

ENSAIO PRELIMINAR COM SULFADIAZINA/TRIMETOPRIM E GENTAMICINA COMO REPOSICIONAMENTO TERAPÊUTICO CONTRA *Sporothrix* *brasiliensis*

MARIANA HERNANDEZ LIBOS¹; CAROLINE QUINTANA BRAGA²; LUCIELE PEREIRA DE MELO³; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA⁴; FÁBIO PEREIRA LEIVAS LEITE⁵; SÉRGIO JORGE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – marianahl_@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – carolineqbbraga@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – lucielemelo.96@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – danielabrayer@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – fleivasleite@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – sergiojorgevet@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Há uma variedade de gêneros de fungos patogênicos, dentre eles destaca-se o gênero *Sporothrix* por sua importância clínica, e epidemiológica (PROCÓPIO-AZEVEDO, et al., 2023). Diferentes espécies deste gênero são agentes causadores da esporotricose; uma micose de implantação traumática que invade os tecidos cutâneo e subcutâneo, e que pode afetar tanto humanos quanto outros animais (OROFINO-COSTA, et al., 2022), especialmente os felinos, causando grande debilidade.

No Brasil, a esporotricose é transmitida por duas diferentes rotas de transmissão; uma rota sapronótica envolvendo contato direto com o solo e matéria orgânica em decomposição; e uma rota zoonótica, na qual os felinos participam ativamente da transmissão da doença como (QUEIROZ-TELLES, et al., 2022), menciona em seu trabalho. Do ponto de vista epidemiológico; há um crescente avanço da esporotricose em todo o país nos últimos anos, emergindo às regiões norte e nordeste do país (SILVA, et al., 2021), tanto em casos de humanos quanto de animais infectados.

A terapêutica convencional nos animais, vem enfrentando desafios recentemente; incluindo um número limitado de agentes antifúngicos orais, relatos de falha terapêutica e recrudescência (ARTUNDUAGA, et al. 2021). Também se observa a dificuldade de adesão ao tratamento que é de longa duração, custo elevado, e que ainda enfrenta o receio de contaminação por parte dos tutores, por ser tratar de uma zoonose (RIBEIRO, et al. 2022).

Há uma necessidade urgente de desenvolver novos fármacos antifúngicos para o tratamento de infecções fúngicas resistentes ou refratárias. A estratégia de reposicionamento de medicamentos é de grande valia, considerando que essa abordagem pode reduzir muito o custo e o tempo de desenvolvimento de novos medicamentos no mercado (LIN; XIAO; LIANG, et al., 2022). O conceito de *drug repositioning* (reposicionamento de fármacos), vem crescendo atualmente e consiste, basicamente, em explorar fármacos com propriedades conhecidas em diferentes aplicações clínicas; o que pode ser aplicado como forma de acelerar e facilitar o acesso a novas opções de tratamento (DOS SANTOS, et al., 2025).

Mediante ao exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro*, o potencial antifúngico da sulfadiazina/trimetoprim e da gentamicina da frente *Sporothrix* isolados de felinos acometidos pela esporotricose.

2. METODOLOGIA

2.1 Isolados Clínicos

Foram obtidas amostras de isolados clínicos de felinos enviados para diagnóstico ao Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Pelotas (LabMico- UFPEL). Constatado se tratar do fungo do gênero *Sporothrix*, *a posteriori* estas amostras foram repicadas em meio de cultura sólido Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) acrescido de cloranfenicol em placas de Petri. As amostras foram armazenadas em estufa a 37°C para obtenção da fase leveduriforme, e 7 dias após incubação e observação do crescimento fúngico. Estas amostras foram gentilmente cedidas pelo LabMico-UFPEL para realização deste trabalho.

2.2 Preparo e padronização do inóculo fúngico

Foi retirada uma alíquota da cultura fúngica após estes sete dias, e colocada em tubo de ensaio com tampa contendo água destilada estéril. A suspensão fúngica resultante foi colocada em agitador de vórtex durante 15 segundos, e após 2 minutos de repouso a parte sólida sedimentou no fundo do tubo de ensaio, e a suspensão teve seu sobrenadante alíquotado em uma cubeta para avaliação da densidade celular ajustada com espectrofotômetro, em comprimento de onda de 530nm; tendo sua turbidez ajustada através da transmitância na faixa de 80% a 82%, alcançando assim a densidade final 0,5 a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL; que é equivalente de uma solução-padrão da escala de McFarland de 0,5. Esse procedimento fornece uma suspensão-padrão de levedura contendo 1×10^6 a 5×10^6 UFC/mL, baseado na técnica de microdiluição em caldo, segundo as diretrizes do documento M27-A3 do Clinical and Laboratory Standards Institute com adaptações (CLSI, 2008a),

