 22 jul. 2024.

NOBILE, C. J. *et al.* A recently evolved transcriptional network controls biofilm development in *Candida albicans*. **Cell**, v. 148, n. 1–2, p. 126–138, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.048>. Acesso em: 01 jul. 2024.

NOBILE, C. J.; JOHNSON, A. D. *Candida albicans* biofilms and human disease. **Annual review of microbiology**, v. 69, n. 1, p. 71–92, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>. Acesso em: 01 jul. 2024.

O'DONNELL, L. E. *et al.* Polymicrobial *Candida* biofilms: friends and foe in the oral cavity. **FEMS yeast research**, v. 15, n. 7, p. fov077, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsyr/fov077>. Acesso em: 24 set. 2024.

ODDS, F. C.; BROWN, A. J. P.; GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action. **Trends in microbiology**, v. 11, n. 6, p. 272–279, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(03\)00117-3](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(03)00117-3). Acesso em: 01 jul. 2024.

OECD. Test n°. 236: fish embryo acute toxicity (FET). Paris: OECD Publishing, 2025. Section 2. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264203709-en>. Acesso em: 01 jul. 2025.

OLIVEIRA, J. S. DE *et al.* *Cryptocarya moschata* fractions decrease planktonic cells and biofilms of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. **Biofouling**, p. 1–16, 2024a. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08927014.2024.2418466>. Acesso em: 14 dez. 2024.

OLIVEIRA, L. T. *et al.* Dynamics of mono-and dual-species biofilm formation and interactions between *Paracoccidioides brasiliensis* and *Candida albicans*. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 551256, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.551256> . Acesso em: 09 jan. 2022.

OLIVEIRA, L. T. *et al.* *Paracoccidioides* spp.: the structural characterization of extracellular matrix, expression of glucan synthesis and associated genes and adhesins during biofilm formation. **Frontiers in microbiology**, v. 15, p. 1354140, 2024b. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1354140> . Acesso em: 19 mar. 2024.

OSHIRO, K. G. N. *et al.* Bioactive peptides against fungal biofilms. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2169, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02169> . Acesso em: 09 jan. 2022.

PALANCO, A. C. *et al.* Activity of 3'-hydroxychalcone against *Cryptococcus gattii* and toxicity, and efficacy in alternative animal models. **Future microbiology**, v. 12, n. 13, p. 1123–1134, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0062> . Acesso em: 23 jan. 2023.

PAPPAS, P. G. *et al.* Invasive candidiasis. **Nature reviews disease primers**, v. 4, n. 1, p. 18026, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26> . Acesso em: 09 jan. 2022.

PARK, H. *et al.* Transcriptional responses of *Candida albicans* to epithelial and endothelial cells. **Eukaryotic cell**, v. 8, n. 10, p. 1498–1510, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/ec.00165-09> . Acesso em: 18 jul. 2024.

PÄRNÄNEN, P. *et al.* Human oral keratinocyte e-cadherin degradation by *Candida albicans* and *Candida glabrata*. **Journal of oral pathology & medicine**, v. 39, n. 3, p. 275–278, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2009.00866.x> . Acesso em: 18 jul. 2024.

PASSALACQUA, T. G. *et al.* Synthesis and evaluation of novel prenylated chalcone derivatives as anti-leishmanial and anti-trypanosomal compounds. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 16, p. 3342–3345, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.05.072> . Acesso em: 10 mar. 2023.

PERES DA SILVA, R. *et al.* Differential gene expression analysis of *Paracoccidioides brasiliensis* during keratinocyte infection. **Journal of medical microbiology**, v. 60, n. Pt 3, p. 269–280, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.022467-0> . Acesso em: 19 ago. 2024.

PETERS, B. M. *et al.* *Staphylococcus aureus* adherence to *Candida albicans* hyphae is mediated by the hyphal adhesin ALS3p. **Microbiology**, v. 158, n. Pt 12, p. 2975–2986, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/mic.0.062109-0> . Acesso em: 30 abr. 2025.

