



## POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO EXTRATO GLICÓLICO DE PRÓPOLIS COMO POSSÍVEL TRATAMENTO DE ONICOMICOSE CAUSADA POR *Fusarium* spp.

Vinicius Alexandre<sup>1\*</sup>, Pamela Tymniak<sup>1</sup>, Marcos Luciano Bruschi<sup>1</sup>, Melyssa Negri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR, Brasil

\*[viniciusa164@gmail.com](mailto:viniciusa164@gmail.com)

**Área Temática:** Doenças infecciosas e parasitárias

### Resumo

Onicomicose é uma infecção fúngica causada por dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos (FFND), que se manifesta por espessamento, descoloração e fragilidade das unhas. Entre os FFND, o gênero *Fusarium* se destaca, causando infecção principalmente no hálux e resistente aos antifúngicos convencionais. Antifúngicos disponíveis podem causar vários efeitos adversos, dessa forma, o extrato de própolis mostra-se eficaz no tratamento de onicomicose. O objetivo deste estudo foi avaliar a bioatividade do extrato glicólico de própolis (EGP) em modelo *ex vivo* com unhas infectadas por *Fusarium* spp.. Foram usados fragmentos distais de unhas para testar a bioatividade do EGP frente aos isolados de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*, divididos em três grupos: infectados e não tratados (controle positivo); infectados e tratados com EGP em concentração não tóxica (712,5 µg/mL); infectados e tratados com EGP na concentração máxima (5.700 µg/mL) e controles negativos constituído de apenas unha e EGP (sem infecção). Os fragmentos foram tratados a cada 12 horas por 7 dias. A eficácia do tratamento foi avaliada por microscopia óptica, com clarificação em KOH e coloração com azul de Evans, além da cultura em SDA. Como resultado, os isolados fúngicos utilizaram a unha saudável como única fonte de nutrientes no controle positivo. O controle negativo, com unhas e EGP, não apresentou crescimento fúngico. O tratamento com EGP, na concentração máxima (5700 µg/mL) e determinada pelo teste de suscetibilidade (712,5 µg/mL), inibiu o crescimento de *F. oxysporum* e *F. solani*. Diante dos resultados, a aplicação do modelo *ex vivo* utilizando fragmentos de unha mostra-se promissor, uma vez que é capaz de incorporar fatores biológicos do hospedeiro e melhora a simulação das condições *in vivo*. Assim, o EGP demonstra bioatividade frente às espécies de *Fusarium* spp., indicando sua aplicabilidade de uso tópico para o tratamento de onicomicoses.

**Palavras-chave:** Micose; Antifúngico; Modelo *ex vivo*.

### Introdução

Onicomicose, ou micose de unha, é uma infecção fúngica provocada por fungos dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos (FFND), sendo o distúrbio ungueal mais comum. Esta infecção se manifesta pelo espessamento, descoloração e fragilidade das unhas, podendo provocar dor ao usar sapatos devido à hiperqueratose. Além dos sintomas físicos, a condição causa impactos psicossociais e estéticos significativos para os pacientes (HAGHANI *et al.*, 2024). Dentre os FFND causadores de onicomicose, destaca-se o gênero *Fusarium*, um fungo ambiental responsável por causar infecção principalmente no dedão do pé, através da região anatômica lesionada em contato com o solo. A infecção pode se manifestar através de sinais clínicos como paroníquia superficial, subungueal ou aguda. Espécies clinicamente relevantes de *Fusarium* são geralmente resistentes a



todos os antifúngicos, incluindo azóis, equinocandinas e polienos (LU *et al.*, 2023). Os antifúngicos atualmente disponíveis podem causar uma série de efeitos adversos, o que pode levar os pacientes a interromperem o tratamento. Nesse cenário, o extrato de própolis tem se mostrado eficaz no tratamento de infecções fúngicas e na prevenção da resistência microbiológica aos antifúngicos comerciais. (VEIGA *et al.*, 2018). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a bioatividade do extrato glicólico de própolis em modelo *ex vivo*, utilizando fragmentos de unhas infectadas com espécies de *Fusarium* spp..