2.3 Plaqueamento em superfície (*Spread Plate*)

Em uma cabine de fluxo laminar, com o auxílio de uma alça de Drigalski, foi distribuído 100µL do inóculo fúngico sobre toda a superfície do meio de cultura sólido SDA. Foram utilizados dois controles positivos (CP) e dois controles negativos (CN), além do grupo tratamento. Referente ao grupo CP, um do inóculo com itraconazol (ITZ) que é o antifúngico de referência frente ao *Sporothrix*, e outro CP e sem ITZ, contendo apenas o inóculo fúngico. Com relação ao grupo CN foram utilizados apenas os fármacos de maneira isolada e o outro controle negativo apenas meio de cultura. Dos grupos tratamento, um foi tratado com gentamicina (G), e outro com sulfadiazina/trimetoprim (ST). Todos os grupos foram replicados em triplicata e após este processo, as placas foram incubadas em estufa a 37°C/72horas, para observar o crescimento da fase leveduriforme, sendo realizada a

a	leitura	ao	final	destes	3	dias.
---	---------	----	-------	--------	---	-------

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos grupos de tratamento foram testadas as concentrações 138 mg de sulfadiazina associada de 40 mg de Trimetoprim, num volume de 100 µL, e o mesmo volume de sulfato de gentamicina na concentração de 10%. Já no controle com ITZ foi utilizada concentração de 16µg/mL. Ao final do período de incubação definido, e subsequente à leitura, foi executada coleta do material testado obtido com o auxílio de swab estéril e novamente realizada semeadura para avaliação de presença ou ausência de crescimento fúngico, por meio de observação visual; no qual não houve viabilidade das leveduras pós os tratamentos realizados (Figura 1). Em uma breve revisão, não houve achados de trabalhos científicos descritos previamente sobre a testagem da ação antifúngica destes fármacos frente ao agente *Sporothrix*.

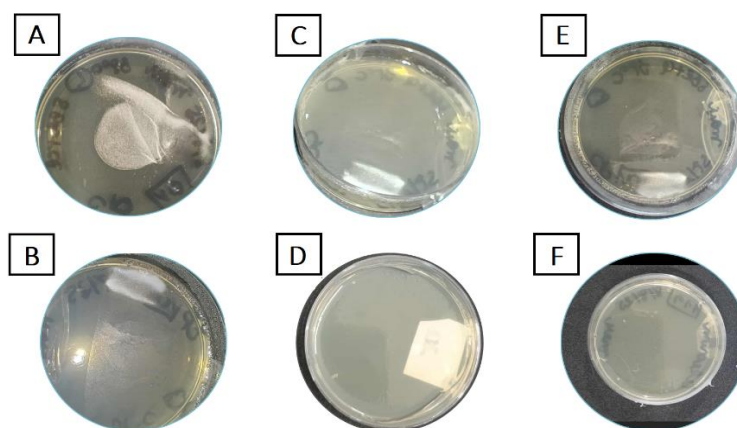


Figura 1: Plaqueamento em superfície dos grupos tratamento, controle positivo e negativo representados de (A) ao (F), Onde (A): CP inóculo de crescimento fúngico, (B): CP inóculo com itraconazol (ITZ), (C): CN dos fármacos de maneira isolada, (D): CN meio de cultura, (E): tratamento com gentamicina, (F) tratamento com sulfadiazina/trimetoprim

Dentre os mecanismos de ação da ST ambos atuam de forma sequencial na síntese do ácido fólico, essencial para a produção de ácidos nucleicos (DNA e RNA) produzindo bloqueio sequencial da via do folato (Bernstein, 1982). Já a gentamicina é um aminoglicosídeo que inibe a síntese proteica tendo como alvo a subunidade 30S dos ribossomos das bactérias; havendo relatos de derivados com atividade antifúngica, possivelmente alterando estrutura de membrana promovendo estresse oxidativo (formação de moléculas reativas de oxigênio ROS) em lisossomos, levando à permeabilização da membrana lisossomal e desencadeando apoptose celular (DENAMUR, et al., 2011).

