

## Analysis of the susceptibility and resistance to antifungals in clinical isolates of *Sporothrix brasiliensis*

Análisis de la susceptibilidad y resistencia a antifúngicos en aislados clínicos de *Sporothrix brasiliensis*

Ángel Eduardo García-Acevedo<sup>1</sup>, Daniela Segura-Castellanos<sup>1</sup>, Valeria Alejandra Arévalo-Cineros<sup>1</sup>, Manuela Gómez-Gaviria<sup>1</sup>, Héctor Manuel Mora-Montes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato (\*hmora@ugto.mx)

### Resumen

*Sporothrix brasiliensis* es considerada la especie más virulenta del género *Sporothrix* y es el principal agente causante de la esporotricosis zoonótica en Brasil, por lo cual es un reto terapéutico por el aumento de los mecanismos de resistencia antifúngica. En este estudio, se evaluó su capacidad de formación de biopelículas y la susceptibilidad a tres diferentes antifúngicos (fluconazol, itraconazol y anfotericina B), en 10 aislados clínicos que se obtuvieron de biopsias de diferentes gatos. La formación de biopelículas se evaluó mediante la técnica de tinción con cristal violeta y midiendo su absorbancia a 490 nm, por otro lado, las pruebas de susceptibilidad antifúngica siguieron la metodología de CLSI para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI). Los resultados arrojaron que, aproximadamente el 90% de los aislados fueron formadores de biopelículas, por lo que se considera que este es un factor de virulencia habitual en *S. brasiliensis*. En la susceptibilidad, las CMI de fluconazol tuvieron valores entre 0.25–8.0 µg/mL, en donde la cepa control (WT) y Cocolho fueron los más resistentes. En cuanto itraconazol, las CMI oscilaron entre 0.06-32.0 µg/mL, siendo las cepas de mayor susceptibilidad Negão (0.06 µg/mL) y Romario (0.12 µg/mL). En anfotericina B, los valores de CMI variaron entre 2.0-32.0 µg/mL y Xana B y Aninha mostraron la mayor resistencia, con 16.0 y 32.0 µg/mL respectivamente. Los resultados sugieren una resistencia variable de parte de los aislados aun siendo de la misma especie.

**Palabras clave:** *Sporothrix brasiliensis*; resistencia antifúngica; biopelículas; concentración mínima inhibitoria; esporotricosis zoonótica

### Introducción

La esporotricosis es una micosis subcutánea de distribución mundial, conocida también como "la enfermedad del jardinero". Es causada por hongos termodimórficos pertenecientes al complejo *Sporothrix* spp. (Mora-Montes *et al.*, 2015). Estos hongos se encuentran en el ambiente, particularmente en el suelo y en restos vegetales en descomposición, donde adoptan la fase micelial. Al infectar al hospedero, se transforman en levaduras, su forma parasitaria. La infección suele producirse a través de traumatismos con material contaminado o por transmisión zoonótica, siendo el gato el principal vector de contagio en este último caso (García-Carnero & Martínez-Álvarez, 2022). Tras la inoculación, es común la aparición de un chancro esporotrócico en el sitio de entrada y posteriormente, la enfermedad puede diseminarse por contigüidad, desarrollándose lesiones verrugosas o gomosas (Mora-Montes *et al.*, 2015).

Las especies implicadas en la esporotricosis incluyen *Sporothrix globosa*, *Sporothrix luriei*, *S. brasiliensis* y *Sporothrix schenckii*. Siendo *S. brasiliensis*, endémica de Brasil y considerada la especie más virulenta del género, característica atribuida en parte a su mayor termotolerancia (Gómez-Gaviria *et al.*, 2023). Actualmente, Brasil registra el mayor número de casos de esporotricosis felina a nivel mundial, con más de 5000 casos reportados en 2021 (de Oliveira Bento *et al.*, 2021). Esta forma zoonótica de la enfermedad fue descrita por primera vez en Brasil en la década de los 50's y aunque inicialmente se presentaba de forma esporádica (alrededor de 178 casos clínicos por año), a partir de los años 90's su incidencia aumentó de manera considerable (Barros *et al.*, 2004; Gremião *et al.*, 2020). La esporotricosis puede manifestarse en diferentes formas clínicas, siendo la linfocutánea la presentación más frecuente. También se describen las formas, cutánea fija, cutánea superficial y cutánea diseminada (Mora-Montes *et al.*, 2015).

