

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

PHEDERIC BRENDEL RAMALHO DE SOUZA

**ANÁLISE *in silico* DE SEQUÊNCIAS DO GENE DE RESISTÊNCIA ERG 11 DO
FUNGO *Candida auris***

Juazeiro do Norte – CE
2020

PHEDERIC BRENDEL RAMALHO DE SOUZA

**ANÁLISE *in silico* DE SEQUÊNCIAS DO GENE DE RESISTÊNCIA ERG 11 DO
FUNGO *Candida auris***

Artigo Científico apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às
exigências para a obtenção do grau de bacharel
em Biomedicina.

Orientador: Dra. Jennifer Figueiredo da Silva
Oliveira

PHEDERIC BRENDDEL RAMALHO DE SOUZA

**ANÁLISE *in silico* DE SEQUÊNCIAS DO GENE DE RESISTÊNCIA ERG 11 DO
FUNGO *Candida auris***

Artigo Científico apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às
exigências para a obtenção do grau de bacharel
em Biomedicina.

Orientador: Dra. Jennifer Figueiredo da Silva
Oliveira

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Jennifer Figueiredo da Silva Oliveira
Orientador

Prof. Esp. Wenderson Pinheiro de Lima
Examinador 1

Prof.^a Esp. Francisca Alves dos Santos
Examinador 2

ANÁLISE *in silico* DE SEQUÊNCIAS DO GENE DE RESISTÊNCIA ERG 11 DO FUNGO *Candida auris*

Phederic Brendel Ramalho de Souza¹; Jennifer Figueiredo da Silva Oliveira².

RESUMO

O presente estudo realizou uma análise *in silico* de sequências do gene de resistência ERG11 da espécie *C. auris* disponíveis em bancos de dados públicos, inferindo-se sobre estrutura, função e evolução desse gene dentro dessa espécie. Para isso, sequência de aminoácido de referência do gene ERG 11 foi obtida no banco de dados Uniprot no formato FASTA. A sequência referência foi utilizada no software BLASTn e foram selecionadas sequências homólogas candidatas com diferentes valores de E-value. Todas as sequências obtidas foram traduzidas usando o *software* ORFfinder, com tradução empregada no *software* CD-Search para a pesquisa por domínios conservados. Novo alinhamento foi realizado no MEGA7, e o arquivo no formato FASTA permitiu a construção de dendrogramas utilizando o método de Neighbor Joining com teste de filogenia Bootstrap. A sequência referência foi utilizada para gerar um modelo teórico predito em estrutura 3D, empregando-se o *software* SWISS-MODELL. A qualidade do modelo foi validada utilizando os softwares ProSA-web e RAMPAGE-Assessment of the Ramachandran Plot. A localização celular das proteínas foi dada através do programa Cell-ploc 2.0. Foram selecionadas 20 sequências homólogas com diferentes valores de e-value e através do CD-Search foi observada a presença do domínio citocromo P450. Os filogramas exibiram que o gene apresenta expressiva variabilidade genética e a proteína apresentou bom modelo teórico predito validado. O estudo mostra de forma mais acurada a importância desse gene dentro do genoma desse fungo, o qual apresenta uma capacidade de sofrer mutações em presença de fármacos da classe azol ou gerar uma superexpressão do gene e favorecer uma alta resistência as leveduras do gênero *Candida* spp..

Palavras-chaves: Bancos de dados. Bioinformática. Fungos. Genoma.

in silico* ANALYSIS OF SEQUENCES OF THE ERG11 RESISTANCE GENE OF THE FUNG *Candida auris

ABSTRACT

The present study carried out an *in silico* analysis of sequences of the ERG11 resistance gene of the species *C. auris* available in public databases, inferred about the structure, function and evolution of this gene within this species. For this, the ERG 11 gene reference nucleotide sequence was obtained from the NCBI database in FASTA format. The reference sequence was used in the BLASTn software and candidate homologous sequences with different E-value values were selected. All sequences obtained were translated using the ORFfinder software, with translation used in the CD-Search software to search for conserved domains. A new alignment was performed at MEGA7, and the file in FASTA format allowed the construction of dendrograms using the Neighbor Joining method with the Bootstrap phylogeny test. The reference sequence was used to generate a theoretical model predicted in 3D structure, using the SWISS-MODELL software. The quality of the model was validated using the software

