



Ministério da Educação
Universidade Federal do Rio Grande
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde



**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *in vitro* DO EBSELEN FRENTE A *SPOROTHRIX*
SPP.**

Diulien Canary de Lima

Rio Grande, 2025

Ficha Catalográfica

L732a Lima, Diulien Canary de.
Atividade antifúngica *in vitro* do Ebselen frente a *Sporothrix*
spp. / Diulien Canary de Lima. – 2025.
56 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande –
FURG, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rio
Grande/RS, 2025.
Orientadora: Dra. Melissa Orzechowski Xavier.
Coorientadora: Dra. Vanice Rodrigues Poester.

1. Esporotricose 2. Micoses subcutâneas 3. Fungos filamentosos
4. Microdiluição 5. Composto organoselênio I. Xavier, Melissa
Orzechowski II. Poester, Vanice Rodrigues III. Título.

CDU 616

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

Ministério da Educação
Universidade Federal do Rio Grande
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *in vitro* DO EBSELEN FRENTE A *SPOROTHRIX*
SPP.**

Diulien Canary de Lima

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier

Coorientadora: Profa. Dra. Vanice Rodrigues Poester

Rio Grande, 2025

Diulien Canary de Lima

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *in vitro* DO EBSELEN FRENTE A *SPOROTHRIX* SPP.

Banca examinadora

Profa. Dra. Andrea Von Groll - FURG

Profa. Dra. Vanusa Pousada da Hora - FURG

Profa. Dra. Cecília Bittencourt Severo- Externo

Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier - FURG (Orientadora)

Profa. Dra. Vanice Rodrigues Poester- FURG (Coorientadora)

Rio Grande, 2025

DEDICATÓRIA

**Aos meus filhos, Arthur e Theodoro,
que são minha maior conquista na
vida.**

AGRADECIMENTOS

Minha gratidão mais genuína e visceral ao meu Deus! Ele teceu a trama das possibilidades, me sustentou para trilhar os caminhos e me inspirou a acreditar que todas as coisas cooperam para o bem daqueles que o amam. Conduziu meu caráter para compreender que a humildade e o amor são a base para grandes feitos.

Agradeço ao meu pai, Paulo Canary, que foi o primeiro grande professor, presenteou-me com o pensamento questionador, apoiou-me e aconselhou-me nos momentos de dúvida, sempre me trouxe respostas e me deu suporte. À minha mãe, Vera Canary, meu terno obrigado, que me inspirou como âncora de resiliência, persistência e fé inabalável, e foi casa sempre que precisei. Aos meus irmãos e cunhados, que me fizeram entender a graça que é ter com quem contar e permitiram-me absorver-me da venda da insegurança.

Agradeço ao meu marido que me deu suporte em vários aspectos dessa trajetória e foi incansável nos bastidores da vida; essa conquista é tão tua quanto minha. Aos meus filhos, que foram o maior incentivo para almejar lugares mais altos e estar motivada para construir um futuro, no qual, pudessem testemunhar que somos donos e responsáveis pelas nossas escolhas.

À minha orientadora Melissa O. Xavier que aplainou as minhas imperfeições, compreendeu meus nós e me mostrou o quanto um líder de valor pode inspirar e proporcionar o crescimento individual e coletivo em prol de um propósito, conduzido com todo rigor científico, mas também com gentileza. À minha coorientadora Vanice R. Poester, agradeço o cuidado e clareza com que me instruiu e inspirou a realizar grandes realizações, sempre disponível e dedicada.

Aos meus colegas de bancada e equipe do Laboratório de Micologia da FAMED-FURG que contribuíram para esse feito. Obrigada por serem mãos amigas, pelas discussões, pelos ensinamentos, e por celebrarem cada pequena conquista diária.

Agradeço à banca pela disponibilidade. Estimo as orientações e direcionamentos, que são um incentivo para ir além.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, que oportunizam as condições de estudo de excelência através desta instituição tão estimada.

Enfim, sou grata a todos que, de algum modo, contribuíram na construção dessa dissertação. Este trabalho é fruto da colaboração, do incentivo e apoio de muitas pessoas. Toda minha gratidão, a cada um!

Não sabendo que era impossível, foi lá e fez.

(Jean Cocteau)

RESUMO

A esporotricose é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma doença mundialmente negligenciada, e está em crescimento exponencial desde a década de 90, quando casos esporádicos passaram a ser surtos em diversas regiões do país e do mundo, tomando um caráter de hiperendemia que cresce até os dias de hoje. Frente à emergência da esporotricose e a escassez de antifúngicos disponíveis para seu tratamento, há necessidade de busca de novas alternativas terapêuticas para esta micose. Diante desta problemática, com o intuito de alcançar terapias eficazes o reposicionamento de fármacos se torna uma opção atrativa exigindo menor tempo e custo mais acessível, uma vez que várias etapas pré-clínicas, como farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade, já são conhecidas. Na busca por opções com esse perfil, o ebselen se torna um alvo vantajoso, por se tratar de um organoselênio aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) que tem demonstrado atividade antimicrobiana frente a bactérias, cepas fúngicas leveduriformes e filamentosas tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Este estudo objetivou avaliar o ebselen *in vitro* quanto às suas potencialidades anti-*Sporothrix*, de forma isolada e em associação com itraconazol. Foram utilizados 25 isolados de *Sporothrix*, incluindo *S. schenckii*, *S. globosa* e *S. brasiliensis*, previamente identificados por biologia molecular, provenientes do acervo do Laboratório de Micologia da FAMED-FURG. Para a avaliação da suscetibilidade antifúngica *in vitro* do composto utilizado foram empregadas duas técnicas: A técnica de microdiluição em caldo, avaliando a capacidade do composto em isolado e o ensaio de Checkerboard, para compreender a interação entre o composto ebselen e o fármaco de eleição para o tratamento da esporotricose, o itraconazol. A partir da técnica de microdiluição em caldo foi verificada a concentração inibitória mínima (CIM) do ebselen entre 32 µg/ml e 0,5 µg/ml e a concentração fungicida mínima (CFM), ou seja, a menor concentração do composto capaz de inibir o crescimento e matar os isolados de *Sporothrix* spp.. Já na interação do composto com itraconazol, foram avaliadas as concentrações de ebselen entre 32 µg/ml e 0,5 µg/ml e ITZ entre 8 µg/ml e 0,03 µg/ml. O ebselen apresentou ação fungistática anti- *Sporothrix*, inibindo o crescimento *in vitro* de 50% e 100% do crescimento fúngico em 100% e 84% dos isolados em concentrações menores que 32 µg/ml, respectivamente. Ação fungicida foi observada em menos de 10% dos isolados, e antagonismo com itraconazol ocorreu frente a todos os isolados testados. Entretanto, em 25% dos isolados uma reação dupla foi observada, com antagonismo junto ao itraconazol em concentrações mais altas e sinergismo em concentrações mais baixas de Eb. Em conclusão, nossos resultados são pioneiros em demonstrar a atividade do Eb contra *Sporothrix* sp. ampliando seu possível espectro de ação antifúngica já demonstrado por outros autores. Portanto, haja vista as grandes vantagens do reaproveitamento de fármacos em que o Eb está incluído, e visando o desenvolvimento de novas opções eficazes, seguras e com menor custo para o enfrentamento desta epidemia de proporção mundial, o Eb apresenta potencial como terapia de forma isolada, mais estudos adicionais são necessários para confirmar sua eficácia em modelo *in vivo* contra *Sporothrix* sp.

Palavras-chave: Esporotricose; Micoses subcutâneas; Fungos filamentosos; Microdiluição; Composto organoselênio.

ABSTRACT

Sporotrichosis is considered by the World Health Organization (WHO) as a globally neglected disease and has been experiencing exponential growth since the 1990s when sporadic cases turned into outbreaks in various regions of the country and the world, taking on a hyperendemic character that continues to grow to this day. Given the emergence of sporotrichosis and the scarcity of antifungal drugs available for its treatment, there is a need to search for new therapeutic alternatives for this mycosis. In light of this issue, in order to achieve effective therapies, drug repositioning becomes an attractive option, requiring less time and lower costs, as several preclinical stages, such as pharmacokinetics, pharmacodynamics, and toxicity, are already known. In the search for options with this profile, ebselen becomes a promising target, as it is an organoselenium compound approved by the Food and Drug Administration (FDA) that has demonstrated antimicrobial activity against bacteria, yeast-like fungal strains, and filamentous fungi both *in vitro* and *in vivo*. This study aimed to evaluate ebselen *in vitro* for its anti-*Sporothrix* potential, both alone and in combination with itraconazole. A total of 25 *Sporothrix* isolates were used, including *S. schenckii*, *S. globosa*, and *S. brasiliensis*, previously identified by molecular biology and obtained from the Mycology Laboratory collection at FAMED-FURG. To assess the *in vitro* antifungal susceptibility of the compound, two techniques were employed: the broth microdilution technique, to evaluate the compound's isolated activity, and the checkerboard assay, to understand the interaction between ebselen and the drug of choice for treating sporotrichosis, itraconazole. Using the broth microdilution technique, the minimum inhibitory concentration (MIC) of ebselen was found to range between 32 µg/ml and 0.5 µg/ml, while the minimum fungicidal concentration (MFC), meaning the lowest concentration capable of inhibiting growth and killing *Sporothrix* spp. isolates, was also determined. In the interaction with itraconazole, ebselen concentrations between 32 µg/ml and 0.5 µg/ml and ITZ concentrations between 8 µg/ml and 0.03 µg/ml were evaluated. Ebselen exhibited fungistatic anti-*Sporothrix* activity, inhibiting 50% and 100% of fungal growth in 100% and 84% of isolates at concentrations below 32 µg/ml, respectively. Fungicidal activity was observed in fewer than 10% of the isolates, and antagonism with itraconazole was found in all tested isolates. However, in 25% of the isolates, a dual reaction was observed, with antagonism at higher itraconazole concentrations and synergism at lower ebselen concentrations. In conclusion, our results are pioneering in demonstrating the activity of ebselen against *Sporothrix* sp., expanding its potential antifungal spectrum previously reported by other authors. Therefore, given the significant advantages of drug repurposing, in which ebselen is included, and with the goal of developing new, effective, safe, and lower-cost therapeutic options to combat this globally significant epidemic, ebselen presents potential as a standalone therapy. However, additional studies are necessary to confirm its efficacy in *in vivo* models against *Sporothrix* sp.

Keywords: Sporotrichosis; Subcutaneous mycoses; Filamentous fungi; Microdilution; Organoselenium compound.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Estudos demonstrando o potencial do ebselen com (CIM) frente a fungos filamentosos e leveduriformes, durante o período de 2009 a 2024.

LISTA DE TABELAS

Manuscrito

Table 1. Results of the minimum inhibitory concentration (MIC) of Eb (50% and 100% of inhibition) against *Sporothrix brasiliensis* (n=20), *S. schenckii* (n=4) e *S. globosa* (n=1).

39

Table 2. Results of the interaction between ebselen (Eb) and itraconazole (ITZ) against *Sporothrix brasiliensis* (n=9), *S. schenckii* (n=2) and *S. globosa* (n=1).

40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AMB	Anfotericina B
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CEVS	Centro Estadual de Vigilância em Saúde
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
COVID-19	<i>Corona Vírus Disease</i> 2019
DD	Diphenyl Diselenide
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
EB	Ebselen
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FICI	Índice de Concentração Inibitória Fracionária
GPx	Glutathione Peroxidase
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IND	Novo Medicamento Investigacional
ITZ	Itraconazol
MFC	Concentração Fungicida Mínima
MIC	Microdiluição em Caldo
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAS	Periodic Acid Schiff
PCR	Reação em Cadeira da Polimerase
PDA	<i>Potato dextrose ágar</i>
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SARA	Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto
SES	Secretaria Estadual da Saúde
UFC	Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Macromorfologia de *Sporothrix* spp. A. Colônia leveduriforme em meio de cultivo *Brain Heart Infusion* (BHI) após 7 dias de incubação a 37°C; B. Colônia filamentosa em ágar batata após 7 dias de incubação. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

18

Figura 2. Micromorfologia de *Sporothrix* spp. A. Fase leveduriforme. Demonstrações de macrófagos fagocitando células pequenas ovaladas e alongadas em formato de charuto (secreção de lesão ulcerada corada por Gram em aumento de 40x). B. Fase filamentosa com hifas e conídios cuja disposição conferem a forma de "margarida" (lactofenol azul algodão em aumento de 40x). Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

18

Figura 3. Estrutura química de Ebselen (**2-fenil-1,2-benzosselenazol-3(2H)-ona**)

30

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Esporotricose.....	15
2.1.1 Histórico.....	15
2.1.2 Etiologia.....	16
2.1.3 Epidemiologia da esporotricose por <i>Sporothrix brasiliensis</i>	20
2.1.4 Patogenia e formas clínicas.....	22
2.1.5 Diagnóstico da esporotricose	24
2.1.6 Tratamento	25
2.2 Reposicionamento fármacos	27
2.2.1 Organoselênios como novas opções terapêuticas para micoses.....	28
2.2.1.1 Ebselen.....	30
3. OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos específicos.....	34
4. MANUSCRITO	35
CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma doença infecciosa emergente de origem fúngica que ocasiona lesões nodulares a ulceradas, após inoculação por detritos provenientes de materiais vegetais e solo contaminado, ou por arranhadura e mordedura de gatos infectados. Pode acometer pessoas e outros animais, e tem sido negligenciada apesar de seu considerável impacto (Rodrigues et al., 2022). Sua ocorrência é global, mas destaca-se em importância epidemiológica no Brasil, onde o cenário atual é de epidemia em rápida expansão (Barros et al., 2010; Rodrigues et al., 2022; Xavier et al., 2023).

Seus agentes etiológicos são fungos dimórficos do complexo *Sporothrix*, sendo as principais espécies envolvidas *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa* e *S. schenckii* (Rodrigues et al., 2022). A espécie *S. brasiliensis* se destaca no Brasil e em outros países da América Latina (Gremião et al., 2017), sendo responsável pela expansão da esporotricose nos últimos anos no Brasil, com surtos descritos em várias regiões, como Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo, Pernambuco, Alagoas, Amazonas, Pará, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Gremião et al., 2021; Gonçalves et al., 2024; De Souza et al., 2025).