Dado el incremento en los casos de esporotricosis, especialmente aquellos provocados por *S. brasiliensis*, surge la necesidad de comprender no solo la diversidad clínica de la enfermedad, sino también las limitaciones terapéuticas asociadas a su tratamiento. Actualmente, el manejo de las infecciones fúngicas se basa en cuatro clases principales de antimicóticos: los polienos, los azoles, las equinocandinas y la 5-flucitosina, un análogo de pirimidina. Sin embargo, el éxito terapéutico se ve comprometido por la capacidad de los hongos de desarrollar mecanismos de tolerancia y resistencia a estos fármacos, lo que conlleva al fracaso del tratamiento (Fisher *et al.*, 2022).

La resistencia antifúngica en *Sporothrix* es un fenómeno complejo en el que confluyen diversos mecanismos, incluyendo la expresión de factores de virulencia, como la formación de biopelículas. Estas estructuras fúngicas actúan como una barrera física que dificulta la penetración de los antifúngicos, reduciendo su eficacia al impedir que las moléculas activas lleguen a su blanco intracelular (García-Carnero & Martínez-Álvarez, 2022). Además, la resistencia se define clásicamente como la capacidad del hongo para crecer en concentraciones de fármaco superiores al punto de corte de susceptibilidad, generalmente debido a cambios moleculares en el agente patógeno (Fisher *et al.*, 2022). En *S. brasiliensis*, se ha documentado la disminución de susceptibilidad frente a azoles, como itraconazol y fluconazol, así como a polienos, como la anfotericina B. Los azoles actúan inhibiendo la enzima lanosterol 14- $\alpha$ -desmetilasa, esencial en la síntesis de ergosterol, un componente clave de la membrana celular del hongo; la reducción de ergosterol desestabiliza la membrana y conduce a la muerte celular (Herrick *et al.*, 2024; Niño-Vega *et al.*, 2024). Por su parte, los polienos se unen directamente al ergosterol, formando poros que permiten la fuga de componentes intracelulares, provocando la lisis celular (Ngece *et al.*, 2024). La identificación y el monitoreo de los mecanismos de resistencia en aislados clínicos de *S. brasiliensis* son fundamentales para adaptar las estrategias terapéuticas y enfrentar esta creciente amenaza.

### Materiales y métodos

Este estudio experimental se llevó a cabo en el Departamento de Biología de la Universidad de Guanajuato, entre los meses de junio y julio de 2025.

### Cepas y condiciones de cultivo

En este estudio se usaron 10 aislados clínicos diferentes de la especie *S. brasiliensis*, obtenidos de biopsias de gato (Tabla 1), proporcionados por el Laboratorio de Glicobiología de hongos patógenos del Departamento de Biología de la Universidad de Guanajuato. Además, como control experimental se utilizó la cepa WT de *S. brasiliensis* 5110 ATCC MYA. 4823. Tanto los aislados clínicos como la cepa control se cultivaron en medio YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) ajustado a pH 7.8, a 37 °C durante 4 días. Posteriormente, se realizó un análisis microscópico de cada cultivo utilizando un objetivo de 40X, con el fin de verificar la morfología levaduriforme característica y descartar la presencia de contaminación bacteriana. El manejo de los aislados clínicos se realizó bajo condiciones de bioseguridad nivel 2 (BSL-2), siguiendo las normas institucionales y nacionales aplicables para el trabajo con hongos patógenos.

**Tabla 1.** Aislados de *S. brasiliensis* utilizados en este estudio.

Aislado	Etiqueta
<i>S. brasiliensis</i> 5110	ATCC MYA. 4823
Cocolho	H0491
Romario	H0490
Xana B	HUVET
Aninha	H0499
Juju	H0492
Negão	H0493
Fuxo	H0506

