

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo deste
documento será disponibilizado
somente a partir de 22/07/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

THAIS ZAMBERÇO DOS REIS GENARI

**DESENHO, OBTENÇÃO E VALIDAÇÃO *IN VITRO* DE UMA PROTEÍNA
RECOMBINANTE MULTIEPÍTOPO FÚNGICA PARA FINS VACINAIS CONTRA A
ESPOROTRICOSE**

Araraquara

2026

THAIS ZAMBERÇO DOS REIS GENARI

**DESENHO, OBTENÇÃO E VALIDAÇÃO *IN VITRO* DE UMA PROTEÍNA
RECOMBINANTE MULTIEPÍTOPO FÚNGICA PARA FINS VACINAIS CONTRA A
ESPOROTRICOSE**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Araraquara, para obtenção do título de
Mestre em Biociências e Biotecnologia
Aplicadas à Farmácia

Área de Concentração: Análises Clínicas

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Iracilda Zeppone
Carlos

Coorientador(a): Prof. Dr. Deivys Leandro
Portuondo Fuentes

Araraquara

2026

G324d

Genari, Thais Zambergo dos Reis.

Desenho, obtenção e validação *in vitro* de uma proteína recombinante multiepítipo fúngica para fins vacinais contra a esporotricose / Thais Zambergo dos Reis Genari. – Araraquara, 2026.
66 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de conhecimento: Imunologia Clínica.

Orientadora: Iracilda Zeppone Carlos.

Coorientador: Deivys Leandro Portuondo Fuentes.

1. Esporotricose. 2. Proteínas recombinantes. 3. Vacinas. 4. Micose. 5. Bioinformática. I. Carlos, Iracilda Zeppone, orient. II. Fuentes, Deivys Leandro Portuondo, coorient. III. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara
Vilma Bruna Mastelari Costa - CRB 8/10938

CAPES: 33004030081P7

Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DESENHO, OBTENÇÃO E VALIDAÇÃO IN VITRO DE UMA PROTEÍNA RECOMBINANTE MULTIEPÍTOPO FÚNGICA PARA FINS VACINAIS CONTRA A ESPOROTRICOSE

AUTORA: THAIS ZAMBERÇO DOS REIS GENARI

ORIENTADORA: IRACILDA ZEPPONE CARLOS

COORDINADOR: DEIVYS LEANDRO PORTUONDO FUENTES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. IRACILDA ZEPPONE CARLOS (Participação Virtual)

Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Profa. Dra. MARCIA REGINA VON ZESKA KRESS (Participação Virtual)

Departamento de Análises Clínicas Toxicológicas e Bromatológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP - Ribeirão Preto

Prof. Dr. ANDREI MOROZ (Participação Virtual)

Departamento de Análises Clínicas / UNESP / Câmpus de Araraquara - FCF

Araraquara, 22 de janeiro de 2026.

Dedico este trabalho à minha família,
amigos e professores que apoiaram meu
crescimento e estiveram por todos os
momentos durante esta jornada

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares que me apoiaram durante todos estes anos. A minha mãe que me auxiliou na escolha do curso e na trajetória da minha vida durante muitos anos e ao meu padrasto que me permitiu viver esse sonho.

Aos meus professores da graduação e pós-graduação, principalmente a Professora Doutora Iracilda Zeppone Carlos que me orientou e ao Professor Doutor Deivys Leandro Portuondo Fuentes me coorientou sendo peças fundamentais na produção deste projeto.

As minhas amigas de laboratório, Beatriz da Cunha Saçaki, Fernanda Luiza Piccineli e Tarcila Pavicic Catalan de Oliveira Campos que trilharam este caminho junto comigo e me apoiaram durante todo o processo. A Adriana Fernandes de Deus, doutoranda do laboratório que me aconselhou e ajudou durante todos estes anos.

A Anna Beatriz Toledo Borges, minha eterna colega de classe, que me mostrou o lado da pesquisa e hoje é um dos anjos da guarda que me guiou nesta trajetória. Aos amigos que construí durante o mestrado, que foram capazes de tornar minha vida acadêmica mais leve.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de pesquisa (processo 131420/2024-0).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“É pelo trabalho que a mulher vem diminuindo a distância que a separava do homem, somente o trabalho poderá garantir-lhe uma independência concreta.” (BEAUVOIR, S. O Segundo Sexo Vol 2: A Experiência Viva, Difusão Européia do Livro, 1967).