## **Materiais e métodos**

### *Extrato de própolis*

Neste trabalho foi utilizado o extrato glicólico de própolis alpino (EGP) 30% (m/m). A concentração do EGP foi estabelecida de acordo com o valor de concentração de polifenóis totais (CPT).

### *Isolados clínicos*

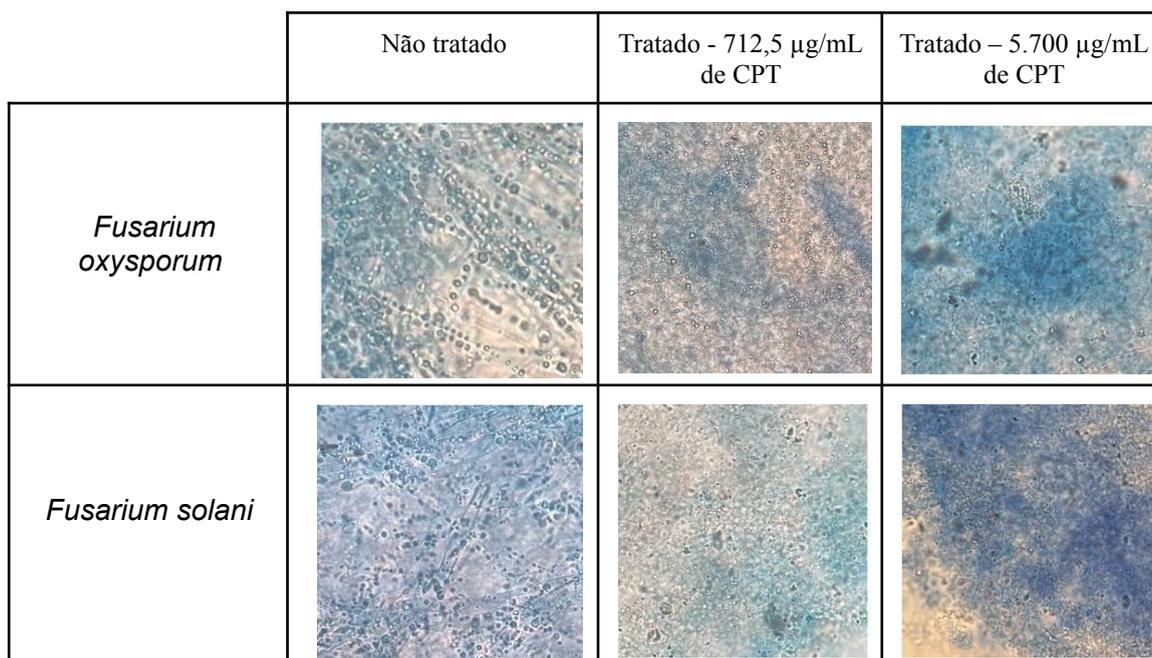
Para este estudo, foram utilizados isolados de coleção *Fusarium oxysporum* (CMRP 2925) e *Fusarium solani* (CMRP 5665) advindos de escamas da unha do pé.