PIATEK, M.; SHEEHAN, G.; KAVANAGH, K. *Galleria mellonella*: The versatile host for drug discovery, in vivo toxicity testing and characterising host-pathogen

interactions. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 12, p. 1545, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121545>. Acesso em: 02 jun. 2024.

PIERCE, C. G. *et al.* A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. **Nature protocols**, v. 3, n. 9, p. 1494–1500, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.141>. Acesso em: 02 jun. 2024.

PIMENTEL, B. N. A. S. *et al.* Antifungal activity and biocompatibility of α -AgVO₃, α -Ag₂WO₄, and β -Ag₂MoO₄ using a three-dimensional coculture model of the oral mucosa. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 10, p. 826123, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.826123>. Acesso em: 30 abr. 2025.

PIRACCINI, B.; ALESSANDRINI, A. Onychomycosis: A review. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 1, n. 1, p. 30–43, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof1010030>. Acesso em: 12 mar. 2025.

PIRES, A. C. M. S. *et al.* Influence of zinc on *Histoplasma capsulatum* planktonic and biofilm cells. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 5, p. 361, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof10050361>. Acesso em: 06 jul. 2024.

PITANGUI, N. S. *et al.* Adhesion of *Histoplasma capsulatum* to pneumocytes and biofilm formation on an abiotic surface. **Biofouling**, v. 28, n. 7, p. 711–718, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08927014.2012.703659>. Acesso em: 06 jul. 2024.

PITANGUI, N. S. *et al.* Differential miRNA expression in human macrophage-like cells infected with *Histoplasma capsulatum* yeasts cultured in planktonic and biofilm forms. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 1, p. 60, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7010060>. Acesso em: 06 jul. 2024.

PONDE, N. O. *et al.* *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. **Critical reviews in microbiology**, v. 47, n. 1, p. 91–111, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1843400>. Acesso em: 27 jul. 2024.

PRASAD, M. *et al.* Organoid technology: a reliable developmental biology tool for organ-specific nanotoxicity evaluation. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 9, p. 696668, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.696668>. Acesso em: 13 set. 2024.

PREITE, N. W. *et al.* Blocking the CTLA-4 and PD-1 pathways during pulmonary paracoccidioidomycosis improves immunity, reduces disease severity, and increases the survival of infected mice. **Frontiers in immunology**, v. 15, p. 1347318, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1347318>. Acesso em: 09 jul. 2025.

PRIYA, P. S. *et al.* Syringol, a wildfire residual methoxyphenol causes cytotoxicity and teratogenicity in zebrafish model. **The science of the total environment**, v. 864,

n. 160968, p. 160968, 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160968>. Acesso em: 06 jul. 2024.

PUCCIA, R.; TRAVASSOS, L. R. 43-kilodalton glycoprotein from *Paracoccidioides brasiliensis*: immunochemical reactions with sera from patients with paracoccidioidomycosis, histoplasmosis, or Jorge Lobo's disease. **Journal of clinical microbiology**, v. 29, n. 8, p. 1610–1615, 1991. Disponível em:

<https://doi.org/10.1128/jcm.29.8.1610-1615.1991>. Acesso em: 29 abr. 2022.

QIN, H.L. *et al.* Chalcone hybrids as privileged scaffolds in antimalarial drug discovery: a key review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 193, n. 112215, p. 112215, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112215>. Acesso em: 11 set. 2024.

QUEIROZ-TELLES, F. *et al.* An open-label comparative pilot study of oral voriconazole and itraconazole for long-term treatment of paracoccidioidomycosis. **Clinical infectious diseases**, v. 45, n. 11, p. 1462–1469, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/522973>. Acesso em: 06 jul. 2024.

RAMAGE, G. *et al.* Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, v. 98, n. 1, p. 53–59, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2003.04.002>. Acesso em: 21 nov. 2024.