¹ Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, Juazeiro do Norte - CE

² Docente do Centro Universitário Leão Sampaio, Juazeiro do Norte - CE

ProSA-web and RAMPAGE-Assessment of the Ramachandran Plot. The cellular location of the proteins was determined using the program Cell-ploc 2.0. Twenty homologous sequences were selected with different e-value values and through the CD-Search the presence of the cytochrome P450 domain was observed. The filograms showed that the gene has significant genetic variability and the protein presented a good validated predicted theoretical model. The study shows more accurately the importance of this gene within the genome of this fungus, which has the capacity to mutate in the presence of azole drugs or generate overexpression of the gene and favor a high resistance to yeasts of the genus *Candida* spp. .

Key-words: *Bioinformatics*. Databases. Genome. Fungi.

1 INTRODUÇÃO

Candida auris foi isolada pela primeira vez em 2009 do canal auditivo externo de um paciente no Japão, com uma sequência de DNA ribossômico (rDNA) e análises bioquímicas indicando a identificação de uma nova espécie de cândida. A nova espécie foi relatada no mesmo ano em pacientes com otite média crônica na Coreia do Sul. Na maioria dos isolados encontrados na Coreia do Sul o patógeno apresentou resistência a múltiplas drogas, (KIM et al., 2009).

A *C. auris* pode exibir vários fenótipos morfológicos sob diferentes condições de cultura, incluindo formas arredondadas a ovoides, alongadas e pseudo-hifas (BORMAN et al, 2016). Vários estudos apresentaram os principais fatores de virulência de *C. auris*, como a aderência, formação de biofilme, produção de fosfolipase e de proteinases, os quais contribuem para patogenicidade da espécie e resistência aos antimicrobianos (CHATTERJEE et al., 2015; BORMAN, SZEKELY, JOHNSON, 2016; KUMAR et al., 2015)

O perfil de multirresistência aos antifúngicos tornou o surgimento de *C. auris* muito alarmante, fazendo-se necessária a implementação de medidas severas para o controle e prevenção das infecções (SCHELENZ et al., 2016).

Por sua característica de multiresistência a antifúngicos, *Candida auris* apresenta grande ameaça para a saúde global, podendo ser fatal a pacientes acometidos, estando relacionada principalmente a surtos hospitalares devido a sua capacidade de se disseminar consideravelmente em ambiente hospitalar. Sabe-se que esses fungos apresentam em seu genoma genes com grande importância biológica, que codificam enzimas, que exercem funções que merecem atenção, a exemplo do gene ERG11, o qual confere resistência a antifúngicos para a *C. auris*.

Os mecanismos de resistência a antifúngicos em *C. auris* têm estado relacionados a alterações na enzima 14 α -demetilase codificada pelo gene ERG 11 (LOCKHART et al., 2017)

, essa enzima é de extrema importância para a síntese do ergosterol, substância essencial para manter o equilíbrio e a funcionalidade da membrana plasmática dos fungos. Sendo assim, a enzima 14 α -demetilase também é alvo farmacológico de antifúngicos da classe dos azóis, de modo que a inibição de sua atividade resulta na diminuição do ergosterol, e também o acúmulo de seu antecessor, o lanosterol, que é precursor de componentes intermediários tóxicos (FENG et al., 2010).

Foram avaliadas sequências do gene ERG11 em um grupo de 54 isolados de *C. auris* que mostraram ocorrência de mutações similares às encontradas em *C. albicans*, que lhes conferem resistência ao fluconazol. Essas mutações no gene ERG11 foram fortemente associadas a clados geográficos (F126T em África do Sul, Y132F na Venezuela e Y132F ou K143R na Índia / Paquistão) (LOCKHART et al., 2017).

Diante da importância biológica do gene ERG11, e sabendo-se da disponibilidade de sequências desses genes em bancos de dados públicos, realizar um estudo aprofundado desse gene é de extrema relevância, podendo-se lançar mão do uso das ferramentas de bioinformática para várias inferências sobre o gene, uma vez que os algoritmos criados utilizam técnicas matemáticas, computacionais e biológicas que permitem comparar sequências, caracterizar relações evolutivas e avaliar a estrutura do gene (GARNACHO-MONTERO et al., 2010; VERLI, 2014).

