

## PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE *Sporothrix Brasiliensis* AO CLORIDRATO DE AMOROLFINA: RESULTADOS PRELIMINARES

LUCIÉLE PEREIRA DE MELO<sup>1</sup>; CAROLINE QUINTANA BRAGA<sup>2</sup>  
YASMIN DUMMER RUAS<sup>3</sup>; LARA BACCARIN IANISKI<sup>4</sup>, SÔNIA BOTTON<sup>5</sup>,  
DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – lucielemelo.96@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – carolineqbraga@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade federal de Pelotas - yasminruas09@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Santa Maria - larabaccarin@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Santa Maria - sabott20@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – danielabrayer@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea, causada por fungos dimórficos do complexo *Sporothrix schenckii*. Acomete humanos e animais e, embora, seja a micose de maior importância na América Latina, continua sendo negligenciada no Brasil (GAVIRIA et al., 2023; LIMA et al., 2019). O habitat natural é o solo, plantas e matéria orgânica em decomposição. Por serem eucariotos termodimórficos se desenvolvem na forma micelial em temperatura ambiente a 25°C, apresentando hifas hialinas e ramificadas com conidióforos em seu ápice, já em parasitismo no hospedeiro, forma leveduras pleomórficas e ovaladas semelhantes a charuto (GAVIRIA et al., 2023; GREMIÃO et al., 2020;).

No passado a esporotricose era atribuída a um único agente, *Sporothrix schenckii*. Atualmente o complexo *Sporothrix* é composto por 53 espécies, as quais estão divididas no clado ambiental, que agrega espécies com baixo grau patogenicidade como *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix palida* e *Sporothrix lurie*; e clado clínico que inclui espécies com alto grau de virulência como *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* e *Sporothrix globosa*. Dentre essas espécies, *S. brasiliensis* está associado a transmissão entre animais (gato-gato-cão) e zoonótica (gato-homem) (GREMIÃO et al., 2020; RODRIGUES et al., 2020).

A transmissão do fungo ocorre por implantação traumática no tecido subcutâneo, através do manuseio com o solo, plantas e materiais contaminados com estruturas reprodutivas do fungo. Já a transmissão zoonótica ocorre através de mordeduras, arranhaduras ou contato com exsudato de lesões de animais contaminados. Nesse sentido, os felinos possuem destaque epidemiológico, por conter elevada carga fúngica em suas lesões, desenvolvendo lesões clínicas como nódulos, úlceras e sinais respiratórios, comum quadro clínico mais agressivo do que nas demais espécies suscetíveis (MIRANDA et al., 2013; MORGADO et al., 2024).

No Brasil, na região sul e sudeste são relatados os maiores números de casos zoonóticos de esporotricose causados por *S. brasiliensis*. (LIMA et al., 2019). Fatores como desigualdades socioeconômicas, ausência de notificação obrigatória, bem como, falta de informação da população sobre a doença, contribuem de maneira significativa para o aumento dos casos (MORGADO et al., 2024).

Atualmente, a terapia preconizada para o tratamento de esporotricose animal e humana consiste no uso do azólico itraconazol, no entanto limitações como toxicidade, resistência, tempo prolongado de tratamento, além do alto custo

associado a dificuldade de administrar a medicação em felinos, favorecem para a ocorrência de falhas terapêuticas (GREMIÃO et al., 2020).

O cloridrato de amorolfina (AMR) é um antifúngico da classe das morfolinas, que atua inibindo duas enzimas 14 redutase e 7,8 isomerase, presente na parede fúngica, bloqueando a síntese de ergosterol (SEIDL et al., 2015). É comumente utilizado para o tratamento de onicomicoses e infecções causadas por dermatófitos. Tem ação fungicida, sendo aplicado de forma tópica em formulações de cremes ou esmaltes (WAN et al., 2004).

O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia do cloridrato de amorolfina *in vitro* frente a isolados clínicos de *S. brasiliensis*, provenientes de felinos.

## 2. METODOLOGIA

Foram utilizados oito isolados de *S. brasiliensis*, oriundos de felinos, do município de Capão do Leão Rio Grande do Sul/ Brasil.

O teste de suscetibilidade *in vitro* seguiu o protocolo M-27 A3 do CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute, 2008). Para a preparação do inóculo, os isolados foram cultivados em ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) a 37°C/ 7 dias. A suspensão fúngica foi obtida seguindo a metodologia previamente descrita por Sanchotene et al. (2016).

Diluições seriadas (0,004 µg/ml a 2µg/ml) do (AMR) foram distribuídas na placa de microdiluição. A cada poço foi adicionado um volume de 100 µg/ml do inóculo. Como controle positivo, utilizou-se 100 µg/ml do inóculo+ RPMI e negativo somente o fármaco. A placa foi incubada a 37° C/ 72 horas.