Marilyn	H0495
João Tigre	H0528
Fred	H0486

### Formación de biopelículas

Para evaluar la formación de biopelículas, los cultivos fúngicos se ajustaron a una densidad óptica de 0.2 a 490 nm. Se preparó la cantidad de inóculo y medio necesario para obtener un volumen final de 1 mL por condición experimental. Posteriormente, se transfirieron 200 µL de la suspensión celular a cada pozo de placas de 96 pozos, por duplicado, incluyendo los controles correspondientes (RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) suplementado con MOPS (ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico) y medio de cultivo). Las placas se incubaron durante 3 días a 37 °C. Tras la incubación, se descartó el contenido de cada pozo y las placas se lavaron cuidadosamente tres veces con PBS (pH 7.4) para eliminar las células no adheridas. La biopelícula formada se fijó añadiendo 200 µL de metanol por pozo, dejándolo actuar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se retiró el metanol y se repitió el lavado con PBS en tres ocasiones. Para la tinción, se agregaron 200 µL de cristal violeta al 1% por pozo y se incubó durante 30 minutos. Luego, se realizaron lavados con PBS para eliminar el exceso de colorante. Finalmente, se adicionaron 200 µL de etanol al 98% para solubilizar el cristal violeta adherido, dejándolo reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente. La cuantificación de las biopelículas se realizó midiendo la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro de microplacas.

### Ensayo de susceptibilidad a antifúngicos

Para determinar si se afecta la sensibilidad de los diferentes aislados de *S. brasiliensis* a antifúngicos comerciales, se procedió a realizar el ensayo de microdilución para levaduras, M27-A3, método estandarizado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Lacasa *et al.*, 2007). Se preparó el medio de cultivo con RPMI 1640 suplementado con glutamina y sin bicarbonato de sodio, tamponado con MOPS 0.164 M (Sigma), ajustado a pH 7 y con 0.2 % de glucosa. La preparación de los antifúngicos se realizó de dos maneras: para los antifúngicos que son solubles en agua como el fluconazol se prepararon las concentraciones a ensayar comprendidas entre 64 y 0.12 µg/mL, utilizando como diluyente RPMI 1640 (10.4 g RPMI, 34.53 g tampón MOPS y 1 L agua destilada). Para los antifúngicos que son insolubles en agua como anfotericina B e itraconazol se prepararon las concentraciones requeridas para el ensayo que se encuentran entre 16 y 0.03 µg/mL, utilizando como diluyente dimetil sulfoxido (DMSO). Para los antifúngicos solubles en agua a partir de la solución madre se preparó una serie de diluciones a una concentración 10 veces superior a la concentración final deseada, utilizando como diluyente RPMI 1640, mientras que para los que no son solubles en agua se preparó una serie de diluciones a una concentración 100 veces superior a la concentración final deseada, utilizando como diluyente DMSO. A cada uno de los pozos de la placa se le adicionaron 100 µL del antifúngico. Para la preparación del inóculo, se puso un cultivo de 4 días de cada uno de los aislados y con ayuda del espectrofotómetro a una D.O. 530 nm se ajustó la densidad óptica a 0.5 según la escala de McFarland, la cual tiene una concentración aproximada de  $1 \times 10^6$ -  $5 \times 10^6$  UFC/mL. Posteriormente, se realizó una dilución 1:1000 con medio RPMI y esta dilución fue la que se utilizó para inocular 100 µL en las placas. Como control del experimento se utilizó medio RPMI. Una vez que se pusieron los antifúngicos correspondientes y el inóculo del hongo, las placas se incubaron a 37 °C durante 48 h. Pasado el tiempo de incubación se midió la absorbencia de las placas a 490 y 530 nm (Lacasa *et al.*, 2007).

### Resultados

#### Formación de biopelículas

Para verificar si los aislados eran capaces de formar biopelículas, el cual ha sido considerado como factor de virulencia en diferentes especies de hongos, se analizó el crecimiento de cada aislado, donde se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 2.

