



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ARTUR VITOR CAVALCANTE MENEZES**

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO INIBITÓRIO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
CAPIM LIMÃO E GERÂNIO ENCAPSULADOS EM MICROPARTÍCULAS DE  
QUITOSANA FRENTE A CEPAS DE *Sporothrix* spp.**

**FORTALEZA**

**2025**

ARTUR VITOR CAVALCANTE MENEZES

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO INIBITÓRIO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
CAPIM LIMÃO E GERÂNIO ENCAPSULADOS EM MICROPARTÍCULAS DE  
QUITOSANA FRENTE A CEPAS DE *Sporothrix* spp.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Graduação em Ciências Biológicas do  
Centro de Ciências da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial à obtenção do  
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raimunda Sâmia  
Nogueira Brilhante.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M51a Menezes, Artur Vitor Cavalcante.  
Avaliação in vitro do efeito inibitório dos óleos essenciais de capim limão e gerânio encapsulados em micropartículas de quitosana frente a cepas de *Sporothrix SPP* / Artur Vitor Cavalcante Menezes. – 2025.  
52 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,  
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Raimunda Sâmia Nogueira Brilhante.

1. Micropartículas. 2. Produtos Naturais. 3. Esporotricose. I. Título.

CDD 570

---

ARTUR VITOR CAVALCANTE MENEZES

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO EFEITO INIBITÓRIO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
CAPIM LIMÃO E GERÂNIO ENCAPSULADOS EM MICROPARTÍCULAS DE  
QUITOSANA FRENTE A CEPAS DE *Sporothrix* spp.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Graduação em Ciências Biológicas do  
Centro de Ciências da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial à obtenção do  
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raimunda Sâmia Nogueira Brilhante (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr.<sup>a</sup> Maria Gleiciane da Rocha  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Me. Augusto Feynman Dias Nobre  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus amigos, à minha família e ao  
Guilherme, meu grande amor.

## AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro, assim como à Universidade Federal do Ceará e ao curso de Ciências Biológicas por toda a infraestrutura fornecida que possibilitou a minha formação.

Agradeço ao One Health Microbiology Laboratory por toda a infraestrutura que possibilitou a execução dessa pesquisa, e pelos incríveis profissionais e estudantes que compõem o corpo técnico que em muito me ajudaram e contribuíram com o meu crescimento como biólogo e cientista microbiologista.

Em meio a tantos profissionais amargos, deixo meu agradecimento aos que fizeram meus olhos brilhar. Obrigado professora Erika pelo apoio imenso durante a graduação, mesmo após eu ter saído do PET, com a senhora eu vi o que é realmente ser um professor, e lhe tenho como um modelo profissional a ser seguido. Para as professoras Iracema e Ligia, agradeço pelas melhores disciplinas durante a época da pandemia e por aflorar meu interesse por plantas. À professora Sâmia, agradeço por ter me recebido de braços abertos no laboratório e ter sempre se mostrado disposta a me ajudar, principalmente a crescer no âmbito acadêmico.

Aos meus amigos e colegas, dedico esse breve parágrafo. A graduação não foi fácil, disciplinas com professores sem nenhum censo da realidade, brigas e discussões causadas por falta de maturidade e cobranças absurdas. Vontade de trancar o curso foi algo que nunca faltou. Mas ter com quem contar nesses momentos, poder rir das situações absurdas ou insalubres que a gente passou, fizeram toda a diferença para mim. Não sou incrivelmente próximo de todos, mas saiba que se já conversamos no ventão, no PET, no laboratório, durante intervalo de aula ou entre aulas, eu provavelmente tenho apreço por você. Obrigado por terem me acompanhado até aqui.

Para a minha família, agradeço-os pelo apoio e carinho, principalmente da minha mãe que me apoiou em todas as decisões que tomei e sempre fazia questão de dizer que independente de tudo, ela estaria do meu lado. Agradeço do fundo do meu coração a vocês.

Ao meu namorado, Guilherme, nem uma página completa de agradecimentos seriam suficientes para expressar o quão grato sou por ter você. Obrigado por ter me incentivado a buscar o que eu realmente queria, por ter escutado horas e horas das minhas reclamações e frustrações com tudo que acontecia, e por sempre ter me aconselhado. Dificilmente eu teria chegado até aqui sem você.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino” (Leonardo da Vinci).

## RESUMO

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos cosmopolitas e termodimórficos do gênero *Sporothrix*, que são transmitidos principalmente por via sapronótica. No Brasil, a esporotricose surge nas regiões Sul e Sudeste com uma característica distinta: a transmissão zoonótica, que ocorre via contato com felinos contaminados ou por lesões causadas por esses animais. O número de casos da doença aumentou e o panorama mostra o seu avanço para outras regiões, como o Nordeste. O tratamento atual para a doença é feito com antifúngicos clássicos como o itraconazol. No entanto, devido à toxicidade desses fármacos, e relatos de recidivas e infecções refratárias, tem-se buscado alternativas terapêuticas. Sabendo que os óleos essenciais e a quitosana são substâncias naturais com atividade antimicrobianas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antifúngico dos óleos essenciais de capim-limão e gerânio isolados e encapsulados em micropartículas de quitosana frente a cepas de *Sporothrix* spp. na sua forma planctônica filamentosa e leveduriforme. Assim como buscou-se avaliar se cepas isoladas a partir de regiões diferentes apresentariam perfis de sensibilidade diferente. Para tanto, foi realizado ensaios de sensibilidade com as células planctônicas de *Sporothrix globosa*, *Sporothrix brasiliensis* e *Sporothrix schenckii*, e com a forma leveduriforme de *Sporothrix brasiliensis*, através da metodologia de microdiluição em caldo para a obtenção das concentrações inibitórias mínimas dos compostos testes capazes de inibir o crescimento fúngico. Para as formas planctônicas, a micropartícula de quitosana com o óleo de capim-limão (MQCL) obteve valores que variaram de 0,5 a 2 µg/mL frente a *S. brasiliensis*, 1 µg/mL frente a *S. globosa* e de 0,5 a 2 µg/mL frente a *S. schenckii*. Para o óleo de gerânio encapsulado (MQG), os valores foram de 0,5 a 2 para *S. brasiliensis*, e de 0,5 a 2 para *S. globosa* e *S. schenckii*. Por fim, na forma leveduriforme, a MQCL apresentou 1 a 4 µg/mL e a MQG apresentou 1 µg/mL. Estes valores são próximos, ou até mesmo melhores, que os obtidos frente ao antifúngico clássico itraconazol, medicamento de primeira escolha no tratamento de esporotricose, que apresentou concentrações de 0,5 a 4 µg/mL (filamentoso) e 0,5 a 2 µg/mL (leveduriforme) frente a *S. brasiliensis*, 1 µg/mL para *S. globosa* e 0,5 a 1 para *S. schenckii*. Desta forma, as micropartículas carregadas com óleos essenciais se mostraram promissoras para o desenvolvimento de novos tratamentos para esporotricose e não foi possível observar diferença nos perfis de sensibilidade entre cepas de regiões diferentes.

**Palavras-chave:** Micropartículas; Produtos Naturais; Esporotricose.

## ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis caused by cosmopolitan, thermodynamically stable fungi of the genus *Sporothrix*, which are transmitted mainly by the saprozoic route. In Brazil, sporotrichosis appears in the South and Southeast regions with a distinct characteristic: zoonotic transmission, which occurs via contact with contaminated felines or through lesions caused by these animals. The number of cases of the disease has increased and the panorama shows its spread to other regions, such as the Northeast. The current treatment for the disease is classic antifungal drugs such as itraconazole. However, due to the toxicity of these drugs and reports of relapses and refractory infections, therapeutic alternatives have been sought. Knowing that essential oils and chitosan are natural substances with antimicrobial activity, the aim of this study was to evaluate the antifungal effect of lemongrass and geranium essential oils isolated and encapsulated in chitosan microparticles against strains of *Sporothrix* spp. in their filamentous and yeast planktonic form. The aim was also to assess whether strains isolated from different regions had different sensitivity profiles. To this end, sensitivity tests were carried out with the planktonic cells of *Sporothrix globosa*, *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii*, and with the yeast form of *Sporothrix brasiliensis*, using the broth microdilution methodology to obtain the minimum inhibitory concentrations of the test compounds capable of inhibiting fungal growth. For the planktonic forms, the chitosan microparticle with lemongrass oil (MQCL) obtained values ranging from 0.5 to 2 µg/mL against *S. brasiliensis*, 1 µg/mL against *S. globosa* and from 0.5 to 2 µg/mL against *S. schenckii*. For encapsulated geranium oil (MQG), the values were 0.5 to 2 for *S. brasiliensis*, and 0.5 to 2 for *S. globosa* and *S. schenckii*. Finally, in the yeast form, MQCL showed 1 to 4 µg/mL and MQG showed 1 µg/mL. These values are close to, or even better than, those obtained with the classic antifungal itraconazole, the drug of choice for treating sporotrichosis, which showed concentrations of 0.5 to 4 µg/mL (filamentous) and 0.5 to 2 µg/mL (yeast) against *S. brasiliensis*, 1 µg/mL against *S. globosa* and 0.5 to 1 for *S. schenckii*. Thus, the microparticles loaded with essential oils proved promising for the development of new treatments for sporotrichosis and it was not possible to observe any difference in sensitivity profiles between strains from different regions.

**Keywords:** Microparticles; Natural Products; Sporotrichosis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição global do gênero <i>Sporothrix</i> .....	19
Figura 2 – Ocorrência de esporotricose humana e felina no Brasil.....	20
Figura 3 – Forma cutânea-fixa e linfocutânea da esporotricose .....	21
Figura 4 – Lesões causadas por esporotricose em felinos .....	22
Figura 5 – Forma filamentosa de <i>Sporothrix</i> spp. ....	23
Figura 6 – Forma leveduriforme de <i>Sporothrix</i> spp. ....	24

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Origem e local de isolamento das cepas de <i>Sporothrix</i> spp. utilizadas neste estudo .....	32
Tabela 2 – Ensaio de sensibilidade filamentoso com CIM capaz de inibir 50% do crescimento fúngico .....	35
Tabela 3 – Ensaio de sensibilidade filamentoso com CIM capaz de inibir 100% do crescimento fúngico .....	36
Tabela 4 – Ensaio de sensibilidade leveduriforme com CIM capaz de inibir 50% do crescimento fúngico .....	38
Tabela 5 – Ensaio de sensibilidade leveduriforme com CIM capaz de inibir 100% do crescimento fúngico .....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMB	Anfotericina B
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standards Institute</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ITC	Itraconazol
mL	Mililitro
MQ	Micropartícula de Quitosana
MQCL	Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Capim-Limão
MQG	Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Gerânio
OECL	Óleo Essencial de Capim-Limão
OEG	Óleo Essencial de Gerânio
OneHMic Lab	<i>One Health Microbiology Laboratory</i>
RPMI	Meio suplementado (de <i>Roswell Park Memorial Institute</i> )
TBR	Terbinafina
µg	Micrograma

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	15
2.1	<i>Sporothrix</i> .....	15
2.1.1	<i>Histórico</i> .....	15
2.1.2	<i>Aspectos Taxonômicos</i> .....	16
2.1.3	<i>Aspectos Ecológicos</i> .....	17
2.1.4	<i>Fatores de Virulência</i> .....	17
2.2	Esporotricose .....	18
2.2.1	<i>Aspectos Epidemiológicos</i> .....	18
2.2.2	<i>Manifestações Clínicas</i> .....	21
2.2.3	<i>Diagnóstico</i> .....	23
2.2.4	<i>Tratamento Atual</i> .....	26
2.3	Compostos Teste .....	27
2.3.1	<i>Óleos Essenciais</i> .....	27
2.3.1.1	<i>Óleo Essencial de Capim Limão</i> .....	29
2.3.1.2	<i>Óleo Essencial de Gerânio</i> .....	29
2.3.2	<i>Micropartícula de Quitosana</i> .....	30
3	OBJETIVOS .....	31
3.1	Objetivo Geral .....	31
3.2	Objetivos Específicos .....	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	32
4.1	Microrganismo .....	32
4.2	Composto Teste .....	33
4.3	Teste de Sensibilidade Antifúngica .....	33
5	RESULTADOS .....	35
5.1	Ensaio de sensibilidade antifúngico filamentoso .....	35
5.2	Ensaio de sensibilidade antifúngico leveduriforme .....	36
6	DISCUSSÃO .....	38
7	CONCLUSÃO .....	41
	REFERÊNCIAS .....	42

## 1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea de distribuição global, causada por fungos termodimórficos do gênero *Sporothrix*. Esses fungos são tipicamente encontrados na forma filamentosa no ambiente e na forma de levedura quando infectam organismos hospedeiros. Das 53 espécies que compõem o gênero, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix luriei*, *Sporothrix brasiliensis* e *Sporothrix schenckii* são as principais responsáveis por infecções em humanos e animais (Lopes-Bezerra *et al.*, 2018; Rodrigues; Hagen; Camargo, 2022).

Embora o fungo ocorra mundialmente, ele apresenta preferência por regiões com temperaturas e umidade elevadas. Por isso, é mais comum em continentes como Ásia, África e Américas, afetando países como China, África do Sul e Brasil (Zhou, 2013; Chakrabarti, 2015). No Brasil, os casos de esporotricose têm aumentado significativamente nos últimos anos, sendo considerada uma zoonose emergente, já que a transmissão ocorre principalmente por meio do contato direto com gatos infectados, tendo *S. brasiliensis* como principal agente etiológico (Gremião, 2020). No Ceará, o primeiro caso foi registrado no ano de 2022 (Damasceno *et al.*, 2023).

Raramente o organismo consegue neutralizar o patógeno e os sintomas da esporotricose sem intervenção médica, sendo necessário tratamento específico (Rodrigues *et al.*, 2022). O tratamento varia de acordo com a espécie do fungo, o estado imunológico do paciente e o tipo de lesão. Os antifúngicos mais comumente utilizados incluem iodeto de potássio, itraconazol (ITC), terbinafina (TRB) e anfotericina B (AMB) (Rodrigues; Hagen; De Camargo, 2022). No entanto, esses medicamentos podem causar efeitos colaterais significativos, e já há registros de resistência fúngica a essas drogas. *S. brasiliensis*, por exemplo, já apresenta resistência descrita para o ITC e apresenta variações no perfil de sensibilidade de acordo com o local na qual foi isolada (Waller *et al.*, 2020). Dessa forma, é essencial buscar novos mecanismos, fármacos ou moléculas capazes de inibir o crescimento fúngico.

