



PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA EM ISOLADOS DE *SPOROTHRIX* SP. DO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO

Túlio Cordova Marques¹ Rosângela Vieira de Andrade²

¹Farmácia – Universidade de Brasília e Universidade Católica de Brasília

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia – Universidade Católica de Brasília.

E-mail: tuliocordova05@gmail.com; rosangelav@p.ucb.br.

RESUMO

A esporotricose é uma micose subcutânea de importância crescente no Brasil, especialmente pela expansão da transmissão zoonótica e pelo surgimento de isolados com resistência ou redução da suscetibilidade aos antifúngicos. No Distrito Federal, estudos genômicos indicam a circulação de linhagens de *Sporothrix brasiliensis* geneticamente distintas, reforçando a importância da caracterização dos isolados locais. Este estudo teve como objetivo caracterizar isolados de *Sporothrix spp.* provenientes de pacientes felinos do Distrito Federal quanto à suscetibilidade ao itraconazol e à anfotericina B. Dez isolados foram avaliados por microdiluição em caldo, conforme o CLSI M38-A2. Obtiveram-se MICs de itraconazol para 9 isolados, variando de 0,25 a 1,0 µg/mL, e de anfotericina B para quatro, todos com 0,5 µg/mL. Todos apresentaram fenótipo wild-type segundo Espinel-Ingroff et al. (2017). A pesquisa terá continuidade para completar as MICs e investigar determinantes moleculares associados à resistência antifúngica.

Palavras-chave: Esporotricose. Microbiologia. Resistência Antifúngica.

INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos dimórficos do gênero *Sporothrix*. No Brasil, a principal via de transmissão é zoonótica, especialmente por gatos domésticos infectados, contribuindo para o aumento da incidência da doença, inclusive no Distrito Federal (Rodrigues et al., 2022). O principal agente etiológico é o *Sporothrix brasiliensis*, espécie altamente virulenta, responsável por mais de 90% dos casos humanos e felinos no país e associada a quadros clínicos graves (Gremião et al., 2021). A emergência de linhagens com resistência ou redução da suscetibilidade a antifúngicos, como itraconazol e anfotericina B, representa um desafio para o tratamento e reforça a necessidade de monitoramento desses agentes (Gremião et al., 2017). Além disso, estudos genômicos indicam que isolados de *S. brasiliensis* do DF apresentam linhagens geneticamente distintas das observadas em outras regiões do país, que pode indicar particularidades na dinâmica local da doença (Eudes et al., 2020). Entretanto, ainda são escassos os estudos sobre o perfil antifúngico e as características genéticas dos isolados do DF, dificultando a compreensão da epidemiologia e da resistência local (Gremião et al., 2017). Nesse contexto, torna-se relevante investigar a susceptibilidade antifúngica e as características genéticas dos isolados de *Sporothrix spp.* do DF e entorno, contribuindo para a compreensão de seus perfis de resposta aos fármacos, relações evolutivas e padrões de diferenciação genética na região.

OBJETIVO

Esta pesquisa de iniciação científica tem como objetivo geral caracterizar o perfil de suscetibilidade antifúngica de isolados de *Sporothrix spp.* provenientes de felinos do Distrito Federal



e entorno, por meio da determinação da concentração inibitória mínima (MIC) dos antifúngicos itraconazol e anfotericina B e da realização de análises genéticas dos isolados, contribuindo para a caracterização dos perfis de resistência antifúngica e genética das cepas circulantes na região.

MÉTODO

Foram avaliados 10 isolados de *Sporothrix spp.*, todos provenientes de felinos. Os isolados foram cultivados em SDA, Mycosel e Potato Dextrose Agar (PDA) a 25 °C por 14 dias (Figura 1A). A identificação morfológica foi confirmada por microcultivo em PDA, incubado a 25 °C por 7 dias, mediante observação microscópica das estruturas características do gênero (Figura 1B). Posteriormente, foi realizada a extração de DNA e o sequenciamento dos isolados para confirmação da espécie, além de análises genéticas destinadas à obtenção de dados para estudos posteriores. A determinação da concentração inibitória mínima (MIC) de itraconazol e anfotericina B foi realizada por microdiluição em caldo, conforme o protocolo CLSI M38-A2, com adaptação do período de incubação para *Sporothrix spp.*. Os isolados foram previamente cultivados em PDB (Potato Dextrose Broth) por 7 dias e, posteriormente, utilizados para preparação das placas de 96 poços contendo RPMI 1640 tamponado com MOPS e os antifúngicos. As placas foram incubadas a 35 °C, sem agitação, em câmara úmida, por 7 dias. Após 48 horas, o controle de qualidade com *Aspergillus flavus* ATCC 204304 foi verificado, sendo descartadas as placas cujo valor de MIC estivesse fora da referência do protocolo. Ao final dos 7 dias, as MICs dos isolados foram determinadas visualmente com auxílio de resazurina a 0,03%. Os resultados foram organizados em tabela (Tabela 1) e analisados comparativamente. Um exemplo da leitura das placas é apresentado na Figura 2.