**Tabla 2.** Formación de biopelículas en aislados de *S. brasiliensis* de gato. F; formadora. NF; no formadora

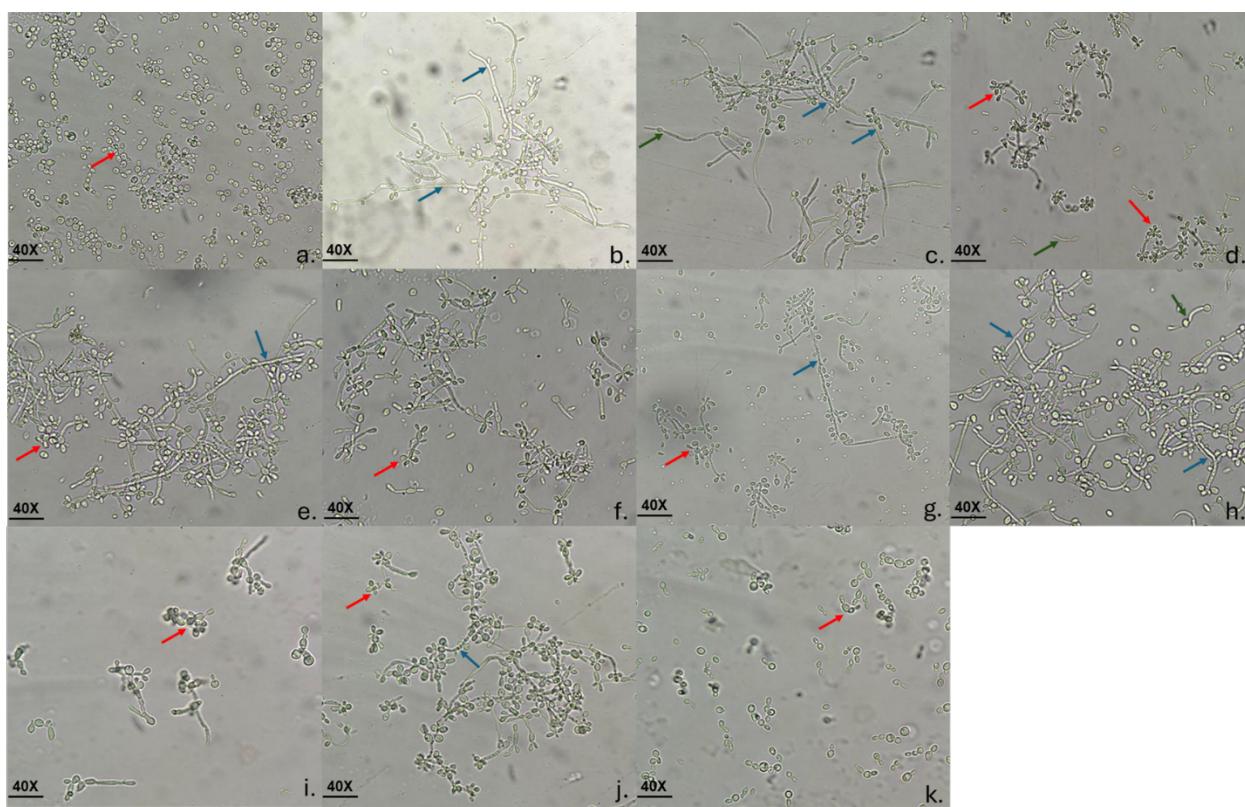
Aislado	Formación de biopelículas
---------	---------------------------

WT	F
Cocolho	F
Romario	F
Xana B	F
Marilyn	F
Aninha	NF
Juju	NF
Negão	F
Fuxo	F
João Tigre	F
Fred	F

De todos los aislados analizados, dos demostraron no ser formadores de biopelículas (tabla 2), los demás, tuvieron un comportamiento similar al de la cepa WT de *S. brasiliensis*. Estas diferencias en la formación de biopelícululas podrían estar relacionadas en la manera como el hongo interacciona directamente con las células del hospedero. Resulta interesante, que, aunque todos los aislados clínicos fueron obtenidos de biopsias de gato, aspectos biológicos como la formación de biopelículas presentan diferencias entre ellos.

### **Análisis microscópicos**

Para descartar contaminación bacteriana en cada una de las muestras, se analizaron bajo el microscopio los diferentes aislados de *S. brasiliensis* (Figura 1).



**Figura 1.** Microscopía de campo claro aumento 40x de cada uno de los aislados clínicos. a) *S. brasiliensis* 5110, b) Cocolho, c) Romario, d) Xana B, e) Aninha, f) Juju, g) Negão, h) Fuxo, i) Marilyn, j) João Tigre, k) Fred.