O Rio de Janeiro é o epicentro da doença no país, com notificação de mais de 1.500 casos confirmados somente em 2019 (Giordano et al., 2021). Em estudos recentes do período de (2013-2020), foram registrados 9.552 casos suspeitos de esporotricose humana e 12.532 em animais (Ferreira et al., 2025). Outro estado com destaque em relação ao início da emergência da esporotricose por *S. brasiliensis* é o Rio Grande do Sul, onde a doença é descrita desde o final da década de 90, e, estudo recente demonstra sua distribuição pelos sete distritos sanitários do estado, com aumento significativo nos últimos anos (Munhoz et al., 2022). A falta de notificação compulsória desta micose em nível nacional implica na limitação em evidenciar a dimensão do problema da esporotricose na saúde pública deste e de outros estados brasileiros.

Um dos pilares importantes no controle da emergência dessa micose é o seu precoce e correto tratamento, contribuindo com a diminuição de sua propagação e visando a saúde única, promovendo a saúde humana, animal e ambiental. As dificuldades terapêuticas estão associadas principalmente às poucas opções existentes e a duração prolongada do tratamento (Gremião et al., 2020; Poester et al., 2022). Em adição, tem sido observada resistência ao tratamento com itraconazol em animais (Nakasu et al.,

2021) o que gera a necessidade de desenvolvimento de novas opções de tratamento eficazes e seguras (Poester et al., 2022).

A partir desta problemática reitera-se a necessidade pela busca de novos fármacos. Dentre alguns compostos que se destacam pela sua eficácia em diversos aspectos vemos os compostos orgânicos do selênio (Nogueira et al., 2021; Benelli et al., 2021). Tem sido descrito na literatura a atividade antimicrobiana *in vitro* destes compostos, tanto de forma isolada como associada a outros fármacos demonstrando promissora potencialidade antifúngica (Poester et al., 2019; Benelli et al., 2021; Munhoz et al., 2023). Nesse contexto, o reposicionamento de fármacos tem demonstrado ser uma opção muito vantajosa, pois, o desenvolvimento de um novo fármaco constitui-se por um processo complexo, de muitas etapas, incluindo desde a identificação de um novo composto até a aprovação pelos órgãos reguladores (Jarada et al., 2020). Com o reposicionamento, a partir de um fármaco já aprovado, várias etapas já são conhecidas, como, farmacocinética, farmacodinâmica, toxicidade e muitos outros fatores (Jourdan et al., 2020). Isso reduz significativamente o tempo e o custo, e consequentemente, traz agilidade para o desenvolvimento de uma nova opção terapêutica eficaz principalmente de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2023).

Diante da problemática da esporotricose, buscando novas opções de tratamento, o ebselen tem vantagens dentre os organoselênios por ser um Novo Medicamento Investigacional (IND) e aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para utilização como antioxidante anti-inflamatório e citoprotetor (Beckman et al., 2016; Kil et al., 2017). Este composto, vem recebendo destaque também em pesquisas na prevenção e tratamento de vários distúrbios (Singh et al., 2013; Azad e Tomar, 2014; Ramli et al., 2022), e tem demonstrado inibição *in vitro* de cepas fúngicas leveduriformes e filamentosas (Wall et al., 2018; Marshall et al., 2019; De Oliveira et al., 2019; Benelli et al., 2021). Sua atividade antifúngica já foi comprovada em estudos experimentais com modelo murino, promovendo redução significativa da carga fúngica em estudo com aspergilose invasiva e no tratamento da ceratite fúngica (Sakita et al., 2021; Benelli et al., 2021; Yu et al., 2024). Com base nessas informações é possível perceber as potencialidades do composto ebselen para o desenvolvimento de novas opções de tratamento para esporotricose (Sies e Parnham, 2020; Benelli et al., 2021).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Esporotricose

2.1.1 Histórico

Inicialmente descrita por Benjamin Robinson Schenck, em 1898, a esporotricose foi relatada em um caso de abscesso no dedo indicador, com lesões seguindo os vasos linfáticos ao longo do braço de um paciente homem, no Hospital John Hopkins, na cidade de Baltimore, Estados Unidos da América (EUA). A secreção foi cultivada e o fungo descrito com meticulosidade por Erwin F. Smith, sendo classificado como pertencente ao gênero *Esporotrichum*.

Anos mais tarde, em 1900, outro caso similar de lesão no dedo indicador decorrente de um trauma por martelo, evoluindo para úlcera e com o mesmo comprometimento linfático, ocorreu em Chicago também nos EUA, e sem responder aos tratamentos. Granulomas foram encontrados nos tecidos examinados e na microscopia da secreção, estruturas leveduriformes ovais ou em forma de charuto foram observadas. O cultivo revelou colônias castanhas a branco-acinzentadas e com “penugens”, de crescimento plano, granular e esparso que apresentavam hifas septadas com conidióforos e conídios nas extremidades de seus ápices. Ao ser identificado com a mesma morfologia descrita por Schenck anteriormente, foi então denominado como *Sporothrix schenckii* (Hektoen & Perkins, 1900).

Com o passar dos anos houve relatos da doença na França e EUA (Beurmann & Ramond, 1903; Kwon-chung & Bennett, 1992) e surtos sapronóticos isolados, vitimando operários de uma mina na África do Sul em 1940 (Helm & Berman, 1947), e 84 trabalhadores envolvidos no cultivo de plantas reflorestadas em 1988 nos EUA (Centers for Disease Control and Prevention, 1988). Este cenário se estendeu nas décadas seguintes alcançando várias regiões do mundo como EUA, França, China, Japão, Índia, Malásia, América latina, África do Sul e Austrália (Chakrabarti, 2014; Rodrigues et al., 2022; Xavier et al., 2023).

No Brasil, Lutz e Splendore descreveram as lesões pela primeira vez no ano de 1907. Observaram ratos feridos, principalmente, por mordedura com lesões na cauda ou inoculados no estudo. Relataram detalhadamente cinco casos da doença em humanos tratados com iodeto de potássio e cultivaram as secreções, o que permitiu caracterizar o agente etiológico (Adolpho Lutz e Alffonso Splendore, 1907). Nos anos seguintes, até 1964, houve registros de 12 casos de esporotricose em cães e 8 em gatos, todos

diagnosticados através de exame microscópico e tratados com iodeto de potássio (De Freitas et al., 1965).

A partir do final da década de 1990 a esporotricose tomou uma proporção diferente devido aos surtos que transformaram os casos esporádicos em surtos e hiperendemias que perduram até os dias de hoje (Nobre et al., 2002; Schuback et al., 2006). No período entre 1992 e 2015, foram registradas 782 hospitalizações por esporotricose em quase todos os estados brasileiros, sendo Rio de Janeiro e São Paulo os estados de maior incidência (Falcão et al., 2019). No mesmo período, foram registrados casos no extremo Sul do Rio Grande do Sul, demonstrando a abrangência da doença no Brasil (Nobre et al., 2002).

Mais recentemente, o cenário da esporotricose tem se expandido de forma exponencial no Brasil e a redor do mundo, especialmente com casos autóctones de *S. brasiliensis* no Brasil, em regiões hiperendêmicas como no sul do RS e sudeste do RJ (Gremião et al., 2020; Falcão et al., 2022; Munhoz et al., 2022). A doença tem alcançado vários países latino-americanos (Argentina, Paraguai, Uruguai e Chile) e com casos exportados já descritos nos Estados Unidos e Europa (Reino Unido) (Garcia Duarte et al., 2017; Etchecopaz et al., 2020; Kaadan et al., 2020; Barnacle et al., 2023; Thomson et al., 2023).

2.1.2 Etiologia

Sporothrix é um gênero que compreende mais de 50 espécies conhecidas até o momento, geofílicas e saprofíticas, por isso a doença inicialmente foi associada ao trabalho com plantas e lesões em jardineiros (Rodrigues et al., 2020). Até o ano de 2007 a esporotricose era associada a um único agente etiológico, *S. schenckii*. No entanto estudos avaliando características fenotípicas, bioquímicas e genotípicas de distintos isolados clínicos comprovaram a existência de mais de uma espécie patogênica. Foi então descrito o complexo *Sporothrix*, composto por espécies ambientais e outras de importância médica, destacando-se como agentes etiológicos de esporotricose as espécies *S. schenckii strictu sensu*, *S. globosa* e *S. brasilienses* (Marimon et al., 2007; Lopes-Bezerra et al., 2018; Rodrigues et al., 2020). Há ainda as espécies patogênicas, *S. mexicana*, relatada no México e *S. pallida*, porém de menor relevância clínica devido a menor virulência (Marimon et al., 2007). Dentre as espécies, *S. brasilienses* se destaca pela transmissão animal-animal e zoonótica, ocasionando surtos em diferentes regiões no Brasil e no mundo, e é considerada mais virulenta que as demais, apresentando, quadros

mais graves e disseminação mais acelerada (Almeida-Paes et al., 2015; Xavier et al., 2023; Poester et al., 2024).

A célula fúngica de *Sporothrix* spp. apresenta características estruturais que desempenham um papel fundamental na virulência do patógeno. Sua parede celular é formada principalmente por quitina, que se intercala com polissacarídeos (β -(1,3) - glucana e β -(1,6)-glucana), contribuindo com a resistência mecânica, possibilitando tolerância a estresses osmóticos e ambientais, como mudanças de pH, temperatura e promovendo a evasão imunológica e modulação do sistema imune (Lopes-Bezerra et al., 2017). Além disso, a membrana citoplasmática contém ergosterol que garante fluidez e estabilidade a célula fúngica (Loguercio-Leite et al., 2006).

Nos aspectos morfológicos, por ser dimórfico, *Sporothrix* spp. apresenta características fenotípicas distintas de acordo com a temperatura em que foi cultivado. Na macromorfologia, em fase filamentosa, possuem crescimento lento e no início podem apresentar colônias membranosas esbranquiçadas que pigmentam ao longo dos dias chegando a coloração marrom escuro a preto (figura 1). O aspecto pode ser enrugado com dobras e bordas irregulares (Marimon et al., 2007).

Na micromorfologia, as colônias em fase filamentosa (25-30°C) apresentam hifas septadas, finas, ramificados, com conídios com formato piriformes ou ovais com diâmetro fino em forma de margaridas (2-3 μ m), com conidióforos curtos, ramificados a partir das hifas. Quando cultivadas em (35-37°C), desenvolvem a fase leveduriforme, apresentando, colônias cremosas, úmidas, de crescimento lento e de cor clara. Na microscopia as células leveduriformes são blastoconídios pequenos, arredondados ou ovalados e podendo por muitas vezes ter aparência de charuto, medindo de 2-10 μ m e com parede celular espessa (Marimon et al., 2007) (figura 2).

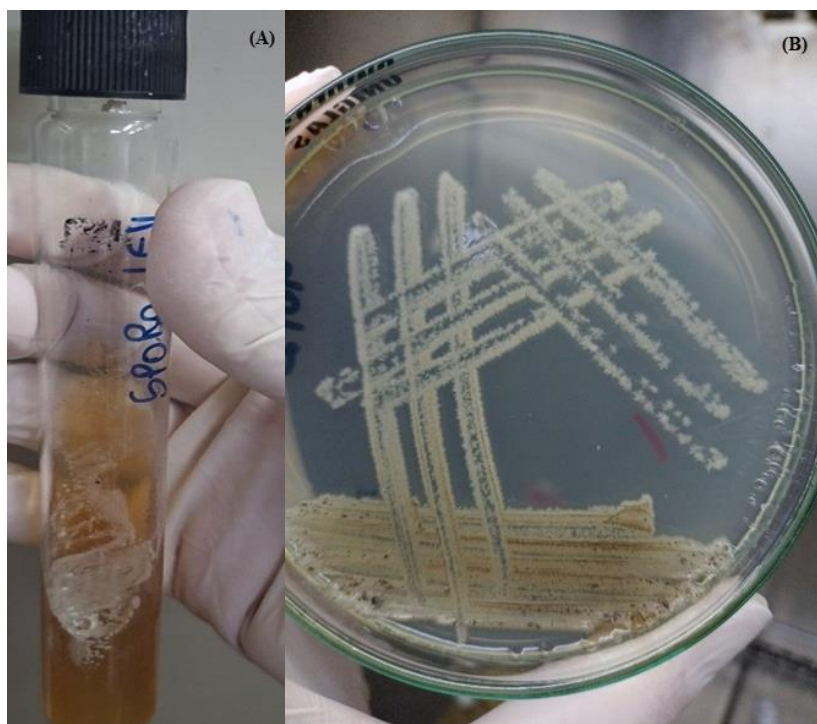


Figura 1. Macromorfologia de *Sporothrix* spp. **A.** Colônia leveduriforme em meio de cultivo *Brain Heart Infusion* (BHI) após 7 dias de incubação a 37°C; **B.** Colônia filamentosa em ágar batata após 7 dias de incubação. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

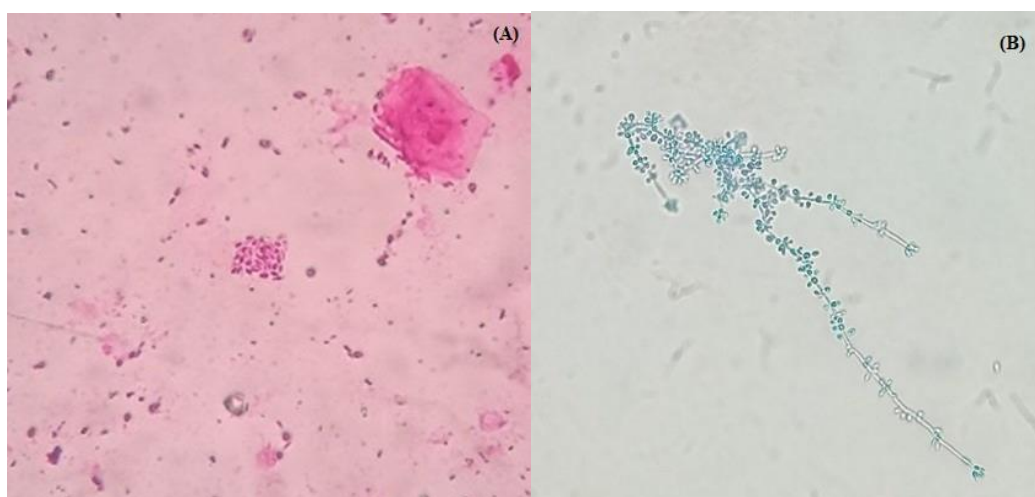


Figura 2. Micromorfologia de *Sporothrix* spp. **A.** Fase leveduriforme. Demonstrações de macrófagos fagocitando células pequenas ovaladas e alongadas em formato de charuto (secreção de lesão ulcerada corada por Gram em aumento de 40x). **B.** Fase filamentosa com hifas e conídios cuja disposição conferem a forma de "margarida" (lactofenol azul algodão em aumento de 40x). Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

O dimorfismo é um importante fator de virulência, juntamente com a termotolerância, a produção de melanina, que confere ao fungo maior capacidade de resistir à radiação ultravioleta e atua como uma barreira física, diminuindo a penetração de agentes antifúngicos, como Anfotericina B, ou neutralizando suas ações químicas (Madrid et al., 2014; Almeida-Paes et al., 2015, 2017). A melanina tem ainda propriedades antioxidantes que ajudam o fungo a neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidas pelas células do sistema imunológico do hospedeiro, como macrófagos e neutrófilos (Almeida-Paes et al., 2017; Garcia Carnero et al., 2018).