RAMMOHAN, A. *et al.* Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. **Environmental chemistry letters**, v. 18, n. 2, p. 433–458, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00959-w>. Acesso em: 10 jun. 2024.

RAPPLEYE, C. A.; EISSENBERG, L. G.; GOLDMAN, W. E. *Histoplasma capsulatum*-(1,3)-glucan blocks innate immune recognition by the β -glucan receptor. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 104, n. 4, p. 1366–1370, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.060984810>. Acesso em: 10 jun. 2024.

REBAZA, T. D. *et al.* Gene expression analysis of non-clinical strain of *Aspergillus fumigatus* (LMB-35Aa): Does biofilm affect virulence? **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 4, p. 376, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/jof6040376>. Acesso em: 24 jun. 2024.

RESTREPO, A. *et al.* Estrogens inhibit mycelium-to-yeast transformation in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*: implications for resistance of females to paracoccidioidomycosis. **Infection and immunity**, v. 46, n. 2, p. 346–353, 1984. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.46.2.346-353.1984>. Acesso em: 10 jun. 2024.

RESTREPO, A. *et al.* Itraconazole in the treatment of paracoccidioidomycosis: a preliminary report. **Reviews of infectious diseases**, v. 9 Suppl 1, p. S51-6, 1987. Disponível em: https://doi.org/10.1093/clinids/9.Supplement_1.S51. Acesso em: 10 jun. 2024.

RESTREPO, A. *et al.* Ketoconazole: a new drug for the treatment of paracoccidioidomycosis. **Reviews of infectious diseases**, v. 2, n. 4, p. 633–642, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/clinids/2.4.633>. Acesso em: 28 set. 2024.

RESTREPO, A.; CANO, L. E; GONZALEZ, A. The power of the small: the example of *Paracoccidioides brasiliensis* conidia. **Revista instituto medicina tropical**, v. 57, p. 5-10, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000700003>. Acesso em: 17 set. 2024.

RICOTTA, E. E. *et al.* Invasive candidiasis species distribution and trends, United States, 2009-2017. **The journal of infectious diseases**, v. 223, n. 7, p. 1295–1302, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa502>. Acesso em: 10 jun. 2024.

ROBERTO, T. N. *et al.* Exploring genetic diversity, population structure, and phylogeography in *Paracoccidioides* species using AFLP markers. **Studies in mycology**, v. 100, n. 1, p. 100131, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100131>. Acesso em: 10 jun. 2024.

ROCHA, O. B. *et al.* In vitro and in silico analysis reveals antifungal activity and potential targets of curcumin on *Paracoccidioides* spp. **Brazilian journal of microbiology**, v. 52, n. 4, p. 1897–1911, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00548-6>. Acesso em: 10 jun. 2024.

RODRIGUES, A. M. *et al.* *Paracoccidioides* and paracoccidioidomycosis in the 21st century. **Mycopathologia**, v. 188, n. 1–2, p. 129–133, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11046-022-00704-y>. Acesso em: 14 ago. 2024.

RODRIGUES, C.; HENRIQUES, M. Liposomal and deoxycholate amphotericin B formulations: effectiveness against biofilm infections of *Candida* spp. **Pathogens**, v. 6, n. 4, p. 62, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens6040062>. Acesso em: 14 ago. 2024.

ROSA-JÚNIOR, M. *et al.* Paracoccidioidomycosis of the central nervous system: CT and MR imaging findings. **American journal of neuroradiology**, v. 40, n. 10, p. 1681–1688, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3174/ajnr.A6203>. Acesso em: 14 ago. 2024.

ROUDBARMOHAMMADI, S. *et al.* *ALS1* and *ALS3* gene expression and biofilm formation in *Candida albicans* isolated from vulvovaginal candidiasis. **Advanced biomedical research**, v. 5, n. 1, p. 105, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/2277-9175.183666>. Acesso em: 05 set. 2025.