Nesse contexto, estudos com óleos essenciais (OE) como o óleo de capim-limão (OECL) e o óleo de gerânio (OEG), amplamente utilizados na medicina tradicional, vêm sendo conduzidos para avaliar seu potencial no tratamento de microrganismos patogênicos e resistentes a drogas (Bakkali *et al.*, 2008; Bazargani; Rohloff, 2016; Oliveira *et al.*, 2020). Ambos já demonstraram atividade antimicrobiana contra a bactéria *Acinetobacter*

*baumannii* (Gundel *et al.*, 2018), e os fungos *Candida* spp. (Lima *et al.*, 2018) e *Cryptococcus grubii* (Adukwu *et al.*, 2016).

Os óleos essenciais são compostos complexos formados por metabólitos secundários de plantas aromáticas e podem ser extraídos de diversas partes do vegetal. Devido à presença de terpenos e fenilpropanoides, são voláteis e instáveis em condições de luz, calor e oxigênio (Gundel *et al.*, 2018; Moghimi *et al.*, 2016). Por isso, técnicas como o microencapsulamento têm sido exploradas para estabilizar esses compostos, reduzindo sua evaporação, oxidação e toxicidade (Cortés-Camargo *et al.*, 2017). A quitosana é uma das substâncias utilizadas para encapsulamento, devido à sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade (Penha *et al.*, 2020).

A quitosana é um biopolímero obtido a partir da desacetilação da quitina, composto por D-glucosamina desacetilada e N-acetil-D-glucosamina (Costa *et al.*, 2017; Shariatinia, 2019). Por ser uma molécula lipofílica catiônica, ela interage com estruturas de carga negativa, como membranas e paredes celulares, causando danos dependendo de seu peso molecular (Costa *et al.*, 2017; Garcia *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2020). Assim, a quitosana apresenta potencial antimicrobiano significativo.

Dessa forma, o microencapsulamento com quitosana não apenas estabiliza os óleos essenciais, mas também pode potencializar sua ação contra patógenos. Por tanto, o presente trabalho se propõe a analisar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de capim-limão e gerânio, na forma isolada e encapsulada em micropartículas de quitosana, frente a cepas sudestinas e cearenses de fungos do gênero *Sporothrix* na forma planctônica filamentosa e leveduriforme.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Sporothrix* spp.

#### 2.1.1 Histórico

Em 1896, um estudante de medicina da Johns Hopkins Hospital em Baltimore, Benjamin Schenck, atende um paciente que apresentava uma infecção no dedo que avançava em direção ao braço, causando ulcerações subcutâneas. Schenck isolou o organismo patológico em meio de cultura e detalhou suas características (Hektoen & Perkins, 1900).

Quatro anos depois, em 1900, o médico Dr. Perkins relatou o segundo caso, atendendo uma criança de 5 anos com uma lesão em seu dedo causada por uma pancada de martelo. Assim como no primeiro relato, o garoto apresentava ulcerações que pareciam avançar em direção ao seu braço. A bateria de exames executada por Perkins, entre eles o de cultura, levou-o à conclusão que se tratava do mesmo organismo descrito por Schenck. Com base nisso, Perkins e Hektoen nomearam o patógeno como *Sporothrix schenckii* (Barros; Almeida-Paes; Schubach, 2011; Hektoen; Perkins, 1900).

Apesar desses primeiros casos descritos serem no continente norte americano, ao longo do século XX diversos casos da doença passaram a ser notificados em outros continentes, como África e Europa. Na França, a esporotricose tornou-se comum, o que levou à publicação de diversas descrições da condição por médicos. E em 1903, o dermatologista Sabouraud sugeriu como tratamento para a doença o iodeto de potássio, que mostrou resultados satisfatórios no controle da infecção e permanece como forma de tratamento para a micose hodiernamente (Kwon-Chung; Bennet, 1992).

No Brasil, o primeiro caso confirmado surge em 1902, mas a descrição só foi publicada em 1907 junto a uma coletânea de casos, por Lutz e Splendore. Esse trabalho descreveu cinco casos de esporotricose em humanos da cidade de São Paulo (SP) e levantou a possibilidade de transmissão zoonótica por meio de ratos infectados (Benchimol & Sá, 2004).

Desde então, diversos casos de esporotricose em animais, assim como ocorrências de transmissão zoonótica, foram relatados (Araujo *et al.*, 2023; Fleury *et al.*, 2001; Guimarães; Guimarães, 2022; Xavier *et al.*, 2004). A maioria desses casos se concentra na região Sudeste do país, transmitida principalmente por gatos, e configura-se como um caso de saúde pública (Rodrigues; Hagen; De Camargo, 2022).

### 2.1.2 Aspectos taxonômicos

*Sporothrix* compreende um gênero de fungos com mais de 53 espécies identificadas. Pela taxonomia vigente, ele está no filo Ascomycota, um dos mais ricos em diversidade de fungos. Dentro deste filo, ele se encontra no subfilo Pezizomycotina e na classe Sordariomycetes, composta por indivíduos tipicamente saprófitos, endófitos ou patógenos, afetando animais, humanos e plantas. O gênero também está inserido na ordem Ophiostomatales, composta por patógenos, família Ophiostomataceae (Guarro; Gené; Stchigel, 1999; Rodrigues *et al.*, 2020; Shen *et al.*, 2020; Taylor; Krings; Taylor., 2015).

Entretanto, determinar sua taxonomia não foi fácil. Ao longo do século XX houve diversas discussões sobre o mesmo ser de um gênero ainda não descrito ou fazer parte dos *Ophiostoma*. A primeira classificação surgiu com a descrição feita por Schenck em 1896. A partir dela, o Dr. Erwin F. Smith afirma que o fungo faz parte do gênero *Sporotrichum* (Hektoen; Perkins, 1900).

Ao descreverem o patógeno em 1900, Hektoen e Perkins propõem que seria um novo gênero, *Sporothrix*, nomeando-o como *Sporothrix schenckii*. No entanto, devido à ausência de uma diagnose em latim, essa classificação tornou-se inválida para a comunidade científica. Assim, os pesquisadores da época optaram por utilizar a descrição de Schenck e alocaram o fungo no gênero *Sporotrichum*, filo Basidiomycota (De Beer; Duong; Wingfield, 2016).

Somente em 1962 o gênero *Sporothrix* passou a ser aceito pela comunidade científica, após Carmichael publicar uma revisão de classificação e nomenclatura para diversos fungos. Entre eles estava o *Sporotrichum schenckii*, que seria retirado do gênero *Sporotrichum*, se tornando a espécie tipo do gênero *Sporothrix* e seu nome oficial seria *Sporothrix schenckii* (Carmichael, 1962).

Inicialmente, acreditava-se que a esporotricose era causada por um único agente patogênico, *Sporothrix schenckii*. No entanto, com a descoberta das espécies *S. globosa*, *S. brasiliensis* e *S. mexicana*, Marimon *et al.* (2007) propuseram que, na realidade, trata-se de um complexo de espécies, denominado complexo *S. schenckii*. De acordo com Chen *et al.* (2016), o termo "complexo de espécies" é utilizado para se referir a grupos de organismos ou linhagens taxonomicamente relacionadas, mas que são difíceis de distinguir entre si. Esse termo é geralmente empregado quando há dificuldade em diferenciar espécimes devido à falta de consenso taxonômico ou por razões práticas, como no caso de espécies de interesse clínico.

No entanto, estudos sobre o sistema *Sporothrix*-esporotricose evidenciaram que as espécies que compõem o complexo *S. schenckii* apresentam diferenças significativas em múltiplos aspectos, como fisiologia, genética e epidemiologia, devendo, portanto, ser tratadas como espécies distintas, a partir disso, autores como Rodrigues et al. (2020) propõem uma nova nomenclatura: "clado clínico" - uma vez que as espécies incluídas nesse grupo, *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana* e *S. luriei*, são tipicamente isoladas de humanos e animais. Para as demais espécies de *Sporothrix*, que não estão associadas a infecções, sugere-se o termo "clado ambiental".

### **2.1.3 Aspectos Ecológicos**

O reino Fungi é composto por microrganismos heterotróficos que apresentam grande diversidade em estrutura, forma de vida e hábitos. Devido a essa variedade, é comum que, dentro de um ecossistema, seus integrantes ocupem diferentes nichos ecológicos. Eles podem formar associações mutualísticas com algas e raízes de plantas, atuar como parasitas de plantas e animais, além de serem decompositores de matéria orgânica no solo (saprófitos) (De Boer, 2005; Dix; Webster, 1995).

Sendo a segunda maior classe do filo Ascomycota, a classe Soedariomycetes é composta por gêneros de fungos saprófitos ou parasitas, de plantas ou animais. Entre eles, temos o gênero *Sporothrix*, caracterizados como cosmopolitas e de hábito predominantemente saprófito, com o parasitismo sendo considerado facultativo, visto que os indivíduos completam seu ciclo de vida sem precisar infectar um hospedeiro (Maharachchikumbura, 2016; Rodrigues et al, 2020; Rodrigues; Hagen; De Camargo, 2022).

Nesse gênero, o hábito parasitário se limita a ocorrência em animais, desde invertebrados, como insetos, até em vertebrados domésticos ou selvagens, como bois, burros, cabras, cães, camelos, camundongos, chimpanzés, gatos, humanos, porcos, ratos e tatus, não tendo sido descrita a capacidade para infectar células vegetais (Sidrim; Rocha; 2004; Xavier et al., 2023). Somente 8 espécies possuem capacidade para infectar mamíferos, e somente as 4 que compõem o clado clínico possuem capacidade de infectar humanos (De Beer; Duong; Wingfield, 2016; Rodrigues; De Hoog; De Camargo, 2018).

### **2.1.4 Fatores de Virulência**

Para sobreviver em um ambiente competitivo, devido a grande quantidade de microrganismos que habitam os solos, esses fungos desenvolveram estratégias de sobrevivência, sendo as principais a produção de melanina na parede celular, a formação de biofilmes e o termodimorfismo (Barros; De Almeida Paes; Schubach, 2011; Kim, 2022).

Os biofilmes podem ser definidos como comunidades microbianas embebidas em uma matriz adesiva de polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos, que unem as células. Eles se formam sobre superfícies bióticas e abióticas, funcionando como prisões de nutrientes essenciais para as células e impedindo seu destacamento da superfície (Brilhante *et al.*, 2020; Madigan *et al.*, 2016). Já a melanina não está diretamente relacionada à competição por nutrientes e espaço, mas sim à resposta a estresses ambientais, como as espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas pela incidência de raios UV (García-Carneiro; Martínez-Álvarez, 2022). No entanto, ambas as adaptações também conferem vantagens ao fungo durante a infecção: o biofilme dificulta a ação de antimicrobianos, impedindo que alcancem as células fúngicas e a melanina aumenta a resistência aos ROS produzidos pelas células de defesa do hospedeiro e diminui a eficácia de antifúngicos. Outros mecanismos de resistência a antimicrobianos já foram descritos, incluindo bombas de efluxo e mudanças na expressão gênica (Giordano; Giannoudis, 2024; Sharma; Parmanu; Sharma, 2024)

O termodimorfismo, por sua vez, não parece ser uma adaptação voltada para a sobrevivência no ambiente, mas sim uma especialização para infecções em hospedeiros de sangue quente, como mamíferos. Essa característica provoca alterações na parede e na membrana celular, permitindo que o fungo se adapte e evada o sistema imunológico do hospedeiro (He *et al.*, 2020). Essas alterações resultam na transição entre as formas filamentosas e leveduriformes, dependendo da temperatura do ambiente. Assim, indivíduos do gênero *Sporothrix* são encontrados na forma filamentosa quando expostos a temperaturas de 25°C, e na forma leveduriforme a temperaturas entre 35 e 37°C, que correspondem à temperatura corporal de hospedeiros de sangue quente (Carvalho *et al.*, 2021).

## **2.2 Esporotricose**

### **2.2.1 Aspectos Epidemiológicos**

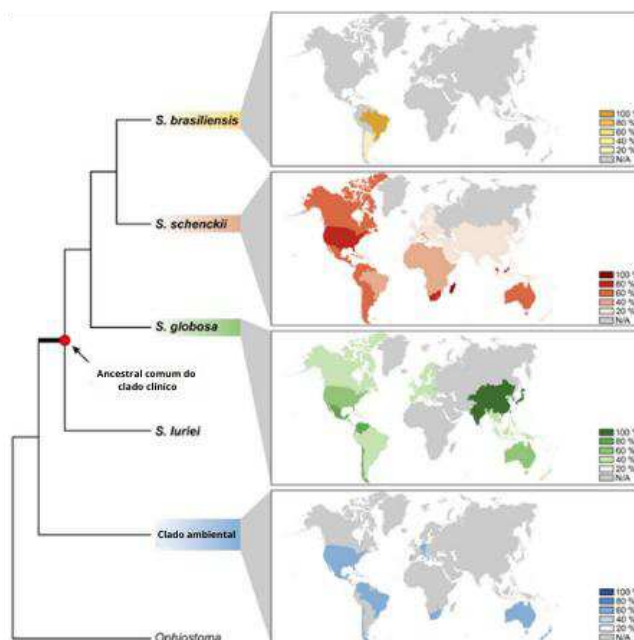
A esporotricose é a micose subcutânea de maior ocorrência no mundo (Rodrigues; Hoog; De Camargo, 2022). Durante muito tempo, a doença esteve associada a lesões causadas em jardineiros, fazendeiros e outras profissões ou atividades recreativas que envolvem o

manuseio de solos, e por isso era também chamada de “doença do jardineiro” (Rodrigues et al., 2022). Apesar de sua distribuição global, o maior número de casos ocorre em regiões tropicais e subtropicais, com variações na distribuição das espécies de *Sporothrix* (Carvalho et al., 2021; Mora-Montes, 2022).