Como se observa en la Figura 1, todos los aislados estaban libres de contaminación bacteriana y se observa la presencia de levaduras (flechas rojas) y en algunos de los aislados presencia de germínulas (flechas verdes), micelio y conidios (flechas azules).

#### Susceptibilidad y resistencia a medicamentos antifúngicos

Se analizaron los resultados de las lecturas espectrofotométricas a 490 nm y 530 nm. Se realizaron los cálculos respectivos y se obtuvieron los valores de la CMI de cada uno de los antifúngicos con los que se trabajó, obteniendo lo plasmado en la tabla 3. La determinación de la CMI se realizó mediante lecturas espectrofotométricas a 490 nm y 530 nm. El porcentaje de inhibición se calculó utilizando la fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = [(OD \text{ control} - OD \text{ muestra}) / OD \text{ control}] \times 100$$

**Tabla 3.** Susceptibilidad de los aislados a fluconazol, itraconazol y anfotericina B

Aislado	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	Fluconazol	Itraconazol	Anfotericina B
<i>S. brasiliensis</i> WT	8	32	4

Cocolho	8	8	8
Romario	1	0.12	2
Xana B	1	1	16
Aninha	2	32	32
Juju	2	8	4
Negão	2	0.06	4
Fuxo	4	1	4
Marilyn	1	4	4
João Tigre	4	1	4
Fred	1	2	4

Con base en los resultados obtenidos, se observaron diferencias notables en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) entre los aislados clínicos y la cepa control (Tabla 3). Para fluconazol, mientras que la cepa WT y el aislado Cocolho presentaron valores elevados de CMI (8 µg/mL), la mayoría de los aislados mostraron mayor sensibilidad, con valores de 1–2 µg/mL. En el caso de itraconazol, la cepa WT y el aislado Aninha registraron las CMI más altas (32 µg/mL), seguidos por Juju y Cocolho (8 µg/mL), en contraste con Negão, que mostró el valor más bajo (0.06 µg/mL). Con respecto a anfotericina B, la cepa WT presentó una CMI de 4 µg/mL, similar a la de la mayoría de los aislados, aunque algunos como Xana B (16 µg/mL) y Aninha (32 µg/mL) mostraron una tolerancia marcadamente superior. En conjunto, estos resultados evidencian una amplia variabilidad en el perfil de susceptibilidad antifúngica de los aislados clínicos de *S. brasiliensis* en comparación con la cepa WT.

## Discusión

Las esporotricosis ha sido considerada una micosis de creciente relevancia médica, especialmente en regiones endémicas de América Latina. Esta infección subcutánea afecta con mayor frecuencia a personas que desempeñan actividades al aire libre, como agricultores, jardineros y veterinarios, así como a individuos inmunocomprometidos, quienes constituyen una población particularmente vulnerable (Mora-Montes *et al.*, 2015). Actualmente, se reconoce como la micosis subcutánea con mayor distribución a nivel mundial aunado a que se considera una enfermedad zoonótica.

*Sporothrix brasiliensis*, especie emergente dentro del clado patogénico del género *Sporothrix*, ha sido identificada como la más virulenta entre las especies clínicamente relevantes. A diferencia de *S. schenckii* y *S. globosa*, esta especie presenta una notable capacidad de diseminación sistémica, incluso en hospederos inmunocompetentes, particularmente en gatos domésticos, los cuales actúan como reservorios y vectores clave en la transmisión zoonótica. En casos de esporotricosis felina, la diseminación sistémica puede observarse sin la necesidad de coinfecciones, como el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) o el virus de la leucemia felina (FeLV), lo cual subraya su elevada patogenicidad (Gonçalves *et al.*, 2020).

La alta virulencia de *S. brasiliensis* ha sido atribuida a una combinación de factores, entre los que destacan la capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero, la producción de enzimas hidrolíticas, la transición entre morfologías y particularmente, la formación de biopelículas (biofilms). Estas estructuras complejas representan una estrategia adaptativa que permite a los hongos adherirse a superficies biológicas o abiotícas, resistir el ataque del sistema inmune y disminuir la eficacia de los antifúngicos convencionales. En *Sporothrix spp.*, las biopelículas presentan una organización tridimensional caracterizada por una red de hifas embebidas en una matriz polimérica extracelular, en la que se observan canales de agua que facilitan el transporte de nutrientes a las células internas. Aunque estas estructuras comparten similitudes con las