RESULTADOS

O sequenciamento e as análises genéticas preliminares confirmaram que os 10 isolados avaliados pertencem à espécie *Sporothrix brasiliensis*. Foram obtidos resultados de MIC para itraconazol em 9 isolados, com valores variando de 0,25 a 1,0 µg/mL (Tabela 1). Dois isolados apresentaram MIC de 0,25 µg/mL e um apresentou 1,0 µg/mL, enquanto os demais apresentaram valores intermediários. Para anfotericina B, foram obtidos resultados para quatro isolados, todos com MIC de 0,5 µg/mL (Tabela 1). Os valores obtidos foram comparados aos valores de corte epidemiológico propostos por Espinel-Ingroff et al. (2017), permitindo a classificação dos isolados quanto ao fenótipo suscetível ou resistente para os antifúngicos avaliados. Durante a execução dos ensaios, foram observadas dificuldades técnicas que exigiram adaptações do protocolo. Nas primeiras placas, houve cristalização do itraconazol, enquanto o crescimento de *S. brasiliensis* mostrou-se insuficiente para a leitura no período de incubação padrão estabelecido pelo CLSI, sendo necessário estender a incubação para 7 dias. Além disso, ocorreu secagem de alguns poços e placas durante a incubação, sendo necessária a utilização de câmara úmida. Essas intercorrências prolongaram o período de padronização e atrasaram o início dos ensaios com anfotericina B, resultando, até o momento, em um número reduzido de MICs obtidas para esse antifúngico.

Tabela 1

Resultados prévios de valores de MIC, forma filamentosa

Isolado	MIC em Itraconazol (µg/mL)	MIC em Anfotericina B (µg/mL)	Espécie	Resistente (R) ou suscetível (S)

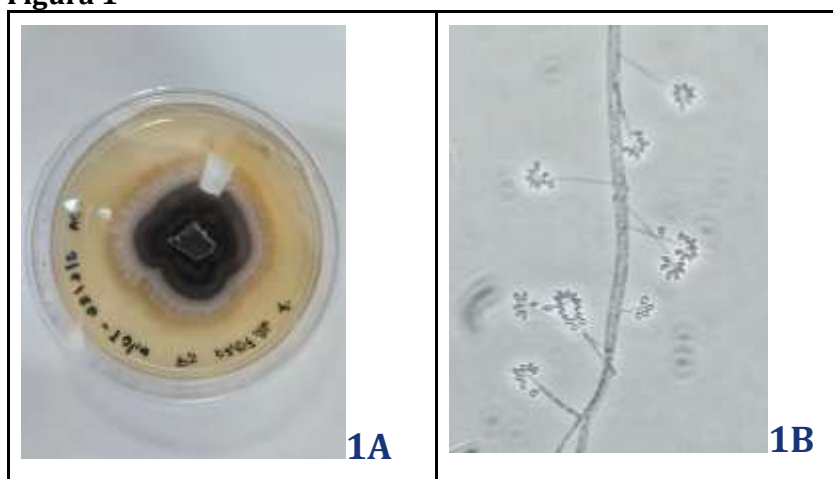


Valores de referência (ECVs)	2	4	<i>S. brasiliensis</i>	–
P1	0,5	n/t	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol
P2	0,5	0,5	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol e anfotericina B
P3	n/t	0,5	<i>S. brasiliensis</i>	S – anfotericina B
P4	0,5	n/t	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol
P5	1	0,5	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol e anfotericina B
P11	0,5	0,5	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol e anfotericina B
Ru1	0,25	n/t	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol
Ru2	0,5	n/t	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol
Ru4	0,25	n/t	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol
Lz3	0,5	n/t	<i>S. brasiliensis</i>	S – itraconazol

Nota: n/t = não testado por dificuldades técnicas

Fonte: Autoria própria (2026).