RUBEN, S. *et al.* Ahr1 and Tup1 contribute to the transcriptional control of virulence-associated genes in *Candida albicans*. **mBio**, v. 11, n. 2, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mbio.00206-20>. Acesso em: 05 set. 2025.

SAGATOVA, A. A. *et al.* Structural insights into binding of the antifungal drug fluconazole to *Saccharomyces cerevisiae* lanosterol 14 α -demethylase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 8, p. 4982–4989,

2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.00925-15>. Acesso em: 14 ago. 2024.

SANDOVSKY-LOSICA, H. *et al.* Gene transcription studies of *Candida albicans* following infection of HEp2 epithelial cells. **Medical mycology**, v. 44, n. 4, p. 329–334, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13693780500434701>. Acesso em: 05 set. 2024.

SANTOS, L. A. *et al.* Virulence factors of *Paracoccidioides brasiliensis* as therapeutic targets: a review. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 113, n. 5, p. 593–604, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01382-5>. Acesso em: 05 set. 2024.

SARDI, J. C. O. *et al.* In vitro *Paracoccidioides brasiliensis* biofilm and gene expression of adhesins and hydrolytic enzymes. **Virulence**, v. 6, n. 6, p. 642–651, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1031437>. Acesso em: 27 fev. 2023

SARDI, J. C. O. *et al.* Unveiling the functional significance of the 14.3.3 protein: a key player in *Paracoccidioides brasiliensis* biofilm formation. **Microbial pathogenesis**, v. 188, n. 106537, p. 106537, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106537>. Acesso em: 14 ago. 2024.

SASTRI, V. R. Plastics in medical devices: properties, requirements and applications. In: SASTRI, V. R. **Engineering thermoplastics: acrylics, polycarbonates, polyurethanes, polyacetals, polyesters, and polyamides**. 3th ed. Burlington: William Andrew, 2022. p. 121-122. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85126-8.00011-4>. Acesso em: 30 set. 2024.

SATALA, D. *et al.* The role of *Candida albicans* virulence factors in the formation of multispecies biofilms with bacterial periodontal pathogens. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 11, p. 765942, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.765942>. Acesso em: 14 ago. 2024.

SATOKATA, A. A. C. *et al.* Chalcones with potential antibacterial and antibiofilm activities against periodontopathogenic bacteria. **Anaerobe**, v. 76, n. 102588, p. 102588, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102588>. Acesso em: 09 nov. 2024.

SCHALLER, M. *et al.* Secreted aspartic proteinase (Sap) activity contributes to tissue damage in a model of human oral candidosis. **Molecular microbiology**, v. 34, n. 1, p. 169–180, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2000.00935.x>. Acesso em: 20 ago. 2025.

SCHROEDER, A. *et al.* The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. **BMC molecular biology**, v. 7, n. 1, p. 3, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2199-7-3>. Acesso em: 14 ago. 2025.

SCHULZE, A. *et al.* Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance - development, composition and regulation - therapeutic strategies. **Microbial cell**, v.

8, n. 2, p. 28–56, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.15698/mic2021.02.741>. Acesso em: 04 set. 2024.

SCORZONI, L. *et al.* Comparison of virulence between *Paracoccidioides brasiliensis* and *Paracoccidioides lutzii* using *Galleria mellonella* as a host model. **Virulence**, v. 6, n. 8, p. 766–776, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1085277>. Acesso em: 06 mar. 2025.

SEBA, V. *et al.* Chalcone derivatives 4'-amino-1-naphthyl-chalcone (D14) and 4'-amino-4-methyl-1-naphthyl-chalcone (D15) suppress migration and invasion of osteosarcoma cells mediated by p53 regulating EMT-related genes. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 9, p. 2838, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms19092838>. Acesso em: 02 ago. 2025.