A leitura foi visual, considerando 100% de inibição do crescimento fúngico. A menor concentração em que não houve crescimento de *S. brasiliensis*, foi considerada a concentração inibitória mínima (CIM). Para a determinação da concentração fungicida mínima (CFM), uma alíquota de 10 µg/ml das concentrações acima da CIM foram semeadas em placa de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose-cloranfenicol, ficando incubada a 37 °C por um período de 3 dias.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que os valores da CIM da (AMR) frente aos oito isolados de *S. brasiliensis* oriundos de felinos, variaram de 0,016 µg/ml a 0,002 µg/ml. Na interpretação da CFM constatou-se que um isolado apresentou valores iguais a CIM, sendo de ação fungicida, entretanto, foi possível observar que a CFM dos demais sete isolados apresentaram variabilidade em duas concentrações acima da CIM, promovendo ação fungistática.

A (AMR) derivada das morfolinas é um agente antimicótico com ação fungicida contra uma ampla gama de fungos patogênicos incluindo dermatófitos do gênero *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum* causadores de onicomicoses (SEIDL et al., 2015; WAN et al., 2004).

Os testes de suscetibilidade *in vitro* são ferramentas cruciais para avaliar a resistência aos antifúngicos (GREMIÃO et al 2020). Os resultados preliminares indicam uma potente ação antifúngica da AMR frente a *S. brasiliensis*. A (AMR) atua inibindo as enzimas 14-redutase e 7,8-isomerase, fundamentais para a síntese de ergosterol, componente essencial da membrana celular fúngica (MD et al., 2010). Estes resultados são animadores, pois não são relatados estudos demonstrando a eficácia da AMR contra fungos do gênero *Sporothrix*.

Atualmente a terapia preconizada para o tratamento de esporotricose é o uso de azólicos, predominantemente do itraconazol. Em casos refratários ao tratamento, associa-se iodeto de potássio. Contudo, efeitos adversos como aumento de enzimas hepáticas são relatados em felinos. Adicionalmente, é crescente a ocorrência de resistência do *S. brasiliensis* ao itraconazol (REIS et al., 2016)). Sendo assim, pesquisas que avaliem novos compostos ou reposicionamento de fármacos são fundamentais para ampliar o arsenal de possibilidades terapêuticas. As ações promovidas pelo programa One Health, incluindo a implementação de políticas públicas, a educação sobre o manejo e tratamento de animais doentes, além da obrigatoriedade de notificação compulsória, auxiliam no controle da disseminação do agente na obtenção de dados epidemiológicos mais precisos (ROSSOW et al., 2020)

#### **4. CONCLUSÕES**

Os resultados desse estudo demonstram a ação fungicida e fungistática do cloridrato de amorolfina frente a isolados de *S. brasiliensis*. Contudo, são resultados preliminares e o desenvolvimento de estudos mais aprofundados para avaliar e validar a eficácia do cloridrato de amorolfina no tratamento da esporotricose felina são necessários.

#### **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- GÓMEZ-GAVIRIA, M.; et al.. Current Progress in *Sporothrix brasiliensis* Basic Aspects. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 5, p. 533, 29 abr. 2023.
- 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, n.1, p.107–124, 2020.
- GREMIÃO, I. D. et al. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLOS Pathogens**, v.13, n.1, p.e1006077, 2017.
- LI, R. -Y. et al. *In vitro* susceptibility testing of amorolfine in pathogenic fungi isolated from dermatomycosis patients in China. *Mycoses*, v. 47, n. 9-10, p. 402–406, out. 2004
- MASCHIO-LIMA, T. et al..Clinical and epidemiological aspects of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and *in vitro* antifungal susceptibility. **Veterinary Research Communications**, v. 45, n. 4, p. 171–179, 15 jun. 2021.
- MIRANDA, L. H; et al.. Feline sporotrichosis: Histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, n. 4, p. 425–432, 1 jul. 2013
- MORGADO.D.S; et al. Systematic review of literature to evaluate global distribution of species of the *Sporothrix* genus stored in culture

collections. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, 17 maio 2024. REIS, É. G. et al. Association of itraconazole and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study. **Medical Mycology**, v. 54, n. 7, p. 684–690, 20 maio 2016

RODRIGUES, A.M; et al.P. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**. Janeiro, 2020

ROSSOW, J. A. et al. A One Health Approach to Combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 247, 1 dez. 2020.

SANCHOTENE, K. O; et al.. *In vitro* susceptibility of *Sporothrix brasiliensis*: Comparison of yeast and mycelial phases. **Medical Mycology**, v. 55, n. 8, p. 869–876, 4 maio 2017.

SEIDL, H. et al. Sporicidal effect of amorolfine and other antimycotics used in the therapy of fungal nail infections. **Mycoses**, 3 set. 2015.