RESUMO

Os casos de doenças fúngicas invasivas estão aumentando, na medida que a população de risco se expande, como aqueles que possuem o sistema imune comprometido, pacientes com tuberculose, HIV, doenças pulmonares crônicas, câncer e diabetes mellitus, pacientes em unidades de tratamento intensivo, pacientes com tratamento de imunossupressores ou aqueles submetidos a procedimentos invasivos e uso de antibióticos de amplo espectro. Os grupos de risco e de alto impacto são compostos por *Cryptococcus neoformans*, *Candida auris*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Histoplasma* spp, *Mucorales* e *Fusarium* spp. Dentre as doenças fúngicas estão as micoses, como as causadas por *Sporothrix* spp, que são de interesse clínico em países subdesenvolvidos, pois compromete a pele e mucosas de gatos e humanos, estando presente globalmente e afetando, principalmente, regiões da América do Sul, como Brasil, Peru, Colômbia e Venezuela. A transmissão ocorre por inoculação traumática do fungo e por transmissão felino-humano sendo o Brasil, especialmente nas regiões sudeste e norte, uma área endêmica e de alto risco. O desenvolvimento de uma vacina contra a esporotricose representa uma necessidade sanitária urgente no Brasil, visando interromper o ciclo de transmissão zoonótica da doença. Os recentes avanços em imuno informática representam uma abordagem promissora para a identificação de candidatos vacinais de forma rápida e segura, sem a necessidade de cultivo do patógeno. Neste trabalho uma proteína quimérica de nome PSq foi desenhada baseada em epítomos não tóxicos e potencialmente imunogênicos, derivados das proteínas enolase, tioredoxina redutase e Gp70 de *Sporothrix* spp. A análise *in silico* das propriedades físico-químicas e estruturais da proteína indica que ela é imunogênica, não tóxica e estruturalmente estável, sendo verificado as propriedades imunogênicas *in vivo* de 6 peptídeos que compõem a proteína. Os resultados mostram que os peptídeos encapsulados em lipossomas induziram títulos de anticorpos IgG antígenos específicos e um perfil de resposta Th1 que justificam o uso da PSq. Assim, os resultados obtidos validam que a PSq seja um possível candidato para imunoprofilaxia contra a esporotricose.

Palavras-chave: doença fúngica; esporotricose; vacina multiepítopo; bioinformática

ABSTRACT

The incidence of invasive fungal diseases has been increasing as the population at risk expands, including individuals with compromised immune systems, patients with tuberculosis or HIV infection, chronic pulmonary diseases, cancer, and diabetes mellitus, as well as patients admitted to intensive care units, those undergoing immunosuppressive therapies, or individuals subjected to invasive medical procedures and prolonged use of broad-spectrum antibiotics. Fungal pathogens of high clinical impact include *Cryptococcus neoformans*, *Candida auris*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Histoplasma* spp., *Mucorales*, and *Fusarium* spp. Among fungal diseases, mycoses caused by *Sporothrix* spp. are of particular clinical relevance in developing countries, as they affect the skin and mucosal tissues of both humans and cats. Sporotrichosis has a global distribution but predominantly impacts regions of South America, including Brazil, Peru, Colombia, and Venezuela. Transmission occurs mainly through traumatic inoculation of the fungus and through zoonotic transmission from cats to humans. Brazil, especially its southeastern and northern regions, is considered an endemic area with a high risk of transmission. Consequently, the development of a vaccine against sporotrichosis represents an urgent public health need in Brazil, aiming to interrupt the zoonotic transmission cycle of the disease. Recent advances in immunoinformatics represent a promising approach for the rapid and safe identification of vaccine candidates, without the need for pathogen cultivation. In this study, a chimeric protein named PSq was designed based on non-toxic and potentially immunogenic epitopes derived from the enolase, thioredoxin reductase, and Gp70 proteins of *Sporothrix* spp. *In silico* analyses of the physicochemical and structural properties of PSq indicated that the protein is immunogenic, non-toxic, and structurally stable. In addition, the immunogenic properties of six peptides composing the chimeric protein were evaluated *in vivo*. The results demonstrated that peptides encapsulated in liposomes induced antigen-specific IgG antibody titers and a Th1-biased immune response, supporting the use of PSq. Overall, these findings suggest that PSq represents a promising candidate for immunoprophylaxis against sporotrichosis.

