

## SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *Sporothrix spp.* A UM COMPOSTO DE PRATA (Ag(I)) COM LIGANTES DE BASES DE SCHIFF

MARCELA BRANDÃO COSTA<sup>1</sup>; ISABELA SOUZA MORALES<sup>2</sup>; JULIANA MONTIEL NUÑEZ<sup>3</sup>; CAROLINA OLIVEIRA BONFADA<sup>4</sup>; ANGELITA GOMES REIS<sup>5</sup>; RENATA OSÓRIO DE FARIA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [marcelabc@hotmail.com.br](mailto:marcelabc@hotmail.com.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [isabelasmorales99@gmail.com](mailto:isabelasmorales99@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [julianamontielnunez@gmail.com](mailto:julianamontielnunez@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [carolinabonfada5@gmail.com](mailto:carolinabonfada5@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [angelitagomes@gmail.com](mailto:angelitagomes@gmail.com)

<sup>6</sup> Universidade Federal de Pelotas – [renataosoriovet@gmail.com](mailto:renataosoriovet@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea de implantação causada por fungos termodimórficos do gênero *Sporothrix*, os quais integram um complexo de espécies patogênicas (MARIMON et al., 2006). No Brasil, a espécie mais frequentemente isolada em casos zoonóticos é *Sporothrix brasiliensis*, enquanto *Sporothrix schenckii sensu stricto* está mais relacionada a infecções sapronóticas (RODRIGUES et al., 2016).

Nas últimas décadas, tem-se observado um aumento expressivo no número de casos, especialmente em felinos, com expansão geográfica considerável da doença e surgimento de áreas hiperendêmicas em diferentes regiões do país, além de surtos reportados em outros países da América do Sul (ETCHECOPAZ et al., 2021; RACHMAN et al., 2022). Em decorrência disso, no Brasil a esporotricose passou a ser considerada de notificação compulsória para humanos em estados como Bahia e Paraná (GREMIÃO et al., 2021).

Os gatos domésticos representam os principais hospedeiros e disseminadores de *S. brasiliensis*, geralmente apresentando quadros clínicos graves, com lesões crônicas extensas e alta carga fúngica, o que favorece a transmissão para outros animais e humanos (SANCHOTENE et al., 2015; GREMIÃO et al., 2021). A elevada virulência dessa espécie está associada à maior expressão de fatores como enzimas e melanina, contribuindo para formas clínicas mais severas em humanos (SILVA et al., 2022).

Contudo, o tratamento da esporotricose continua sendo um desafio clínico e terapêutico, tendo em vista que, as opções disponíveis são limitadas a três classes principais de antifúngicos poliênicos, triazólicos e equinocandinas que são utilizadas amplamente em diversas infecções fúngicas (ROBBINS et al., 2016). O protocolo convencional envolve o uso de itraconazol, isoladamente ou em associação com iodeto de potássio. No entanto, há necessidade de tratamentos prolongados, os efeitos colaterais e a resistência crescente ao itraconazol têm comprometido a eficácia terapêutica e a adesão dos tutores ao tratamento (WALLER et al., 2021).

Nesse cenário, torna-se urgente o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, diante disso os complexos metálicos surgem como alternativas promissoras, devido às suas propriedades bioativas. Amplamente utilizados em outras áreas da medicina, como no tratamento de neoplasias por compostos à base de platina, esses agentes têm demonstrado potencial para aplicações antifúngicas (DE AZEVEDO-FRANÇA et al., 2021). Apesar dos avanços em pesquisas com

metalofármacos, seu uso frente às micoses, em especial nas infecções causadas por *Sporothrix spp.*, ainda são preliminares, representando uma alternativa promissora para investigação e desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas (RODRIGUES et al., 2022).

O presente trabalho consiste em uma investigação inicial sobre a atividade antifúngica, cujo objetivo foi avaliar a atividade antifúngica de um composto de prata Ag(I), contendo ligantes de Bases de Schiff, frente a isolados clínicos de *Sporothrix spp.* provenientes de diferentes hospedeiros. Para isso, buscou-se estabelecer as concentrações inibitórias mínimas (CIM) e fungicidas mínimas (CFM), visando verificar a eficácia do metalofármaco e seu potencial como alternativa terapêutica no tratamento da esporotricose.