Na literatura, são descritas três rotas de transmissão da esporotricose: sapronótica, zoonótica e vertical. A via sapronótica é a mais clássica e ocorre quando o fungo é inoculado em lesões do hospedeiro por meio do contato com solo ou restos de vegetais contaminados. A transmissão vertical ocorre de um animal para outro, enquanto a zoonótica, também chamada de via alternativa, acontece quando humanos entram em contato com animais infectados, como gatos. Esta última rota é típica de *S. brasiliensis* (Dos Santos et al., 2022; Gremião et al., 2021; Rodrigues; Hoog; De Camargo, 2016).

De modo geral, *S. schenckii* é o principal agente causador da esporotricose na maior parte do mundo (Figura 1). No entanto, em países asiáticos como China, Índia e Malásia, regiões endêmicas da doença, o agente etiológico predominante é *S. globosa*. Nas Américas, há variação na distribuição das espécies, com predominância de *S. schenckii* em muitos países, mas com *S. brasiliensis* sendo o principal patógeno em países como Argentina e Brasil. Esta espécie apresenta uma peculiaridade em relação às demais: sua capacidade de transmissão zoonótica (Carvalho et al., 2021; Chakrabarti et al., 2015; Mora-Montes, 2022; Rodrigues; Hagen; De Camargo, 2022; Thomson et al., 2019).

Figura 1 – Distribuição global do gênero *Sporothrix*

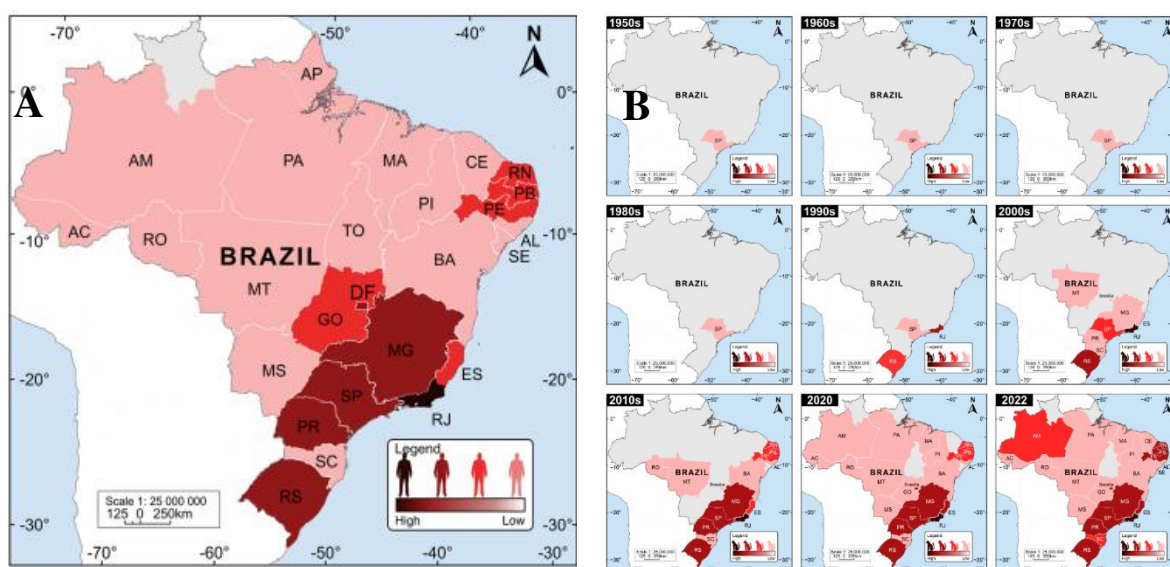


Fonte: Adaptado e traduzido de Rodrigues et al. (2020)

No Brasil, a esporotricose ocorre tanto pela via sapronótica, causada por *S. globosa* e *S. schenckii*, quanto pela via vertical e zoonótica, transmitida por *S. brasiliensis*. Esta última inicialmente era prevalente somente nas regiões Sul e Sudeste, afetando os estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul. O comportamento territorialista dos gatos, com disputas frequentes, o hábito de enterrar fezes, afiar as garras em árvores, o acesso fácil às ruas e o ato de se lambar para se limpar tornam esses animais hospedeiros ideais para *S. brasiliensis* e o principal transmissor do patógeno (Etchecopaz et al., 2021; Gremião et al., 2021; Rodrigues; Hoog; De Camargo, 2016).

Apesar da maior ocorrência nas regiões Sul e Sudeste, a esporotricose vem se expandindo para outras partes do país (Figura 2), com casos relatados em 25 dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal. Desses, 11 estados são considerados áreas de surto da doença, tendo a transmissão zoonótica como a via principal de transmissão (Rodrigues et al., 2020). Atualmente, a esporotricose é classificada como uma doença de notificação compulsória apenas nos estados do Rio de Janeiro, Pernambuco e Paraíba, além de alguns municípios de São Paulo, Bahia e Minas Gerais (Falcão et al., 2019). No Nordeste, os estados mais afetados são Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte (Rodrigues et al., 2022). Já no Ceará, o primeiro caso da doença em felino autóctone foi registrado em 2022 (Damasceno et al., 2023).

Figura 2 – Ocorrência de esporotricose humana e felina no Brasil



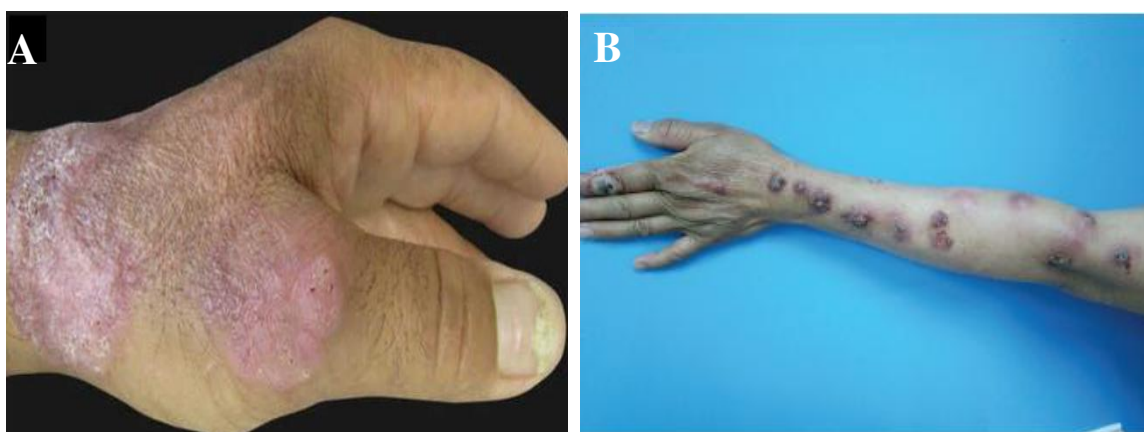
Fonte: A - Rodrigues *et al.* (2020); B - Rodrigues *et al.* (2022). Legenda: A – Imagem da distribuição de casos de esporotricose em humanos no Brasil; B – Progressão da esporotricose felina no Brasil desde 1950 a 2022.

### 2.2.2 Manifestações Clínicas

A esporotricose é uma micose considerada de amplo espectro clínico, pois sua sintomatologia depende de inúmeros fatores como a quantidade e a profundidade do inóculo, o estado do sistema imune do paciente e se ele possui comorbidades ou não (Barros; Almeida-Paes; Schubach, 2011; Falcão *et al*, 2019). No entanto, é possível dividi-la em duas grandes categorias: esporotricose cutânea e extracutânea; cada qual contendo formas clínicas específicas (Queiroz-Telles; Buccheri; Bernard, 2019).

Por esporotricose cutânea, refere-se a doença quando as células fúngicas leveduriformes localizam-se no tecido subcutâneo, sendo esta a forma clínica chamada de cutânea-fixa ou localizada (Figura 3A). Mas há a possibilidade delas se alocarem nos vasos linfáticos, formando a linfocutânea (Figura 3B) (Bonifaz; Tirado-Sánchez, 2017). Ambas são as apresentações clínicas mais frequentes em humanos e animais, entretanto, se manifestam de formas diferentes. O aparecimento de nódulos é característico da linfocutânea, e eles tendem a se distribuir seguindo o caminho do sistema linfático, desenhando uma linha. Além disso, são dolorosos, podem se tornar úlceras ou formar fístulas (Rodrigues *et al*, 2020; Sharma; Sharma; Sharma, 2022; Sivagnanam *et al*, 2012).

Figura 3 – Forma cutânea-fixa e linfocutânea da esporotricose



Fonte: A - Orofino-Costa *et al* (2022); B - Yu e Zhang (2021). Legenda: A - Lesões na pele causada por esporotricose localizada; B - Lesões nodulares e ulcerativas distribuídos pelos vasos linfáticos.

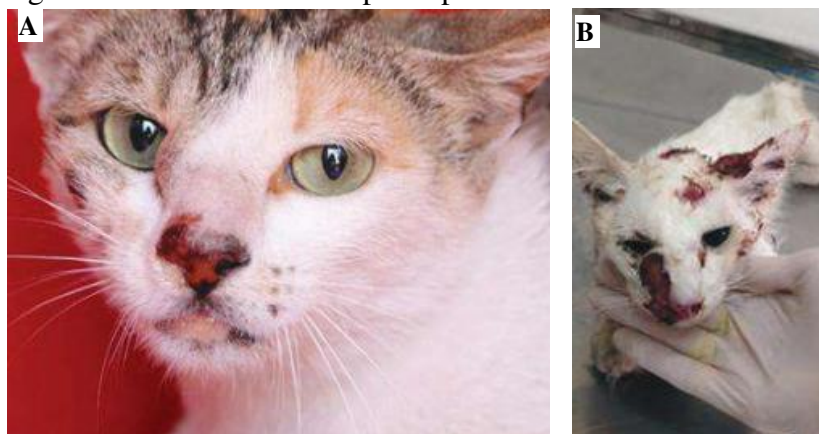
Em contrapartida, se a sintomatologia consiste no surgimento de uma lesão na pele que cresce lentamente com aspecto ulcerado, verrugoso ou papular, e com halo eritematoso, escamoso ou violáceo, trata-se da forma cutânea localizada (Rodrigues *et al*, 2020; Sharma; Sharma; Sharma, 2022). Ainda sobre as formas cutâneas, temos a cutânea-disseminada, uma

forma rara que está relacionada a pacientes que possuem comorbidades ou são imunossuprimidas e é considerada severa. Suas características incluem o surgimento de nódulos ulcerados e placas verrucosas em qualquer superfície do corpo, incluindo regiões de mucosa. Ela pode se espalhar para órgãos e sistema e, em alguns casos, também para os ossos e juntas, gerando lesões granulomatosas, dor e edemas (Bonifaz; Tirado-Sánchez, 2017).

Assim como a cutânea-disseminada, a extracutânea também é considerada uma forma severa da esporotricose e afeta imunossuprimidos ou pessoas com comorbidades. Ela é difícil de diagnosticar devido à similaridade com outras doenças, e pode ocorrer em vários órgãos como coração, olhos, fígado, rim, cérebro e pulmão. Os sintomas variam de acordo com o órgão ou sistema afetado pela doença (Barros; Almeida-Paes; Schubach, 2011; Bonifaz; Tirado-Sánchez, 2017).

Nos humanos, dificilmente a patologia leva ao óbito. Entretanto, esta não é a realidade quando se trata dos felinos, eles apresentam com maior frequência as formas mais sérias da doença. O surgimento de uma ou mais lesões ulcerosas na cabeça, tórax ou nas extremidades é o principal indicativo de esporotricose nesses animais (Figura 4) (Alvarez; Oliveira; Pires, 2022).

Figura 4 – Lesões causadas por esporotricose em felinos



Fonte: Adaptado de Santos *et al* (2018). Legenda: A – Gato com lesão ulcerativa nodular no plano nasal. B – Lesões ulcerativas no plano nasal, cabeça e orelha de um gato.

### 2.2.3 Diagnóstico

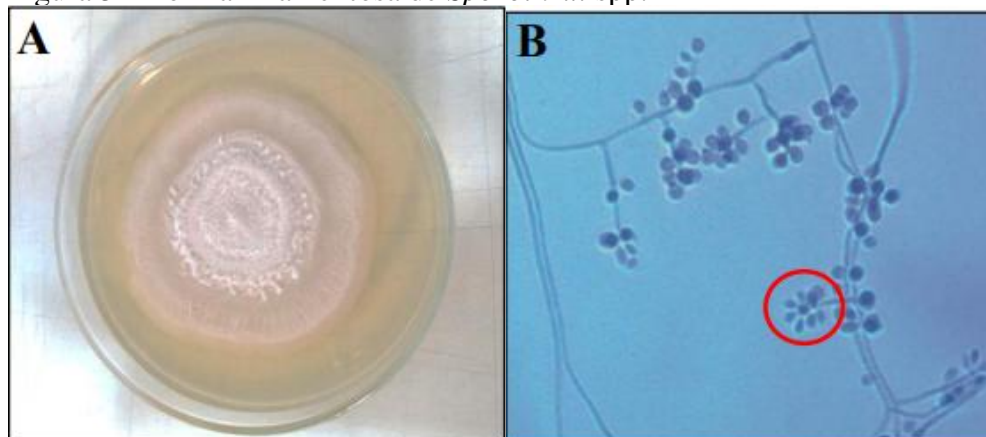
Por ser uma patologia com amplo espectro, pode ser difícil chegar ao diagnóstico de esporotricose utilizando somente os dados clínicos, pois algumas de suas manifestações clínicas se assemelham a outras doenças, como a leishmaniose tegumentar, lúpus eritematoso, paracoccidiodomicose, cromomicose e até mesmo tuberculose. Logo, recomenda-se a

correlação entre dados clínicos e laboratoriais para o diagnóstico (Barros; De Almeida Paes; Schubach, 2011; Rodrigues *et al.*, 2022).