Outro fator de virulência importante que fungos do complexo *Sporothrix* possuem é a capacidade de produzir biofilme estruturados. Nessa condição, o fungo produz uma matriz extracelular composta por ácido desoxirribonucleico (DNA) extracelular, polissacarídeos, lipídios e proteínas, promovendo proteção ao fungo. Com isso, elevam as chances de sobrevivência em condições adversas e interferem na ação do sistema de defesa do hospedeiro e de antifúngicos. Esse biofilme já foi comprovado *in vitro* e *ex vivo*, nas garras de gatos (Brilhante et al., 2018, 2022; Dos Santos et al., 2022). Já a produção de enzimas ajuda o fungo a invadir tecidos, degradar barreiras estruturais, obter nutrientes e escapar das respostas imunológicas do hospedeiro, como por exemplo, protease, lipases, catalase e urease (Almeida-Paes et al., 2015, 2017; Garcia-Carnero et al., 2022). Esses fatores contribuem para a sobrevivência do microrganismo em condições hostis e a evadir o sistema imunológico do hospedeiro (Garcia-Carnero et al., 2022; Fernandes et al., 2024).

S. brasiliensis destaca-se pela termotolerância, maior secreção de enzimas que facilitam a invasão e dano ao hospedeiro, como proteases, urease e fosfolipases, que possibilitam o rompimento de barreiras celulares e catalases, que agem neutralizando as espécies reativas de oxigênio (ROS), conferindo proteção ao fungo contra o sistema imune (Marimon et al., 2007; Almeida-Paes, 2015). Em adição, *S. brasiliensis* tem demonstrado uma melhor adesão às células do hospedeiro e na formação de lesões ulceradas, esse fator está ligado às adesinas e glicosilação conferindo maior resistência a fatores imunológicos (Rodrigues et al., 2013; Almeida-Paes, 2015). Outro aspecto que diferencia o *S. brasiliensis* é sua maior capacidade de produção de melanina e de biofilme, promovendo proteção e resistência ao estresse oxidativo gerado pelas células de defesa, e conferindo ao fungo uma maior probabilidade de sobrevivência. Os biofilmes são constituídos por uma matriz extracelular que dificulta a penetração de medicamentos antifúngicos, possibilitando a resistência aos tratamentos e proteção contra o sistema

imunológico. Essa estrutura ainda aumenta a adesão do fungo no local, facilitando sua sobrevivência em ambiente hostil (Brilhante et al., 2017, 2021).

Essas diferenças fenotípicas e bioquímicas estão diretamente correlacionadas com as manifestações clínicas da esporotricose. Um estudo experimental comprovou maior capacidade de disseminação e maior mortalidade em animais infectados por *S. brasiliensis* do que pelas demais espécies patogênicas (Della Terra et al., 2017). Em adição, estudos clínicos demonstram que *S. brasiliensis* tem maior capacidade de desenvolver casos atípicos, incluindo sistêmicos e graves de esporotricose em humanos, bem como reações de hipersensibilidade (Poester et al., 2024). Esta espécie tem alta prevalência entre gatos (96,9%) (Rodrigues, 2013; Morgado et al., 2022).

Embora as espécies patogênicas tenham diferenças fenotípicas e bioquímicas, para identificação correta há necessidade de técnicas de biologia molecular, sendo as características macro e micromorfológicas insuficientes para discriminação entre espécies (Marimon et al., 2007; Rodrigues et al., 2020; Trápaga et al., 2024).

2.1.3 Epidemiologia da esporotricose por *Sporothrix brasiliensis*

A espécie *S. brasiliensis* modificou o perfil epidemiológico da esporotricose, transformando-a de uma doença esporádica e de origem ambiental para uma micose emergente, associada a surtos e de rápida expansão geográfica por transmissão zoonótica (Rodrigues et al., 2020). Tem sido relatada de forma autóctone em vários países da América Latina além do Brasil, como Paraguai, Chile, Argentina, Uruguai, e com casos exportados em outros continentes, o que revela a gravidade desta hiperendemia em constante expansão, demonstrando uma preocupação mundial (Xavier et al., 2023).

Está fortemente associada a transmissão pelo gato, a partir de mordidas, arranhões ou até mesmo contato de mucosas com secreções contaminadas (Gremião et al., 2017; Rodrigues et al., 2020). Isso porque a evolução biológica de *S. brasiliensis* permitiu sua melhor adaptação ao gato doméstico, que é o protagonista da epidemia da esporotricose, sendo o principal hospedeiro, vítima e propagador do fungo. Essa associação está relacionada com as manifestações graves nesses animais com grande quantidade de propágulos fúngicos nas lesões, e ainda, com os hábitos comportamentais e territorialistas desse animal que contribuem com a disseminação da doença (Gremião et al., 2020). Isso gerou ao longo dos anos, a contribuição para o cenário de crescimento exponencial da doença ao longo das últimas duas décadas no território nacional (Rodrigues et al., 2020).

Os primeiros relatos de surtos da esporotricose em gatos e com transmissão para pessoas são relacionados às áreas urbanas do estado Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul no final na década de 1990 (Nobre et al., 2002; Schubach et al., 2006; Poester et al., 2018; Falcão et al., 2022). A partir deste marco, a doença está em crescente expansão em território nacional (Poester et al., 2024), bem como nos países limítrofes como, Argentina, Uruguai e Paraguai, e outros três continentes (Xavier et al., 2023). A incidência da doença tem sido demonstrada na literatura e pelos boletins epidemiológicos onde há relatos em todos os estados da região Sudeste do Brasil (Gremião et al., 2020).

As notificações provenientes de diversos estados brasileiros não refletem a real situação epidemiológica da doença, mas permitem um vislumbre da gravidade desse problema de saúde pública. Neste contexto, há registros da doença em diversas regiões, como: Alagoas, Acre e Pará, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte (Gremião et al., 2021; Rodrigues et al., 2022). Os estados de São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais também registraram casos (Gremião et al., 2020). Na Amazônia, um estudo com 150 isolados clínicos revela que a doença também é predominantemente causada por *S. brasiliensis* (89,3%) e tendo sido os gatos apontados como principal vetor de inoculação (De Souza et al., 2025). Isso torna o Brasil o país com o maior número de casos de esporotricose felina já notificados em todo o mundo, reafirmando que a esporotricose é subestimada, subnotificada e permanece como doença negligenciada (Gremião et al., 2020). Nas regiões Sul e Sudeste do Brasil a doença tem um maior impacto que as demais, com o Rio de Janeiro sendo destacado como epicentro da doença (Gremião et al., 2020; Falcão et al., 2022; Munhoz et al., 2023). O cenário não é favorável para o estado do Rio Grande do Sul (RS), descrito na literatura como o segundo mais atingido pelos casos de esporotricose felina, destacando-se os municípios de Rio Grande e Pelotas, RS com casos da doença tanto em felinos como em humanos (Brandolt et al., 2019; Gremião et al., 2020; Munhoz et al., 2022). Em adição, estudos tem demonstrado diferentes genótipos de *S. brasiliensis* circulantes no Brasil e a evolução independente de cepas, não configurando uma dispersão clonal. Em adição, os isolados do RS diferem genotipicamente dos isolados dos demais estados brasileiros, assim como os do Distrito Federal e de Minas Gerais (Rabello et al., 2020; Rodrigues et al., 2022).

Atualmente a esporotricose é uma problemática nacional incluída na lista de doenças tropicais negligenciadas (DTNs) pela OMS em 2023 (OMS, 2023). Esse reconhecimento da OMS demonstra a importância da prevenção e controle da doença e

propicia a visibilidade global da hiperendemia, estimulando financiamentos, implementação de políticas de saúde pública e esforços de pesquisa científica. No Brasil, até o ano de 2024 não havia notificação compulsória em âmbito nacional, somente esforços de estados e municípios que decretaram a notificação compulsória para auxiliar no controle e vigilância da doença. O que era deflagrado como urgência perante a alta endemicidade da doença no país (Xavier et al., 2023). No Rio de Janeiro a esporotricose passou a ter obrigatoriedade de notificação a partir de 2013, Pernambuco em 2016 e Paraíba 2018. Paraná, Mato Grosso do Sul e Espírito Santo, são estados onde a esporotricose está na lista de notificação compulsória desde 2020 e na Bahia em 2023 (Rio de Janeiro, 2013; Pernambuco, 2016; Paraíba, 2018; Paraná, 2020; Mato Grosso do Sul, 2020; Espírito Santo, 2020; Bahia, 2023). No Rio Grande do Sul, até o ano de 2024, não havia obrigatoriedade de notificar os casos da doença, porém, algumas instituições mantinham o registro dos casos à disposição, e em junho deste ano foi emitida a Portaria nº 440/2024 pela Secretaria Estadual da Saúde (SES) com orientações aos profissionais de saúde sobre o manejo correto dos casos a serem notificados através da Nota Técnica nº 3/2024 publicada pelo Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS) (Rio Grande do Sul, 2024). Felizmente em 2025 a notificação compulsória da esporotricose tornou obrigatória em todo território nacional devendo ser notificada no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan). Com essas medidas espera-se a compreensão do real cenário epidemiológico da doença no país (BRASIL, 2025). Essas iniciativas servem para compreender o panorama nacional e regional através do monitoramento epidemiológico e contribuir para o desenvolvimento de políticas públicas eficazes, como distribuição de recursos, campanhas de conscientização, cadeia de transmissão dessa zoonose e incentivo a pesquisa visando o controle da expansão da esporotricose (Alvarez et al., 2022).

2.1.4 Patogenia e formas clínicas

A principal via de infecção do hospedeiro é por inoculação traumática de *Sporothrix* spp. na derme, veiculada por vegetal contaminado ou animal (Barros et al., 2010; Lopes-Bezerra et al., 2018). A partir dessa implantação, se dá a transição dimórfica do fungo, para adaptação a temperatura corporal, passando de conídio para levedura. Por esse processo, ele é capaz de resistir a fagocitose e inicia sua reprodução, o que, em conjunto com a resposta inflamatória do organismo do hospedeiro, leva a dano tecidual e à lesão. Essas lesões podem apresentar características nodulares, em fistulas, ou ulceradas

e com borda arroxeadada (Barros et al., 2011; Gremião et al., 2014; Boyce e Andrianopoulos, 2015). Observa-se ainda a capacidade do fungo a progredir/disseminar por vasos linfáticos, o que caracteriza fortemente a doença através do chamado cordão esporotricóide, que se manifesta por lesões nodulares que acompanham o trajeto linfático, principalmente nos braços. Mais raramente a infecção pode ocorrer por inalação ou contato direto com mucosas (Barros et al., 2011).

Em humanos, a esporotricose se apresenta de distintas formas na clínica médica, sendo principalmente a cutânea-fixa e a linfocutânea. A cutânea fixa ocorre em cerca de 25% dos casos, em que a lesão se mantém no local de inoculação, porém tende a progredir para a linfocutânea, correspondendo entre 60% e 80% dos casos, na qual há acometimento linfático. As lesões iniciais caracterizam-se por pápulas vermelhas que podem evoluir para lesões ulcerativas. Os locais onde as lesões costumam ser predominantes, em adultos, são braços, pernas e tronco, e nas crianças, face e pescoço (Lopes- Bezerra et al., 2006; Barros et al., 2011; Conceição-Silva e Morgado, 2018; Queiroz-Telles et al., 2022).

Em pacientes imunossuprimidos, a doença pode evoluir com manifestações cutâneo disseminada ou sistêmica, ocorrem de forma menos comum, porém com grande impacto à vida do paciente, incluindo as formas osteoarticular, pulmonar e meningite (Conceição-Silva e Morgado, 2018). As chamadas apresentações atípicas, como infecções em mucosa (mucosa nasal e/ou oral e principalmente ocular) tem sido cada vez mais relatadas, assim como as reações de hipersensibilidade, e geralmente associadas a infecção por *S. brasiliensis* (Poester et al., 2024).

