

PERFIL DE SUSCETIBILIDADE *IN VITRO* DE *Sporothrix brasiliensis* FRENTE A NANOPARTÍCULAS BIOGÊNICAS DE PRATA.

**JÉFERSON LUIZ SILVA DE SOUZA¹, HENRIQUE ZARNOTT RAATZ²,
CAROLINE QUINTANA BRAGA³; LUCIÉLE PEREIRA DE MELO⁴; LUCIANO
PANAGIO⁵, DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA⁵**

¹*Universidade Federal de Pelotas – jefersonluizsds@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – henriqueraatz@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – carolineqbraga@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – lucielemelo.96@gmail.com*

⁵*Universidade Estadual de Londrina - lapanagio@uel.br*

⁶*Universidade Federal de Pelotas– danielabrayer@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma infecção fúngica que afeta a pele e tecidos subcutâneos de várias espécies de animais e seres humanos, causada por fungos termodimórficos do gênero *Sporothrix* (RODRIGUES, 2020).

Mundialmente distribuído, *Sporothrix schenckii* foi relatado com o principal agente etiológico da doença, entretanto com novos estudos filogenéticos outras espécies foram atribuídas a esporotricose humana e animal, como *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei* que representam interesse médico e veterinário atualmente (MORGADO et al., 2024). Em território brasileiro a esporotricose causada por *Sporothrix brasiliensis* representa mais de 90% dos casos sistêmicos em felinos (BOECHAT et al., 2018), sendo essa espécie restrita à América Latina (RODRIGUES, 2020).

Micose importante em saúde pública, a esporotricose é adquirida por inoculação traumática do fungo a partir do solo, planta ou animal, sendo a transmissão zoonótica amplamente relatada no Brasil, principalmente nos estados de Rio de Janeiro, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (GREMIÃO et al., 2021).

O tratamento de eleição da esporotricose é a utilização do antifúngico itraconazol, tanto em humanos quanto animais, podendo ou não ser associado com iodeto de potássio. Entretanto, há crescentes relatos de falhas terapêuticas em diferentes espécies (LARSSON, 2011; ROSA et al., 2017), que fomentam as buscas por novas moléculas com maior eficácia e menor toxicidade ao indivíduo e que possam ser integradas aos protocolos terapêuticos estabelecidos.

A nanotecnologia é uma ferramenta de grande relevância no século XXI, destacando-se como uma alternativa promissora na ciência e na tecnologia devido à sua ampla gama de aplicações e suas propriedades sustentáveis (RAI, 2013). Nesse contexto, as nanopartículas de prata são moléculas estáveis, de baixo custo de produção e potente ação antimicrobiana (DURÁN et al., 2019). Devido a suas propriedades terapêuticas, as nanopartículas de prata tem sua ação antifúngica amplamente investigada contra fungos incluindo *Sporothrix* (BONILLA et al., 2022), *Aspergillus*, *Fusarium* e *Candida* (SIDDIQI et al., 2018; XU et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antifúngica de nanopartículas biogênicas de prata (Bio-AgNP) sobre a forma leveduriforme do *Sporothrix brasiliensis*.

2. METODOLOGIA

Para este trabalho, foram utilizados seis isolados de *S. brasiliensis* oriundos de felinos domésticos, da cidade de Pelotas/RS (n=2), Capão do Leão/RS (n=2) e Belo Horizonte/MG (n=2). Todos os isolados foram identificados molecularmente.

Os testes de microdiluição seguiram o protocolo do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) com adaptações. O inóculo para os testes de suscetibilidade *in vitro* consistiu de leveduras de *S. brasiliensis* diluído 1:50 em caldo RPMI.

A Bio-AgNP (NanoVerdeAg®) utilizada neste estudo foi produzida a partir do extrato de *Trichilia catigua* em formas coloidal e micelar (patente BR 10 2019 011760 5, 2019). A solução da nanopartícula foi diluída em caldo RPMI glicosado e tamponado a pH 7,0, para obter concentrações que variaram de 120µg/mL a 0,23µg/mL. Alíquotas de 100µL de cada diluição foram dispensadas a cada poço das microplacas e adicionado igual volume do inóculo. Para cada teste foi utilizado um controle positivo (inóculo + RPMI) e negativo (Bio-AgNP + RPMI). As placas foram incubadas a 37°C por 72 horas. Todos os testes foram realizados em quadruplicata. A leitura foi visual e levou em consideração o crescimento ou não de leveduras. A menor concentração do fármaco capaz de inibir o crescimento de *S. brasiliensis* foi identificada como a concentração inibitória mínima (CIM). As concentrações acima da concentração inibitória mínima foram utilizadas para determinação da concentração fungicida mínima (CFM). Para isto, alíquotas de 10µL foram semeadas em placas com ágar Sabouraud, ficando incubados a 37°C/72 horas. A menor concentração do fármaco que não evidenciou crescimento foi considerada a CFM.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste experimento, observou-se que a Bio-AgNP foi capaz de inibir o crescimento de *S. brasiliensis* em CIM que variaram de 0,94 µg/mL a 3,75 µg/mL, sendo que um isolado apresentou CIM de 0,94 µg/mL, dois isolados evidenciaram CIM de 1,88 µg/mL e três apresentaram CIM de 3,75 µg/mL. A CIM₅₀ foi de 1,88 µg/mL e a CIM₉₀ foi de 3,75 µg/mL. Os valores da CFM foram iguais aos da CIM para dois isolados testados, entretanto foi possível observar que a CFM de quatro isolados variou para duas concentrações acima da CIM.