Dados laboratoriais podem ser obtidos a partir de diferentes técnicas. Dentre as clássicas, o isolamento em cultura é considerado o padrão ouro para identificar o gênero *Sporothrix* (Alvarez; Oliveira; Pires, 2022). Apesar de eficiente, ela depende de como a coleta da amostra foi feita, sendo preferível biópsias ou amostras de pus do tecido mais profundo (Rudramurthy; Chakrabarti, 2017). Em gatos, devido à grande concentração de leveduras nas lesões, também é possível coletar via swab (Santos *et al.*, 2017). Os meios utilizados são: Ágar Sabouraud dextrose, Ágar Sabouraud com Cloranfenicol e Ágar Sabouraud com Cloranfenicol e Cicloheximida (Orofino-Costa *et al.*, 2022; Rudramurthy; Chakrabarti, 2017). Temos também o meio Ágar Brain Heart Infusion para a reversão para a forma leveduriforme, não muito utilizado na rotina laboratorial, mas com uso significativo na área da pesquisa (Sharma; Sharma; Sharma, 2022). O período de crescimento de *Sporothrix* spp é de 5 a 7 dias, em temperatura de 27° C, após esse período surgem as primeiras hifas hialinas da colônia. Para a forma leveduriforme a única diferença é a temperatura, que deve ser de 35 a 37 °C (Rudramurthy; Chakrabarti, 2017; Sharma; Sharma; Sharma, 2022).

Quando cultivadas a temperaturas entre 25°C e 28°C, as colônias de *Sporothrix* spp. apresentam uma coloração creme (Figura 5A), tornando-se marrom escuro com o tempo, com superfície plana, rugosa e aspecto aveludado a membranoso. Micromorfologicamente, observam-se hifas hialinas, septadas e ramificadas. Os conídios crescem diretamente nas hifas ou ao redor de um conidióforo (simpodialoconídios), lembrando a aparência de uma flor de margarida (Figura 5B) (Barros; Paes; Schubach, 2011).

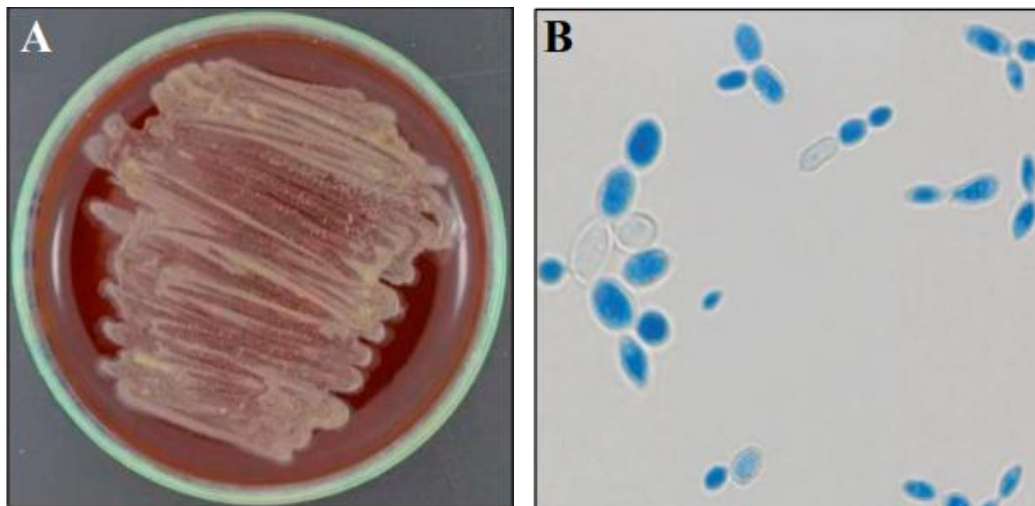
Figura 5 – Forma Filamentosa de *Sporothrix* spp.



Fonte: **A** – OneHMicLab (2021); **B** – Orofino-Costa *et al.* (2017). Legenda: **A** – Macroscopia de *Sporothrix* spp. na forma filamentosa. Colônia com aspecto membranoso. **B** – Microscopia de *Sporothrix* spp. filamentoso corado com lactofenol azul de algodão, mostrando hifas hialinas e os conidióforos, exemplificado no círculo em vermelho.

Na forma de levedura, as colônias apresentam coloração bege ou creme e textura lisa (Figura 6A). Micromorfológicamente, observam-se células fusiformes e ovais, com diâmetro variando entre 2,5 e 5  $\mu\text{m}$ , exibindo uma aparência semelhante a botões em formato de charuto (Figura 6B) (Rodrigues *et al.*, 2022)

Figura 6 – Forma Leveduriforme de *Sporothrix* spp.



Fonte: **A** – OneHMicLab (2021); **B** – Rodrigues, Fernande e De Camargo (2017). Legenda: **A** – Macroscopia de *Sporothrix* spp. na forma leveduriforme. Colônia com superfície irregular e coloração creme. **B** – Microscopia de *Sporothrix* spp. leveduriforme corado com lactofenol azul de algodão, mostrando células esféricas ou ovais.

O exame micológico direto é outra técnica utilizada, mas que pode gerar resultados falsos negativos. Ela consiste na observação direta lâmina-lamínula de leveduras nas amostras coletadas. Para fazer a observação, as amostras devem ser tratadas com hidróxido de potássio (KOH), geralmente a 10%. Os falsos negativos ocorrem devido à dificuldade de achar as leveduras em amostras retiradas de humanos, devido ao seu tamanho diminuto, sua baixa concentração e seu formato que pode ser confundido com leveduras de *Histoplasma capsulatum* e *Candida glabrata*. Contudo, esse exame se mostra mais efetivo quando feito em gatos, devido a maior quantidade de leveduras (Barros; De Almeida Paes; Schubach, 2011; Rudramurthy; Chakrabarti, 2017).

De modo semelhante, temos o exame histopatológico, que consiste na observação de estruturas fúngicas no tecido. Ao analisar as lâminas espera-se observar granulomas de células epitelioides, células fúngicas leveduriformes e os corpos asteroides (Rudramurthy; Chakrabarti, 2017; Sharma; Sharma; Sharma, 2022). Estes geralmente são observados nos granulomas e são leveduras fúngicas de formato oval cercados por conteúdo eosinofílico irradiado. Devido à baixa concentração de estruturas fúngicas nos ferimentos de humanos e a

semelhança da esporotricose com outras doenças granulomatosas, esses testes podem gerar resultados inespecíficos (Rodrigues *et al.*, 2022).

Técnicas moleculares também podem ser utilizadas. Elas foram desenvolvidas visando diagnósticos mais rápidos e precisos. Entretanto, não fazem parte da realidade da maioria dos laboratórios clínicos devido ao seu custo mais elevado (Sharma; Sharma; Sharma, 2022). Esse método é recomendado principalmente para a identificação a nível de espécie, usando ITS como o marcador de código de barras de DNA. Dentre os marcadores mais comuns para a identificação de *Sporothrix* spp., estão a quitina sintase, a calmodulina e a  $\beta$ -tubulina (Rodrigues *et al.*, 2022).

O diagnóstico sorológico também pode ser utilizado e seu uso está relacionado, na maioria dos casos, ao diagnóstico da esporotricose na forma disseminada e as demais formas atípicas. A priori, as primeiras técnicas consistiam em imunoeletroforese, aglutinação por látex e imunodifusão, mas suas sensibilidades e especificidades eram consideradas baixas (Orofino-Costa *et al.*, 2017; Rudramurthy; Chakrabarti, 2017). Com a descoberta, caracterização e padronização dos antígenos do agente etiológico da esporotricose (Orofino-Costa *et al.*, 2017), essas técnicas foram substituídas por ensaios imunoenzimáticos. Dentre eles, o que mais se destaca é o *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), que utiliza o *Sporothrix schenckii* Con A-Binding Fraction (SsCBF), um antígeno de parede celular da forma leveduriforme de *S.schenckii*, para detectar anticorpos IgG (Orofino-Costa *et al.*, 2017; Rudramurthy; Chakrabarti, 2017).

#### **2.2.4 Tratamento Atual**

São raros os casos de esporotricose em que o sistema imunológico consegue por si só promover cura espontânea, sendo necessário o uso de medicamentos para auxiliar no tratamento (Rodrigues *et al.*, 2022). Na escolha do medicamento, leva-se em conta as manifestações clínicas do paciente, o estado do seu sistema imunológico e a espécie de *Sporothrix* (García-Carneiro *et al.*, 2018). O tipo de administração, o valor do tratamento e o perfil de toxicidade da droga também são levados em conta. Mas, em casos severos da doença, o tratamento será mais agressivo, apesar das preocupações com o nível de toxicidade (Mahajan, 2014).

A terapia medicamentosa geralmente é feita com itraconazol, droga de primeira escolha, iodeto de potássio, terbinafina e anfotericina B, mas esta fica restrita a casos graves da doença (Alvarez; Oliveira; Pires, 2022). O itraconazol é um antifúngico pertencente a classe

dos compostos azólicos, portanto, age no sistema enzimático do citocromo P450, inibindo a conversão de lanosterol em ergosterol, um dos principais componentes da parede celular dos fungos (Mahajan, 2014). Sua dosagem recomendada é de 100 a 400mg por dia, dependendo da resposta imunológica do paciente e do tipo de esporotricose (Orofino-Costa, 2017).

Durante as epidemias de esporotricose na França, no século XX, o iodeto de potássio foi sugerido como tratamento para a doença e apresentou resultados satisfatórios para as formas cutâneas (Kwon-Chung & Bennet, 1992). Devido a sua alta eficiência e baixo custo, países em desenvolvimento o consideram como droga de primeira escolha. Todavia, essa medicação oral possui efeitos colaterais notáveis, como a intolerância gastrointestinal e o gosto metálico na boca (Vettorato *et al.*, 2018). Apesar de antigo, seu mecanismo de ação ainda não é bem elucidado, mas sabe-se que ele tem propriedades imunomodulatórias, consegue desestruturar granulomas, atuar na quimiotaxia dos neutrófilos e na fagocitose de células de *Sporothrix* (Orofino-Costa *et al.*, 2017).

Similar ao itraconazol, a terbinafina também interfere na formação da parede celular fúngica ao inibir a síntese de ergosterol, mas ela não interfere no citocromo P450, e sim inibe a enzima squaleno oxidase (Mahajan, 2014; Sharma; Sharma; Sharma, 2022). Esta droga é um derivado da alilamina e pode ser usada para o tratamento das formas cutâneas da esporotricose caso o tratamento com itraconazol e iodeto de potássio se mostre ineficiente ou não seja recomendado. Sua dose recomendada é de 250 mg por dia, podendo chegar até 500 mg para adultos. (Rodrigues *et al.*, 2022).

Em casos graves da esporotricose, como a pulmonar, disseminada ou associada a pacientes com HIV, a anfotericina B pode ser usada até que se apresente melhora clínica, em seguida, recomenda-se voltar o tratamento para itraconazol (Rodrigues *et al.*, 2022). Ela é um polieno, isolada a partir de *Streptomyces nodosus*, com diversas formulações, sendo a lipofílica a mais usada devido a menor quantidade de efeitos colaterais (Mahajan, 2014; Sharma; Sharma; Sharma, 2022). Tipicamente administrada intravenosa ou tópica, essa droga se liga ao ergosterol da membrana celular fúngica, criando poros que aumentam a permeabilidade de íons levando à morte celular (Mahajan, 2014).

Frente aos tratamentos clássicos já se tem descritos casos de falha de tratamento e surgimento de cepas com perfil de sensibilidade baixo frente ao itraconazol (Alvarez; Oliveira; Pires, 2022), o que pode abrir possibilidade para recidivas da doença. Por esse motivo, busca-se por novos compostos com atividade antifúngica para auxiliar no tratamento dessa infecção fúngica.

## 2.3 Compostos Teste

### 2.3.1 Óleos Essenciais

Algumas espécies de plantas são notórias pelo odor que exalam, tais plantas aromáticas são normalmente utilizadas na gastronomia como especiaria, condimento e até como antioxidantes. Já a perfumaria, utiliza partes dessas plantas como ingredientes de perfumes. E na medicina tradicional, utilizam-se delas para tratar enfermidades, principalmente digestivas e diuréticas, mas também como expectorantes e sedativos (Baptista-Silva *et al.*, 2020).

Esse odor, muitas vezes característico, é uma consequência da presença de compostos voláteis conhecidos como óleos essenciais (OE), produzidos pelo metabolismo secundário, nos mais diversos órgãos da planta, mas principalmente em botões, casca, folhas, flores, frutos, sementes e raízes (Bolouri *et al.*, 2022). No vegetal, é produzido e armazenado em estruturas secretoras, como glândulas e canais de resina (Wińska *et al.*, 2019).

Dados de Baptista-Silva *et al.* (2020), mostram que até 2020 tinha-se cerca de 17.500 plantas aromáticas produtoras de OEs, tendo sido descritos 3.000 tipos de óleos e, destes, 300 possuem importância comercial para setores como agricultura, cosmética e farmacêutica. A composição dos óleos é complexa, varia entre as espécies e podem sofrer alterações devido a múltiplos fatores como a forma de extração, idade da planta e condições climáticas. No entanto, os grupos de terpenos, terpenóides e fenilpropanóides se apresentam, na maioria das vezes, em maior quantidade. Estes são os responsáveis pelas suas propriedades anti-inflamatórias e citotóxica (Aziz *et al.*, 2018), assim como pela sua volatilidade, fotossensibilidade e rápida degradação (Moghimi *et al.*, 2016).

Devido a capacidade de seus componentes interagirem com membranas celulares de microrganismos, causando despolarização e citotoxicidade celular (De Souza Fontes *et al.*, 2021; Garcia *et al.*, 2021), os OEs vem sendo amplamente estudados como possíveis antimicrobianos, principalmente frente a infecções causadas por microrganismos resistentes aos tratamentos existentes (Wińska *et al.*, 2019). Como forma de maximizar seus efeitos e contornar sua instabilidade, estuda-se o uso polímeros, como a quitosana, para encapsulá-los, tornando-os mais estáveis.

#### 2.3.1.1 Óleo Essencial de Capim Limão

*Cymbopogon* é um gênero de plantas da família das Poaceas, plantas gramíneas, nativa dos trópicos e subtropicais do continente Asiático, mas também é cultivada nos continentes Sul-Americano e Africano (Ganjewala; Gupta, 2013). Elas são plantas perenes de folhas longas e aromáticas, famosas pelo seu cheiro cítrico devido a presença de óleos essenciais em suas folhas (Tibenda *et al.*, 2022).

