

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE TIOSSULFONATOS SINTÉTICOS CONTRA OS FUNGOS PATOGENICOS *Sporothrix brasiliensis* E *Sporothrix schenckii*

ISABELA DE SOUZA MORALES¹; MARCELA BRANDÃO COSTA²; GLÁUCIA
OLIVEIRA ISLABÃO³; JULIANO ALEX ROHERS⁴; ANGELITA DOS REIS
GOMES⁵; RENATA OSÓRIO DE FARIA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – isabelasmorales99@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – marcelabc@hotmail.com.br

³Instituto Federal Sul-rio-grandense – glauciaislabao@ifsul.com.br

⁴Instituto Federal Sul-rio-grandense - julianoroehrs@ifsul.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas– angelitagomes@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas– renataosoriovet@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma doença de caráter zoonótico causada por fungos saprófitos do complexo *Sporothrix schenckii* e acomete seres humanos e animais, principalmente cães e gatos. Dentro desse complexo, as principais espécies envolvidas na disseminação da doença são *Sporothrix brasiliensis* e *Sporothrix schenckii*, distribuídas mundialmente, particularmente em regiões tropicais e subtropicais (GREMIÃO et al., 2020). Além disso, a esporotricose é uma doença emergente e representa um grande desafio para a saúde pública, sendo considerada endêmica na região sul e já relatada em 25 dos 26 estados do Brasil (RODRIGUES et al., 2022; SANTOS et al., 2024).

A principal via de transmissão da esporotricose ocorre por meio da inoculação traumática do fungo através de mordidas e arranhões de gatos, considerados reservatórios da doença (LECCA et al. 2020, PAIVA et al, 2020). Quanto ao tratamento, a limitação de opções terapêuticas disponíveis representa um desafio no enfrentamento da doença. O itraconazol, antifúngico de eleição, é eficaz e amplamente utilizado na rotina clínica, porém frequentemente requer administração prolongada, o que torna o tratamento oneroso, de difícil adesão por parte dos pacientes e sujeito ao desenvolvimento de resistência farmacológica. Diante disso, torna-se necessário a busca por alternativas terapêuticas seguras, eficazes e acessíveis (MAHAJAN, 2014, RODRIGUES et al., 2022).

Uma nova perspectiva farmacológica para o tratamento de doenças fúngicas pode ser encontrada em compostos presentes em plantas como cebola, alho e couve, conhecidos como tiossulfonatos. Esses ácidos orgânicos possuem propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, sendo seu uso cada vez mais explorado na medicina. Estruturalmente, os tiossulfonatos são análogos de compostos naturais e sua composição se dá principalmente por moléculas de enxofre, podendo ser sintetizados em laboratório a partir da fórmula geral RS-O₂-SR (LUBENETS et al., 2019). Estudos demonstraram que as formas sintéticas dos tiossulfonatos são ainda mais eficazes como antimicrobianos do que suas versões naturais. Seu mecanismo de ação está relacionado à sulfenilação de grupos tiol presentes nas enzimas dos microrganismos, interferindo em seus processos metabólicos. Ademais, os tiossulfonatos se destacam no tratamento de infecções tanto superficiais quanto sistêmicas, devido à sua baixa toxicidade para células animais (SORLOZANO-PUERTO et al., 2020; FALCÓN-PIÑERO et al., 2021).

Diante desse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica de diferentes compostos de tiosulfonatos. Esses compostos foram testados contra as principais espécies do complexo *S. schenckii* por meio da técnica de disco-difusão, permitindo uma análise comparativa de sua eficácia.

2. METODOLOGIA

2.1 Isolados clínicos e preparação dos inóculos

O teste de suscetibilidade foi realizado a partir de dois isolados clínicos armazenados na micoteca do Laboratório de Micologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (MICVET - UFPel). Ambos foram identificados molecularmente como *Sporothrix brasiliensis*, isolada de paciente felino, e *Sporothrix schenckii*, oriunda de um paciente canino.