Figura 1

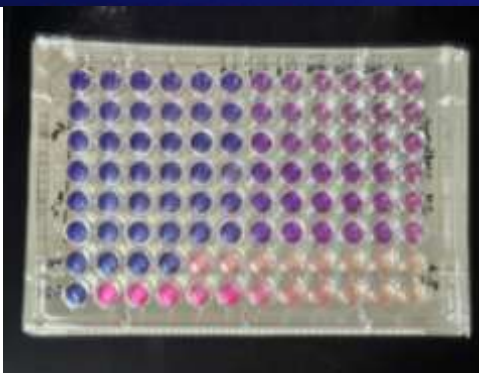


Nota: 1A: Estrutura macroscópica de *Sporothrix* em PDA. 1B: Conidióforo na forma de “flor de margarida”, característico de *Sporothrix* spp..

Fontes: Autoria própria (2026).

Figura 2.

Placa de MIC do isolado P2 (*Sporothrix brasiliensis*) após 7 dias de incubação, com auxílio de resazurina a 0,03%. A primeira coluna à esquerda corresponde ao controle negativo, enquanto a última coluna corresponde ao controle positivo. As seis primeiras linhas correspondem ao isolado P2, sendo as três primeiras referentes à anfotericina B e as três seguintes ao itraconazol. As duas últimas linhas correspondem ao controle de qualidade *Aspergillus flavus* ATCC 204304, sendo a primeira para anfotericina B e a última para itraconazol. As concentrações dos antifúngicos variaram de 8 µg/mL (segunda coluna) a 0,016 µg/mL (décima primeira coluna). Na placa, observa-se ausência da coloração roxa a partir da coluna correspondente a 0,5 µg/mL, indicando este valor como o MIC do isolado P2 para ambas as drogas. A imagem foi obtida após 7 dias de incubação; portanto, os poços referentes ao controle de qualidade (linhas 7 e 8) não devem ser considerados para a interpretação do MIC das amostras, uma vez que o controle de qualidade foi previamente verificado após 48 horas de incubação.



Fonte: Autoria própria (2026).

CONCLUSÃO

Considerando os valores de corte epidemiológico (ECV) para *Sporothrix spp.* propostos por Espinel-Ingroff et al. (2017), de 2,0 µg/mL para itraconazol e 4,0 µg/mL para anfotericina B, todos os isolados avaliados apresentaram MICs abaixo dos respectivos valores de corte, sendo classificados como fenótipo wild-type para ambos os antifúngicos. Esses resultados preliminares indicam ausência de evidências fenotípicas de resistência aos antifúngicos avaliados entre os isolados analisados até o momento. A perspectiva do estudo é dar continuidade à pesquisa, ampliando a caracterização dos isolados por meio da determinação das MICs ainda não obtidas, tanto para anfotericina B quanto para a forma leveduriforme. Com a obtenção de um conjunto mais amplo de dados fenotípicos, esses resultados serão integrados a dados genômicos de outros isolados de *Sporothrix spp.* com MICs previamente conhecidas, buscando identificar possíveis determinantes moleculares associados à resistência antifúngica. A continuidade dessas análises permitirá aprofundar a compreensão da relação entre o perfil genético e a resposta aos antifúngicos, contribuindo para o conhecimento da resistência antifúngica em *Sporothrix spp.* e para a vigilância epidemiológica desses isolados.

REFERÊNCIAS

- Rodrigues, A. M. et al. (2022). Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *Journal of Fungi*, 8(8), 776. <https://doi.org/10.3390/jof8080776>
- Gremião, I. D. F. et al. (2017). Zoonotic epidemic of sporotrichosis: Cat to human transmission. *PLOS Pathogens*, [S. l.], v. 13, n. 1, e1006077. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006077>
- Gremião, I. D. F. et al. (2021). Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. *Brazilian journal of microbiology*, 52(1), 107–124. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00365-3>
- Eudes Filho et al. (2020). A novel *Sporothrix brasiliensis* genomic variant in Midwestern Brazil: evidence for an older and wider sporotrichosis epidemic. *Emerging microbes & infections*, 9(1), 2515–2525. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1847001>
- CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard—Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- Espinel-Ingroff, A. et al. (2017). Multicenter, International Study of MIC/MEC Distributions for Definition of Epidemiological Cutoff Values for *Sporothrix* Species Identified by Molecular Methods. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(10), e01057-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01057-17>