SEIDLER, M. J.; SALVENMOSER, S.; MULLER, F. M. *Aspergillus fumigatus* forms biofilms with reduced antifungal drug susceptibility on bronchial epithelial cells. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 52, p. 4130–4136, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.00234-08>. Acesso em: 19 jul. 2025.

SERRANO, I. *et al.* The virtuous *Galleria mellonella* model for scientific experimentation. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 505, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030505>. Acesso em: 11 jul. 2025.

SHAH, D. D. *et al.* Harnessing three-dimensional (3D) cell culture models for pulmonary infections: State of the art and future directions. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 396, n. 11, p. 2861–2880, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02541-2>. Acesso em: 11 jul. 2025.

SHANG, L. *et al.* Oral host-microbe interactions investigated in 3D organotypic models. **Critical reviews in microbiology**, v. 50, n. 4, p. 397–416, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2211665>. Acesso em: 03 jun. 2025.

SHANKAR, J. *et al.* Hormones and the resistance of women to paracoccidioidomycosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 2, p. 296–313, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/cmr.00062-10>. Acesso em: 11 jul. 2025.

SHIKANAI-YASUDA, M. A. *et al.* Il consenso brasileiro em paracoccidioidomicose - 2017. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 27, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742018000500001>. Acesso em: 01 fev. 2022.

SHIKANAI-YASUDA, M. A. *et al.* Randomized trial with itraconazole, ketoconazole and sulfadiazine in paracoccidioidomycosis. **Medical mycology**, v. 40, n. 4, p. 411–417, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/mmy.40.4.411.417>. Acesso em: 20 set. 2024.

SHORT, B. *et al.* Investigating the transcriptome of *Candida albicans* in a dual-species *Staphylococcus aureus* biofilm model. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 11, p. 791523, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.791523>. Acesso em: 20 set. 2024.

SILVA, C. O. *et al.* Gingival involvement in oral paracoccidioidomycosis. **Journal of periodontology**, v. 78, n. 7, p. 1229–1234, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060490>. Acesso em: 20 set. 2024.

SILVA, L. B. R. *et al.* Identification of potentially therapeutic immunogenic peptides from *Paracoccidioides lutzii* species. **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 670992, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.670992>. Acesso em: 06 out. 2024.

SILVA, L. C. *et al.* Computer-aided identification of novel anti-paracoccidioidomycosis compounds. **Future microbiology**, v. 13, n. 13, p. 1523–1535, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0175>. Acesso em: 20 set. 2024.

SILVA, W. L. F. *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis* interacts with dermal dendritic cells and keratinocytes in human skin and oral mucosa lesions. **Medical mycology**, v. 54, n. 4, p. 370–376, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myv112>. Acesso em: 30 jun. 2024.

SILVERMAN, R. J. *et al.* Interaction of *Candida albicans* cell wall ALS3 protein with *Streptococcus gordonii* SspB adhesin promotes development of mixed-species communities. **Infection and immunity**, v. 78, n. 11, p. 4644–4652, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.00685-10>. Acesso em: 14 jul. 2024.

SINGH, S. K. *et al.* Critical role of three-dimensional tumorsphere size on experimental outcome. **Biotechniques**, v. 69, n. 5, p. 333–338, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2144/btn-2020-0081>. Acesso em: 14 jul. 2024.

SINGULANI, J. L. *et al.* The antimicrobial peptide MK58911-NH2 acts on planktonic, biofilm, and intramacrophage cells of *Cryptococcus neoformans*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 65, n. 12, p. e0090421, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.00904-21>. Acesso em: 14 jul. 2024.

SNEDDON, L. U.; HALSEY, L. G.; BURY, N. R. Considering aspects of the 3Rs principles within experimental animal biology. **The journal of experimental biology**, v. 220, n. 17, p. 3007–3016, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/jeb.147058>. Acesso em: 01 jan. 2025.