Com isso, o presente trabalho teve como objetivo realizar a análise in silico de sequências do gene de resistência ERG11 do gênero *Candida* spp. disponíveis em bancos de dados públicos, buscando-se inferir sobre estrutura, função e evolução desse gene dentro desse gênero.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A sequência referência para esse estudo, contendo o gene 14-alpha demethylase (ERG 11) foi obtida no banco de dados Uniprot (<https://www.uniprot.org/>), no formato FASTA.

Em seguida foi realizado uma busca de regiões de similaridade entre as sequências nucleotídicas através do BLASTn e selecionadas sequências homólogas candidatas com diferentes valores de E-value (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Todas as sequências nucleotídicas foram traduzidas usando o programa ORFfinder(Open Reading Frame Finder), considerando a melhor ORF dada pelo software (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) (TATUSOV; TATUSOV, 2009).

Para a pesquisa por domínios conservados, as sequências traduzidas foram analisadas no software CD-Search, podendo-se inferir sobre a presença e integridade do domínio (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Novo alinhamento foi realizado através do MEGA7 (KUMAR et al., 2016), sendo necessário cortar as extremidades das sequências. O arquivo FASTA desse alinhamento permitiu a construção de dendrogramas usando método de Neighbor Joining com teste de filogenia Bootstrap (1000 repetições). As árvores geradas pelo programa foram visualizadas em formato PDF.

A sequência referência desse estudo foi utilizada para gerar um modelo teórico predito em estrutura 3D, empregando-se o software SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) (BIASINI et al., 2014). A qualidade do modelo foi validada utilizando os softwares ProSA-web (<https://prosa.services.came.sbg.ac.at/prosa.php>) (Sippl MJ, 1993; Wiederstein e Sippl, 2007) e RAMPAGE-Assessment of the Ramachandran Plot (<http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php>).

A localização celular das proteínas foi dada através do software Cell-ploc 2.0 (CHOU; SHEN, 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo, foi utilizada como sequência referência (ID: Uniprot - A0A2H4QC40) a região do genoma de *Candida auris*, contendo o gene ERG11, que tem a configuração de codificar a enzima conhecida como 14 α -demetilase (Erg11p).

A sequência referência foi empregada num BLASTn, possibilitando a seleção de 20 sequências homólogas candidatas com diferentes valores de E-value, sendo 10 da mesma espécie e 10 do mesmo gênero do fungo (Tabela 1).

Tabela 1: Relação de sequências contendo o gene ERG11 e seus respectivos valores de qualidade obtidos no tBLASTn

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
[Candida] auris isolate AR0389 ERG11 (14-alpha-demethylase).gene_complete cds	1091	1091	100%	0.0	99.81%	MK294635.1
[Candida] auris strain MS3054 lanosterol 14-alpha demethylase (ERG11).gene_complete cds	1091	1091	100%	0.0	99.81%	KY410388.1
[Candida] auris isolate EC14808 14-alpha-demethylase (ERG11).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK308850.1
[Candida] auris isolate AR0387 ERG11 (14-alpha-demethylase).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK294633.1
[Candida] auris isolate AR0382 ERG11 (14-alpha-demethylase).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK294628.1
[Candida] auris isolate AR0381 ERG11 (14-alpha-demethylase).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK294627.1
[Candida] auris isolate ERG11C14317 14-alpha-demethylase (ERG11).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK294626.1
[Candida] auris isolate ERG11C7591 14-alpha-demethylase (ERG11).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK294625.1
[Candida] auris isolate ERG11C7374 14-alpha-demethylase (ERG11).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK294624.1
[Candida] auris isolate C158 14-alpha-demethylase (ERG11).gene_complete cds	1090	1090	100%	0.0	99.62%	MK294623.1
[Candida] pseudohaemulonii hypothetical protein (C7M61_004938).partial mRNA	1022	1022	100%	0.0	90.84%	XM_024860251.1
[Candida] haemulonii lanosterol 14-alpha demethylase (CXQ85_003088).partial mRNA	1020	1020	100%	0.0	91.03%	XM_025486744.1
[Candida] duobushaemulonii uncharacterized protein (CXQ87_003531).partial mRNA	1016	1016	100%	0.0	89.89%	XM_025482007.1
Debaryomyces fabryi Lanosterol 14-alpha demethylase (AC631_01138).partial mRNA	850	850	99%	0.0	75.33%	XM_015609968.1
Candida orthopsilosis strain Rome24 lanosterol 14-alpha-demethylase (erg11).gene_complete cds	820	820	99%	0.0	72.66%	MG584841.1
Clavispora lusitaniae strain CL106 Erg11p (ERG11).gene_complete cds	905	905	99%	0.0	80.73%	EU919444.1
Clavispora lusitaniae ATCC 42720 hypothetical protein.mRNA	904	904	99%	0.0	80.53%	XM_002614870.1
Candida oregonensis strain ChDrAdgY58 CYP51F1 (CYP51F1).gene_complete cds	866	866	99%	0.0	76.34%	KU696337.1
Debaryomyces hansenii CBS767 DEHA2E19272p (DEHA2E19272g).partial mRNA	853	853	99%	0.0	74.95%	XM_460143.1
Clavispora lusitaniae ATCC 42720 hypothetical protein.mRNA	850	850	93%	0.0	80.78%	XM_002614871.1