Os gatos, principais vítimas da doença, manifestam uma forma grave, com lesões iniciais principalmente em face ou patas, porém com frequente disseminação, podendo levar ao óbito do animal (Lloret et al., 2013; Gremião et al., 2020). As lesões cutâneas são também principalmente ulceradas, podendo drenar exsudatos serossanguinolentos e/ou purulentos. Algumas lesões formam crostas, zonas de necrose expondo músculos e ossos e, na forma disseminada da doença há acometimento dos pulmões (Schubach et al., 2004; Gremião et al., 2020). Os gatos podem manifestar sinais respiratórios como, espirros, secreção nasal, dispneia, letargia, depressão, anorexia e febre antes mesmo de manifestações cutâneas se tornarem evidentes (Schubach et al., 2004; Lloret et al., 2013). O grande impacto observado nesses animais tem sido associado a alta carga fúngica encontrada nas lesões cutâneas. Isso gera grande sofrimento aos animais e tutores, aumentando o abandono e a disseminação da doença para outros gatos e seres humanos. Isso traz um grande alerta para necessidade ações de prevenção, diagnóstico antecipado,

acesso a tratamentos mais eficazes e medidas que reduzam as consequências da doença (Sanhotene et al., 2015; Gremião et al., 2020, Rodrigues et al., 2022).

Diferentemente das outras espécies animais, lesões com granulomas malformados e alta carga fúngica, são comuns em gatos com esporotricose independentemente de coinfeções por retrovírus, que causam imunossupressão, demonstrando a suscetibilidade dessa espécie ao fungo (Gremião et al., 2017). Porém a esporotricose não se restringe apenas ao gato, há relatos de muitos outros animais infectados incluindo cães, equinos, bovinos, ratos e animais selvagens (quatis, felinos; primatas e tamanduá-bandeira) demonstrando o cenário diversificado em que o fungo é capaz de adaptar-se (Rabello., 2020).

2.1.5 Diagnóstico da esporotricose

O diagnóstico da esporotricose inicia pela suspeição clínica, a qual requer o histórico do paciente, pelo qual é avaliado o tempo de aparecimento das lesões, se o paciente teve contato ou não com gatos, e se há prática de alguma atividade agrícola ou de jardinagem. Clinicamente são observadas lesões linfocutâneas, com uma ou mais pápulas pequenas e não sensíveis, ou úlceras e/ou cordão esporotricóide. Essas lesões não apresentam secreção purulenta, salvo em caso de coinfeção bacteriana (Lopes- Bezerra et al., 2006; Barros et al., 2011; Conceição-Silva e Morgado, 2018).

Na suspeita clínica de esporotricose, são coletadas amostras das lesões através de swab estéril, preferencialmente com meio de transporte, ou biópsia. As amostras são processadas, por exame micológico direto e/ou histopatologia (coloração de Gram, Giemsa, Periodic Acid Schiff (PAS), Grocott), exames que, embora menos sensíveis que a cultura, quando positivos revelam células leveduriformes com aspectos característicos, com estruturas ovaladas, alongadas podendo estar em fagocitadas por macrófagos do hospedeiro. Estes métodos possuem uma sensibilidade entre 47,2 e 87% (Carnero et al., 2018; Gremião et al., 2020; Rodrigues et al., 2022). Em paralelo, as amostras são semeadas em Sabouraud com cicloheximida e incubadas em estufa à 25-30°C e 37°C, para obter ambas as fases do fungo confirmando seu dimorfismo térmico. O isolamento de *Sporothrix* sp. em cultivo ocorre geralmente dentro de 5 a 14 dias e é o método considerado padrão-ouro para o diagnóstico da doença (Barros et al., 2011; Rudramurthy e Chakrabarti, 2017; Rodrigues et al., 2022).

Em casos de esporotricose pulmonar ou disseminada exames complementares são necessários, incluindo exame de imagem através de Raio-X e tomografia (Aung et al.,

2013; Fichman et al., 2022). Em casos de suspeita de acometimento meníngeo, líquido deve ser coletado (Rodrigues et al., 2022).

É possível confirmar fenotipicamente a identificação em nível de complexo *Sporothrix* pela formação da clássica estrutura reprodutiva similar a “margarida”, e seu dimorfismo térmico (Marimon et al., 2007; Rodrigues et al., 2020). Porém para identificação em nível de espécie deve haver biologia molecular. Testes Moleculares como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), identificam a espécie com alta sensibilidade e especificidade. Atualmente a detecção do material genético do fungo diretamente a partir da amostra clínica, caracterizando o diagnóstico molecular da esporotricose é promissor, porém ainda não foi padronizado e não está disponível comercialmente (Rodrigues et al., 2022; Trápaga et al., 2024).

2.1.6 Tratamento

O fármaco de eleição para o tratamento da esporotricose nos mais distintos hospedeiros é o itraconazol (ITZ) (Kauffman et al., 2007; Barros et al., 2011; Poester et al., 2022; Rodrigues et al., 2022). Da classe dos azóis, esse triazol age inibindo a enzima lanosterol 14 α -demetilase, que é fundamental para a síntese de ergosterol, principal componente da membrana celular do fungo. Isso gera instabilidade e aumenta a permeabilidade da membrana celular, o que resulta na morte da célula freando a proliferação das colônias fúngicas (Borba-Santos et al., 2014). Administrado via oral, é o tratamento de primeira escolha e deve ser feito por períodos prolongados para garantir a cura e evitar recidivas.

Na falha do ITZ ou em pacientes com contraindicação ao seu uso, outras, outras terapias podem ser consideradas, como o iodeto de potássio (KI) que possui menor custo e pode auxiliar a ação do ITZ, além da termoterapia, utilizada como terapia complementar. Em casos mais graves, especialmente em pacientes imunossuprimidos ou com envolvimento sistêmico, a anfotericina B deve ser administrada por via intravenosa, seguido de manutenção com itraconazol. No entanto a anfotericina B possui alta nefrotoxicidade, tendência a causar anemia e costuma acumular-se em tecidos ricos em colesterol, como, baço, fígado e rins. Sendo fundamental o monitoramento da função renal e hemograma durante tratamento (Kauffman et al., 2007; Rodrigues et al., 2022).

A anfotericina B é da classe dos polienos, atua se ligando ao ergosterol, permitindo a passagem de íons, como magnésio (Mg²⁺) e potássio (K⁺) e outras moléculas pequenas.

Isso gera um desequilíbrio osmótico, e consequentemente lise celular com a morte do fungo (Rodrigues et al., 2022; Borba-Santos et al., 2014). Em adição, da classe das alilaminas, a Terbinafina é um medicamento indicado como terapia alternativa e age inibindo a enzima esqualeno epoxidase, conversora de esqualeno em lanosterol, precursor do ergosterol, causando o acúmulo intracelular de esqualeno e consequente dano a membrana celular e morte do fungo (Mahajan, 2014; Borba-Santos et al., 2014).

No tratamento da esporotricose humana atualmente é recomendado o uso de ITZ em doses entre 100 e 400 mg por dia em casos das formas cutânea disseminada e extracutânea, por um período de 3 a 6 meses. O tratamento deve continuar até 4 semanas após a resolução completa das lesões, entretanto, dependendo do histórico do paciente ou da não eficácia do ITZ, o tratamento com anfotericina convencional (desoxicolato) deve ser administrado com 0,3 a 1,5 mg/kg/dia, enquanto a Lipossomal pode chegar a 5 a 10 mg/kg/dia. Pode variar entre 4 e 12 semanas, dependendo da resposta clínica, como em casos de esporotricose disseminada ou pacientes imunocomprometidos. Em último caso, poderá ser administrado a terbinafina em doses de 250 mg/dia (Kauffman et al., 2007; Poester et al., 2022).

Em animais, assim como nos humanos, o tratamento de eleição é o ITZ, as doses podem variar de acordo com a espécie, sendo, em gatos, 100 mg por dia (5-10 mg/kg) e cães: 5 mg/kg por dia. O tratamento deve ser mantido por no mínimo 30 dias após a cura clínica (quando há o desaparecimento das lesões). A duração é em média 3 a 6 meses. Porém, o principal fator de dificuldade na administração desse tratamento é o manejo diário do gato para ingerir os comprimidos. Em adição, vale ressaltar os altos custos que o medicamento possui (Kauffman et al., 2007; Gremião et al., 2020; Poester et al., 2022). Além disso, há relatos de efeitos adversos em gatos, como vômitos, anorexia e hepatotoxicidade. Devido os efeitos teratogênicos, esses medicamentos não são recomendados para as gatas prenhas. Nesses casos recomenda-se o uso de iodeto de potássio em associação à termoterapia (Gremião et al., 2020).

Já em animais com esporotricose disseminada, nos quais há falha do tratamento com itraconazol e/ou imunossuprimidos, o tratamento pode ser com Anfotericina B. A administração é via intravenosa, em infusão lenta (2 a 4 horas), nas dosagens de 0,5 a 0,8 mg/kg, duas a três vezes por semana. Não excedendo a dose cumulativa máxima: 10 a 15 mg/kg por um período em média de 4 a 8 semanas. No entanto, o monitoramento frequente de funções renais e hepáticas é necessário devido à toxicidade da anfotericina B. Outra opção com menor toxicidade é a Anfotericina B Lipossomal, podendo ser

utilizada em doses de 1 a 3 mg/kg, duas a três vezes por semana, não excedendo a dose cumulativa máxima: 15 a 20 mg/kg e por um período de tratamento entre 4 a 8 semanas. Caso as opções anteriores falhem uma terapia alternativa é a Terbinafina em doses de 20 a 30 mg/kg uma vez ao dia, via oral, por cerca de 3 a 6 meses e deverá mantido por no mínimo 4 semanas após o desaparecimento dos sintomas (Kauffman et al., 2007; Gremião et al., 2020; Poester et al., 2022).

No tratamento com o ITZ é válido salientar, que, por ser uma substância lipofílica, possui melhor solubilidade em pH ácido, dissolvendo com maior facilidade e proporcionando uma melhor absorção pelo intestino melhorando a biodisponibilidade do ITZ. Contudo, é recomendada sua administração junto a ingestão de bebidas ácidas como refrigerantes ou sucos (Jaruratanasirikul e Kleepkaew, 1997), e contra-indicado seu uso em associação a medicamentos antiácidos, inibidores da bomba de prótons (como omeprazol) ou bloqueadores de H₂ (como ranitidina) (Lohitnavy et al., 2005).

Além das limitações referentes ao alto custo, interações medicamentosas e efeitos colaterais, salienta-se a resistência de *Sporothrix* spp. já descritas *in vitro* e *in vivo* aos antifúngicos habituais. Os microrganismos podem desenvolver mecanismos de resistência por distintas formas, e, com relação ao ITZ, em especial, por mutações no gene ERG11 e superexpressão de bombas de efluxo; o mesmo ocorre com a terbinafina, porém com mutações no gene SQLE (Ortiz et al., 2019). Já na anfotericina B, a resistência é bastante incomum, porém podem ocorrer alterações na síntese de ergosterol (Loguercio-Leite et al., 2006). Isso demonstra um fator preocupante no tratamento da esporotricose, que instiga a importância do uso racional dos antifúngicos, e ressalta a necessidade do desenvolvimento de novas opções terapêuticas para o tratamento eficaz da doença (Poester et al., 2022; Xavier et al., 2023).

2.2 Reposicionamento de fármacos

O desenvolvimento de um novo medicamento é um processo que abrange vários fatores e etapas de suma importância, para conferir ao produto entregue a segurança para ser utilizado de forma eficaz pelo paciente. Mas esse ciclo pode levar décadas, ter um alto custo e serem necessárias muitas etapas, como, por exemplo, identificação de um novo composto promissor, identificar alvos terapêuticos, como enzimas, proteínas e envolvimento em processos patológicos. São necessários ainda, realizar vários testes *in vitro* e *in vivo* para avaliar fatores como: toxicidade, farmacocinética e farmacodinâmica (Mohammad Jafari et al., 2018; Kim et al., 2020), além da submissão a agências

reguladoras, como, FDA e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para aprovação para uso comercial (Xue et al., 2018).

Buscando alternativas mais rápidas e com menor custo para o desenvolvimento de terapias, o reposicionamento de fármacos vem sendo implementado em diferentes vertentes da indústria de medicamentos. Essa modalidade possui muitos benefícios e visa explorar novas indicações terapêuticas para medicamentos que já são comercializados. A grande vantagem é utilizar um fármaco já aprovado, com diversas etapas pré-clínicas já conhecidas para tratar uma determinada condição, e empregar em outras doenças (Kim et al., 2020; Gómez-Gaviria et al., 2024). Isso culmina com um grande benefício que é a diminuição significativa dos custos (Mohammad Jafari et al., 2018; Kim et al., 2020; Gómez-Gaviria et al., 2024).

Nesse contexto, são avaliadas, as etapas de compreensão do mecanismo de ação do medicamento e a pesquisa de novas doenças possíveis de serem tratadas com eficácia e identificação de alvo terapêutico. É possível fazer, estudos *in silico* e *in vitro*, em que se utiliza a expertise de ferramentas computacionais para compreender a ação do fármaco, e ainda que já seja um medicamento aprovado e/ou utilizado, os ensaios clínicos fase II e III para compreender e aferir a eficácia na nova utilização (Xue et al., 2018; Kim et al., 2020; Gómez-Gaviria et al., 2024).

Nas doenças fúngicas, o reposicionamento de fármacos tem sido aplicado para o combate crescente da resistência aos tratamentos habituais. Incluindo doenças como candidíase, mucormicose, criptococose, aspergilose, histoplasmose e inclusive esporotricose. Nesse processo, técnicas computacionais contribuem com maior acurácia e agilidade na identificação de compostos eficazes. Isso ressalta as vantagens dessa prática no enfrentamento das doenças fúngicas e estimula a continuidade pelas buscas de novas opções (Xue et al., 2018; Kim et al., 2020; Gómez-Gaviria et al., 2024).

Portanto, através do reposicionamento de fármacos se torna possível a significativa redução de custos e otimização tempo. O que se torna uma prática muito eficaz para ser utilizada na busca de novos tratamentos para doenças negligenciadas, dentre elas a esporotricose, haja vista, as poucas opções de tratamento disponíveis comercialmente até o momento (Mohammad Jafari et al., 2018; Gómez-Gaviria et al., 2024).