Alguns trabalhos com reposicionamento de fármacos pra testagem de ação antifúngica encontrados como retratado o de BORBA-SANTOS et al. (2021), que testou o anti-inflamatório não esteroide ibuprofeno, este apresentou efeito antifúngico frente ao *Sporothrix*, agindo em sinergismo com antifúngicos convencionais, reduzindo as dosagens terapêuticas. Outro trabalho do mesmo autor, relata o antiprotozoário buparvaquona usado para tratar teileriose, uma doença parasitária causada por espécies de *Theileria*, apresentando alta atividade antifúngica e seletividade contra *Sporothrix brasiliensis*.

4. CONCLUSÕES

Embora um ensaio qualitativo, este trabalho sugere de maneira preliminar, a atividade antifúngica da sulfadiazina/trimetoprim e da gentamicina frente ao *Sporothrix*, tendo como base o conceito de reposicionamento de fármacos. Estudos adicionais, bem como outros testes complementares e quantitativos, como de suscetibilidade, sinergismo, e ensaio cinético de tempo-morte são necessários para uma investigação mais aprofundada acerca das propriedades e potencial destes fármacos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTUNDUAGA Bonilla JJ, HONORATO L, HARANAHALLI K, et al. Antifungal activity of Acylhydrazone derivatives against *Sporothrix* spp. **Antimicrob Agents Chemother**. 2021;65(5):e02593-20. doi:10.1128/AAC.02593-20

BERNSTEIN, LS. Combination of trimethoprim with sulfonamides other than sulfamethoxazole. **Reviews of Infectious Diseases**. 1982 Mar-Apr;4(2):411-8. doi: 10.1093/clinids/4.2.411. PMID: 7051239.

BORBA-SANTOS, Luana Pereira et al. In vitro and in vivo antifungal activity of buparvaquone against *Sporothrix brasiliensis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, n. 9, p. 10.1128/aac. 00699-21, 2021.

BORBA-SANTOS, L.P., NUCCI, M., FERREIRA-PEREIRA, A. et al. Anti-Sporothrix activity of ibuprofen combined with antifungal. **Brazilian Journal of Microbiology** 52, 101–106 (2021). <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00327-9>

CLSI. **Clinical And Laboratory Standards Institute**. NCCLS. Reference Method for Broth Dilution Tests for Determining Sensitivity to Yeast Antifungal Therapy; Approved Standard - Second Edition. 2008.NCCLS document M27-A3.

DENAMUR, Sophie et al. Role of oxidative stress in lysosomal membrane permeabilization and apoptosis induced by gentamicin, an aminoglycoside antibiotic. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 51, n. 9, p. 1656-1665, 2011.

DOS SANTOS, Mayara Carla et al. Reposicionamento de Fármacos: Novos Usos para Fármacos Antigos-Uma Breve Revisão e Principais Exemplos de Fármacos Reposicionados. **Revista Virtual de Química**, v. 17, n. 3, 2025.

LIN J., XIAO X., LIANG Y, et al. Repurposing non-antifungal drugs auranofin and pentamidine in combination as fungistatic antifungal agents against *C. albicans*. **Front Cell Infect Microbiol**. 2022; 12:1065962. Published 2022 Dec 15. doi:10.3389/fcimb.2022.1065962

OROFINO-COSTA, Rosane et al. Human sporotrichosis: recommendations from the Brazilian Society of Dermatology for the clinical, diagnostic and therapeutic management. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, n. 6, p. 757-777, 2022.

PROCÓPIO-AZEVEDO, Anna Carolina et al. The State of the Art in Transcriptomics and Proteomics of Clinically Relevant *Sporothrix* Species. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 8, p. 790, 2023.

QUEIROZ-TELLES, Flavio et al. Sporotrichosis in children: case series and narrative review. *Current Fungal Infection Reports*, v. 16, n. 2, p. 33-46, 2022.

RIBEIRO DSC, Machado LJ, Pereira JG, Baptista ARS, da Rocha EMDS. Laser therapy in the treatment of feline sporotrichosis: A case series **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**.2023; v. 45, p. e005822. Published 2023 Apr 25. doi:10.29374/2527-2179.bjvm005822

SILVA, Cybelle E. et al. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. **Future microbiology**, v. 16, n. 18, p. 1371-1379, 2021.