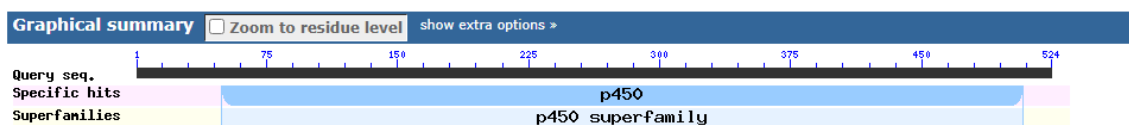
Frames de tradução de todas as sequências nucleotídicas foram obtidos empregando a ferramenta ORF finder – NCBI, sendo utilizada a melhor ORF considerada pelo software para cada sequência.

Foi observada a presença do domínio citocromo P450(enzima lanosterol desmetilase) em 19 das sequências de aminoácidos obtidas e 1 não teve domínio conservado identificado, utilizando a ferramenta CD-Search - NCBI (Figura 1). O ERG11P é uma enzima do citocromo P450 codificada pelo gene ERG11 (SONG ET AL, 2004). Esta enzima tem a capacidade de transformar o lanosterol em ergosterol que catalisa a remoção oxidativa do grupo 14 α metil do lanosterol. O esterol 14- α demetilase contém uma porção heme em seu sítio ativo. O nitrogênio desimpedido dos azoles liga-se ao ferro heme de Erg11p, portando, inibindo uma reação enzimática. Além disso, um segundo nitrogênio nos azóis tem o potencial de interagir diretamente com o apoproteína de lanosterol-desmetilase (CASALINUOVO ET AL, 2004). O bloqueio de Erg11p leva ao acúmulo de esteróis 14 α metilados, inibindo a produção de ergosterol e levando a perturbação na membrana e na conformação da célula (LAMB ET AL, 1998).

Em um estudo realizado por Mellado et al. (2001), constatou-se que alterações nas sequências dos aminoácidos do P450 geralmente ocorrem por mutagêneses. A resistência aos agentes antifúngicos azólicos está relacionada com mudanças na expressão do gene ERG11 ou mutações pontuais e alterações na via biosintética do ergosterol (DUNKEL et al., 2008). De acordo com Alvarez-Rueda et al (2016) a supreexpressão de ERG11, na presença do

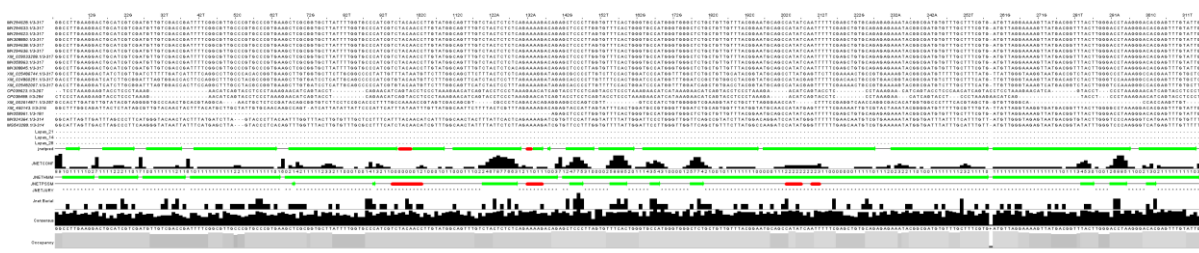
antifúngico, ocorre com um aumento do número de cópias da enzima ERG11p, resultando em síntese elevada de ergosterol, que vai superar a capacidade do medicamento. Ainda, foi citado por Cortegianni et al. (2018) que se o gene ERG11 estiver na presença do fluconazol, as mutações podem ser elevadas em cinco vezes.