Existem cerca de 144 espécies dentro do gênero, mas entre estes, as espécies que mais produzem OE são: *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon flexuosus*, *Cymbopogon westratus*, *Cymbopogon nardus*, e *Cymbopogon winterianus* (Zahra *et al.*, 2021).

O Óleo Essencial de Capim-Limão (OECL), extraído de plantas desse gênero, é rico em terpenos, com destaque para o citral, geranial e citronelal. Essa composição confere ao óleo propriedades antioxidantes, citotóxicas e anti-inflamatórias (Zahra *et al.*, 2021). Graças a essas características, as folhas do capim-limão são amplamente utilizadas na medicina tradicional para o preparo de chás no tratamento de diversas enfermidades. Além disso, seu óleo é empregado na fabricação de produtos de limpeza e cosméticos (Zhao *et al.*, 2024).

Já foi constatado que o citral, um dos principais componentes do OE, possui atividade antimicrobiana (Da Silva Gundel *et al.*, 2018). A partir disso, estudos acerca do potencial antimicrobiano do OECL constataram atividade frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* (Costa *et al.*, 2019), mycobacterias como *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium massiliense* e *Mycobacterium abscessus* (Rossi *et al.*, 2017) e fungos como *Candida albicans* (Garcia *et al.*, 2020), *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (Ganjewala; Gupta, 2013).

### 2.3.1.2 Óleo Essencial de Gerânio

No continente Africano, a família Geraniaceae, que contém cerca de 840 espécies (Graça; Ferreira; Santos, 2020), é utilizada na medicina tradicional pelas suas propriedades antioxidantes, antiglicemiantes e antimicrobianas (Ahamad; Uthirapathy, 2021; Boukhatem, 2013). Dentro dessa família, o gênero *Pelargonium* é nativo do sudeste do continente e muito utilizado, em específico a espécie *P. graveolens*, devido às propriedades citadas anteriormente (Hamidpour, 2017).

Caracterizada como uma planta arbustiva e perene, ela possui um aroma marcante de rosas em suas folhas, resultante da produção de óleo essencial (Sharopov; Zhang; Setzer, 2014). Conhecido como Óleo Essencial de Gerânio (OEG) ou Óleo Essencial de Rosa-Gerânio

(OERG), esse óleo é altamente valorizado e amplamente utilizado nas indústrias cosmética e culinária, além de ser empregado em tratamentos de aromaterapia (El Aanachi *et al.*, 2020).

A obtenção do óleo se dá através de destilação das folhas e caules da planta (Boukhatem, 2013). Assim como o OECL, é um composto complexo, volátil e que pode sofrer variação na composição. Todavia, citronellol, geraniol e linalol, três grupos de monoterpenos, normalmente são os compostos encontrados em maior quantidade (Azarafshman *et al.*, 2019).

Suas propriedades em muito interessam a indústria farmacêutica para a formulação de novos antidiabéticos (Ahamad; Uthirapathy, 2021) e antimicrobianos (Chraibi *et al.*, 2016), tendo atividade descrita para bactérias (Rosato *et al.*, 2007; Lalli *et al.*, 2008), principalmente contra Gram-positivas (Boukhatem; Kameli; Saidi, 2013); e fungos (Naeni; Nazeri; Shokri, 2011; Chraibi *et al.*, 2016), demonstrando resultados satisfatórios frente a cepas de *Candida* (Garcia *et al.*, 2020; Boukhatem *et al.*, 2013) e *Malassezia* (Naeni; Nazeri; Shokri, 2011).

### 2.3.2 Micropartícula de Quitosana

O desenvolvimento de partículas poliméricas trouxe diversos avanços no que se diz respeito à administração de tratamentos medicamentosos no campo da farmacêutica, aumentando a precisão e eficácia de tratamentos. Elas são utilizadas como carreadores de drogas pois tornam esses compostos mais estáveis, facilitam sua distribuição e são menos invasivos (Correa *et al.*, 2021).

Para a sua fabricação, podem ser utilizados compostos naturais ou sintéticos, havendo uma preferência pelos naturais devido a sua degradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e por serem recursos com boa disponibilidade no ambiente, como a quitosana (Coscueta *et al.*, 2021).

A quitina é um polissacarídeo que compõe o exoesqueleto de artrópodes marinhos e terrestres, a parede celular de fungos e algas. Quando se retira da quitina os grupos acetil, ou seja, se ela sofre desacetilação, produz-se a quitosana (Wang *et al.*, 2020). Quando em pH fisiológico, essa molécula sofre protonação da D-glucosamina em sua estrutura polimérica, formando uma molécula policatiônica. Por tanto, ela consegue se ligar a moléculas negativas, como DNA, proteínas e lipídios. Devido a isto, ela é considerada uma molécula versátil, mas suas propriedades são dependentes do seu grau de desacetilação e do peso molecular (Aibani *et al.*, 2021).

Por conseguir se ligar a moléculas negativas, a quitosana pode causar danos em paredes celulares e até adentrar a célula, possuindo atividade antimicrobiana. Quanto a isto, a

quitosana pode ser de alto peso molecular (QAPM) e baixo peso molecular (QBPM). Trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa constataram que a QAPM é adsorvida à parede celular de fungos como *C. albicans* (Garcia *et al.*, 2018) e *S. brasiliensis* (Garcia *et al.*, 2020), gerando rupturas. Em contrapartida, a QBPM foi capaz de adentrar as células fúngicas, ligando-se a DNAs e proteínas, inibindo síntese proteica e levando a quebra de proteínas, e causava danos à parede celular. Desta forma, optou-se por produzir as micropartículas a partir da quitosana de baixo peso molecular.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo analisar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de capim-limão e gerânio, na forma isolada e encapsulada em micropartículas de quitosana, frente a cepas sudestinas e cearenses de fungos do gênero *Sporothrix* na forma planctônica filamentosa e leveduriforme.

#### 3.2 Objetivos específicos

1. Investigar o perfil de sensibilidade de cepas do gênero *Sporothrix* spp., na forma planctônica filamentosa e leveduriforme, frente aos óleos essenciais de capim limão e gerânio isolados;
2. Avaliar o perfil de sensibilidade de cepas do gênero *Sporothrix* spp., na forma planctônica filamentosa e leveduriforme, frente aos óleos essenciais de capim limão e gerânio encapsulados em micropartículas de quitosana;
3. Verificar se há diferenças entre o perfil de sensibilidade das cepas cearenses e sudestinas frente aos óleos essenciais de capim limão e gerânio, tanto isolados quanto encapsulados em micropartículas de quitosana.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Microrganismos

Para este estudo foram utilizadas 14 cepas do gênero *Sporothrix*: 8 cepas de *Sporothrix brasiliensis*, 3 de *Sporothrix globosa* e 3 de *Sporothrix schenckii* (Tabela 1). Os isolados encontram-se estocados na coleção de culturas do One Health Microbiology Laboratory (OneHMic Lab), da Universidade Federal do Ceará.

Tabela 1 - Origem e local de isolamento das cepas de *Sporothrix* spp. utilizadas neste estudo

Código da Cepa	Espécie	Fonte de Isolamento	Localização
ONEHMIC 05-3-068	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato	CE
ONEHMIC 05-3-069	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato	CE
ONEHMIC 05-3-067	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato	CE
ONEHMIC 05-3-071	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato	CE
ONEHMIC 05-3-070	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato	CE
ONEHMIC 05-3-005	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Cachorro	RS
ONEHMIC 05-3-006	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato	RS
ONEHMIC 05-3-028	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Gato	RJ
ONEHMIC 05-3-057	<i>Sporothrix globosa</i>	Humano	CE
ONEHMIC 05-3-058	<i>Sporothrix globosa</i>	Humano	GO
ONEHMIC 05-3-059	<i>Sporothrix globosa</i>	Humano	PE
ONEHMIC 05-3-048	<i>Sporothrix schenckii</i>	Humano	RJ
ONEHMIC 05-3-055	<i>Sporothrix schenckii</i>	Solo	MG
ONEHMIC 05-3-066	<i>Sporothrix schenckii</i>	Humano	SP

OneHMic Lab: One Health Microbiology Laboratory.

Por estar-se trabalhando com formas filamentosas, todas as cepas foram repicadas em Ágar Batata Dextrose (Sigma-Aldrich) e incubados à 35°C por 7 dias. Para a obtenção das leveduras, as cepas foram revertidas por cultivos sucessivos em *Brain Heart Infusion* Ágar (HiMedia) com sangue de carneiro a 5% e incubadas à 37 °C por 4 dias.

## 4.2 Composto teste

Para o desenvolvimento do projeto, foram utilizados os compostos, referidos como compostos teste: micropartículas de quitosana, óleo essencial de capim-limão (Ferquima e óleo essencial de gerânio, estes dois últimos na forma isolada e encapsulados em micropartículas de quitosana. Todos foram testados nas concentrações de 2 a 1024  $\mu\text{g/mL}$  e 0,125 a 64  $\mu\text{g/mL}$  para a forma filamentosa e leveduriforme de *Sporothrix* spp. O itraconazol também foi testado, mas como forma de controle, frente a forma filamentosa e leveduriforme, nas concentrações de 0,0313 a 16  $\mu\text{g/mL}$  (CLSI, 2017a; CLSI, 2017b).

Para o encapsulamento, a solução de quitosana (10 mg/mL) de baixo peso molecular, obtida da Sigma-Aldrich (Sigma Chemical Corporation, EUA), foi preparada em 0,5% (p/v) de ácido acético glacial 99% (Panreac, Barcelona, Espanha) e armazenada sob refrigeração. E os óleos aqui estudados foram obtidos da Ferquima Indústria e Comércio Ltda. As micropartículas de lecitina-quitosana carregadas com OECL e OEG foram preparadas de acordo com a metodologia descrita por Ilk *et al.* (2017) com base na interação auto-organizada entre lecitina contendo óleo essencial e quitosana.

A solução aquosa de quitosana foi feita por dissolução de quitosana (1%, p/v) em água destilada com ácido acético a 0,5% (v/v). Lecitina (7,5%, p/v) foi dissolvida na solução de dimetilsulfóxido (10%, v/v). O óleo essencial em diferentes concentrações é então adicionado à solução de lecitina/dimetilsulfóxido (DMSO) sob agitação magnética. A solução de quitosana (11,5 mL) e o complexo lecitina/óleo são aquecidos a 60 °C e após isso, 1 mL de solução de lecitina/óleo foi injetado gota a gota em solução aquosa de quitosana pré-aquecida a 60 °C sob agitação magnética. Após a agitação, o pH da suspensão de micropartículas foi ajustado para 4,5. As micropartículas lecitina/quitosana vazias (MQ) serão sintetizadas com o método descrito acima usando solução de lecitina sem óleo.

## 4.3 Teste de sensibilidade antifúngica

Os testes de sensibilidade para *Sporothrix* spp. foram feitos utilizando placas de 96 poços e seguindo os protocolos M38 3<sup>o</sup> Edition (forma filamentosa) e M27 4<sup>o</sup> Edition (forma leveduriforme) do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008a; CLSI, 2008b), com alterações, que preconiza o uso do método de microdiluição em caldo.

Para o preparo dos inóculos filamentosos utilizou-se solução salina a 0,9% para cobrir o suficiente da cultura de *Sporothrix* spp. de forma que seja possível fazer, com auxílio

de uma alça de inoculação descartável, a raspagem dos conídios que se localizam no topo das colônias. Quanto ao inóculo da forma filamentosa, utilizou-se somente cepas de *S. brasiliensis*. O inóculo foi feito através da adição de salina 0,9% nos tubos com crescimento leveduriforme e, utilizando a alça de inoculação, foi feita a raspagem do meio para destacar as células fúngicas. Ao final desse processo, ambos os inóculos filamentosos e leveduriformes foram ajustados em meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640, tamponado a pH  $7\pm 0,1$  com 0,165 M de ácido 3 (N-morfolino)-propanosulfônico (MOPS), seguindo a escala McFarland para obter as concentrações de  $0,4-5\times 10^4$  UFC/mL para forma filamentosa (CLSI, 2017a) e  $0,5-2,5\times 10^3$  UFC/mL para a leveduriforme.

Em seguida, esses inóculos foram distribuídos nas placas de 96 poços e então se adicionou os compostos testes já diluídos nas concentrações desejadas. Os poços 11 e 12 foram utilizados como controles negativos (somente meio RPMI com a droga) e positivos (somente RPMI com o fungo), respectivamente. Por fim, as placas foram incubadas à 35 °C por 72h (forma filamentosa) e à 37 °C por 96h (forma leveduriforme).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a concentração mínima capaz de inibir, visualmente, 50 e 100% do crescimento fúngico para os compostos testes e 100% para o ITC (CLSI, 2017a; CLSI, 2017b).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Ensaio de sensibilidade antifúngico filamentosos

Para a forma filamentosas de *Sporothrix* spp., observou-se que as nanopartículas encapsuladas com os óleos essenciais de capim-limão e de gerânio apresentaram atividade antifúngica. Frente a *S. brasiliensis*, a MQCL e a MQG apresentaram CIM no intervalo de 0,5 e 1 µg/mL para de inibição de 50% (Tabela 2) do crescimento fúngico e de 1 e 2 µg/mL para 100% de inibição (Tabela 3).