As culturas fúngicas foram replicadas em placas de Petri contendo ágar Sabouraud Dextrose e incubadas por 5 dias a 37°C, conforme a técnica de disco-difusão em ágar, padronizada pelo documento M51 do Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Foram realizadas adaptações quanto ao meio de cultura e temperatura de incubação. A preparação dos inóculos se deu através da diluição das colônias fúngicas em água estéril até a obtenção de uma concentração equivalente à escala 0,5 de McFarland. A concentração foi ajustada com auxílio do espectrofotômetro.

Para a preparação do teste, foram utilizadas doze placas de Petri contendo ágar Sabouraud Dextrose, seis placas para cada espécie do agente a ser testado. Foram semeados 100 µL do inóculo na superfície de cada placa, utilizando uma alça de Drigalski.

2.2 Preparação dos discos e teste de disco-difusão

No total, foram testados cinco compostos de tiosulfonatos (T3, T5, T6, T7 e T10) produzidos no Laboratório de Química Orgânica do Instituto Federal Sul-rio-grandense, diluídos em DMSO a uma concentração de 10 mg/ml e 5 mg/ml. Discos de papel filtro com diâmetro de 6mm foram impregnados com 10 µL de solução, resultando em concentrações de 100 µg e 50 µg de cada composto. Após a secagem, os discos foram dispostos uniformemente sobre as placas. Uma placa de cada espécie do agente fúngico foi utilizada para testar duas diferentes concentrações de cada composto. Os controles foram aplicados em placas separadas, incluindo o controle positivo (itraconazol na concentração de 32 µg) e o controle negativo (DMSO puro). As placas foram incubadas a 37°C e os halos de inibição foram medidos diariamente através de paquímetro.

O critério utilizado para determinar a atividade antifúngica foi determinado a partir da descrição de Manika et al. (2016). Zonas de inibição acima de 10 mm foram consideradas de alta atividade antifúngica, 4-10 mm atividade moderada, e abaixo de 4 mm baixa ou nenhuma atividade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível observar um crescimento adequado do inóculo na superfície das placas e a leitura final foi realizada após 72 horas de incubação. O controle positivo demonstrou suscetibilidade do isolado de *Sporothrix brasiliensis* frente ao itraconazol, evidenciando sua eficácia já conhecida como antifúngico de eleição

para o tratamento da esporotricose (WALLER et al., 2021; RODRIGUES et al., 2022). Todavia, o isolado de *Sporothrix schenckii* não apresentou inibição de crescimento frente ao controle positivo, o que levanta a hipótese de uma possível resistência específica frente ao itraconazol, visto que o isolado foi sensível aos compostos testados. No entanto, dado o caráter preliminar deste estudo, com um número reduzido de isolados (n=2), esses resultados devem ser interpretados com cautela. Estudos futuros, com um maior número de isolados, são necessários para confirmar a resistência e avaliar de forma mais fidedigna a resposta de *S. schenckii* ao itraconazol.

Quando aos tiosulfonatos, a Tabela 1 apresenta a classificação dos compostos de acordo com a sua atividade antifúngica, seguindo os critérios descritos por Manika et al. (2016). Em uma concentração de 100 µg, todos os compostos apresentaram halos de inibição acima de 10 mm de diâmetro, o que evidencia uma alta atividade inibitória frente a ambas as espécies do agente. Na concentração de 50 µg, o composto T7 inibiu de maneira moderada *S. brasiliensis*, enquanto todos os outros compostos apresentaram alta atividade frente a ambas as espécies.

Tabela 1 – Resultados do Teste de Disco-Difusão com Tiosulfonatos Demonstrando Halos de Inibição e Atividade Antifúngica em *Sporothrix brasiliensis* e *Sporothrix schenckii*.

Espécie	Concentração (µg)	Composto T3	Composto T5	Composto T6	Composto T7	Composto T10
S. brasiliensis	100	22 mm (Alta)	28 mm (Alta)	34 mm (Alta)	16 mm (Alta)	15 mm (Alta)
	50	11 mm (Alta)	14 mm (Alta)	17 mm (Alta)	6 mm (Moderada)	11 mm (Alta)
S. schenckii	100	27 mm (Alta)	16 mm (Alta)	21 mm (Alta)	16 mm (Alta)	15 mm (Alta)
	50	23 mm (Alta)	1 mm (Alta)	12 mm (Alta)	15 mm (Alta)	11 mm (Alta)

A apresentação de halos de inibição acima de 10 mm pela maioria dos compostos pode ser atribuída a alta concentração utilizada para os testes. Por se tratar de compostos novos e não explorados na literatura, a concentração foi determinada a partir de estudos-piloto realizados com outros organismos patogênicos. Considerando a fácil aplicação do teste de disco-difusão, este estudo utilizou a técnica como uma avaliação preliminar dos efeitos inibitórios de tiosulfonatos. Posteriormente, técnicas mais precisas, como a microdiluição em caldo, serão aplicadas para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) dos compostos testados.