biopelículas de otros hongos patógenos, su formación ocurre de manera más lenta. Evidencias recientes sugieren que la capacidad de formar biopelículas podría representar uno de los principales determinantes de virulencia en especies del clado patogénico, como *S. brasiliensis* (Gómez-Gaviria *et al.*, 2023). Por tanto, el estudio de la capacidad de formación de biopelículas en aislados clínicos de *S. brasiliensis* es esencial para entender su resistencia intrínseca y el éxito terapéutico limitado observado en algunos casos clínicos (García-Carnero, 2022; Gómez-Gaviria *et al.*, 2023).

En este estudio se evaluó la capacidad de formación de biopelículas en diferentes aislados clínicos de *S. brasiliensis*. Los resultados revelaron una alta propensión de esta especie a formar biopelículas, observándose este fenotipo en la mayoría de los aislados analizados. Sin embargo, se identificaron excepciones en los aislados provenientes de los pacientes Aninha y Juju, los cuales no presentaron capacidad formadora de biopelícula bajo las condiciones evaluadas (Tabla 2). Este hallazgo sugiere que, a pesar de tratarse de la misma especie, existen diferencias fenotípicas importantes entre aislados clínicos, lo que refleja una variabilidad biológica intrínseca que podría estar asociada a factores genéticos, epigenéticos o ambientales. Estas diferencias podrían influir en su comportamiento frente al hospedero, su capacidad de adaptación y su respuesta a los tratamientos antifúngicos, lo que añade un nivel adicional de complejidad al estudio y manejo clínico de la esporotricosis.

Considerando la variabilidad observada en la capacidad de formación de biopelículas entre los distintos aislados de *S. brasiliensis*, se evaluó también su perfil de susceptibilidad a fármacos antifúngicos mediante métodos cuantitativos. En microbiología clínica, estas pruebas permiten determinar la eficacia de un antifúngico específico mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), definida como la menor concentración del fármaco capaz de inhibir visiblemente el crecimiento del hongo. Los protocolos de referencia son establecidos por el CLSI y el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (Wiederhold, 2021). Sin embargo, para el género *Sporothrix*, aún no se han definido puntos de corte clínicos que permitan categorizar los aislados como susceptibles o resistentes (Almeida-Paes *et al.*, 2017), lo que representa una limitación importante en la interpretación clínica de los resultados.

En el caso de fluconazol, la menor susceptibilidad observada en la cepa WT y en el aislado Cocolho coincide con estudios previos que han señalado una eficacia limitada de este antifúngico frente a especies del género *Sporothrix*, debido a mecanismos intrínsecos de tolerancia (Oliveira *et al.*, 2011; Waller *et al.*, 2020). Por otro lado, los valores de CMI más bajos (1–4 µg/mL) en la mayoría de los aislados sugieren cierta heterogeneidad en la respuesta, aunque sin alcanzar concentraciones indicativas de resistencia clínica, dado que actualmente no existen puntos de corte establecidos por CLSI o EUCAST para *Sporothrix* (Gonçalves *et al.*, 2023). En relación con itraconazol, nuestros resultados refuerzan lo reportado en la literatura, que lo señala como el antifúngico de elección en la esporotricosis (Fichman *et al.*, 2022; Seibert *et al.*, 2022). La elevada susceptibilidad de aislados como Romario y Negão podría reflejar la buena eficacia de este fármaco frente a *S. brasiliensis*, mientras que los valores altos en Aninha y la cepa WT sugieren la existencia de variabilidad intraespecífica en la tolerancia al compuesto, tal como ha sido descrito en brotes epidémicos en Brasil. En cuanto a anfotericina B, aunque la mayoría de los aislados mostró CMIs en rangos comparables a la cepa WT, los valores elevados de Aninha y Xana B coinciden con reportes que describen casos clínicos refractarios al tratamiento con este polieno (Oliveira *et al.*, 2011; Fichman *et al.*, 2022; Gonçalves *et al.*, 2023).