Tabela 2 - Ensaio de Sensibilidade Filamentoso com CIM Capaz de Inibir 50% do Crescimento Fúngico

Espécies	Cepas (código do OneHMic Lab)	Concentração Inibitória Mínima (µg/mL)						
		ITC	MQ	LEC	OECL	OEG	MQCL	MQG
<i>S. brasiliensis</i>	ONEHMIC 05-3-068	4	0,25	>64	32	-	1	-
	ONEHMIC 05-3-069	0,5	0,5	>64	32	32	0,5	0,5
	ONEHMIC 05-3-067	2	-	>64	16	8	-	-
	ONEHMIC 05-3-070	1	0,5	>64	64	64	0,5	0,5
	ONEHMIC 05-3-071	0,5	0,5	>64	32	32	0,5	0,5
	ONEHMIC 05-3-005	1	0,5	16	8	64	0,5	0,5
	ONEHMIC 05-3-028	2	0,5	16	16	64	1	1
<i>S. globosa</i>	ONEHMIC 05-3-057	1	1	>64	4	4	-	0,5
	ONEHMIC 05-3-058	1	-	>64	1	1	1	2
	ONEHMIC 05-3-059	1	-	>64	8	64	1	0,5
<i>S. schenckii</i>	ONEHMIC 05-3-048	0,5	2	>64	8	8	2	-
	ONEHMIC 05-3-055	0,5	0,5	64	4	8	0,5	0,5
	ONEHMIC 05-3-066	1	-	16	8	64	1	0,5

Legenda: Tabela apresentando os valores encontrados para a concentração inibitória mínima de 50% frente a cepas de *Sporothrix* spp. na forma filamentosas. ITC – Itraconazol. MQ – Micropartícula de Quitosana. LEC – Lecitina. OECL – Óleo Essencial de Capim-Limão. OEG – Óleo Essencial de Gerânio. MQCL – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Capim-Limão. MQG – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Gerânio

Quanto aos óleos isolados, as cepas de *S. brasiliensis* espécie se mostraram igualmente sensível a OECL e OEG na CIM capaz de inibir 50% do crescimento, apresentando

intervalo de 16 a 64  $\mu\text{g/mL}$  e 8 a 64  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Para 100% de inibição, o perfil de sensibilidade diminui frente a ambos os óleos, mas há redução mais significativa frente a OEG que somente duas cepas apresentaram valores para 100% e na concentração de 16  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto OECL obteve sensibilidade frente a 6 das 7 cepas no valor de 64  $\mu\text{g/mL}$ . Frente a MQ, os valores obtidos foram de 0,25 e 0,5  $\mu\text{g/mL}$  para 50% e de 1 e 2  $\mu\text{g/mL}$  para 100%, sendo essa a espécie mais sensível as micropartículas.

Tabela 3 - Ensaio de Sensibilidade Filamentoso com CIM Capaz de Inibir 100% do Crescimento Fúngico

Espécies	Cepas (código do OneHMic Lab)	Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g/mL}$ )						
		ITC	MQ	LEC	OECL	OEG	MQCL	MQG
<i>S. brasiliensis</i>	ONEHMIC 05-3-068	4	1	-	64	16	-	1
	ONEHMIC 05-3-069	0,5	1	-	64	-	1	1
	ONEHMIC 05-3-067	2	2	-	64	16	2	2
	ONEHMIC 05-3-070	1	2	-	-	-	-	-
	ONEHMIC 05-3-071	0,5	1	-	64	-	2	1
	ONEHMIC 05-3-005	1	1	-	64	-	2	2
	ONEHMIC 05-3-028	2	2	-	64	-	-	-
<i>S. globosa</i>	ONEHMIC 05-3-057	1	2	-	16	32	2	1
	ONEHMIC 05-3-058	1	2	-	8	16	2	-
	ONEHMIC 05-3-059	1	2	-	64	-	2	2
<i>S. schenckii</i>	ONEHMIC 05-3-048	0,5	4	-	16	64	4	2
	ONEHMIC 05-3-055	0,5	2	-	16	64	2	1
	ONEHMIC 05-3-066	1	2	-	32	-	2	1

Legenda: Tabela apresentando os valores encontrados para a concentração inibitória mínima de 100% frente a cepas de *Sporothrix* spp. na forma filamentosa. ITC – Itraconazol. MQ – Micropartícula de Quitosana. LEC – Lecitina. OECL – Óleo Essencial de Capim-Limão. OEG – Óleo Essencial de Gerânio. MQCL – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Capim-Limão. MQG – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Gerânio

As cepas de *S. globosa*, por sua vez, frente a MQCL apresentaram a concentração de 1  $\mu\text{g/mL}$  e 2  $\mu\text{g/mL}$  para 50% e 100% de inibição. Se mostrando mais sensível a MQG, onde apresentou concentrações de 0,5 e 2  $\mu\text{g/mL}$  a 50% e 1 e 2  $\mu\text{g/mL}$  para 100%. Frente aos óleos essenciais isolados, OECL obteve intervalo de 1 a 8 para 50% e de 8 a 64 para 100%; OEG, por sua vez, obteve intervalo de 1 a 64  $\mu\text{g/mL}$  e 16 a 32  $\mu\text{g/mL}$  para 50% e 100% de inibição,

respectivamente. O que indica maior sensibilidade a OECL. Para a MQ, somente uma espécie obteve valor para 50% de inibição, sendo este valor 1 µg/mL, e para 100% de inibição todas as 3 cepas apresentaram o valor de 2 µg/mL.

Já *S. schenckii* obteve CIM no intervalo de 0,5 a 2 µg/mL para 50% de inibição e 2 e 4 µg/mL para 100% frente a MQCL. Enquanto MQG apresentou CIM variando entre 0,5 µg/mL para 50% e 1 e 2 µg/mL para 100%, sendo mais sensível a essa micropartícula. Para o OECL, os valores foram de 4 e 8 µg/mL para 50% e de 16 e 32 µg/mL para 100%. Em contrapartida, OEG obteve valores de 8 e 64 µg/mL e 64 µg/mL para 50% e 100% de inibição, respectivamente, indicando que, ao contrário do que foi visto frente as micropartículas com os óleos, essas cepas são mais sensíveis ao OECL. Frente a MQ, as cepas dessa espécie tiveram intervalo de 0,5 e 2 µg/mL para 50% de inibição, e 2 e 4 µg/mL para 100%.

Sobre o controle do itraconazol, todas as três espécies se mostraram sensíveis. *S. brasiliensis* apresentou intervalo de 0,5 a 4 µg/mL, *S. globosa* obteve o valor de 1 µg/mL e *S. schenckii* apresentou intervalo de 0,5 e 1 µg/mL. O controle de lecitina não obteve valores de concentração inibitória para 100% e somente 2 cepas de *S. brasiliensis* e 2 de *S. schenckii* apresentaram valores para 50% de inibição.

Por fim, ao comparar as duas tabelas de sensibilidade filamentosa, é possível notar que das cepas de *Sporothrix* spp., *S. brasiliensis*, principalmente as 7 primeiras cepas que foram isoladas do Ceará, foram as que obtiveram CIMs menores para a MQ e para os óleos encapsulados, mas também apresentaram os maiores valores para os OEs.

## 5.2 Ensaio de sensibilidade antifúngico leveduriforme

Em relação à forma leveduriforme, também foi observada atividade antifúngica dos compostos testes. Para a MQCL, o CIM variou de 4 a 1 µg/mL para 50% de inibição (Tabela 4) e de 16 a 4 µg/mL para 100% de inibição (Tabela 5). Já a MQG demonstrou maior atividade antifúngica, com 50% de inibição alcançada em 1 µg/mL e 100% com 2 µg/mL. Quanto aos isolados, a MQ apresentou atividade inibitória de 50% em uma faixa de 2 a 1 µg/mL, sendo necessário um intervalo de 4 a 2 µg/mL para a inibição de 100% do fungo. A lecitina, por sua vez, não mostrou atividade antifúngica contra nenhuma das quatro cepas leveduriformes testadas.

Tabela 4 – Ensaio de Sensibilidade Leveduriforme com CIM Capaz de Inibir 50% do Crescimento da Célula Fúngica.

Espécies	Cepas (código do OneHMic Lab)	Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g/mL}$ )						
		ITC	MQ	LEC	OECL	OEG	MQCL	MQG
<i>S. brasiliensis</i>	ONEHMIC 05-3-068	2	1	>64	16	>64	1	1
	ONEHMIC 05-3-069	0,5	1	>64	32	64	2	1
	ONEHMIC 05-3-067	1	2	>64	16	32	4	1
	ONEHMIC 05-3-070	0,5	1	>64	16	64	4	1

Legenda: Tabela apresentando os valores encontrados para a concentração inibitória mínima de 50% frente a cepas de *Sporothrix brasiliensis* na forma leveduriforme. ITC – Itraconazol. MQ – Micropartícula de Quitosana. LEC – Lecitina. OECL – Óleo Essencial de Capim-Limão. OEG – Óleo Essencial de Gerânio. MQCL – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Capim-Limão. MQG – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Gerânio

Os óleos apresentaram desempenhos diferentes para a forma leveduriforme. O OECL manteve concentrações semelhantes às previamente relatadas para a forma filamentosa, com a CIM variando entre 32 e 16  $\mu\text{g/mL}$  para 50% de inibição e atingindo 64  $\mu\text{g/mL}$  para 100% de inibição em três das quatro cepas testadas. Por fim, OEG conseguiu inibir 50% das cepas com a CIM entre 64 e 16  $\mu\text{g/mL}$ , mas só alcançou 100% de inibição em uma das cepas na concentração de 64  $\mu\text{g/mL}$ .

Tabela 5 – Ensaio de Sensibilidade Leveduriforme com CIM Capaz de Inibir 100% do Crescimento da Célula Fúngica.

Espécies	Cepas (código do OneHMic Lab)	Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g/mL}$ )						
		ITC	MQ	LEC	OECL	OEG	MQCL	MQG
<i>S. brasiliensis</i>	ONEHMIC 05-3-068	2	2	-	-	-	4	2
	ONEHMIC 05-3-069	0,5	2	-	64	-	4	2
	ONEHMIC 05-3-067	1	4	-	64	-	16	2
	ONEHMIC 05-3-070	0,5	2	-	64	64	8	2

Legenda: Tabela apresentando os valores encontrados para a concentração inibitória mínima de 100% frente a cepas de *Sporothrix brasiliensis* na forma leveduriforme. ITC – Itraconazol. MQ – Micropartícula de Quitosana. LEC – Lecitina. OECL – Óleo Essencial de Capim-Limão. OEG – Óleo Essencial de Gerânio. MQCL – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Capim-Limão. MQG – Micropartícula de Quitosana com Óleo Essencial de Gerânio

## 6 DISCUSSÃO

O interesse por novas partículas com efeito antifúngico surge em um cenário marcado pela escassez de compostos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas, somado ao aumento na incidência de doenças causadas por fungos e ao crescente surgimento de resistência aos fármacos convencionais (Després; Shapiro; Cuomo, 2024; Michalczyk; Ostrowska, 2021). Diante disso, a quitosana e os óleos essenciais têm sido amplamente estudados por serem partículas naturais e ecologicamente sustentáveis, além de possuírem comprovada capacidade antimicrobiana (Yamine *et al.*, 2022). Nesse contexto, os resultados obtidos neste trabalho destacam o potencial antifúngico dos óleos essenciais quando encapsulados em micropartículas de quitosana contra o crescimento planctônico de cepas de *Sporothrix* spp., tanto na forma filamentosa quanto na forma leveduriforme.

Na literatura há poucos trabalhos que utilizem as micropartículas de quitosana com óleos essenciais frente a fungos, os únicos trabalhos encontrados foram o de Garcia *et al.* (2021) frente a *Candida albicans*, um fungo leveduriforme, e o de Costa *et al.* (2025) com *Histoplasma capsulatum*, um fungo dimórfico. A partir dos dados Garcia *et al.* (2021), que obteve concentrações de 4 a 128 µg/mL para MQCL e de 8 a 256 µg/mL para MQG, vemos que *Sporothrix* se mostra mais sensível aos óleos encapsulados se comparado a *Candida albicans*. Já os dados de Costa *et al.* (2025) se assemelham aos desse trabalho, tendo valores para MQCL e MQG de 16 a 128 µg/mL para a forma filamentosa, enquanto a leveduriforme obteve 8 a 64 µg/mL para MQCL e MQG.

Quanto a CIM dos óleos essenciais isolados obtidos neste trabalho, elas indicam que *Sporothrix* spp. possui perfil de sensibilidade maior frente a eles, quando comparados a resultados obtidos por outros autores frente a outros fungos, como Garcia *et al.* (2021) e Rhimi *et al.* (2022) frente a espécies de *Candida*; Mahboubi *et al.* (2019) com dermatófitos; e Alizond *et al.* (2023) frente a *Aspergillus* spp., que reportaram CIMs elevadas, variando entre 2.048 e 512 µg/mL, 2.500 e 1.250 µg/mL, 2.500 e 60 µg/mL, e 2.250 e 560 µg/mL, respectivamente.

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais está diretamente relacionada à sua composição lipofílica, que lhes permite atravessar e danificar a parede celular, atingindo as membranas citoplasmáticas. Nessas estruturas, os óleos podem inativar mecanismos enzimáticos e transportadores de elétrons, causando desequilíbrio no fluxo de elétrons, alterações na permeabilidade da membrana e no pH interno, e levando à perda significativa de macromoléculas e íons (Allizond *et al.*, 2023; Basak; Guha, 2018; Jha; Mayanovic, 2023).

Em relação à MQ, os valores de Concentração Inibitória Mínima encontrados neste estudo foram mais baixos que aos reportados por Garcia *et al.* (2021), usando micropartículas frente a *Candida albicans*; por Ing *et al.* (2012), que trabalharam com nanopartículas frente a *Candida albicans*, *Fusarium solani* e *Aspergillus niger*; e por Brilhante *et al.* (2023), que avaliaram a atividade antifúngica da quitosana de baixo peso molecular frente a *Histoplasma capsulatum*. A atividade antifúngica da quitosana está associada à sua natureza catiônica, decorrente da presença de grupos amino em sua estrutura, que interagem com compostos carregados negativamente, como fosfolipídeos de membrana, DNA e proteínas (Cota-Arriola *et al.*, 2013). Essa interação resulta em danos à parede celular, vazamento de conteúdo citoplasmático, interrupção da síntese proteica e inibição da replicação do DNA devido à ligação com ácidos nucleicos (Wang *et al.*, 2020). Entretanto, diversos fatores podem influenciar sua atividade antimicrobiana. Por exemplo, quitosanas de alto peso molecular tendem a apresentar menor atividade antifúngica em comparação com as de baixo peso molecular. Além disso, um alto grau de desacetilação está associado a uma maior eficácia antifúngica (Poznanski; Hameed; Orczyk, 2023).