## 2. METODOLOGIA

Foram avaliados 23 isolados clínicos de *Sporothrix spp.* provenientes de humanos, felinos e caninos, depositados na micoteca do MICVET/UFPEL. A suscetibilidade antifúngica foi determinada por microdiluição em caldo, adaptada das normas CLSI M38-A2, utilizando meio RPMI 1640 tamponado com MOPS (pH 7,0). O complexo de prata(I) com ligantes de bases de Schiff foi preparado a partir de solução-estoque e diluído em série (1:2), com concentrações de 54,049 a 0,106 µg/mL. As placas foram incubadas a 37 °C por 72 h. A CIM foi definida, por inspeção visual, como a menor concentração sem crescimento visível em comparação ao controle de crescimento (endpoint MIC100). A CFM foi determinada por repique de 10 µL dos poços sem crescimento visível em ágar Sabouraud (30 °C/7 dias). Todos os testes foram realizados em triplicata independente.

O composto de Ag(I) com ligantes de Bases de Schiff, foi preparado a partir de uma solução-estoque e foi diluído em série (1:2) em microplacas, com concentrações de 54,049 a 0,106 µg/mL (100 a 0,195 µM/mL). As placas foram incubadas a 37 °C por 72 h, sendo a MIC determinada por inspeção visual em comparação com o controle positivo.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O complexo de prata(I) com ligantes de bases de Schiff apresentou atividade antifúngica in vitro significativa contra *Sporothrix spp.*, com MICs na faixa micromolar baixa (0,195–6,25 µM; 0,106–3,378 µg/mL) e MIC<sub>50</sub> de 0,781 µM (0,422 µg/mL). A MIC<sub>90</sub> ≤ 0,195 µM (≤ 0,106 µg/mL) indica alta potência, embora represente censura à esquerda, exigindo extensão da faixa testada.

Os valores de MFCs foram muito próximos aos de CIM, o que sugere que o composto apresenta efeito fungicida em concentrações quase equivalentes às necessárias para inibir o crescimento fúngico. Esse achado tem grande relevância clínica, pois indica não apenas a inibição, mas também a eliminação efetiva dos fungos em baixas concentrações.

A ação antifúngica pode ser atribuída à multiplicidade de mecanismos dos íons prata, como interação com proteínas essenciais, alteração da permeabilidade de membrana, inibição enzimática e indução de estresse oxidativo (Lemire et al., 2013). Essa diversidade de alvos justifica a elevada eficácia do composto e reduz a probabilidade de desenvolvimento rápido de resistência, um dos principais desafios da terapêutica antifúngica.

O uso de metalofármacos é consolidado em diferentes enfermidades, embora ainda pouco explorado no tratamento de micoses, como as causadas por

espécies de *Sporothrix*. A literatura evidencia que os complexos metálicos, em comparação com compostos orgânicos, apresentam vantagens importantes, como a versatilidade estrutural e eletrônica, permitindo explorar diferentes geometrias e estados de oxidação. Essa diversidade confere múltiplos mecanismos de ação, incluindo participação em processos redox, ciclos catalíticos, inibição enzimática e transporte de moléculas bioativas (YUFANYI et al., 2020).

Entre os metais de maior interesse, destacam-se a prata ( $\text{Ag}^+$ ) e o cobre ( $\text{Cu}^+$ ), reconhecidos por seus potentes efeitos antimicrobianos. A carga positiva desses íons favorece a interação eletrostática com a membrana celular, resultando em lise e morte microbiana (DIBROV et al., 2008; GAGINI et al., 2018). No caso de *Candida albicans*, por exemplo, nanopartículas de prata (AgNPs) comprometem a permeabilidade da membrana ao danificar a bicamada lipídica, levando à perda de íons essenciais, formação de poros e dissipação do potencial elétrico (KIM et al., 2009).

Em síntese, os resultados obtidos demonstram o potencial promissor do metalofármaco à base de prata como candidato a novas estratégias terapêuticas contra *Sporothrix* spp. A baixa concentração necessária para inibição e eliminação dos isolados sugere relevância clínica e justifica o aprofundamento de pesquisas pré-clínicas e clínicas para avaliação de sua segurança e eficácia em modelos biológicos mais complexos.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que o composto de prata Ag (I), contendo ligantes de Bases de Schiff, apresentou atividade antifúngica expressiva contra isolados clínicos de *Sporothrix* spp. As baixas concentrações necessárias para inibir (CIM) e eliminar (CFM) os fungos para a maioria das amostras ressaltam o potencial do metalofármaco como candidato a novas abordagens terapêuticas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA-PAES, R.; OLIVEIRA, L. C.; OLIVEIRA, M. M. E.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; NOSANCHUK, J. D.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M. Fenotypic Characteristics Associated with Virulence of Clinical Isolates from the *Sporothrix* Complex. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-10, 2015.