Os resultados parciais desta pesquisa demonstraram que a BioAgNP avaliada apresenta ação antifúngica frente a isolados de *S. brasiliensis* oriundos do Sul e Sudeste do Brasil. Previamente BONILLA et al. (2022) evidenciaram a ação anti-*Sporothrix* de nanocompósitos de quitosana de prata sobre cepas padrões de *S. schenckii* e *S. brasiliensis*. Similarmente, XU et al. (2013) demonstraram atividade antifúngica de nanopartículas de prata sobre fungos do gênero *Fusarium*, *Aspergillus* e *Alternaria*.

A ação antifúngica das nanopartículas de prata pode ser explicada pela alteração estrutural na célula fúngica pela interação da nanopartícula com a parede e membrana celular, causando distúrbios de permeabilidade, o que leva ao extravasamento de conteúdo citoplasmático pela lise celular e desordem de organelas (BONILLA et al., 2022). Também, a prata pode impedir a replicação fúngica devido a sua interação com o DNA retardando o desenvolvimento fúngico (MATHIAS et al., 2019).

Atualmente, as nanopartículas de metais nobres como prata, ouro ou platina estão sendo amplamente estudadas devido ao potencial de suas propriedades antifúngicas e antibacterianas (GOYAL et al., 2017). A nanopartícula

de prata é destaque dentre os nanomateriais pela maior toxicidade microbiana. Devido ao crescente número de estudos, a sua aplicação clínica se torna uma possibilidade integrativa para o combate de infecções fúngicas (RADHAKRISHNAN et al., 2018).

4. CONCLUSÕES

A Bio-AgNP (NanoVerdeAg®) avaliada neste estudo apresenta ação fungicida e fungistática sobre *S. brasiliensis*. Desta forma, a utilização de formulações contendo nanopartículas de prata podem vir a se constituir em promissores agentes antifúngicos a ser aplicados no tratamento da esporotricose humana e animal. Contudo, a continuidade de experimentos avaliando a suscetibilidade de um maior número de isolados de *S. brasiliensis*, bem como estudos *in vivo* são necessários para comprovar a eficácia deste composto e viabilizar o uso de uma formulação em lesões de esporotricose.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOECHAT, J.S. et al. Feline sporotrichosis: associations between clinical-epidemiological profiles and phenotypic-genotypic characteristics of the etiological agents in the Rio de Janeiro epizootic area. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, p.185-196, 2018.

BONILLA, J.J.A. et al. Silver Chitosan Nanocomposites are Effective to Combat Sporotrichosis. **Front. Nanotechnol.**, v.4, 2022.

DURÁN, N. et al. Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: Toxicidade em animais e humanos, **Quim. Nova**, v 42, n. 2, p. 206-213, 2019.

GOYAL, S. et al. Antibacterial, anticancer and antioxidant potential of silver nanoparticles engineered using *Trigonella foenum-graecum* seed extract. **IET Nanobiotechnol**, v.12, n.4, p. 526-533, 2018.

GREMIÃO, I.D.F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.52, p.107-124, 2021.

LARSSON, C.E. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 3, p. 250-259, 2011.

MATHIAS, L. et al. Antifungal activity of silver salts of Keggin-type heteropolyacids against *Sporothrix* spp. **J. Microbiol. Biotechnol.**, v.30, n.4, p.540-551, 2020.

MORGADO, D.S. et al. Systematic review of literature to evaluate global distribution of species of the *Sporothrix* genus stored in culture collections. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v.14, 2024.

RADHAKRISHNAN, V. S. et al. Silver nanoparticles induced alterations in multiple cellular targets, which are critical for drug susceptibilities and pathogenicity in fungal pathogen (*Candida albicans*). **Int. J. Nanomedicine.**, v.13, p.2647–2663, 2018.

RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. **Cienc. Cult.**, v. 65, n.3, 2013.

RODRIGUES, A.M. et al. The threat of emerging and reemerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v.185, n.5, p.813-842, 2020.

ROSA, C. S. et al. Terapêutica da Esporotricose: Revisão. **Science and Animal Health**, Pelotas, v.5, n.3, p.212-228, 2017.

SIDDIQI, K. S.i et al. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. **J. Nanobiotechnol.**, n.16, v.14, 2018.

XU, Y. et al. In vitro antifungal activity of silver nanoparticles against ocular pathogenic filamentous fungi. **J. Ocul. Pharmacol. Ther.**, v.29, n.2, 2013.