Os resultados obtidos no teste realizado destacam o potencial dos tiosulfonatos como antifúngicos, demonstrando um efeito inibitório comparável ao de fármacos convencionais. Essa descoberta abre a possibilidade de uma nova perspectiva terapêutica para o tratamento da esporotricose. No entanto, são necessários estudos mais aprofundados, como avaliação da citotoxicidade e testes *in vivo*, para validar e compreender melhor suas aplicações clínicas.

4. CONCLUSÕES

O teste de suscetibilidade realizado demonstrou um potencial inibitório promissor por parte dos compostos testados, evidenciando uma alta atividade antifúngica *in vitro*. Todavia, são necessários testes mais específicos para a determinar a atividade de diferentes concentrações dos compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FALCÓN-PIÑEIRO, A. et al. Antifungal activity of propyl-propane-thiosulfinate (PTS) and propyl-propane-thiosulfonate (PTSO) from *Allium cepa* against *Verticillium dahliae*: In vitro and in planta assays. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 9, p. 736, 2021.
- 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, 1 mar. 2020.
- LECCA, L. O. et al. Associated factors and spatial patterns of the epidemic sporotrichosis in a high density human populated area: a cross-sectional study from 2016 to 2018. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 176, p. 104939, 2020.
- LUBENETS, V.; STADNYTSKA, N.; BARANOVYCH, D. et al. Thiosulfonates: The Prospective Substances against Fungal Infections. In: LORETO, E.S.; Tondo, J.S.M. **Fungal Infection**. Londres: IntechOpen, 2019. Cap. 6, p. 1204-1239.
- MAHAJAN, Vikram K. Sporotrichosis: an overview and therapeutic options. **Dermatology Research and Practice**, v. 2014, n. 1, p. 272376, 2014.
- MANIKA, N. et al. Compositional characters and antimicrobial potential of *Artemisia stricta* Edgew. f. *stricta* Pamp. essential oil. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 1, p. 40, 2016.
- MARIMON, Rita et al. In vitro antifungal susceptibilities of five species of *Sporothrix*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 2, p. 732-734, 2008.
- OTTONELLI STOPIGLIA, C. D. et al. Antifungal susceptibilities and identification of species of the *Sporothrix schenckii* complex isolated in Brazil. **Medical Mycology**, v. 52, n. 1, p. 56-64, 2014.
- PAIVA, M. T. et al. Spatial association between sporotrichosis in cats and in human during a Brazilian epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 183, p. 105125, 2020.
- RODRIGUES, A. M.; GONÇALVES, S. S.; DE CARVALHO, J. A.; BORBA-SANTOS, L. P.; ROZENTAL, S.; CAMARGO, Z. P. D. Current progress on epidemiology, diagnosis, and treatment of sporotrichosis and their future trends. **Journal of Fungi**, Basel, v. 8, n. 8, p. 776, 2022.
- SANTOS, A. R.; MISAS, E.; MIN, B. et al. Emergence of zoonotic sporotrichosis in Brazil: a genomic epidemiology study. **Lancet Microbe**, Londres, v. 5, p. e282–e290, 2024.
- SORLOZANO-PUERTO, A. et al. Antibacterial and antifungal activity of propyl-propane-thiosulfinate and propyl-propane-thiosulfonate, two organosulfur compounds from *Allium cepa*: In vitro antimicrobial effect via the gas phase. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 1, p. 21, 2020.
- WALLER, S. B. et al. Susceptibility and resistance of *Sporothrix brasiliensis* to branded and compounded itraconazole formulations. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 155-162, 2021.