### *Infecção e tratamento em modelos alternativos ex vivo, simulando tratamento in situ*

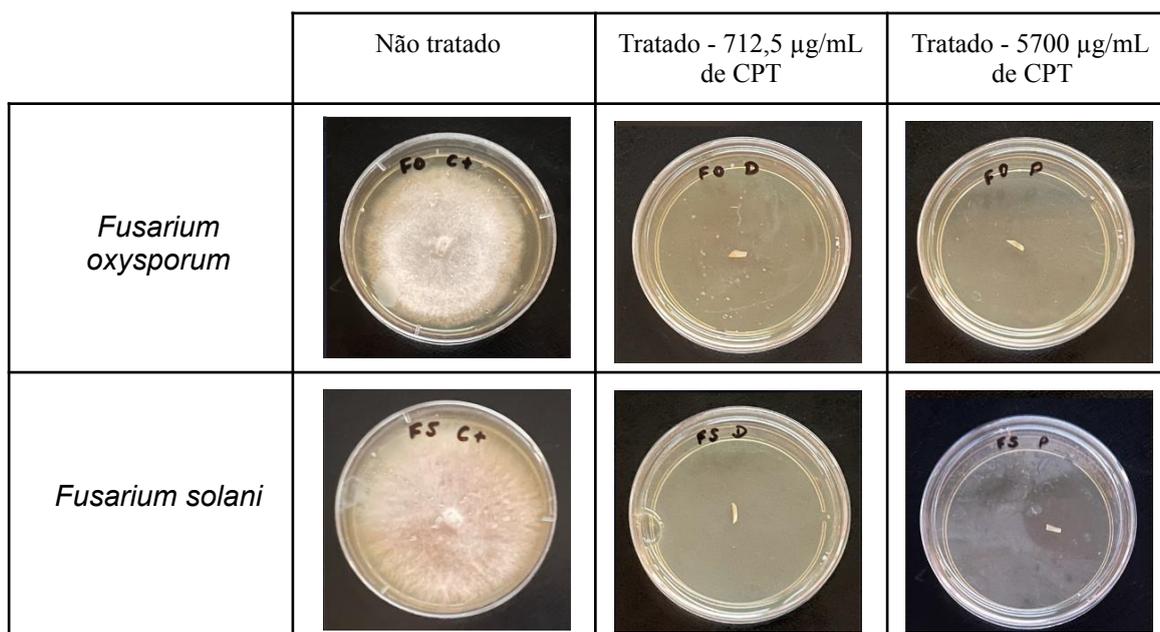
Foram utilizados fragmentos de unhas de um biobanco, os quais pertenciam à região distal da unha e foram previamente coletados de pacientes saudáveis que não estavam recebendo terapia antifúngica (CAAE 31702520.4.0000.0104). O ensaio foi realizado com os fungos *F. oxysporum* e *F. solani*, divididos em 3 grupos para cada espécie: infectados e não tratados (controle positivo de crescimento); infectados e tratados com EGP na concentração não tóxica (712,5 µg/mL de CPT), determinada previamente em modelos de larvas de *T. molitor*; infectados e tratados com EGP em sua maior concentração (5.700 µg/mL de CPT). Também foram incluídos mais dois grupos para cada concentração de EGP, os quais receberam apenas o tratamento, sem infecção (controle negativo de crescimento). Para cada grupo, seis fragmentos de unha foram colocados em lâminas de vidro com a superfície da unha ventral para cima. A infecção foi realizada com a pipetagem de 3 µL da suspensão fúngica contendo  $1,2 \times 10^7$  conídios/mL. Na sequência as lâminas de cada grupo, contendo os fragmentos de unha, foram colocadas em placa de Petri estéril e incubadas durante 7 dias a 25 °C. Após 12 horas de incubação, os grupos tratados receberam 5 µL de EGP, durante 7 dias a cada 12h. A avaliação do tratamento foi realizada através de microscopia óptica, em que as unhas foram clarificadas com hidróxido de potássio (KOH) a 40% e corados com azul de Evans, possibilitando a visualização de estruturas como hifas e conídios. Além disso, foi realizada a cultura das unhas em SDA para confirmar os achados da microscopia óptica.

## **Resultados e discussão**

Os isolados fúngicos do grupo controle positivo foram capazes de utilizar a unha saudável como a única fonte orgânica de nutrientes. O grupo controle negativo, composto apenas por unhas e EGP, não apresentou crescimento fúngico. No grupo tratado, após 7 dias de aplicação a cada 12 horas com EGP em sua concentração máxima (5700 µg/mL de CPT) e na concentração previamente determinada pelo teste de suscetibilidade (712,5 µg/mL), observou-se que o EGP inibiu o crescimento dos isolados de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* (Figura 1 e 2).