SOARES, D. A. *et al.* Extracellular *Paracoccidioides brasiliensis* phospholipase B involvement in alveolar macrophage interaction. **BMC microbiology**, v. 10, n. 1, p. 241, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-241>. Acesso em: 10 abr. 2023.

SPOSTO, M. R. *et al.* Paracoccidioidomycosis manifesting as oral lesions: clinical, cytological and serological investigation. **Journal of oral pathology & medicine**, v. 23, n. 2, p. 85–87, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1994.tb00262.x>. Acesso em: 09 abr. 2024.

TABATABAEI, F.; MOHARAMZADEH, K.; TAYEBI, L. Three-dimensional in vitro oral mucosa models of fungal and bacterial infections. **Tissue engineering. Part B, Reviews**, v. 26, n. 5, p. 443–460, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2020.0016>. Acesso em: 07 abr. 2024.

TAKAHAGI-NAKAIRA, E.; SUGIZAKI, M. F.; PERAÇOLI, M. T. S. Microdilution procedure for antifungal susceptibility testing of *Paracoccidioides brasiliensis* to amphotericin b and itraconazole. **The journal of venomous animals and toxins including tropical diseases**, v. 15, n. 4, p. 718–731, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1678-91992009000400010>. Acesso em: 07 abr. 2024.

TALAPKO, J. *et al.* Candida albicans-the virulence factors and clinical manifestations of infection. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 2, p. 79, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7020079>. Acesso em: 21 abr. 2024.

TAMAYO, D. *et al.* Interaction between *Paracoccidioides brasiliensis* conidia and the coagulation system: involvement of fibrinogen. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 4, p. 488–493, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-0276108042013015>. Acesso em: 21 abr. 2024.

TASSO, C. O. *et al.* *Cryptocarya moschata* extract decreases single and mixed iofilms on acrylic resins. **Oral diseases**, v. 30, n. 7, p. 4740–4750, 2024a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/odi.14858>. Acesso em: 17 out. 2024.

TASSO, C. O. *et al.* The antimicrobial activity of an antiseptic soap against *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* single and dual-species biofilms on denture base and relined acrylic resins. **PloS one**, v. 19, n. 7, p. e0306862, 2024b. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0306862>. Acesso em: 17 out. 2024.

TAVARES, A. H. F. P. *et al.* Early transcriptional response of *Paracoccidioides brasiliensis* upon internalization by murine macrophages. **Microbes and infection**, v. 9, p.583–590, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.01.024>. Acesso em: 17 out. 2024.

TAVARES, L. D. C. *et al.* Quinoliny and quinoliny n-oxide chalcones: synthesis, antifungal and cytotoxic activities. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 9, p. 4448–4456, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.07.019>. Acesso em: 06 nov. 2024.

TEIXEIRA, M. M. *et al.* *Paracoccidioides* species complex: ecology, phylogeny, sexual reproduction, and virulence. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 10, p. e1004397, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004397>. Acesso em: 02 out. 2024.

TEIXEIRA, M. M. *et al.* Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 52, n. 2, p. 273–283, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.04.005>. Acesso em: 02 out. 2024.

THEIN, Z. M. *et al.* Community lifestyle of *Candida* in mixed biofilms: a mini review. **Mycoses**, v. 52, n. 6, p. 467–475, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2009.01719.x>. Acesso em: 02 out. 2024.

THEIN, Z. M.; SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. Characteristics of dual species *Candida* biofilms on denture acrylic surfaces. **Archives of oral biology**, v. 52, n. 12, p. 1200–1208, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2007.06.007>. Acesso em: 14 out. 2024.

THOMAZ, L. *et al.* *Galleria mellonella* as a model host to study *Paracoccidioides lutzii* and *Histoplasma capsulatum*. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 139–146, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/viru.23047>. Acesso em: 02 out. 2024.