DE AZEVEDO-FRANÇA, J. A.; BORBA-SANTOS, L. P.; DE ALMEIDA PIMENTEL, G.; FRANCO, C. H. J.; SOUZA, C.; DE ALMEIDA CELESTINO, J.; NAVARRO, M. Antifungal promising agents of zinc(II) and copper(II) derivatives based on azole drug. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 219, p. 111401, 2021.

DIBROV, P.; DZIOBA, J.; GOSINK, K. K. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of  $\text{Ag}^+$  in *Vibrio cholerae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, p. 2668-2670, 2002.

ETCHECOPAZ, A.; TOSCANINI, M. A.; GISBERT, A.; MAS, J.; SCARPA, M.; IOVANNITTI, C. A.; BENDEZÚ, K.; NUSBLAT, A. D.; IACHINI, R.; CUESTAS, M. L. *Sporothrix brasiliensis*: A Review of an Emerging South American Fungal Pathogen, Its Related Disease, Presentation and Spread in Argentina. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 3, p. 170, 2021.

GAGINI, T.; COLINA-VEGAS, L.; VILLARREAL, W.; BORBA-SANTOS, L. P.; DE SOUZA PEREIRA, C.; BATISTA, A. A.; NAVARRO, M. Metal–azole fungistatic drug complexes as anti-*Sporothrix* spp. Agents. **New Journal of Chemistry**, v. 42, p. 13641-13650, 2018.

GREMIÃO, I. D. F.; DA SILVA DA ROCHA, E. M.; MONTENEGRO, H.; CARNEIRO, A. J. B.; XAVIER, M. O.; DE FARIAS, M. R.; WILSON MANSO, F.; ASSUNÇÃO PEREIRA, R. H. M.; PEREIRA, S. A.; LOPES-BEZERRA, L. M. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, Brasil, v. 52, n. 1, p. 107-124, 2021.

KIM, J. K.; SUNG, W. S.; SUH, B. K.; MOON, S. K.; CHOI, J. S.; KIM, J. G. et al. Antifungal activity and mode of action of silver nanoparticles on *Candida albicans*. **Biometals**, v. 22, p. 235-242, 2009.

LEMIRE, J. A.; HARRISON, J. J.; TURNER, R. J. Antimicrobial Activity of Metals: Mechanisms, Molecular Targets and Applications. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 371–384, 2013.

MARIMON, R.; GENÉ, J.; CANO, J.; TRILLES, L.; DOS SANTOS, L. M.; GUARRO, J. *Sporothrix schenckii*. **Revista de Microbiologia Clínica**, v.48 , n. 3, p. 476, 2006. RACHMAN, R.; LIGAJ, M.; CHINTHAPALLI, S.; WANI, R. S. Zoonotic acquisition of cutaneous *Sporothrix brasiliensis* infection in the UK. **BJM Case Reports**, v. 15, n. 5, p. 15, 2022.

ROBBINS, N.; WRIGHT, G. D.; COWEN, L. E. Antifungal drugs: the current armamentarium and development of new agents. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 5, p. FUNK-0002-2016, 2016.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal-Animal Transmission. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 7, p. 4, 2016.

RODRIGUES, A. M. et al. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. **Revista de Fungos**, v. 8, n. 8, p. 776, 2022.

SANCHOTENE, K. O.; MADRID, I. M.; KLAFKE, G. B.; BERGAMASHI, M.; DELLA TERRA, P. P.; RODRIGUES, A. M.; CAMARGO, Z. P.; XAVIER, M. O. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. **Mycoses**, v. 58, n. 9, p. 652-658, 2015.

WALLER, S. B.; DALLA LANA, D. F.; QUATRIN, P. M.; FERREIRA, M. R. A.; FUENTEFRIA, A. M.; MEZZARI, A. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, 2021.

YUFANYI, D. M. et al. Platinum(II) and Ruthenium(II) complexes in medicine: Antimycobacterial and Anti-HIV activities. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 414, 2020.