2.2.1 Organoselênios como novas opções terapêuticas para micoses

Os compostos orgânicos de selênio são substâncias químicas que contêm átomos de carbono ligados a selênio, podendo ser classificados de acordo com a sua estrutura molecular. O selênio é uma substância essencial para a vida, e em baixas quantidades no organismo aumentam as chances de desencadear doenças degenerativas (Kieliszek et al., 2019). Presente em oleaginosas, como, castanhas-do-Pará, nozes, amêndoas, amendoim, avelãs, sementes de girassol e abóbora, é também encontrado em leguminosas, laticínios, alguns frutos do mar, como peixes e mariscos, e inclusive em carnes vermelha, de frango e vísceras. Tem comprovada ação contra radicais livres e consequentemente combate ao estresse oxidativo (Kieliszek et al., 2019; Hu et al., 2021).

Os organoselênios, vem demonstrando eficácia em diferentes focos de estudos, como, atividade antiviral, antimicrobiana, quimiopreventiva, antidepressiva a ansiolítica, atividades hepato e gastroprotetoras, renoprotetora, cardioprotetora, atividade mimética da insulina, neuroprotetoras e com benefícios associados a memória (Benelli et al., 2021; Nogueira et al., 2021). Dentre as suas inúmeras capacidades conhecidas até o momento, é importante destacar sua atividade antioxidante. Por ser um cofator fundamental para muitas selenoproteínas antioxidantes, permite com que Glutathione Peroxidase (GPx) seja capaz de neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS), o que confere proteção as células contra o estresse oxidativo (Mugesh et al., 2001; Benelli et al., 2021), e mantém o equilíbrio redox da célula através da Tiorredoxina Redutase (TrxR), indispensável para a sobrevivência. Agem reduzindo radicais livres, dentre eles peróxidos de hidrogênio (H_2O_2), atuando na prevenção de dano oxidativo ao DNA, lipídeos e proteínas (Mugesh et al., 2001; Mamgain et al., 2023).

Outro benefício dos organoselênios envolve a modulação do sistema imunológico. Possuem a capacidade de estimular a resposta imune, promovendo a proliferação de células T e aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias. Possuem a capacidade de inibir a expressão de mediadores inflamatórios. Através da modulação de vias de sinalização celular, regulam a expressão de genes responsáveis pela inflamação e imunidade, isso possibilita a diminuição de doenças inflamatórias crônicas e de infecções. Outros importantes fatores que conferem a estes compostos grande vantagem é a atividade antitumoral e a capacidade de reduzir a angiogênese, e mutações genéticas causadoras de câncer (Naithani, 2008; Azad e Tomar, 2014; Nogueira et al., 2021).

Portanto, estes derivados orgânicos de selênio são indispensáveis para o organismo humano, desempenhando funções essenciais, contribuem através das suas propriedades anti-inflamatórias antioxidantes e antitumorais. São encontrados tanto em

fontes naturais quanto sintetizados quimicamente. Possuem inúmeros benefícios na suplementação humana, entretanto em altas doses podem ter efeitos tóxicos. Na literatura, compostos à base de seleneto, disseleneto de difenila e ebselen tem demonstrado também sua ação antimicrobiana em relação a bactérias patogênicas e fungos incluindo vários patógenos com promissora eficácia (Di Leo et al., 2019; Benelli et al., 2021; Nogueira et al., 2021; Santi et al., 2021; Alves de Lima e Silva & Rio-Tinto, 2024).

2.2.1.1 Ebselen

O ebselen (2-fenil-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-ona) (figura 3) é um composto orgânico de selênio lipofílico, produzido sinteticamente (Azad e Tomar, 2014). Na síntese do ebselen se utiliza a catalisação por cobre para formar o anel heterocíclico Selênio-Nitrogênio, importante para a estrutura orgânica. A partir disso, ocorre a reação de amidas haloaromáticas, utilizando iodeto de benzamida, em conjunto com carbonato de potássio, pó de selênio e o iodeto de cobre que tem papel catalisador. Isso acontece em etapa única resultando em um composto com elevado grau de pureza (Engman et al., 1989; Balkrishna et al., 2010).

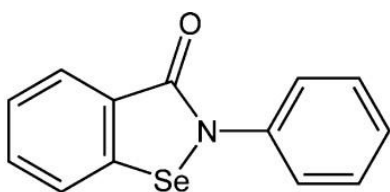


Figura. 3 Estrutura química de Ebselen (2-fenil-1,2-benzosselenazol-3(2H)-ona)

Possui boa estabilidade química e biológica, tanto em meio aquoso quanto lipídico, possibilitando seu desempenho em vários locais da célula. Em altas doses pode causar efeitos adversos, como, distúrbios neurológicos e danos hepáticos e alterações no metabolismo de tióis, desequilibrando a capacidade redox celular (Azad e Tomar, 2014).

O ebselen possui a capacidade de mimetizar a ação da glutathione peroxidase (GPx), esta enzima está associada com a proteção das células contra o estresse oxidativo. Portanto reduz as espécies reativas de oxigênio (ROS), como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radicais livres. Outro importante fator está relacionado com a regeneração contínua pela interação com tióis, incluindo a glutathione (GSH), essa substância confere o ebselen sua capacidade antioxidante (Alves de Lima e Silva & Rio-Tinto, 2024).

Propriedades anti-inflamatórias, hepato, gastro e neuroprotetoras, antimicrobianas e antivirais do Eb são descritas (Azad e Tomar, 2014; Sies e Parnham, 2020; Benelli et al. 2021; Nogueira et al., 2021; Ali et al., 2024). Esse fármaco está aprovado pelo FDA para o tratamento da diabetes e perda auditiva, com significativa redução dos efeitos da doença em estudos pré-clínicos fase 2 (Beckman et al., 2016; Kil et al., 2017) e tem sido estudado para o tratamento de Alzheimer, transtorno bipolar, ansiedade, depressão, perda auditiva, doenças cardiovasculares, diabetes, artrite, derrame, aterosclerose, infecção pelo SARS-CoV-2, Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto (SARA), câncer e doenças inflamatórias crônicas (Weil 1915; Watson-Williams 1919; Free-man 1922; Azad e Tomar, 2014; Singh et al., 2013; Sies e Parnham, 2020; Nogueira; Ramli et al., 2022; Ali et al., 2024).

No quesito antimicrobiano, o ebselen é capaz de induzir danos ao DNA na levedura *Saccharomyces cerevisiae* promovendo à ativação das proteínas quinase de ponto de verificação e desrepressão de genes de resposta a danos no DNA (Larabee et al., 2008). Muitos mecanismos de ação antifúngica têm sido propostos incluindo: inibição de bombas de efluxo de membrana H⁺-ATPase, o que ativa a resposta a danos no DNA, alteração em proteínas nucleares e a inibição de glutamato desidrogenase e da atividade inibitória através da depleção de GSH intracelular, que culmina com a elevação da produção de ROS, prejudicando a homeostase (Azad e Tomar, 2014; Alves De Lima e Silva & Rio-Tinto, 2024).

O potencial antifúngico do ebselen vem sendo evidenciado em diversos estudos (Tabela 1). Dentre eles, uma triagem da *Prestwick Chemical Library*, biblioteca de reutilização de 1.280 moléculas pequenas que engloba em grande parte medicamentos aprovados por patentes, destacou-o como um medicamento altamente promissor contra *Candida auris*. Frente a essa espécie fúngica emergente e multirresistente o Eb teve ação inibitória em concentrações baixas de 2,5µm, e de anti-virulência, com capacidade de redução da produção de biofilme (Wall et al., 2018). O Eb foi também descrito como altamente promissor para o tratamento da aspergilose invasiva, por ensaio experimental em modelo murino, reduzindo a carga fúngica em animais tratados de forma similar ao antifúngico de eleição (Sakita et al., 2021).

Estes promissores efeitos tanto em células fúngicas tanto filamentosas quanto leveduriformes, geram grandes expectativas a respeito das potencialidades deste promissor medicamento para o enfrentamento da esporotricose. Sugestionando que seu potencial antioxidante possa interferir na proteção e autorregulação da célula contra o

estresse oxidativo. Sendo uma possível promissora opção no combate contra a esporotricose.

Quadro 1. Estudos demonstrando o potencial do ebselen com (CIM) frente a fungos filamentosos e leveduriformes, durante o período de 2009 a 2024.

	Espécie	CIM µg/mL	Principais Resultados	Referência
Leveduras	<i>Candida auris</i>	2,5	100% de inibição	Wall et al, 2018
	<i>Candida albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>C. gattii</i>	0,5 -2	100% de inibição	Thangamani et al., 2017
	<i>Candida albicans</i> e <i>Candida tropicalis</i>	20	Ebselen, promissor nanoemulgel para o tratamento de infecção fúngica tópica	Vartak et al., 2018
	<i>S. cerevisiae</i> , <i>C. albicans</i> resistente a fluconazol	3-6	Ebselen foi fungistático contra três cepas de <i>S. cerevisiae</i>	Billack et al., 2009
	<i>C. glabrata</i>	3,4-6,8	Efeito fungicida	Menon et al., 2021
	<i>Candida auris</i>	0,5 a 64	Inibição	Oliveira et al, 2019
	<i>Candida parapsilosis</i>	0,06-4	Atividade <i>in vitro</i> contra isolados suscetíveis à equinocandina	Chassot et al., 2016
	<i>Trichosporon asahii</i>	0.25-8	Sinergismo contra resistentes ao fluconazol	Kubiça et al., 2019
Filamentosos	<i>Fusarium spp.</i>	2- 8	Inibição	Venturini et al., 2016
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	16 - 64	Inibição	Marshall et al, 2019
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	4 - 12	Redução de 8 -16 µg/mL. Destruiu membrana fúngica; eficaz contra ceratite fúngica	Bing Yu et al., 2024
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	Redução carga fúngica <i>in vivo</i>	Sakita et al, 2021
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0,4-0,5	Atividade antifúngica	Gnat el al, 2022

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* do ebselen frente as principais espécies patogênicas de *Sporothrix*.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração inibitória mínima e a concentração fungicida mínima do ebselen frente a isolados de *Sporothrix* spp.;
- Comparar o perfil de suscetibilidade entre as espécies *Sporothrix brasiliensis*, *S. schenckii* e *S. globosa*.
- Avaliar a interação entre o ebselen e o itraconazol na ação contra os isolados de *Sporothrix* spp.

4. MANUSCRITO

O manuscrito está formatado de acordo com a normas do periódico *Medical Mycology* (Fator de impacto 2,8), classificação B1 para área Medicina II. As normas para submissão estão disponíveis em:

https://academic.oup.com/mmy/pages/Manuscript_Preparation

***In vitro* inhibitory activity of ebselen alone and in combination with itraconazole against *Sporothrix* spp.**

Diulien Canary de Lima^{1,2}, Vanice Rodrigues Poester^{1,2}, Bruna Muradás Esperon^{1,2}, Emília Ferreira Andrade^{1,2}, Jessica Estefania Davila Hidalgo^{1,2}, Rosely Maria Zancopé Oliveira⁴, Rodrigo Almeida Paes⁴, Cristina Wayne Nogueira³, Gilson Zeni³, Melissa Orzechowski Xavier^{1,2}.

¹Laboratório de Micologia, Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal do Rio Grande (FURG) - Brazil. ²Pós Graduação em Ciências da Saúde, FAMED/FURG.

³Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), PPGBTox.

⁴Laboratório de Micologia, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro – Brazil.

Abstract

Given the potential of organoselenium compounds in treating sporotrichosis, we aimed to evaluate the antifungal activity of ebselen alone and in combination with itraconazole against *Sporothrix* spp. A total of 25 isolates were tested using microdilution and checkerboard assays. Ebselen alone, at concentrations $\leq 16 \mu\text{g/ml}$, exhibit a reduction of 50% of the fungal growth in all the isolates, including *S. schenckii* and *S. brasiliensis* isolates classified as non-wild-type for itraconazole. The complete inhibition of fungal growth was observed against 84% of the isolates. Antagonism was the main effect observed in the combination with itraconazole. Further studies are needed to confirm the potential of ebselen as a repurposed drug for the treatment of sporotrichosis.

Keyword: microdilution assay; sporotrichosis; organoselenium; antifungals, zoonosis.

Fungi from the genus *Sporothrix* comprehend three main clinical species: *S. schenckii*, *S. globosa*, and *S. brasiliensis*, which differ in geographical distribution, virulence, and source of infection¹. *S. schenckii* and *S. globosa* are associated with sapronotic transmission, with a worldwide distribution (*S. schenckii*) or mostly in Asian countries (*S. globosa*)^{1,2}. On the other hand, *S. brasiliensis*, the most virulent species, is primarily associated with cat transmission and is distributed across the South American continent³.

Sporotrichosis has emerged as a global public health concern over the last decade, primarily due to *S. brasiliensis*³. Significant challenges in disease control are linked to treatment limitations, including a restricted number of available antifungal options, a low cure rate in domestic cats (40%–77%), prolonged treatment duration, high costs, and increasing reports of resistance to the drug of choice, itraconazole (ITZ)^{1,4}. Therefore, the development of new therapies for sporotrichosis is urgently needed.

Organoselenium compounds exhibit potential antifungal activity against molds, yeasts, and dimorphic fungi, and their known pharmacological properties (antioxidant, anti-inflammatory effects, and deposition in adipose tissue) make them promising candidates for the treatment of sporotrichosis^{5,6}. Two compounds, diphenyl diselenide (DD) and ebselen (Eb), are particularly noteworthy. DD have already been tested *in vitro* and *in vivo* against *Sporothrix spp.* exhibiting promising activity^{6,7,8}. Given that Eb has the advantage of being an FDA-approved drug for treating chronic diseases⁹, our study aimed to evaluate its *in vitro* activity against *Sporothrix spp.* both alone and in combination with ITZ.

Twenty-five *Sporothrix spp.* isolates (*S. brasiliensis* n=20; *S. schenckii* n=4; *S. globosa* n=1) were included in the study. Ebselen (Eb) was synthesized with 99% purity according to the method of Engman and Hallberg¹⁰, and itraconazole (ITZ) was commercially obtained (Sporanox®, Janssen). Stock solutions of both drugs were prepared in Dimethyl Sulfoxide at 100x their final *in vitro* concentrations. Preliminary test for compound dilution in RPMI 1640 was conducted to determine the highest concentration, being Eb tested at concentrations ranging from 0.5 to 32 µg/mL. ITZ ranged from 0.03 to 8 µg/mL.