TOBUDIC, S. *et al.* Antifungal activity of amphotericin B, caspofungin and posaconazole on *Candida albicans* biofilms in intermediate and mature development phases. **Mycoses**, v. 53, n. 3, p. 208–214, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2009.01690.x>. Acesso em: 01 ago. 2024.

TOBUDIC, S. *et al.* Antifungal susceptibility of *Candida albicans* in biofilms: *Candida albicans* biofilm. **Mycoses**, v. 55, n. 3, p. 199–204, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2011.02076.x>. Acesso em: 01 ago. 2024.

TONKINSON, J. L.; STILLMAN, B. A. Nitrocellulose: a tried and true polymer finds utility as a post-genomic substrate. **Frontiers in bioscience**, v. 7, n. 1–3, p. c1, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.2741/tonkins>. Acesso em: 23 out. 2024.

TORRES, I. *et al.* Inhibition of *PbGP43* expression may suggest that gp43 is a virulence factor in *Paracoccidioides brasiliensis*. **PloS one**, v. 8, n. 7, p. e68434, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068434>. Acesso em: 11 ago. 2025.

TRINDADE, A. H. *et al.* Oral paracoccidioidomycosis: retrospective analysis of 55 brazilian patients. **Mycoses**, v. 60, n. 8, p. 521–525, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.12622>. Acesso em: 22 ago. 2024.

TSAL, C. J.Y.; LOH, J. M. S.; PROFT, T. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. **Virulence**, v. 7, n. 3, p. 214–229, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>. Acesso em: 28 jul. 2024.

TURISSINI, D. A. *et al.* Species boundaries in the human pathogen *Paracoccidioides*. **Fungal genetics biology**, v. 106, p. 9–25, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2017.05.007>. Acesso em: 01 ago. 2024.

UEMOTO, L. *et al.* Impact of supportive therapy for otological changes in patients with temporomandibular joint disorders. **Revista da dor de São Paulo**, p. 208–212, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-00132012000300003>. Acesso em: 24 out. 2024.

UNTEREINER, W. A. *et al.* The Ajellomycetaceae, a new family of vertebrate-associated Onygenales. **Mycologia**, v. 96, n. 4, p. 812–821, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832928>. Acesso em: 24 out. 2024.

UNTERGASSER, A. *et al.* Web-based LinRegPCR: application for the visualization and analysis of (RT)-qPCR amplification and melting data. **BMC bioinformatics**, v. 22, n. 1, p. 398, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12859-021-04306-1>. Acesso em: 18 out. 2024.

VASO, C. O. *et al.* Evaluation of the anti-*Histoplasma capsulatum* activity of indole and nitrofurantoin derivatives and their pharmacological safety in three-dimensional cell cultures. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, p. 1043, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051043>. Acesso em: 24 out. 2024.

VASO, C. O. **Estabelecimento de um modelo tridimensional para determinação da eficácia e segurança farmacológica de derivados de nitrofuranos e indólicos e avaliação da infecção de *Histoplasma capsulatum***. 2022. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2022.

VICENTINI, A. P. *et al.* Binding of *Paracoccidioides brasiliensis* to laminin through surface glycoprotein gp43 leads to enhancement of fungal pathogenesis. **Infection and immunity**, v. 62, n. 4, p. 1465–1469, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/iai.62.4.1465-1469.1994>. Acesso em: 01 out. 2024.

VILELA, R. *et al.* The taxonomy of two uncultivated fungal mammalian pathogens is revealed through phylogeny and population genetic analyses. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 18119, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97429-7>. Acesso em: 01 out. 2024.

WADY, A. F. *et al.* Evaluation of *Candida albicans* adhesion and biofilm formation on a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles: Antifungal activity of silver nanoparticles. **Journal of applied microbiology**, v. 112, n. 6, p. 1163–1172, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05293.x>. Acesso em: 29 out. 2024.