Além da atividade antifúngica, a quitosana desperta interesse devido à sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e capacidade de atravessar tecidos com facilidade. Essas características a tornam amplamente estudada para o desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos, especialmente na forma de nano e micropartículas (Ali; Ahmed, 2018; Pecarski *et al.*, 2014). O encapsulamento de fármacos oferece diversas vantagens, como o aumento da atividade microbiana, maior controle da posologia e a estabilização de compostos voláteis, como os óleos essenciais (Jovanović, 2024; Li *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2021).

Os resultados desse estudo corroboram a ideia de que o encapsulamento potencializa o efeito antifúngico, uma vez que os menores valores de CIM foram observados para os compostos encapsulados. A forma filamentosa de *Sporothrix* spp. mostrou-se a mais sensível ao efeito da quitosana *in vitro*. Assim como ocorreu no presente trabalho, Garcia *et al.* (2021), frente a *Candida albicans*, também observaram que os valores de CIM diminuía para os óleos encapsulados em comparação com a quitosana e os óleos isolados, indicando maior atividade antifúngica. Resultados semelhantes também foram reportados por El-Aziz *et al.* (2018) frente a *Aspergillus niger* e por Mohammadi, Hashemi e Hosseini (2015) frente a *Phytophthora drechsleri*, ambos utilizando placas de ágar batata-dextrose para avaliação da inibição.

O gênero *Sporothrix* é conhecido por apresentar alta resistência antifúngica intrínseca (Waller *et al.*, 2020), e diversos estudos destacam que sua variabilidade genética

impacta diretamente no perfil de sensibilidade a antifúngicos (Gong *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2016; Rangel-Gamboa *et al.*, 2016). Dentre as espécies, *S. brasiliensis* e *S. globosa* são as que apresentam menor número de polimorfismos, enquanto *S. schenckii* exibe um alto número de polimorfismos cromossômicos (Sasaki *et al.*, 2014). Um estudo realizado por Marimon *et al.* (2008) demonstrou que *S. brasiliensis* e *S. schenckii* são mais suscetíveis a antifúngicos, o que geralmente resulta em menores valores de CIM. No entanto, em um trabalho de 2014, Rodrigues *et al.* observaram variações dentro da própria espécie *S. brasiliensis*, com análises filogenéticas indicando que cepas do Rio Grande do Sul diferem das cepas do Sudeste, como as de Minas Gerais e São Paulo, que são mais similares às do Rio de Janeiro. Um estudo mais recente de Gonçalves *et al.* (2023) corrobora esses achados, reforçando a heterogeneidade dentro da espécie. Ao analisar os resultados deste trabalho, observa-se que eles estão alinhados com a literatura. *S. brasiliensis* apresentou padrões de resposta antifúngica distintos em comparação com as demais cepas, principalmente às isoladas do Ceará que apresentaram as maiores CIM para os OEs.

Em sua forma filamentosa, essa espécie mostrou-se a mais sensível às micropartículas de quitosana, mas também a mais resistente à ação dos óleos essenciais. Esse mesmo padrão se repetiu na forma leveduriforme, embora com uma leve redução na sensibilidade às micropartículas e um aumento na sensibilidade aos óleos essenciais. Diferenças nos valores de CIM entre as formas morfológicas são esperadas e podem ser explicadas por variações na composição da parede celular fúngica (Martínez-Álvarez *et al.*, 2017). Estudos como o de Sanchotene *et al.* (2017) com *S. brasiliensis* e o de Song *et al.* (2020) com *S. globosa* mostraram que a forma leveduriforme de *Sporothrix* tende a apresentar valores menores de CIM. No entanto, no presente trabalho, esse padrão só foi observado para o óleo essencial de capim-limão.

A explicação para essa divergência pode estar relacionada ao mecanismo de ação dos compostos testados e às diferenças na parede celular das duas formas morfológicas. Os compostos avaliados neste estudo dependem fortemente da composição da parede celular. Poznanski, Hameed e Orczyk (2023) sugerem que a quitosana, além de interagir com compostos carregados negativamente, também depende da presença de ácidos graxos poli-insaturados na membrana. Considerando que a transição para a forma leveduriforme envolve remodelação da parede celular (Navarro *et al.*, 2021), é possível que pequenas alterações em sua composição afetem a eficácia da quitosana.

Comparando os dados dos compostos testes entre si e com os do itraconazol, observou-se que os óleos essenciais apresentam CIMs maiores que o do ITC e suas menores

concentrações foram obtidas frente a forma leveduriforme. Em contrapartida, as micropartículas de quitosana e os óleos encapsulados obtiveram intervalos similares a do itraconazol e demonstram maior eficácia contra a forma filamentosa.

No mais, o fato dos valores obtidos para a quitosana e para os óleos encapsulados serem similares ao do intervalo obtido para o itraconazol, o antifúngico de primeira escolha para o tratamento da esporotricose (Alvarez; Oliveira; Pires, 2022), é um indicativo de que esses compostos são promissores para o desenvolvimento de novos tratamentos para esporotricose. Todavia, mais estudos precisam ser conduzidos para garantir a eficácia e segurança desses compostos como tratamento, por tanto, estudos *in vivo* e testes de citotoxicidade se fazem necessários.

## 7 CONCLUSÃO

- Todas as cepas de *Sporothrix* spp. testadas são sensíveis as micropartículas de quitosana, aos óleos essenciais isolados e aos óleos essenciais encapsulados, tanto na forma filamentosa quanto na leveduriforme.
- Frente as demais cepas filamentosas de *S. brasiliensis*, as que foram isoladas no Ceará mostraram menor perfil de sensibilidade apenas para os óleos essenciais isolados, em especial ao óleo essencial de gerânio.
- O encapsulamento dos óleos essenciais com as micropartículas de quitosana aumentou a atividade antifúngica ao diminuir a concentração necessária para inibir o crescimento antifúngico frente a cepas de *S. globosa* e *S. schenckii*.

## REFERÊNCIAS

- ADUKWU, E. C. *et al.* Antimicrobial activity, cytotoxicity and chemical analysis of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and pure citral. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 22, p. 9619–9627, 26 ago. 2016
- AIBANI, N. *et al.* Chitosan nanoparticles at the biological interface: Implications for drug delivery. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 10, p. 1686, 2021.
- AHAMAD, J.; UTHIRAPATHY, S. Chemical characterization and antidiabetic activity of essential oils from *Pelargonium graveolens* leaves. **ARO-The Scientific Journal of Koya University**, v. 9, n. 1, p. 109–113, 2021.
- ALI, A.; AHMED, S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. **International journal of biological macromolecules**, v. 109, p. 273–286, 2018.
- ALLIZOND, V. *et al.* In vitro antifungal activity of selected essential oils against drug-resistant clinical *Aspergillus* spp. Strains. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 21, p. 7259, 2023.
- ALVAREZ, C. M.; OLIVEIRA, M. M. E.; PIRES, R. H. Sporotrichosis: A review of a neglected disease in the last 50 years in Brazil. **Microorganisms**, v. 10, n. 11, p. 2152, 2022.
- ARAÚJO, J. M. DE *et al.* Rinite fúngica por *Sporothrix* spp. em cão: relato de caso. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 4, p. e18412441075, 2023.
- AZARAFSHAN, M. *et al.* The impact of UV-B radiation on antioxidant activity, essential oil composition and physiological factors of *Pelargonium graveolens* L'Hér. **Acta agriculturae slovenica**, v. 113, n. 2, 2019.
- AZIZ, Z. A. A. *et al.* Essential oils: Extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential - A review. **Current drug metabolism**, v. 19, n. 13, p. 1100–1110, 2018.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, fev. 2008.
- BAPTISTA-SILVA, S. *et al.* The progress of essential oils as potential therapeutic agents: a review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 4, p. 279–295, 2020.
- BASAK, S.; GUHA, P. A review on antifungal activity and mode of action of essential oils and their delivery as nano-sized oil droplets in food system. **Journal of food science and technology**, v. 55, n. 12, p. 4701–4710, 2018.
- BARROS, M. B. DE L.; DE ALMEIDA PAES, R.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 633–654, 2011.
- BAZARGANI, M. M.; ROHLOFF, J. Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. **Food Control**, v. 61, p. 156–164, 1 mar. 2016.

BENCHIMOL, J. L.; SÁ, M. R. (Org.). **Dermatologia e Micologia**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2004. (Adolpho Lutz Obra Completa, v.1, Livro 3).

BOLOURI, P. *et al.* Applications of essential oils and plant extracts in different industries. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 24, p. 8999, 2022.

BONIFAZ, A.; TIRADO-SÁNCHEZ, A. Cutaneous disseminated and extracutaneous sporotrichosis: Current status of a complex disease. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 3, n. 1, 2017.

BOUKHATEM, M. N. *et al.* Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. **The Libyan journal of medicine**, v. 8, n. 1, p. 22520, 2013.

BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; SAIDI, F. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. **Food control**, v. 34, n. 1, p. 208–213, 2013.

BRILHANTE, R. S. N. *et al.* Antifungal activity of chitosan against *Histoplasma capsulatum* in planktonic and biofilm forms: A therapeutic strategy in the future? **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 12, 2023.

BRILHANTE, R. S. N. *et al.* Potassium iodide and miltefosine inhibit biofilms of *Sporothrix schenckii* species complex in yeast and filamentous forms. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 57, n. 6, p. 764–772, 2020.

CARMICHAEL, J. W. *Chrysosporium* and some other aleuriosporic hyphomycetes. Canadian journal of botany. **Journal canadien de botanique**, v. 40, n. 8, p. 1137–1173, 1962.

CARVALHO, J. A. de. *et al.* Trends in the molecular epidemiology and population genetics of emerging *Sporothrix* species. **Studies in Mycology**, v. 100, n.1, p. 1-31, 2021.

CHAKRABARTI, A. *et al.* Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 3-14, 2015.

CHEN, M. *et al.* The “species complex” issue in clinically relevant fungi: A case study in *Scedosporium apiospermum*. **Fungal biology**, v. 120, n. 2, p. 137–146, 2016.

CHRAIBI, M. *et al.* Chemical characterization and antimicrobial activity of Moroccan *Pelargonium asperum* essential oil. **Journal of applied pharmaceutical science**, p. 042–046, 2016.

COGNIALLI, R. C. R. *et al.* Rising Incidence of *Sporothrix brasiliensis* Infections, Curitiba, Brazil, 2011-2022. **Emerging infectious diseases**, v. 29, n. 7, p. 1330–1339, 2023.

CORREA, R. F. *et al.* Development of chitosan microspheres through a green dual crosslinking strategy based on tripolyphosphate and vanillin. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 26, n. 8, p. 2325, 2021.

CORTÉS-CAMARGO, S. *et al.* Microencapsulation by spray drying of lemon essential oil: Evaluation of mixtures of mesquite gum–nopal mucilage as new wall materials. **Journal of Microencapsulation**, v. 34, n. 4, p. 395–407, 19 maio 2017.

COSCUETA, E. R. *et al.* Chitosan-olive oil microparticles for phenylethyl isothiocyanate delivery: Optimal formulation. **PloS one**, v. 16, n. 5, p. e0248257, 2021.

COSTA, K. A. D.; MOURA, R.; MILLEZI, A. F. Antimicrobial and antibiofilm activity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil microemulsions. **Revista CERES**, v. 66, n. 5, p. 372–379, 2019.

COSTA, E. M. *et al.* Chitosan as an effective inhibitor of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Carbohydrate Polymers**, v. 178, p. 347–351, dez. 2017.

COTA-ARRIOLA, O. *et al.* Controlled release matrices and micro/nanoparticles of chitosan with antimicrobial potential: development of new strategies for microbial control in agriculture: Development of new strategies for microbial control in agriculture. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 93, n. 7, p. 1525–1536, 2013.

DAMASCENO, L. S. *et al.* Esporotricose: Uma micose em expansão no Ceará. **The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases**, v. 27, n. 103285, p. 103285, 2023.

DA SILVA GÜNDEL, S. *et al.* Nanoemulsions containing *Cymbopogon flexuosus* essential oil: Development, characterization, stability study and evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities. **Microbial pathogenesis**, v. 118, p. 268–276, 2018.

DE BEER, Z. W.; DUONG, T. A.; WINGFIELD, M. J. The divorce of *Sporothrix* and *Ophiostoma*: solution to a problematic relationship. **Studies in mycology**, v. 83, n. 1, p. 165–191, 2016.

DE BOER, W. *et al.* Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. **FEMS microbiology reviews**, v. 29, n. 4, p. 795–811, 2005.

DE SOUZA FONTES, C. *et al.* Potencial de nanoemulsões contendo óleos essenciais para o controle alternativo de dermatoses fúngicas em animais domésticos. **TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL X**, p. 233, 2021.

DESPRÉS, P. C.; SHAPIRO, R. S.; CUOMO, C. A. New approaches to tackle a rising problem: Large-scale methods to study antifungal resistance. **PLoS pathogens**, v. 20, n. 9, p. e1012478, 2024.

DIX, N. J.; WEBSTER, J. **Fungal Ecology**. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2013.

DOS SANTOS, G. M. P. *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.

EL AANACHI, S. *et al.* Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of

*Pelargonium graveolens* growing in Morocco. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 29, n. 101819, p. 101819, 2020.

EL-AZIZ, A. R. M. A. *et al.* Chitosan nanoparticles as a carrier for *Mentha longifolia* extract: synthesis, characterization and antifungal activity. **Current Science**, p. 2116-2122, 2018.

ETCHECOPAZ, A. *et al.* *Sporothrix brasiliensis*: A review of an emerging south American fungal pathogen, its related disease, presentation and spread in Argentina. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 7, n. 3, p. 170, 2021.

FALCÃO, E. M. M. *et al.* Hospitalizações e óbitos relacionados à esporotricose no Brasil (1992-2015). **Cadernos de Saúde Pública.**, Fundação Oswaldo Cruz, v. 35, n. 2, p. 1-6, 2019.

FLEURY, R. N. *et al.* Zoonotic sporotrichosis. Transmission to humans by infected domestic cat scratching: report of four cases in São Paulo, Brazil. **International journal of dermatology**, v. 40, n. 5, p. 318–322, 2001.

GANJEWALA, D.; GUPTA, A. K. Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats essential oil: overview and biological activities. **Recent Progress in Medicinal Plants**, v. 37, p. 235-271, 2013.