The activity of Eb alone was evaluated using a microdilution assay in 96-well microplates, following the M38-A2 protocol of the Clinical and Laboratory Standards Institute¹¹, against all 25 isolates. To assess its combination activity with ITZ, a

checkerboard assay was performed⁷, which included 12 isolates (*S. brasiliensis* n=9, *S. schenckii* n=2, and *S. globosa* n=1).

For both tests, a standardized *Sporothrix* spp. inoculum was prepared using 7-day-old mold-stage colonies grown on potato dextrose agar at 35°C. The inoculum was diluted in RPMI 1640 to a concentration of 0.4×10^4 to 5×10^4 Colony Formation Unit/mL, verified by spectrophotometry (530 nm) and confirmed through the pour-plate technique¹¹. Drugs were diluted in RPMI 1640 (1:50), and 100 µL of the inoculum and drugs were added to the microplates, followed by incubation for 72 hours at 35°C. Tests were performed in duplicate.

Values of minimal inhibitory concentration (MIC) for Eb and ITZ were assessed visually. For Eb, two values were considered: the minimum concentration that inhibited 50% of the fungal growth compared to the well of growth control (MIC_{partial}) and the minimum concentration able for a complete inhibition of fungal growth (MIC_{total}). The minimum fungicidal concentration (MFC) for Eb was determined by plating aliquots from the wells without visual growth onto Sabouraud agar.

Geometric mean (GM) of partial and total MIC of Eb was calculated. Interaction with ITZ was analyzed by determining the fractional inhibitory concentration index (FIC_i) using MIC values able for a 100% of fungal inhibition¹¹, being classified as strong synergism (FIC_i < 0.5), weak synergism (0.5 < FIC_i < 1), additive (1 < FIC_i < 2), indifference (FIC_i = 2), or antagonism (FIC_i > 2)⁷. Isolates of *S. brasiliensis* and *S. schenckii* were classified regarding ITZ susceptibility as wild-type (≤ 2 µg/ml) or non-wild-type (> 2 µg/ml)¹².

Eb alone was able to reduce 50% of the fungal growth in all isolates, with concentrations ranging from 0.5 to 16 µg/ml, resulting in a GM of MIC_{partial} of 4µg/ml. Total inhibition of *Sporothrix* spp. growth by Eb was achieved against 84% of the isolates, at concentrations between 4 and 32 µg/ml, with a GM of 28 µg/ml (Table 1).

Fungicidal activity was not detected for Eb against any of the isolates tested. Eb exhibited an antagonistic effect when combined with ITZ; however, in 42% of the isolates (5/12), a double-sized effect was observed, with antagonism at higher concentrations and synergy at lower concentrations of Eb (Table 2).

Table 1. Results of the minimum inhibitory concentration (MIC) of Ebselen (Eb) (50% and 100% of inhibition) against *Sporothrix brasiliensis* (n=20), *S. schenckii* (n=4) e *S. globosa* (n=1).

Species	ID	Source	ITZ type*	Eb MIC _{partial}	Eb MIC _{total}
<i>S. brasiliensis</i>	716	Feline	wild-type	8	32
	1078	Feline	wild-type	1	4
	4559	Feline	non-wild-type	4	32
	4748	Feline	wild-type	8	16
	9013	Feline	wild-type	4	16
	9014	Feline	non-wild-type	1	16
	9015	Feline	wild-type	4	32
	9016	Feline	wild-type	1	16
	1878	Human	wild-type	8	16
	3357	Human	wild-type	16	>32
	3952	Human	non-wild-type	2	32
	4720	Human	wild-type	2	32
	5150	Human	wild-type	8	32
	9011	Human	wild-type	8	>32
	9012	Human	wild-type	0,5	32
	9018	Human	wild-type	16	32
	9019	Human	wild-type	2	32
	9020	Human	wild-type	4	32
	2691	Environment	wild-type	4	32
	CBS120339	-	wild-type	2	16
<i>S. schenckii</i>	1917	Human	non-wild-type	8	32
	2657	Human	non-wild-type	16	>32
	5196	Human	non-wild-type	4	16
	7453	Human	non-wild-type	16	32
<i>S. globosa</i>	5823	Human	-	16	>32

MIC_{partial}: minimum inhibitory concentration exhibiting a reduction of 50% of the fungal growth; MIC_{total}: minimum inhibitory concentration able to a complete inhibition of fungal growth. **S. brasiliensis* and *S. schenckii* were classified according to their susceptibility for itraconazole (ITZ) as wild-type (≤ 2 $\mu\text{g/ml}$) or non-wild-type (> 2 $\mu\text{g/ml}$).

Table 2. Results of the interaction between Ebselen (Eb) and itraconazole (ITZ) against *Sporothrix brasiliensis* (n=9), *S. schenckii* (n=2) and *S. globosa* (n=1).

Species	ID - Source	Eb MIC alone	Eb MIC + ITZ	ITZ MIC alone	ITZ MIC + Eb	Effect [#]
<i>S. brasiliensis</i>	1078* - Feline	4	32	0.06	8	ANT
		4	0.5	0.06	0.03	WS
	4559 - Feline	32	>32	8	>8	ANT
	4748 - Feline	16	32	1	4	ANT
	1878* – Human	16	32	0.5	8	ANT
		16	8	0.5	0.25	WS
	3357 – Human	>32	>32	0.5	>8	ANT
	9011 – Human	>32	>32	1	>8	ANT
	9020 – Human	32	>32	0.5	1	ANT
	2691 – Environment	32	>32	0.5	4	ANT
	CBS120339*	16	>32	1	8	ANT
		16	4	1	0.03	SS
<i>S. schenckii</i>	1917*	32	>32	4	>8	ANT
		32	0.5	4	0.25	SS
	5196	16	32	4	>8	ANT
<i>S. globosa</i>	5823*	>32	>32	4	8	ANT
		>32	1	4	2	WS

*Isolates with weak synergism interaction in some wells, and antagonism in others. [#]Interactions were defined as strong synergism (SS) ($FIC_i < 0.5$), weak synergism ($0.5 < FIC_i < 1$), additive ($1 < FIC_i < 2$), indifference (IND) ($FIC_i = 2$), or antagonism (ANT) ($FIC_i > 2$). Isolate ID: Isolate identification. MIC: Minimal Inhibitory Concentration.

Eb has been reported as a promising repurposed drug for treating fungal infections, including those caused by species commonly resistant to classical antifungal drugs, such as *Candida auris* and *C. krusei*^{7,13}. *In vivo* studies have also demonstrated the similar activity of Eb to gold-standard drugs in murine model of fungal keratitis, invasive aspergillosis, and vulvovaginal candidiasis^{14,15,16}. Here, we show for the first time, the *in vitro* antifungal activity of Eb against *Sporothrix sp.*, thereby enhancing its spectrum of action as a potential antifungal drug with a broader. We highlight that the lethal dose of Eb was estimated to be >500 micromol/kg in both mouse and rat models, which currently provides a safety margin for the doses analyzed in our *in vitro* studies¹⁷.

Besides the activity of Eb against *S. brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. schenckii*, species associated with over 90% of sporotrichosis cases, its activity against isolates that are classified as non-wild-type to ITZ, highlight the potential of this compound as an alternative in cases of therapy failure due to azole resistance^{1,12}. While Eb did not exhibit fungicidal effects, its anti-*Sporothrix* activity induced a 50% reduction in fungal growth

against all the isolated tested. This partial inhibition in microdilution assay is the parameter recommended by the Infectious Diseases Society of America¹⁸ for determining the susceptibility to other fungistatic drugs, including echinocandins and some azoles (fluconazole and ketoconazole). Fungistatic drugs, although not being able of killing fungal cells, are often sufficient for a successful treatment of mycoses in immunocompetent hosts. Since *Sporothrix* is a primary pathogen and most affected hosts are not immunosuppressed, fungistatic drugs can provide therapeutic success¹.

Antagonistic activity of Eb with ITZ has been previously reported, with rates reaching up to 80% against other fungi (*Trichosporon asahii* and *Trichophyton mentagrophytes*)^{19,20}. The antagonism or synergism observed depending on the dosage could be related to the "dual face" action of Eb, which can function as both pro-oxidants and antioxidants depending on the concentration, associating with intracellular mechanism of glutathione (GSH). Eb in the fungal cells depletes GSH levels, resulting in an increase in reactive oxygen species (ROS), which ultimately leads to apoptosis¹⁵, but its interaction with ITZ likely disrupted ROS generation, promoting *Sporothrix* growth rather than inhibiting it.

In conclusion, our study provides valuable data on the antifungal activity of Eb against *Sporothrix* spp., demonstrating that it is more effective when used alone rather than in combination with ITZ. Given the potential of Eb as a repurposed drug and the urgent need for new antifungal therapies to address the growing epidemiological problem of sporotrichosis, further research is needed to fully explore and validate Eb's potential for treating this mycosis.

References

1. Rodrigues AM, Gonçalves SS, de Carvalho JA, Borba-Santos LP, Rozental S, Camargo ZP. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(8):776. Published 2022 Jul 26. doi:10.3390/jof8080776
2. Moussa TAA, Kadasa NMS, Al Zahrani HS, et al. Origin and distribution of *Sporothrix globosa* causing sapronoses in Asia. *J Med Microbiol*. 2017;66(5):560-569. doi:10.1099/jmm.0.000451
3. Xavier MO, Poester VR, Trápaga MR, Stevens DA. *Sporothrix brasiliensis*: Epidemiology, Therapy, and Recent Developments. *J Fungi (Basel)*. 2023;9(9):921. Published 2023 Sep 13. doi:10.3390/jof9090921
4. de Miranda LHM, Silva JN, Gremião IDF, et al. Monitoring Fungal Burden and Viability of *Sporothrix* spp. in Skin Lesions of Cats for Predicting Antifungal Treatment Response. *J Fungi (Basel)*. 2018;4(3):92. Published 2018 Aug 7. doi:10.3390/jof4030092
5. Wall G, Chaturvedi AK, Wormley FL Jr, et al. Screening a Repurposing Library for Inhibitors of Multidrug-Resistant *Candida auris* Identifies Ebselen as a Repositionable Candidate for Antifungal Drug Development. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(10):e01084-18. Published 2018 Sep 24. doi:10.1128/AAC.01084-18
6. Benelli JL, Poester VR, Munhoz LS, et al. Ebselen and diphenyl diselenide against fungal pathogens: A systematic review. *Med Mycol*. 2021;59(5):409-421. doi:10.1093/mmy/myaa115
7. Poester VR, Mattei AS, Mendes JF, et al. Antifungal activity of diphenyl diselenide alone and in combination with itraconazole against *Sporothrix brasiliensis*. *Med Mycol*. 2019;57(3):328-331. doi:10.1093/mmy/myy044
8. Munhoz LS, Poester VR, Benelli JL, et al. Effectiveness of diphenyl diselenide against experimental sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. *Med Mycol*. 2023;61(4):myad035. doi:10.1093/mmy/myad035
9. Singh N, Halliday AC, Thomas JM, et al. A safe lithium mimetic for bipolar disorder. *Nat Commun*. 2013;4:1332. doi:10.1038/ncomms2320
10. Engman L, Hallberg A. Expedient synthesis of ebselen and related compounds. *The Journal of Organic Chemistry*, 1989; 54(12):2964-2966.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Wayne, PA: CLSI, 2017.
12. Espinel-Ingroff A, Abreu DPB, Almeida-Paes R, et al. Multicenter, International Study of MIC/MEC Distributions for Definition of Epidemiological Cutoff Values for *Sporothrix* Species Identified by Molecular Methods. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(10):e01057-17. Published 2017 Sep 22. doi:10.1128/AAC.01057-17

13. Jamiu AT, Albertyn J, Sebolai OM, Pohl CH. Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Med Mycol.* 2021;59(1):14-30. doi:10.1093/mmy/myaa031
14. Menon S, Vartak R, Patel K, Billack B. Evaluation of the antifungal activity of an ebselen-loaded nanoemulsion in a mouse model of vulvovaginal candidiasis. *Nanomedicine.* 2021;37:102428. doi:10.1016/j.nano.2021.102428
15. Sakita KM, Capoci IRG, Conrado PCV, et al. Efficacy of Ebselen Against Invasive Aspergillosis in a Murine Model. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:684525. Published 2021 Jun 23. doi:10.3389/fcimb.2021.684525
16. Yu B, Wang Q, Zhang L, et al. Ebselen improves fungal keratitis through exerting anti-inflammation, anti-oxidative stress, and antifungal effects. *Redox Biol.* 2024;73:103206. doi:10.1016/j.redox.2024.103206
17. Meotti FC, Borges VC, Zeni G, Rocha JB, Nogueira CW. Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and Ebselen for rats and mice. *Toxicol Lett.* 2003;143(1):9-16. doi:10.1016/s0378-4274(03)00090-0
18. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2016;62(4):e1-e50. doi:10.1093/cid/civ933
19. Felli Kubiça T, Bedin Denardi L, Silva de Loreto É, et al. In vitro activity of diphenyl diselenide and ebselen alone and in combination with antifungal agents against *Trichosporon asahii*. *Mycoses.* 2019;62(5):428-433. doi:10.1111/myc.12906
20. Gnat S, Łagowski D, Dyląg M, Józwiak G, Trościańczyk A, Nowakiewicz A. In Vitro Activity of Ebselen and Diphenyl Diselenide Alone and in Combination with Drugs against *Trichophyton mentagrophytes* Strains. *Pharmaceutics.* 2022;14(6):1158. Published 2022 May 28. doi:10.3390/pharmaceutics14061158

CONCLUSÕES

- O composto ebselen tem ação fungistática anti- *Sporothrix*, sendo capaz de inibir o crescimento *in vitro* de até 96% dos isolados testados em concentrações menores que 32 µg/ml. Atividade fungicida foi encontrada em menos de 10% dos isolados nas concentrações testadas.
- *Sporothrix brasiliensis* é a espécie mais sensível *in vitro* ao composto testado, demonstrando ser uma promissora opção de tratamento para essa espécie de importância médica e epidemiológica no cenário mundial. Entretanto, as demais espécies *S. schenckii* e *S. globosa* apresentaram inibição parcial do crescimento após exposição ao Eb.
- O Ebselen de forma isolada demonstrou ser capaz de inibir parcialmente e totalmente o crescimento fúngico em 100% e 84% dos isolados, respectivamente. Em combinação com itraconazol, foi detectado antagonismo. Porém, em 25% dos isolados foi observada reação de tamanho duplo (antagonismo em concentrações mais altas e sinergismo em concentrações mais baixas de Eb). Isso instiga novos estudo para conhecer seu potencial como medicamento de reaproveitamento para o tratamento da esporotricose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, Farak et al. Ebselen: A Review on its Synthesis, Derivatives, Anticancer Efficacy and Utility in Combating SARS-COV-2. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 1203-1225, 2024.