Figura 1: Domínio conservado do citocromo P450, encontrada na *query* referência *Candida auris*, contendo o gene ERG11, empregando o software CD-Search – NCBI.



Nas sequências de aminoácidos alinhadas, pode-se observar as regiões com sítios conservados, utilizando o software Jalview (Figura 2).

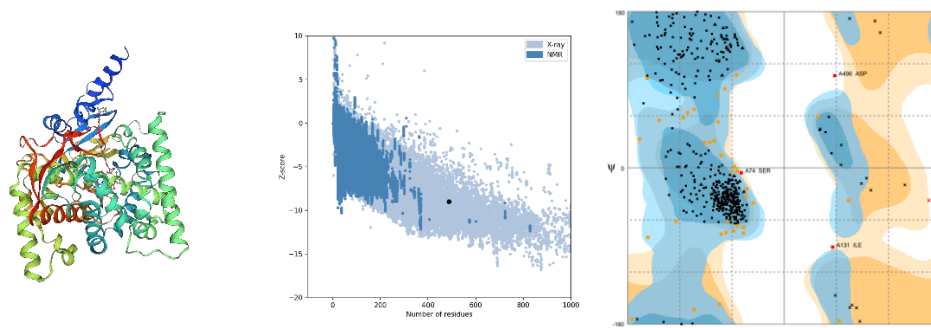
Figura 2: Alinhamento das sequências de aminoácidos, com visualização de sítios conservados, utilizando o software Jalview.



O gene avaliado nesse estudo apresentou um bom modelo teórico predito em estrutura 3D, empregando-se o software SWISS-MODELL, com qualidade validada utilizando ProSA-web, mostrando que a mesma está numa região de outra proteína validada por Raio X. Por fim, o modelo teórico foi validado utilizando o software RAMPAGE-Assessment of the Ramachandran Plot, mostrando que 91,9% dos aminoácidos estão em regiões energeticamente favoráveis, 7,2% em regiões permitidas e somente 0,8% em regiões energeticamente não permitidas (Figura 3).

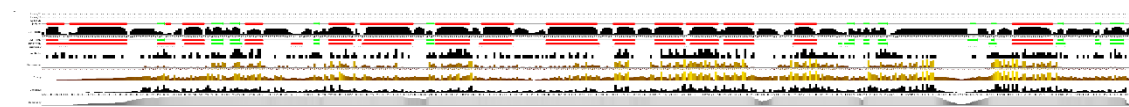
A enzima tem na sua estrutura várias hélices conservadas de A-L. Diante disso, as hélices I e L são as regiões responsáveis pela ligação ao grupamento heme e resíduos de aminoácidos contendo nas hélices B e L que tem como função fazer o reconhecimento do substrato (RAUCY; ALLEN, 2001). De abordagem geral, a estrutura é formada por uma α hlice e folhas β ao redor do grupo heme da enzima (ALCAZAR-FUOLI et al., 2008).

Figura 3: Melhor modelo para a proteína usando SWISS-MODEL (A), e avaliação da qualidade da proteína usando ProSa-web (B) e RAMPAGE - Assessment of the Ramachandran Plot (C).



A estrutura proteica das alpha hélices tem confiabilidade moderada de acordo com a figura 4, no entanto a folha β já tem uma ótima confiabilidade referente à estrutura proteica.

Figura 4: Qualidade da estrutura secundária do citocromo P450, empregando o software JPred4 Incorporating Jnet.

