

## ENSAIO PRELIMINAR COM SULFADIAZINA/TRIMETOPIRIM E GENTAMICINA COMO REPOSIÇÃO TERAPÉUTICO CONTRA *Sporothrix brasiliensis*

MARIANA HERNANDEZ LIBOS<sup>1</sup>; CAROLINE QUINTANA BRAGA<sup>2</sup>; LUCIELE  
PEREIRA DE MELO<sup>3</sup>; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA<sup>4</sup>; FÁBIO PEREIRA  
LEIVAS LEITE<sup>5</sup>; SÉRGIO JORGE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [marianahl\\_@hotmail.com](mailto:marianahl_@hotmail.com)

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

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [lucielemelo.96@gmail.com](mailto:lucielemelo.96@gmail.com)

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

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

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [sergiojorgevet@hotmail.com](mailto: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 saprótica 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  $0,5 \text{ a } 2,5 \times 10^3 \text{ UFC/mL}$ ; que é equivalente de uma solução-padrão da escala de McFarland de 0,5. Esse procedimento fornece uma suspensão-padrão de levedura contendo  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6 \text{ UFC/mL}$ , 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  $100 \mu\text{L}$  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 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  $100 \mu\text{L}$ , e o mesmo volume de sulfato de gentamicina na concentração de 10%. Já no controle com ITZ foi utilizada concentração de  $16 \mu\text{g/mL}$ . 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*.

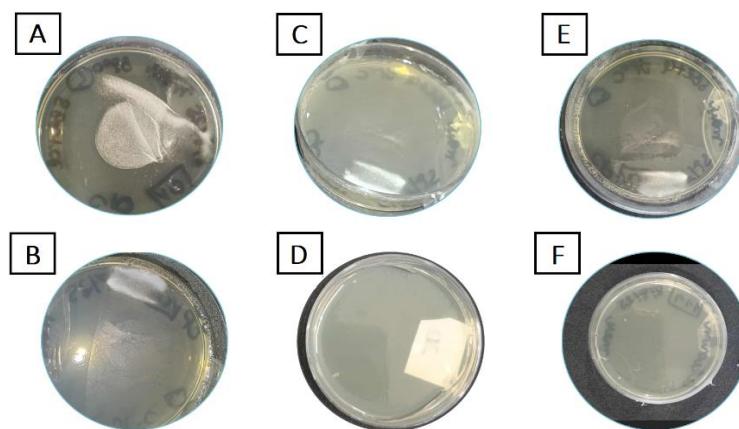


Figura 1: Plaqueamento em superfície dos grupos tratamento, controle positivo e negativo representados de (A) ao (F), Onde (A): CP inóculo de crescimento fúngico, (B): CP inóculo com itraconazol (ITZ), (C): CN dos fármacos de maneira isolada, (D): CN meio de cultura, (E): tratamento com gentamicina,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