ALMEIDA-PAES, Rodrigo et al. Phenotypic characteristics associated with virulence of clinical isolates from the *Sporothrix* complex. **BioMed research international**, v. 2015, n. 1, p. 212308, 2015.

ALMEIDA-PAES, Rodrigo et al. Melanin biosynthesis in pathogenic species of *Sporothrix*. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 1, p. 50-59, 2017.

ALVAREZ, Carmen Magaly; OLIVEIRA, Manoel Marques Evangelista; PIRES, Regina Helena. Sporotrichosis: a review of a neglected disease in the last 50 years in Brazil. **Microorganisms**, v. 10, n. 11, p. 2152, 2022.

ALVES DE LIMA E SILVA, Agostinho; RIO-TINTO, André. Ebselen: A Promising Repurposing Drug to Treat Infections Caused by Multidrug-Resistant Microorganisms. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2024, n. 1, p. 9109041, 2024.

AUNG, Ar Kar et al. Pulmonary sporotrichosis: case series and systematic analysis of literature on clinico-radiological patterns and management outcomes. **Medical mycology**, v. 51, n. 5, p. 534-544, 2013.

AZAD, Gajendra Kumar; TOMAR, Raghuvir S. Ebselen, a promising antioxidant drug: mechanisms of action and targets of biological pathways. **Molecular biology reports**, v. 41, p. 4865-4879, 2014.

BAHIA. Secretaria da Saúde. Nota técnica Conjunta nº 26/2023/SESAB/SUVISA/DASF/DIVEP/LACEN – Esporotricose. 2023. Disponível em: <https://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2023/08/Nota-tecnica-Conjunta-no-26-2023-SESAB-SUVISA-DASF-DIVEP-LACEN-Esporotricose.pdf>. Acesso em: 22/01/2025.

BALKRISHNA, Shah Jaimin et al. Cu-catalyzed efficient synthetic methodology for ebselen and related Se–N heterocycles. **Organic letters**, v. 12, n. 23, p. 5394-5397, 2010.

BARNACLE, James R. et al. The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America. **Medical Mycology Case Reports**, v. 39, p. 14-17, 2023.

BARROS, Monica Bastos de Lima et al. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 455-460, 2010.

BARROS, Mônica Bastos de Lima; DE ALMEIDA PAES, Rodrigo; SCHUBACH, Armando Oliveira. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 633-654, 2011.

BECKMAN, Joshua A. et al. Ebselen does not improve oxidative stress and vascular function in patients with diabetes: a randomized, crossover trial. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 311, n. 6, p. H1431-H1436, 2016.

BENELLI, Jéssica Louise, et al. "Ebselen and diphenyl diselenide against fungal pathogens: A systematic review." **Medical Mycology**, 59.5 (2021): 409-421.

BEURMANN, L.; RAMOND, L. Abce's sous-cutane's multiples d'origine mycosique. **Ann Dermatol Syph**, v. 4, p. 678–85, 1903

BILLACK, Blase; SANTORO, Michelle; LAU-CAM, Cesar. Growth inhibitory action of ebselen on fluconazole-resistant *Candida albicans*: role of the plasma membrane H⁺-ATPase. **Microbial drug resistance**, v. 15, n. 2, p. 77-83, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Esporotricose humana passa a ser de notificação compulsória**. 2025. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2025/janeiro/esporeticose-humana-passa-a-ser-de-notificacao-compulsoria#:~:text=A%20esporeticose%20humana%20passa%20a,Agravos%20de%20Notifica%C3%A7%C3%A3o%20\(Sinan\)](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2025/janeiro/esporeticose-humana-passa-a-ser-de-notificacao-compulsoria#:~:text=A%20esporeticose%20humana%20passa%20a,Agravos%20de%20Notifica%C3%A7%C3%A3o%20(Sinan).). Acesso em: 7 mar. 2025.

BRANDOLT, Tchana Martinez et al. Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012–2017. **Medical mycology**, v. 57, n. 5, p. 527-533, 2019.

BRILHANTE, Raimunda Sâmia Nogueira et al. Quantitative and structural analyses of the in vitro and ex vivo biofilm-forming ability of dermatophytes. **Journal of medical microbiology**, v. 66, n. 7, p. 1045-1052, 2017.

BRILHANTE, Raimunda Sâmia Nogueira et al. Antifungal susceptibility of *Sporothrix schenckii* complex biofilms. **Medical Mycology**, v. 56, n. 3, p. 297-306, 2018.

BRILHANTE, Raimunda Sâmia Nogueira et al. Biofilm formation on cat claws by *Sporothrix* species: An ex vivo model. **Microbial Pathogenesis**, v. 150, p. 104670, 2021.

BRILHANTE, Raimunda Sâmia Nogueira et al. Inhibitory effect of proteinase K against dermatophyte biofilms: an alternative for increasing the antifungal effects of terbinafine and griseofulvin. **Biofouling**, v. 38, n. 3, p. 286-297, 2022.

BORBA-SANTOS, Luana Pereira et al. Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafine. **Sabouraudia**, v. 53, n. 2, p. 178-188, 2014.

BOYCE, Kylie J.; ANDRIANOPOULOS, Alex. Fungal dimorphism: the switch from hyphae to yeast is a specialized morphogenetic adaptation allowing colonization of a host. **FEMS microbiology reviews**, v. 39, n. 6, p. 797-811, 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, C. Multistate outbreak of sporotrichosis in seedling handlers. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 37, p. 652–653, 1988.

CHAKRABARTI, Arunaloque et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Sabouraudia**, v. 53, n. 1, p. 3-14, 2014.

CHASSOT, Francieli et al. Antifungal activities of diphenyl diselenide and ebselen against echinocandin-susceptible and-resistant strains of *Candida parapsilosis*. **New Microbiol**, v. 39, n. 4, p. 301-303, 2016.

COGNIALLI, Regielly CR et al. Rising incidence of *Sporothrix brasiliensis* infections, Curitiba, Brazil, 2011–2022. **Emerging Infectious Diseases**, v. 29, n. 7, p. 1330, 2023.

CONCEIÇÃO-SILVA, Fatima; MORGADO, Fernanda Nazaré. Immunopathogenesis of human sporotrichosis: what we already know. **Journal of fungi**, v. 4, n. 3, p. 89, 2018.

DE FREITAS, Dinoberto Chacon et al. Esporotricose em cães e gatos. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo**, v. 7, n. 2, p. 381-388, 1965.

DE OLIVEIRA, Haroldo Cesar et al. Identification of off-patent compounds that present antifungal activity against the emerging fungal pathogen *Candida auris*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 9, p. 83, 2019.

DE SOUZA, Guilherme Caldas et al. *Sporothrix brasiliensis* as the major causative species of the zoonotic outbreak of human sporotrichosis in the Brazilian Amazon. **Tropical Medicine & International Health**, 2025.

DELLA TERRA, Paula Portella et al. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 8, p. e0005903, 2017

DILEO, Iris et al. Synthetic approaches to organoselenium derivatives with antimicrobial and anti-biofilm activity. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 589-601, 2019.

DOS SANTOS, Giulia Maria Pires et al. *Sporothrix* spp. biofilms impact in the zoonotic transmission route: Feline claws associated biofilms, itraconazole tolerance, and potential repurposing for miltefosine. **Pathogens**, v. 11, n. 2, p. 206, 2022.

ENGMAN, Lars; HALLBERG, Anders. Expedient synthesis of ebselen and related compounds. The **Journal of Organic Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 2964-2966, 1989.

ESPÍRITO SANTO. Secretaria de Estado da Saúde. Nota informativa SSVS/GEVS/NEVISAT Nº 001/2023. Orientações aos Serviços Especializados em Segurança e Medicina do Trabalho (SESMT) sobre a Notificação Recomendatória do Ministério Público do Trabalho. 2023. Disponível em: https://saude.es.gov.br/Media/sesa/CEREST/Nota_Informativa_001-2023_SESMT.pdf. Acesso em: 22/01/2025.

ETCHECOPAZ, Alejandro Nazareno; SCARPA, Miguel; MAS, Javier; CUESTAS, María Luján. *Sporothrix brasiliensis*: A growing hazard in the Northern area of Buenos Aires Province? *Sporothrix brasiliensis*: A growing threat in the northern region of Buenos Aires province? **Revista Argentina de Microbiología, Buenos Aires**, v. 52, n. 4, p. 270-273, 2020.

FALCÃO, Eduardo Mastrangelo Marinho et al. Hospitalizações e óbitos relacionados à esporotricose no Brasil (1992-2015). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 35, p. e00109218, 2019.

FALCÃO, Eduardo Mastrangelo Marinho et al. A spatial analysis of the spread of hyperendemic sporotrichosis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p. 434, 2022.

FERNANDES, Blenda et al. Exploring Virulence Factors and Antifungal Susceptibility in *Sporothrix* Isolates: A Comparative Study between Feline and Human Hosts. 2024.

FERREIRA, Victória Catharina Dedavid et al. Temporal and spatial distribution of sporotrichosis in the Rio de Janeiro Metropolitan Area, Brazil: a comparison between human and animal cases (2013-2020). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 41, p. e00133024, 2025.

FICHMAN, Vivian et al. Pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*: a 22-year, single-center, retrospective cohort study. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p. 536, 2022.

FREEMAN, ELMER B. A preliminary report on the treatment of carcinoma of the Esophagus with colloidal selenium. **The Boston Medical and Surgical Journal**, v. 187, n. 21, p. 727-732, 1922.

GARCIA CARNERO, Laura Cristina et al. Immunity and treatment of sporotrichosis. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 100, 2018.

GARCÍA-CARNERO, Laura Cristina; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, José Ascención. Virulence factors of *Sporothrix schenckii*. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 3, p. 318, 2022.

GARCÍA DUARTE, Jesús Manuel et al. Sporotrichosis transmitted by domestic cat. A family case report. **Revista del Nacional (Itauguá)**, v. 9, n. 2, p. 67-76, 2017.

GIORDANO, Cristina et al. Rio de Janeiro. Secretaria de Estado de Saúde. Subsecretaria de Vigilância em Saúde. Superintendência de Vigilância Epidemiológica e Ambiental. Coordenação de Vigilância Epidemiológica. Gerência de Doenças Transmitidas por Vetores e Zoonoses – GERDTVZ. Boletim Epidemiológico Esporotricose Nº 001/2021, abril de 2021. Disponível em:
<http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=x19OcAuQdLk%3D>
D. Acesso em: 29/08/2023.

GNAT, Sebastian et al. In Vitro Activity of Ebselen and Diphenyl Diselenide Alone and in Combination with Drugs against *Trichophyton mentagrophytes* Strains. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 6, p. 1158, 2022.

GÓMEZ-GAVIRIA, Manuela et al. Strategies of Pharmacological Repositioning for the Treatment of Medically Relevant Mycoses. **Infection and Drug Resistance**, p. 2641-2658, 2024.

GONÇALVES, Nelson Veiga et al. Occurrence of sporotrichosis in Belém, Pará, Brazil: a metaphor for unsustainable socioeconomic development. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 28, p. 103872, 2024.

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira et al. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 1, p. e1006077, 2017.

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian journal of Microbiology**, v. 52, p. 107-124, 2020.

GREMIÃO, Isabella DF et al. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. **Sabouraudia**, v. 53, n. 1, p. 15-21, 2014.

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian journal of Microbiology**, v. 52, p. 107-124, 2021.

HEKTOEN, Ludvig; PERKINS, C. F. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. A new pathogenic fungus. **The Journal of experimental medicine**, v. 5, n. 1, p. 77, 1900.

HELM, M.; BERMAN, C. The clinical, therapeutic and epidemiological features of the sporotrichosis infection on the mines. In: Sporotrichosis infection on mines of the Witwatersrand. **Proceedings of the Transvaal Mine Medical Officers' Association December 1944, The Transvaal Chamber of Mines, Johannesburg, South Africa. Johannesburg, South Africa.** p. 59–67.

HU, Wenli et al. Food sources of selenium and its relationship with chronic diseases. **Nutrients**, v. 13, n. 5, p. 1739, 2021.

JARADA, Tamer N.; ROKNE, Jon G.; ALHAJJ, Reda. A review of computational drug repositioning: strategies, approaches, opportunities, challenges, and directions. **Journal of cheminformatics**, v. 12, p. 1-23, 2020.

JARURATANASIRIKUL, S.; KLEPKAEW, A. Influence of an acidic beverage (Coca-Cola) on the absorption of itraconazole. **European journal of clinical pharmacology**, v. 52, p. 235-237, 1997.

JOURDAN, Jean-Pierre et al. Drug repositioning: a brief overview. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 9, p. 1145-1151, 2020

KAADAN, M. Ihsan et al. One health education for future physicians: A case report of cat-transmitted sporotrichosis. In: **Open Forum Infectious Diseases**. US: Oxford University Press, 2020. p. ofaa049.

KAUFFMAN, Carol A. et al. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 10, p. 1255-1265, 2007.

KIELISZEK, Marek. Microelemento, propriedades e fontes fascinantes do selênio nos alimentos. **Moléculas** , v. 24, n. 7, pág. 1298, 2019.

KIL, Jonathan et al. Safety and efficacy of ebselen for the prevention of noise-induced hearing loss: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. **The lancet**, v. 390, n. 10098, p. 969-979, 2017

KIM, Jong H. et al. Antifungal drug repurposing. **Antibiotics**, v. 9, n. 11, p. 812, 2020.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. Medical Mycology Lea and Febiger. **Philadelphia, Pa**, 1992.