GARCIA, L. G. S. *et al.* Effect of the molecular weight of chitosan on its antifungal activity against *Candida* spp. in planktonic cells and biofilm. **Carbohydrate polymers**, v. 195, p. 662–669, 2018.

GARCIA, L. G. S. *et al.* Antifungal activity of different molecular weight chitosans against planktonic cells and biofilm of *Sporothrix brasiliensis*. **International journal of biological macromolecules**, v. 143, p. 341–348, 2020.

GARCIA, L. G. S. *et al.* Essential oils encapsulated in chitosan microparticles against *Candida albicans* biofilms. **International journal of biological macromolecules**, v. 166, p. 621–632, 2021.

GARCÍA CARNERO, L. C. *et al.* Immunity and treatment of sporotrichosis. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 4, n. 3, p. 100, 2018.

GARCÍA-CARNERO, L. C.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A. Virulence factors of *Sporothrix schenckii*. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 3, p. 318, 2022.

GIORDANO, V.; GIANNOUDIS, P. V. Biofilm formation, antibiotic resistance, and infection (BARI): The triangle of death. **Journal of clinical medicine**, v. 13, n. 19, p. 5779, 2024.

GONG, J. *et al.* Population structure and genetic diversity of *Sporothrix globosa* in China according to 10 novel microsatellite loci. **Journal of medical microbiology**, v. 68, n. 2, p. 248–254, 2019.

GRAÇA, V. C.; FERREIRA, I. C. F. R.; SANTOS, P. F. Bioactivity of the *Geranium* genus: A comprehensive review. **Current pharmaceutical design**, v. 26, n. 16, p. 1838–1865, 2020.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian journal of microbiology**, v. 52, n. 1, p. 107–124, 2021.

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira *et al.* Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, n. 3, p. 621-624, mar. 2020. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

GUARRO, J.; GENÉJ; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 3, p. 454–500, 1999.

GUIMARÃES, T. M.; GUIMARÃES, A. B. Esporotricose felina: Relatos de caso. **PubVet**, v. 16, n. 1, p. 1–6, 2022.

GÜNDEL, S. *et al.* Nanoemulsions containing *Cymbopogon flexuosus* essential oil: Development, characterization, stability study and evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities. **Microbial Pathogenesis**, v. 118, p. 268–276, 1 maio 2018.

HAMIDPOUR, R. *et al.* *Pelargonium graveolens* (Rose geranium) - A novel therapeutic agent for antibacterial, antioxidant, antifungal and diabetics. **Archives in cancer research**, v. 05, n. 01, 2017.

HE, D. *et al.* Transcriptome analysis of dimorphic fungus *Sporothrix schenckii* exposed to temperature stress. **International microbiology: the official journal of the Spanish Society for Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 25–35, 2021.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. F. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. A new pathogenic fungus. **The journal of experimental medicine**, v. 5, n. 1, p. 77–89, 1900.

HUANG, L. *et al.* Whole-genome sequencing and in silico analysis of two strains of *Sporothrix globosa*. **Genome biology and evolution**, v. 8, n. 11, p. 3292–3296, 2016.

ING, L. Y. *et al.* Antifungal activity of chitosan nanoparticles and correlation with their physical properties. **International journal of biomaterials**, v. 2012, p. 632698, 2012.

JHA, R.; MAYANOVIC, R. A. A review of the preparation, characterization, and applications of chitosan nanoparticles in nanomedicine. **Nanomaterials (Basel, Switzerland)**, v. 13, n. 8, p. 1302, 2023.

JOVANOVIĆ, J. *et al.* Enhanced stability of encapsulated lemongrass essential oil in chitosan-gelatin and pectin-gelatin biopolymer matrices containing ZnO nanoparticles. **International journal of biological macromolecules**, v. 275, n. Pt 2, p. 133335, 2024

KIM, W. *et al.* Transcriptional divergence underpinning sexual development in the fungal class Sordariomycetes. **mBio**, v. 13, n. 3, 2022.

KWON-CHUNG K. J.; BENNET J. E.; **Medical mycology**. Lea & Febiger, Philadelphia, PA, 1992.

- LALLI, J. Y. Y. *et al.* In vitro biological activities of South African Pelargonium (Geraniaceae) species. **Suid-Afrikaanse tydskrif vir plantkunde [South African journal of botany]**, v. 74, n. 1, p. 153–157, 2008.
- LI, J. *et al.* Chitosan-based nanomaterials for drug delivery. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 23, n. 10, p. 2661, 2018.
- LIMA, A. L. DE A. *et al.* ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO GERANIOL CONTRA CANDIDA NÃO-ALBICANS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA EM PEDIATRIA. **Revista Uningá**, v. 55, n. 3, p. 161–169, 2018.
- LOPES-BEZERRA, L. 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. 1, p. 126–143, 2018.
- MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- MAHAJAN, V. K. Sporotrichosis: An overview and therapeutic options. **Dermatology research and practice**, v. 2014, p. 1–13, 2014.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. *et al.* Families of Sordariomycetes. **Fungal diversity**, v. 79, n. 1, p. 1–317, 2016.
- MAHBOUBI, M.; VALIAN, M. Anti-dermatophyte activity of Pelargonium graveolens essential oils against dermatophytes. **Clinical phytoscience**, v. 5, n. 1, 2019.
- MARIMON, R. *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.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A. *et al.* Sporothrix schenckii sensu stricto and Sporothrix brasiliensis are differentially recognized by human peripheral blood mononuclear cells. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 843, 2017
- MICHALCZYK, A.; OSTROWSKA, P. Essential oils and their components in combating fungal pathogens of animal and human skin. **Journal de mycologie medicale**, v. 31, n. 2, p. 101118, 2021.
- MOGHIMI, R. *et al.* Superior antibacterial activity of nanoemulsion of Thymus daenensis essential oil against E. coli. **Food chemistry**, v. 194, p. 410–415, 2016.
- MOHAMMADI, A.; HASHEMI, M.; HOSSEINI, S. M. Chitosan nanoparticles loaded with Cinnamomum zeylanicum essential oil enhance the shelf life of cucumber during cold storage. **Postharvest biology and technology**, v. 110, p. 203–213, 2015.
- MORA-MONTES, H. M. Special issue “Sporothrix and sporotrichosis 2.0”. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 8, p. 821, 2022.
- MUKARRAM, M. *et al.* Lemongrass essential oil components with antimicrobial and anticancer activities. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 1, p. 20, 2021.

NAEINI, A. R.; NAZERI, M.; SHOKRI, H. Antifungal activity of *Zataria multiflora*, *Pelargonium graveolens* and *Cuminum cyminum* essential oils towards three species of *Malassezia* isolated from patients with pityriasis versicolor. **Journal de mycologie medicale**, v. 21, n. 2, p. 87–91, 2011.

OLIVEIRA, R. C. *et al.* Cellular, physiological and molecular approaches to investigate the antifungal and anti-aflatoxigenic effects of thyme essential oil on *Aspergillus flavus*. **Food Chemistry**, v. 315, p. 126096, jun. 2020.

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

OROFINO-COSTA, R. *et al.* Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017.

PECARSKI, D. *et al.* Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan microparticles with thyme essential oil. **Hemijaska industrija**, v. 68, n. 6, p. 721–729, 2014.

PENHA, V. C. S. *et al.* PRODUÇÃO DE MICROESFERAS DE QUITOSANA PARA FINS FARMACÊUTICOS. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55941–55973, 2020.

POZNANSKI, P.; HAMEED, A.; ORCZYK, W. Chitosan and chitosan nanoparticles: Parameters enhancing antifungal activity. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 28, n. 7, 2023.

QUEIROZ-TELLES, F.; BUCCHERI, R.; BENARD, G. Sporotrichosis in immunocompromised hosts. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 5, n. 1, p. 8, 2019.

RANGEL-GAMBOA, L. *et al.* Update of phylogenetic and genetic diversity of *Sporothrix schenckii* sensu lato. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 54, n. 3, p. 248–255, 2016.

RHIMI, W. *et al.* Antifungal, antioxidant and antibiofilm activities of essential oils of *Cymbopogon* spp. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 6, p. 829, 2022.

RODRIGUES, A. M. *et al.* Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 219, 2014.

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

RODRIGUES, A. M. *et al.* Current progress on epidemiology, diagnosis, and treatment of sporotrichosis and their future trends. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 8, n. 8, p. 776, 2022.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. *Sporothrix* species causing outbreaks in animals and humans driven by animal-animal transmission. **PLoS pathogens**, v. 12, n. 7, p. e1005638, 2016.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. Feline Sporotrichosis. Em: **Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 199–231.

RODRIGUES, A. M.; HAGEN, F.; DE CAMARGO, Z. P. A Spotlight on Sporothrix and Sporotrichosis. **Mycopathologia**, v. 187, n. 4, p. 407–411, 2022.

ROSATO, A. *et al.* Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. **Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 14, n. 11, p. 727–732, 2007.

ROSSI, G. G. *et al.* Antibiofilm activity of nanoemulsions of *Cymbopogon flexuosus* against rapidly growing mycobacteria. **Microbial pathogenesis**, v. 113, p. 335–341, 2017.

RUDRAMURTHY, S. M.; CHAKRABARTI, A. Sporotrichosis: Update on diagnostic techniques. **Current fungal infection reports**, v. 11, n. 3, p. 134–140, 2017.

SANCHOTENE, K. O. *et al.* In vitro susceptibility of *Sporothrix brasiliensis*: Comparison of yeast and mycelial phases. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 55, n. 8, p. 869–876, 2017.

SANTOS, A. F. *et al.* Guia prático para enfrentamento da esporotricose felina em Minas Gerais. **Revista V&Z em Minas**, p. 16–27, 2018.

SASAKI, A. A. *et al.* Chromosomal polymorphism in the *Sporothrix schenckii* complex. **PLoS one**, v. 9, n. 1, p. e86819, 2014.

SHARMA, B.; SHARMA, A. K.; SHARMA, U. Sporotrichosis: A comprehensive review on recent drug-based therapeutics and management. **Current dermatology reports**, v. 11, n. 2, p. 110–119, 2022.

SHARMA, K.; PARMANU, P. K.; SHARMA, M. Mechanisms of antifungal resistance and developments in alternative strategies to combat *Candida albicans* infection. **Archives of microbiology**, v. 206, n. 3, p. 95, 2024.

SHAROPOV, F. S.; ZHANG, H.; SETZER, W. N. Composition of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil from Tajikistan. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**, v. 2, p. 13–16, 6 dez. 2014.

SHEN, X.-X. *et al.* Genome-scale phylogeny and contrasting modes of genome evolution in the fungal phylum Ascomycota. **Science advances**, v. 6, n. 45, p. eabd0079, 2020.

SIDRIM, J.J.C; ROCHA, M.F.G. **Micologia Médica á Luz de Autores Contemporâneos**. 1.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2004.

SIVAGNANAM, S. *et al.* Sporotrichosis (*Sporothrix schenckii* infection) in the New South Wales mid-north coast, 2000-2010. **The Medical journal of Australia**, v. 196, n. 9, p. 588–590, 2012.

SONG, Y. *et al.* In vitro antifungal susceptibility of *Sporothrix globosa* isolates from Jilin Province, northeastern China: comparison of yeast and mycelial phases. **Brazilian journal of microbiology**, v. 52, n. 1, p. 81–90, 2021.

TAYLOR, T. N.; KRINGS, M.; TAYLOR, E. L. *Ascomycota*. Em: **Fossil Fungi**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 129–171.

TIBENDA, J. J. *et al.* Review of phytomedicine, phytochemistry, ethnopharmacology, toxicology, and pharmacological activities of *Cymbopogon* genus. **Frontiers in pharmacology**, v. 13, 2022.

THOMSON, J. *et al.* An atypical cause of sporotrichosis in a cat. **Medical Mycology Case Reports**, v. 23, p. 72–76, 2019.

VETTORATO, R. *et al.* Sporotrichosis by *Sporothrix schenckii* sensu stricto with itraconazole resistance and terbinafine sensitivity observed in vitro and in vivo: Case report. **Medical mycology case reports**, v. 19, p. 18–20, 2018.

WALLER, S. B. *et al.* Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian journal of microbiology**, v. 52, n. 1, p. 73–80, 2021.

WANG, W. *et al.* Chitosan derivatives and their application in biomedicine. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 2, p. 487, 2020.

WIŃSKA, K. *et al.* Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative? **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 24, n. 11, p. 2130, 2019.

XAVIER, M. O. *et al.* Esporotricose felina com envolvimento humano na cidade de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência rural**, v. 34, n. 6, p. 1961–1963, 2004.

XAVIER, M. O. *et al.* *Sporothrix brasiliensis*: Epidemiology, Therapy, and Recent Developments. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 9, 2023.

YAMMINE, J. *et al.* Enhanced antimicrobial, antibiofilm and ecotoxic activities of nanoencapsulated carvacrol and thymol as compared to their free counterparts. **Food control**, v. 143, n. 109317, p. 109317, 2023.

YU, L.; ZHANG, T.-D. Skin lesions caused by sporotrichosis. *journal de l'Association medicale canadienne*. **Canadian Medical Association journal**, v. 193, n. 29, p. E1139, 2021.

ZAHRA, A. A.; HARTATI, R.; FIDRIANNY, I. Review of the chemical properties, pharmacological properties, and development studies of *Cymbopogon* sp. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 10341–10350, 2020.

ZHANG, X. *et al.* Emerging chitosan-essential oil films and coatings for food preservation - A review of advances and applications. *Carbohydrate polymers*, v. 273, n. 118616, p. 118616, 2021.

ZHANG, Z. *et al.* The Antifungal Activity and Action Mechanism of Lemongrass (Cymbopogon flexuosus) Essential Oil Against Fusarium avenaceum. *Journal of essential oil-bearing plants*, v. 25, n. 3, p. 536–547, 2022.

ZHAO, J. *et al.* Ethnobotanical uses, phytochemistry and bioactivities of Cymbopogon plants: A review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 330, n. 118181, p. 118181, 2022.

ZHOU, Xun *et al.* Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Fungal Diversity**, p. 153-165, 31 jan. 2013. Springer Science and Business Media LL