WALKER, J. E. *et al.* Measuring up: A comparison of tapestation 4200 and bioanalyzer 2100 as measurement tools for RNA quality in postmortem human brain samples. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 18, p. 13795, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms241813795>. Acesso em: 25 jul. 2025

WALL, G. *et al.* *Candida albicans* biofilm growth and dispersal: contributions to pathogenesis. **Current opinion in microbiology**, v. 52, p. 1–6, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.04.001>. Acesso em: 01 out. 2024.

WANG, D. *et al.* Fungal biofilm formation and its regulatory mechanism. **Heliyon**, v. 10, n. 12, p. e32766, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32766>. Acesso em: 01 out. 2024.

WANG, Z.; LU, Y. Adh1-Car1 axis regulates dimorphic transition in *Candida albicans* by suppressing hyphal hyperelongation. **Research in microbiology**, n. 104322, p. 104322, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2025.104322>. Acesso em: 21 ago. 2025.

WEISWALD, L.-B.; BELLET, D.; DANGLES-MARIE, V. Spherical cancer models in tumor biology. **Neoplasia**, v. 17, n. 1, p. 1–15, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neo.2014.12.004>. Acesso em: 25 jun. 2025.

WHO. Fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>. Acesso em: 10 abr. 2024.

WILHELM, A. *et al.* Synthesis, characterization and cytotoxic evaluation of chalcone derivatives. **Journal of molecular structure**, v. 1251, n. 132001, p. 132001, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132001>. Acesso em: 01 out. 2024.

WORMSER, G. P.; KEUSCH, G. T.; HEEL, R. C. Co-trimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole): an updated review of its antibacterial activity and clinical efficacy. **Drugs**, v. 24, n. 6, p. 459–518, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.2165/00003495-198224060-00002>. Acesso em: 01 out. 2024.

XU H, JENKINSON HF, DONGARI-BAGTZOGLOU A. Innocent until proven guilty: mechanisms and roles of *Streptococcus-Candida* interactions in oral health and disease. **Molecular oral microbiology**, v. 29, n. 3, p. 99-116, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/omi.12049>. Acesso em: 04 ago. 2024.

YOSHIMI, A.; MIYAZAWA, K.; ABE, K. Cell wall structure and biogenesis in *Aspergillus* species. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 80, n. 9, p. 1700–1711, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1177446>. Acesso em: 26 out. 2024.

ZAMBUZZI-CARVALHO, P. F. *et al.* Transcriptional profile of *Paracoccidioides* induced by oenothien B, a potential antifungal agent from the Brazilian cerrado plant *Eugenia uniflora*. **BMC microbiology**, v. 13, n. 1, p. 227, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-22>. Acesso em: 11 jun. 2025.

ZANONI, M. *et al.* 3D tumor spheroid models for in vitro therapeutic screening: a systematic approach to enhance the biological relevance of data obtained. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 19103, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep19103>. Acesso em: 10 set. 2024.

ZARNOWSKI, R. *et al.* *Candida albicans* biofilm-induced vesicles confer drug resistance through matrix biogenesis. **PLoS biology**, v. 16, n. 10, p. e2006872, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006872>. Acesso em: 25 jul. 2024.

ZERAIK, M. L. *et al.* 4'-aminochalcones as novel inhibitors of the chlorinating activity of myeloperoxidase. **Current medicinal chemistry**, v. 19, n. 31, p. 5405–5413, 2012.

ZHAO, A.; SUN, J.; LIU, Y. Understanding bacterial biofilms: from definition to treatment strategies. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 13, p. 1137947, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>. Acesso em: 10 set. 2024.

ZHU, W.; FILLER, S. G. Interactions of *Candida albicans* with epithelial cells. **Cellular microbiology**, v. 12, n. 3, p. 273–282, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01412.x>. Acesso em: 12 set. 2024.

ZHUANG, C. *et al.* Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry. **Chemical reviews**, v. 117, n. 12, p. 7762–7810, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00020>. Acesso em: 12 set. 2024.