LARABEE JL, Hocker JR, Hanas JS (2009) Mecanismos de inibição de fatores de transcrição de zinco por compostos de selênio ebselen e selenito. *J Inorg Biochem* 103(3):419–426. doi:10.1016/j.jinorgbio.2008.12.007

LLORET, Albert et al. Sporotrichosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 15, n. 7, p. 619-623, 2013.

SCHUBACH, Tânia MP et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 10, p. 1623-1629, 2004.

LOGUERCIO-LEITE, Clarice et al. A particularidade de ser um fungo—I. Constituintes celulares. **Biotemas**, v. 19, n. 2, p. 17-27, 2006.

LOHITNAVY, M. et al. Reduced oral itraconazole bioavailability by antacid suspension. **Journal of clinical pharmacy and therapeutics**, v. 30, n. 3, p. 201-206, 2005.

LOPES-BEZERRA, Leila M.; SCHUBACH, Armando; COSTA, Rosane O. Sporothrix schenckii and sporotrichosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, p. 293-308, 2006.

LOPES-BEZERRA, Leila M. et al. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. **Medical mycology**, v. 56, n. suppl_1, p. S126-S143, 2018.

LUTZ, Adolpho; SPLENDORE, Alffonso. Sobre uma micose observada em homens e ratos: contribuição para o conhecimento das assim chamadas esporotricoses. **Revista Médica de São Paulo**, v. 21, p. 443-450, 1907.

MADRID, Isabel Martins et al. Análise morfológica e termotolerância de isolados clínicos e do ambiente de Sporothrix schenckii do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 18, n. 2-3, 2014.

MAHAJAN, Vikram K. Sporotrichosis: an overview and therapeutic options. **Dermatology research and practice**, v. 2014, n. 1, p. 272376, 2014.

MAMGAIN, Ritu; KOSTIC, Marina; SINGH, Fateh V. Synthesis and antioxidant properties of organoselenium compounds. **Current medicinal chemistry**, v. 30, n. 21, p. 2421-2448, 2023.

MARIMON, Rita et al. Sporothrix brasiliensis, S. globosa, and S. mexicana, three new Sporothrix species of clinical interest. **Journal of clinical microbiology**, v. 45, n. 10, p. 3198-3206, 2007.

MARSHALL, Andrew C. et al. Structure, mechanism, and inhibition of Aspergillus fumigatus thioredoxin reductase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 3, p. 10.1128/aac. 02281-18, 2019.

MATO GROSSO DO SUL. Secretaria de Estado de Saúde. Nota Técnica: Recomendações para notificação em nível estadual da Esporotricose. Campo Grande, ago. 2021. Disponível em: <https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2021/08/Nota-tecnica-esporotricose.pdf>. Acesso em: 22/01/2025.

MENON, Suvidha et al. Evaluation of the antifungal activity of an ebselen-loaded nanoemulsion in a mouse model of vulvovaginal candidiasis. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 37, p. 102428, 2021.

MOHAMMAD JAFARI, Razieh et al. Drug repositioning: a review. **Journal of Iranian Medical Council**, v. 1, n. 1, p. 7-10, 2018.

MORGADO, Debora Salgado et al. Global distribution of animal sporotrichosis: A systematic review of Sporothrix sp. identified using molecular tools. **Current Research in Microbial Sciences**, v. 3, p. 100140, 2022.

MUGESH, Govindasamy; DU MONT, Wolf-Walther; SIES, Helmut. Chemistry of biologically important synthetic organoselenium compounds. **Chemical reviews**, v. 101, n. 7, p. 2125-2180, 2001.

MUNHOZ, Livia Silveira et al. Update of the Epidemiology of the Sporotrichosis Epidemic in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Mycoses**, v. 65, n. 12, p. 1112-1118, 2022.

MUNHOZ, Livia Silveira et al. Effectiveness of diphenyl diselenide against experimental sporotrichosis caused by Sporothrix brasiliensis. **Medical Mycology**, v. 61, n. 4, p. myad035, 2023.

NAITHANI, Rajesh. Organoselenium compounds in cancer chemoprevention. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 8, n. 7, p. 657-668, 2008.

NAKASU, Ceres Cristina Tempel et al. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant Sporothrix brasiliensis infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 163-171, 2021.

NOBRE, Márcia de Oliveira et al. Esporotricose zoonótica na região sul do Rio Grande do Sul (Brasil) e revisão da literatura brasileira. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 9, p. 36-41, 2002.

NOGUEIRA, Cristina W.; BARBOSA, Nilda V.; ROCHA, João BT. Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: An update. **Archives of Toxicology**, v. 95, p. 1179-1226, 2021.

ORTIZ, Christopher Llynard D. et al. Potential inhibitors of galactofuranosyltransferase 2 (GlfT2): molecular docking, 3D-QSAR, and in silico ADMETox studies. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 17096, 2019.

PARAÍBA. Secretaria de Estado da Saúde da Paraíba. Nota Técnica nº 06, de 22 de agosto de 2022. Informações técnicas e recomendações sobre a vigilância da esporotricose no estado da Paraíba. João Pessoa. 2022. Disponível em: https://paraiba.pb.gov.br/diretas/saude/arquivos-1/vigilancia-em-saude/nota-tecnica-esporotricose-humana_2022.pdf. Acesso em: 22/01/2025.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. Resolução SESA nº 093/2022, de 07 de março de 2022. Define a Esporotricose Humana e Animal como doenças de interesse estadual e de notificação compulsória nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território estadual. Curitiba. 2022. Disponível em: https://www.crmv-pr.org.br/uploads/noticia/arquivos/resolucao_sesa_no_093_2022.pdf. Acesso em: 22/01/2025.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Portaria nº 390, de 14 de setembro de 2016. Acrescenta doenças, agravos e eventos estaduais à Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória e dá outras providências. Diário Oficial do Estado de Pernambuco, 15 set. 2016. Disponível em: https://www.normasbrasil.com.br/norma/portaria-390-2016-pe_328576.html. Acesso em: 22/01/2025.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Antifungal activity of diphenyl diselenide alone and in combination with itraconazole against *Sporothrix brasiliensis*. **Medical mycology**, v. 57, n. 3, p. 328-331, 2019.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Diphenyl diselenide alone and in combination with itraconazole against *Sporothrix schenckii* s. str. and *Sporothrix globosa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 1271-1274, 2021.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Treatment of human sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 1, p. 70, 2022.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. *Sporothrix brasiliensis* Causing Atypical Sporotrichosis in Brazil: A Systematic Review. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 4, p. 287, 2024.

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.

RABELLO, Vanessa. **Análise da variabilidade intraespecífica de *Sporothrix brasiliensis* por método molecular de tipagem**. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. p. 139, 2022.

RAMLI, Fitri Fareez; COWEN, Philip J.; GODLEWSKA, Beata R. The potential use of ebselen in treatment-resistant depression. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 4, p. 485, 2022.

RIO DE JANEIRO. Secretaria de Estado de Saúde. Resolução nº 674, de 12 de julho de 2013. Redefine a relação de doenças e agravos de notificação compulsória no âmbito do Estado do Rio de Janeiro. Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro, 16 jul. 2013. Disponível em: <https://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/4364979/4115670/ResolucaoSESN674DE12.07.2013.pdf>. Acesso em: 22/01/2025.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Saúde. Portaria SES nº 440/2024: estabelece a notificação compulsória de esporotricose e outros agravos no estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul, 2024. Disponível em: <https://www.diariooficial.rs.gov.br/materia?id=1118149>. Acesso em: 19 jan. 2025. Rodrigues et al., 2013

RODRIGUES, Anderson Messias; DE HOOG, Sybren; DE CAMARGO, Zoilo Pires. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Medical Mycology**, v. 51, n. 4, p. 405-412, 2013.

RODRIGUES, Anderson Messias et al. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v. 185, n. 5, p. 813-842, 2020.

RODRIGUES, Anderson Messias et al. Current progress on epidemiology, diagnosis, and treatment of sporotrichosis and their future trends. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 8, p. 776, 2022.

RUDRAMURTHY, S. M.; CHAKRABARTI, A. Sporotrichosis: update on diagnostic techniques. *Curr Fungal Infect Rep* 11: 134–140. 2017.

SAKITA, Karina Mayumi et al. Efficacy of ebselen against invasive aspergillosis in a murine model. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, p. 684525, 2021.

SANCHOTENE, Karine Ortiz et al. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. **Mycoses**, v. 58, n. 11, p. 652-658, 2015.

SANTI, Claudio; SCIMMI, Cecilia; SANCINETO, Luca. Ebselen and analogues: Pharmacological properties and synthetic strategies for their preparation. **Molecules**, v. 26, n. 14, p. 4230, 2021.

SÃO PAULO. Prefeitura do Município de São Paulo. Portaria SMS nº 470, de 30 de novembro de 2020. Institui, no Município de São Paulo, a notificação compulsória de esporotricose. Diário Oficial da Cidade de São Paulo, São Paulo, 1º dez. 2020. Disponível em: <https://legislacao.prefeitura.sp.gov.br/leis/portaria-secretaria-municipal-da-saude-sms-470-de-30-de-novembro-de-2020>. Acesso em: 22/01/2025.

SCHENCK, Benjamin Robinson. On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the *Sporotricha*. **Bull John Hopkins Hosp**, v. 9, p. 286-290, 1898.

SCHUBACH, Tânia MP et al. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998–2003). **Sabouraudia**, v. 44, n. 1, p. 87-92, 2006.

SECRETARIA DA SAÚDE DO RIO GRANDE DO SUL. Nota Técnica nº 3/2024: Diretrizes para notificação de casos confirmados de esporotricose animal no estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: SES-RS, 2024. Disponível em: <https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202407/18104641-nt-3-dve-esporotricose.pdf>. Acesso em: 19 jan. 2025.

SIES, Helmut; PARNHAM, Michael J. Potential therapeutic use of ebselen for COVID19 and other respiratory viral infections. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 156, p. 107-112, 2020.

SINGH, Nisha et al. A safe lithium mimetic for bipolar disorder. **Nature communications**, v. 4, n. 1, p. 1332, 2013.

THANGAMANI, Shankar et al. Ebselen exerts antifungal activity by regulating glutathione (GSH) and reactive oxygen species (ROS) production in fungal cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1861, n. 1, p. 3002-3010, 2017.

THOMSON, Pamela et al. Sporotrichosis outbreak due to *Sporothrix brasiliensis* in domestic cats in Magallanes, Chile: a one-health-approach study. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 2, p. 226, 2023.

TRÁPAGA, Mariana Rodrigues et al. *Sporothrix brasiliensis*-specific polymerase chain reaction for the diagnosis of cat and human sporotrichosis through non-invasive samples. **Medical Mycology**, v. 62, n. 8, p. myae075, 2024.

VARTAK, Richa et al. Ebselen nanoemulgel for the treatment of topical fungal infection. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 148, p. 105323, 2020.

WALL, Gina et al. Screening a repurposing library for inhibitors of multidrug-resistant *Candida auris* identifies ebselen as a repositionable candidate for antifungal drug development. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 62, n. 10, p. 10.1128/aac.01084-18, 2018.

VENTURINI, Tarcieli Pozzebon et al. Antifungal activities of diphenyl diselenide and ebselen alone and in combination with antifungal agents against *Fusarium* spp. **Sabouraudia**, v. 54, n. 5, p. 550-555, 2016.

WATSON-WILLIAMS, E. A preliminary note on the treatment of inoperable carcinoma with selenium. **British Medical Journal**, v. 2, n. 3067, p. 463, 1919.

WEIL, Richard. Chemotherapy and tumors. **Journal of the American Medical Association**, v. 64, n. 16, p. 1283-1289, 1915.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Global report on neglected tropical diseases 2023**. World Health Organization, 2023.

XAVIER, Melissa Orzechowski et al. Sporothrix brasiliensis: Epidemiology, Therapy, and Recent Developments. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 9, p. 921, 2023.

XUE, Hanqing et al. Review of drug repositioning approaches and resources. **International journal of biological sciences**, v. 14, n. 10, p. 1232, 2018.

YU, Bing et al. Ebselen improves fungal keratitis through exerting anti-inflammation, anti-oxidative stress, and antifungal effects. **Redox Biology**, v. 73, p. 103206, 2024.



Programa de
Pós-Graduação
em Ciências da Saúde

Universidade Federal do Rio Grande

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATA DA SESSÃO DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATA

A banca examinadora, designada pela Portaria nº 600/2025 de quatro de fevereiro de dois mil e vinte e cinco, em sessão presidida e registrada pela orientadora Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier, reuniu-se no dia vinte e sete de fevereiro de dois mil e vinte e cinco, às quatorze horas, na sala 214 (FAMED), para avaliar a Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, intitulada: "Atividade antifúngica *in vitro* do Ebselen frente ao *Sporothrix* spp." da mestrandia Diulien Canary de Lima. Para o início dos trabalhos, a Senhora Presidente procedeu à abertura oficial da sessão, com a apresentação dos membros da banca examinadora. A seguir, prestou esclarecimentos sobre a dinâmica de funcionamento da sessão, concedendo o tempo de até 30 (trinta) minutos para a apresentação da dissertação pelo mestrando, que iniciou às 14 horas e terminou às 14 horas e 40 minutos. Após a apresentação, passou a palavra aos membros da banca examinadora, para que procedessem à arguição e apresentassem suas críticas e sugestões. Ao término dessa etapa de avaliação, de acordo com os membros da banca examinadora, a dissertação de mestrado avaliada foi APROVADA.

Rio Grande, 27 de fevereiro de 2025.

Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier (Orientadora – FURG)

Profa. Dra. Cecília Bittencourt Severo (Externo – UFCSPA)

Profa. Dra. Andrea Von Groll (Titular – FURG)

Profa. Dra. Vanusa Pousada da Hora (Suplente - FURG)

M. Orzechowski Xavier
Cecília Bittencourt Severo
Andrea von Groll

CIENTE: Diulien Canary de Lima

Mestranda Diulien Canary de Lima