La variabilidad observada en los valores de CMI entre los diferentes aislados clínicos resalta la importancia de realizar pruebas de susceptibilidad individualizadas en casos de esporotricosis. Aun tratándose de aislados pertenecientes a la misma especie, se evidencian diferencias notables en la respuesta a los antifúngicos, lo cual podría estar relacionado con mecanismos específicos de resistencia como mutaciones en la enzima diana, alteraciones en la permeabilidad de membrana o sobreexpresión de bombas de eflujo, así como con características propias del origen clínico de cada cepa. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de implementar un enfoque terapéutico más personalizado y basado en el perfil fenotípico de cada aislado, lo cual coincide con la tendencia señalada en la literatura hacia una medicina antifúngica más precisa.

## Conclusión

Debido al carácter altamente virulento de *S. brasiliensis*, actualmente este hongo se ha convertido en el principal objeto de estudio en diversas investigaciones en el ámbito de la esporotricosis. Este estudio revela y confirma su facultad de formar biopelículas como un factor de virulencia que facilita evadir el sistema inmune del hospedero, así como su protección frente a antifúngicos, siendo ocho de los diez aislados clínicos analizados los que mostraron esta capacidad. Cabe resaltar que, en algunos casos, los aislados con mayor capacidad de formar biopelículas también presentaron CMIs elevadas (por ejemplo, Aninha y Xana B), lo que concuerda con lo reportado en la literatura acerca de la relación entre biopelícula y resistencia antifúngica;

sin embargo, esta asociación no fue uniforme en todos los aislados, lo que sugiere que podrían existir otros mecanismos de resistencia. Respecto a la susceptibilidad antifúngica, se observó que la resistencia es variable incluso en aislados obtenidos de pacientes del mismo entorno, lo que indica que no hay uniformidad en la respuesta que presenta *S. brasiliensis* ante los antifúngicos. El itraconazol sigue siendo una de las mejores opciones para el tratamiento de la esporotricosis; sin embargo, el detectar aislados mayormente resistentes, como Aninha, resalta la importancia de realizar pruebas de susceptibilidad antes del tratamiento con cualquier antifúngico. Los resultados obtenidos en este estudio pueden servir como una fuente de monitoreo de cepas resistentes y, de esta forma, crear mejores estrategias para el manejo terapéutico de la micosis.