**Figura 1** - Resultado da microscopia óptica dos fragmentos de unha utilizados para infecção e tratamento com EGP. No grupo não tratado, é possível observar estruturas fúngicas. O EGP inibiu o crescimento de *F. oxysporum* e *F. solani*, uma vez que não foram visualizadas estruturas fúngicas.



**Figura 2** - Cultura dos fragmentos de unha em Sabouraud Dextrose Agar (SDA) durante 7 dias. O fungo presente nas unhas do grupo não tratado mostrou viabilidade em SDA. No entanto, *F. oxysporum* e *F. solani* tiveram crescimento inibido após tratamento com EGP.

Este trabalho buscou avaliar através do modelo *ex vivo*, a bioatividade do EGP frente à espécies de *Fusarium* spp. causadoras de onicomicose como uma alternativa terapêutica aos antifúngicos clássicos. Pesquisas com alternativas farmacoterápicas, incluindo extratos de própolis, ampliam estudos medicinais tradicionais, contribuindo para avanços e novas terapêuticas (DO NASCIMENTO e DE FRANÇA VERAS, 2020).

Os modelos experimentais *ex vivo* foram desenvolvidos para superar limitações dos métodos *in vitro*, incorporando fatores biológicos do hospedeiro e aprimorando a



simulação de condições *in vivo* (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2020). O tratamento dos fragmentos de unha, realizado a cada 12 horas por 7 dias com EPG, mostrou-se eficaz contra infecções por *F. oxysporum*, *F. solani*, assim como em um estudo conduzido por Veiga *et al.*, (2018), em que 16 pacientes aplicaram duas gotas de extrato de própolis nas unhas duas vezes ao dia e, após seis meses de tratamento, mostraram uma melhora clínica significativa. Estes resultados corroboram os achados de Corrêa *et al.*, (2020) que investigaram a ação de extratos de própolis contra *C. albicans*. Eles mostraram que a própolis tem um mecanismo fungistático que depende da dose e do tempo, enfatizando a necessidade de reaplicação para manter sua atividade antifúngica. Essa característica foi observada em nosso modelo *ex vivo*, onde a aplicação de EGP a cada 12 horas durante 7 dias foi eficaz para inibir o crescimento dos isolados fúngicos testados. Isso reforça a eficácia do tratamento com própolis na gestão de infecções fúngicas.

### Conclusões

Pode-se concluir que, com base na aplicação do modelo *ex vivo* utilizando fragmentos de unha, o EGP demonstra bioatividade frente às espécies de *Fusarium* spp., indicando sua aplicabilidade de uso tópico para o tratamento de onicomicoses.

### Agradecimentos

Ao laboratório de Micologia Médica da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e à agência de fomento CNPq.

### Referências

CASTELO-BRANCO, Débora de Souza Collares Maia *et al.* Mini-review: from *in vitro* to *ex vivo* studies: an overview of alternative methods for the study of medical biofilms. *Biofouling*, v. 36, n. 9, p. 1129-1148, 2020.

CORRÊA, Jakeline L. *et al.* Propolis extract has bioactivity on the wall and cell membrane of *Candida albicans*. *Journal of ethnopharmacology*, v. 256, p. 112791, 2020.

DO NASCIMENTO, G. . P. V. .; DE FRANÇA VERAS , T. . Atividade antimicrobiana e antifúngica de amostras comerciais de extrato alcoólico de própolis verde e própolis vermelho contra cepas causadoras de lesões cutâneas. **Revista Ibero-Americana de Podologia**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 182 - 189, 2020.

HAGHANI, Iman *et al.* Onychomycosis due to *Fusarium* species in different continents, literature review on diagnosis and treatment. **Mycoses**, v. 67, n. 1, p. e13652, 2024.

LU, Lai-Ying *et al.* High Diversity of *Fusarium* Species in Onychomycosis: Clinical Presentations, Molecular Identification, and Antifungal Susceptibility. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 5, p. 534, 2023.

VEIGA, Flavia F. *et al.* Propolis extract for onychomycosis topical treatment: from bench to clinic. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 779, 2018.