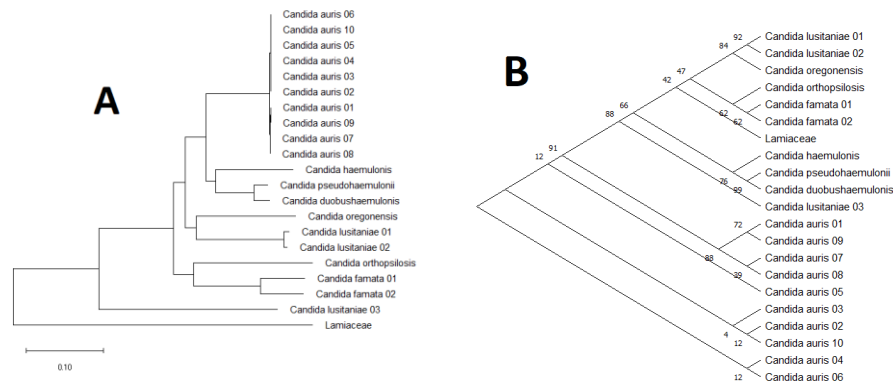


As sequências nucleotídicas foram alinhadas e tratadas no software MEGA7.0, e o resultado do alinhamento utilizado para gerar árvores filogenética (análise de Maximum Likelihood) e fenética (análise de Neighbor Johnny), com valores de Bootstrap (1000 repetições) para cada nó (Figura 5).

O gene escolhido é responsável por codificar a enzima ERG11p que é de suma importância para a síntese do ergosterol. A análise fenética se enquadra melhor na discussão sobre o referido gene, uma vez que estes genes possuem uma alta taxa de mutação e estão relacionados com a resistência a antifúngicos, sendo constantemente desafiados no encontro patógeno hospedeiro. Por ser uma região codificadora, foi possível observar uma variação intraespecífica para o gênero *Candida*, com divisão das espécies em diferentes grupos taxonômicos. De acordo com Li (2000) a divisão em grupos taxonômicos do gênero *Candida* observado na figura 5 acontecem por conta que existe uma limitação funcional diferencial e estrutural nas regiões da proteína em cada espécie.

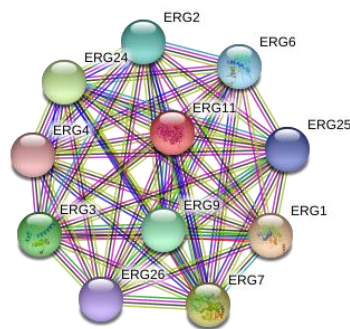
A análise filogenética é menos adequada, uma vez que pode haver grande alteração em regiões de domínios conservados, podendo-se inferir que o gene ERG 11 não tem força filogenética (evolutiva) para separar de forma esperada as espécies de *Candida*.

Figura 5: Na imagem A, relações evolutivas de táxons, utilizando o método Neighbor-Joining, e na imagem B, árvore filogenética molecular pelo método da máxima verossimilhança.



Em relação às interações que o ERG11 faz com outros genes, foram constatadas 10 interações através do software string. Em estudo de Zhou et al. (2018) foi evidenciada interação com o ERG3 que tem uma grande importância na biossíntese do ergosterol e relevante importância na resistência a fármacos.

Figura 6: Modelo de interação do gene ERG11 com genes similares.



A localização celular da proteína da *Candida auris* está no retículo endoplasmático, que foi obtido utilizando o software cell-ploc 2.0.

4 CONCLUSÃO

Na análise in silico de sequências do gene ERG11, observa-se domínio conservado nas diferentes espécies de *Candida*, exibindo expressiva variabilidade genética, com proteína apresentando modelo teórico predito validado, mostrando de forma mais acurada a importância desse gene dentro do genoma desse fungo, o qual apresenta uma capacidade de sofrer mutações em presença de fármacos da classe azol ou gerar uma superexpressão do gene e favorecer uma alta resistência as leveduras do gênero *Candida* spp., especialmente a *Candida auris*.