## Bibliografía/Referencias

- Almeida-Paes, R., Brito-Santos, F., Figueiredo-Carvalho, M. H. G., Machado, A. C. S., Oliveira, M. M. E., Pereira, S. A., Gutierrez-Galhardo, M. C. & Zancopé-Oliveira, R. M. (2017). *Minimal inhibitory concentration distributions and epidemiological cutoff values of five antifungal agents against Sporothrix brasiliensis*. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz, 112(5), 376–381. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160527>
- Cantón Lacasa, E., Martín Mazuelos, E. & Espinel-Ingroff, A. (2007). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). En Asociación Española de Micología (Ed.), Revista Iberoamericana de Micología (Capítulo 15, pp. 15a-1–15a-15). ISBN: 978-84-611-8776-8
- de Oliveira Bento, A., de Sena Costa, A., Lopes Lima, S., do Monte Alves, M., de Azevedo Melo, A.S., Rodrigues, A.M., da Silva Rocha, W.P., Milan, E.P. & Chaves, G.M. (2021). *The spread of cat transmitted sporotrichosis due to Sporothrix brasiliensis in Brazil towards the Northeast region*. PLOS Neglected Tropical Diseases, 15 (8) : e0009693. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009693>
- Fichman, V., Almeida-Silva, F., Francis Saraiva Freitas, D., Zancopé-Oliveira, R.M., Gutierrez-Galhardo, M.C. & Almeida-Paes, R. (2022). *Severe Sporotrichosis Caused by Sporothrix brasiliensis: Antifungal Susceptibility and Clinical Outcomes*. Journal of Fungi, 28;9(1):49. doi: 10.3390/jof9010049
- Fisher, M. C., Alastraue-Izquierdo, A., Berman, J., Bicanic, T., Bignell, E. M., Bowyer, P., Bromley, M., Brüggemann, R., Garber, G., Cornely, O. A., Gurr, S. J., Harrison, T. S., Kuijper, E., Rhodes, J., Sheppard, D. C., Warris, A., White, P. L., Xu, J., Zwaan, B. & Verweij, P. E. (2022). *Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health*. Nature Reviews Microbiology, 20(9), 557–571. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00720-1>
- García-Carnero, L. C. & Martínez-Álvarez, J. A. (2022). *Virulence Factors of Sporothrix schenckii*. Journal of Fungi, 8(3), 318. <https://doi.org/10.3390/jof8030318>
- Gómez-Gaviria, M., Martínez-Álvarez, J. A. & Mora-Montes, H. M. (2023). *Current Progress in Sporothrix brasiliensis Basic Aspects*. Journal of Fungi, 9(5), 533. <https://doi.org/10.3390/jof9050533>
- Gonçalves, R. V. C., Gremião, I. D. F., Macedo, P. M., Freitas, D. F. M. & Schubach, T. M. P. (2020). *Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by Sporothrix brasiliensis*. Brazilian Journal of Microbiology, 52(2), 123-137. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00365-3>
- Gonçalves, S.S., da Cruz Bahiense Rocha, I., Rediguieri, B.C., de Carvalho, J.A., Maifrede, S.B., Krushchewsky, W.L.L., Falqueto, A. & Rodrigues, A.M. (2023). *Human and Feline Sporotrichosis in a Reference Center of Southeastern Brazil: Genetic Differentiation, Diversity, and Antifungal Susceptibility of Sporothrix Species*. Journal of Fungi, 9 (8), 831. <https://doi.org/10.3390/jof9080831>
- Gremião, I. D. F., Martins da Silva da Rocha, E., Montenegro, H., Carneiro, A. J. B., Xavier, M. O., de Farias, M. R., Monti, F., Mansho, W., de Macedo Asunción Pereira, R. H., Pereira, S. A. & Lopes-Bezerra, L. M. (2020). *Guía para el manejo de la esporotricosis felina causada por Sporothrix brasiliensis y revisión de la literatura*. Revista Brasileña de Microbiología, 52(1), 107–124. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00365-3>
- Herrick, E. J., Patel, P., & Hashmi, M. F. (2024, marzo 1). *Antifungal ergosterol synthesis inhibitors*. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551581/>
- Mora-Montes, H.M., da Silva Dantas, A., Trujillo-Esquível, E., de Souza Baptista, A.R. & Lopes-Bezerra, L.M. (2015). *Current progress in the biology of members of the Sporothrix schenckii complex following the genomic era*. FEMS Yeast Research, 15 (6). DOI: 10.1093/femsyr/fov065

Niño-Vega, G. A., Padró-Villegas, L. & López-Romero, E. (2024). New Ground in Antifungal Discovery and Therapy for Invasive Fungal Infections: Innovations, Challenges, and Future Directions. *Journal of Fungi*, 10(12), 871. <https://doi.org/10.3390/jof10120871>

Ngece, K., Ntondini, T. L., Khwaza, V., Paca, A. M. & Aderibigbe, B. A. (2024). *Polyene-Based Derivatives with Antifungal Activities*. *Pharmaceutics*, 16(8), 1065. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16081065>

Lacasa, E.C., Mazuelos, E.M. & Espinel-Ingroff, A. (2007). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). *Revista Iberoamericana de Micología* 15.

Oliveira, D.C., Lopes, P.G.M., Spader, T.B., Mahl, C.D., Tronco-Alves, G.R., Lara, V.M., Santurio, J.M. & Alves, S.H. (2011). Antifungal susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* complex identified in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, 49 (8), 3047-3049. 10.1128/JCM.00255-11

Seibert, G., Poletto, A.L.R., Prade, J.V., Mario, D.N., Stopiglia, C.D.O. (2022). Reversal of itraconazole resistance in *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Revista Iberoamericana de Micología*, 39, 68-71. DOI: 10.1016/j.riam.2022.01.003

Waller, S.B., Lana, D.F.D., Quatrin, P.M., Alves Ferreira, M.R., Fuentefria, A.M. & Mezzari, A. (2020). *Antifungal resistance on Sporothrix species: an overview*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52 (1): 73-80. 10.1007/s42770-020-00307-z

Wiederhold, N. P. (2021). Antifungal Susceptibility Testing: A Primer for Clinicians. *Open Forum Infectious Diseases*, 8(11). <https://doi.org/10.1093/ofid/ofab444>