REFERÊNCIAS

- ALCAZAR-FUOLI, L.; et al. Recent advances in P450 research. **Pharmacogenetics J.** v. 1, 2001.
- ALVAREZ-RUEDA, N.; et al. The amino acid substitution N136Y in *Candida albicans* sterol 14 α -demethylase is involved in fluconazole resistance. **Med Mycol**, v. 54 n. 7, 2016.
- BIASINI M. et al. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. **Nucleic Acids Res.** v. 42, 2014.
- BORMAN A. M. et al. Comparative pathogenicity of United Kingdom isolates of the emerging pathogen *Candida auris* and other key pathogenic *Candida* species. **mSphere**. v. 1, n. e00189–16, 2016
- BORMAN, A. M.; SZEKEL, Y. A.; JOHNSON, E. M. Comparative pathogenicity of United Kingdom isolates of the emerging pathogen *Candida auris* and other key pathogenic *Candida* species. **mSphere**. v. 1, n. e00189-16, 2016.
- CASALINUOVO I.A., DI FRANCESCO P., GARACI E. Fluconazole resistance in *Candida albicans*: a review of mechanisms. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.** v. 8 n. 2, 2004
- CHATTERJEE, S. et al. Draft genome of a commonly misdiagnosed multidrug resistant pathogen *Candida auris*. **BMC Genomics**. v. 16, n. 686, 2015.
- CORTEGIANI, A. et al. Epidemiology, clinical characteristics, resistance, and treatment of infections by *Candida auris*. **Journal Of Intensive Care**. v. 6, n. 69, p. 1-13, 2018.
- DUNKEL N, et al. A gain-of-function mutation in the transcription factor Upc2p causes upregulation of ergosterol biosynthesis genes and increased fluconazole resistance in a clinical *Candida albicans* isolate. **Eukaryot Cell**. v. 7 n. 7, 2008
- FENG, L. et al. Relationship between antifungal resistance of fluconazole resistant *Candida albicans* and mutations in ERG11 gene. **Chinese Medical Journal**. v. 123, n. 5, 2010

GARNACHO-MONTERO J, et al. Risk factors for fluconazole-resistant candidemia. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. v. 54, n. 8, 2010.

LI W.H. Molecular Evolution. **Sinauer Associates**, 2000.

KIM, M. N. et al. *Candida haemulonii* and closely related species at 5 university hospitals in Korea: identification, antifungal susceptibility, and clinical features. **Clin Infect Dis**. v. 48, n. e57– 61, 2009.

KUMAR A et al. Simple low-cost differentiation of *Candida auris* from *Candida haemulonii* complex using CHROMagar *Candida* medium supplemented with Pal's medium. **Rev Iberoam Micol**. v. 34, n. 1, 2017.

KUMAR, D. et al. *C. auris* causing vulvovaginitis. **J Infect Dev Ctries**. v. 9, v. 1, 2015.

LAMB D.C., KELLY D.E., KELLY S.L. Molecular diversity of sterol 14 α -demethylase substrates in plants, fungi and humans. **FEBS Lett.**; v. 425 n. 2, 1998

LOCKHART SR et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant *Candida auris* on three continents confirmed by whole genome sequencing and epidemiological analyses. **Clin Infect Dis**. v. 64, n.2, 2017.

MELLADO, E. et al. Identification of two different 14-alpha sterol demethylase-related genes (cyp51A and cyp51B) in *Aspergillus fumigatus* and other *Aspergillus* species. **J. Clin. Microbiol**. v. 39, 2001.

SCHELENZ, S. et al. First hospital outbreak of the globally emerging *Candida auris* in a European hospital. **Antimicrob Resist Infect Control**. v. 5, n. 35, 2016.

SIPPL M.J. Recognition of Errors in Three-Dimensional Structures of Proteins. **PROTEIN Struct Fun Genet**. v. 17, 1993.

SONG, J.L. et al. The *Candida albicans* lanosterol 14- α -demethylase (ERG11) gene promoter is maximally induced after prolonged growth with antifungal drugs. **Antimicrob Agents Chemother**. v. 48 n. 4, 2004.

TATUSOV T., TATUSOV R. ORF Finder (Open Reading Frame Finder). Disponível em: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/] Acesso em: 04 de maio 2020. **National Center for Biotechnology Information**.

VERLI, H. **Bioinformática da Biologia à flexibilidade molecular**. 1. Ed. – São Paulo; SBBq, 2014.

WARRILOW, A. G. S. et al. The clinical candidate VT-1161 is a highly potent inhibitor of *Candida albicans* CYP51 but fails to bind the human enzyme. **Antimicrob. Agents Chemother**. v. 58, n.1, 2014.

YUJIE, Z. et al. ERG3 and ERG11 genes are critical for the pathogenesis of *Candida albicans* during the oral mucosal infection. **International Journal of Oral Science**. v. 10, n 9, 2018