Keywords: fungal diseases; sporotrichosis; vaccine multiepitope; bioinformatics

Sumário

1	INTRODUÇÃO	15
2	DESENVOLVIMENTO.....	25
3	OBJETIVOS	26
3.1	Objetivos Gerais	26
3.2	Objetivos Específicos.....	26
4	METODOLOGIA.....	27
4.1	Predição de Epítomos de células T e células B	27
4.2	Avaliação de antigenicidade, toxicidade, alergênicos e reatividade cruzada	27
4.3	Desenho do candidato vacinal	27
4.4	Predição da estrutura tridimensional (3D).....	28
4.5	Análise das propriedades físico-químicas do candidato vacinal	28
4.6	Expressão e Caracterização da Proteína Recombinante	28
4.7	Síntese de peptídeos	29
4.8	Análise dos Peptídeos	30
4.9	Desenvolvimento de Lipossoma	31
4.10	Caracterização dos Lipossomas.....	31
4.11	Animais.....	31
4.12	Imunização	32
4.13	Coleta de Soro.....	32
4.14	Coleta de Esplenócitos	32
4.15	Determinação dos títulos de anticorpos através do Teste Imunoenzimático - ELISA	33
4.16	Análise de citocinas Th1/Th2/Th17 por meio de citometria de fluxo (CBA)	34
4.17	Análise Estatística	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Predição de Epítomos de células T e células B	36

5.2 Avaliação de antigenicidade, toxicidade, alergênicos e reatividade cruzada	37
5.3 Desenho do candidato vacinal	38
5.4 Predição da estrutura tridimensional (3D).....	39
5.5 Análise das propriedades físico-químicas do candidato vacinal	42
5.6 Expressão e Caracterização da PSq	45
5.7 Síntese de Peptídeos.....	47
5.8 Constituição e Caracterização dos Lipossomas	54
5.9 Ensaio Imuno enzimático (ELISA)	56
5.10 Análise das Citocinas por Citometria de Fluxo (CBA)	57
6 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas são um dos maiores problemas enfrentados ao redor do mundo, principalmente em regiões carentes, devido a adaptação morfológica dos fungos para sobrevivência ao ambiente que é encontrado (Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022). Fungos de importância médica são classificados como leveduras e bolores ou em fungos dimórficos, que são capazes de infectar inúmeros tecidos, multiplicando-se rapidamente e causando danos à saúde do hospedeiro (Carlos, 2015; OMS, 2022). As infecções fúngicas são classificadas em: infecções superficiais, cutâneas, subcutâneas, sistêmicas e oportunistas devido a diferença entre as espécies fúngicas e os tecidos que acometem (OMS, 2022; Vergidis, 2024).

Tabela 1 - Classificações e tipos fúngicos

Classificações	Tecido Alvo	Espécie Fúngica
Superficial	Estrato Córneo	<i>Pitiríase versicolor, Tinea nigra, Piedra branca e Piedra negra</i>
Cutânea	Tecidos queratinizados	<i>Trichophyton spp, Microsporum spp, Epidermophyton floccosum</i>
Subcutânea	Derme e Tecido cutâneo	<i>Sporothrix spp</i>
Sistêmicas	Afetam múltiplos órgãos, principalmente tecidos pulmonares	<i>Paracoccidioides spp, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis</i>
Oportunistas	Qualquer tecido fragilizado*	<i>Candida spp, Cryptococcus spp, Aspergillus spp, Fusarium spp, Zigomycetes-Rhizopus spp.</i>

Fonte: Adaptado da Organização Mundial da Saúde, 2022.

A esporotricose foi recentemente reconhecida como uma Doença Tropical Negligenciada (DTN) pela Organização Mundial da Saúde. Esta micose, causada por fungos termodimórficos do gênero *Sporothrix*, possui distribuição global, com endemias em regiões da América do Sul e notadamente no Brasil (OMS, 2022; Smith

et al., 2025). A esporotricose é uma micose fúngica endêmica que ocorre principalmente na América Central, América do Sul e no México. No Brasil, as regiões sul e sudeste registram uma maior incidência de casos, sendo o Rio de Janeiro uma área epidemiológica desde o final da década de 90 (Tellez-Martínez *et al.*, 2019). A doença é causada por uma infecção oportunista, sendo o fungo dimórfico do filo *Ascomycota* responsável pela sua ocorrência. Existem quatro espécies patogênicas de interesse clínico dentre o gênero *Sporothrix*: *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei* (Rodrigues *et al.*, 2020). A infecção pode ser adquirida pela implantação traumática de materiais contaminados com o fungo ou através de arranhões causados por gatos com esporotricose (Orofino-Costa *et al.*, 2017, Rodrigues *et al.*, 2020).

As apresentações clínicas da doença são classificadas como: cutânea fixa, linfocutânea, cutânea disseminada, mucosa ou sistêmica (Barros *et al.*, 2010). A esporotricose linfocutânea é caracterizada por nódulos que se espalham ao longo dos vasos linfáticos e a forma cutânea fixa é caracterizada por lesões no local inicial da infecção, sendo tratadas com o antifúngico itraconazol (Orofino-Costa *et al.*, 2017). A forma cutânea disseminada, mais comum em pacientes imunocomprometidos, exigindo tratamentos mais intensos e duradouros, com o uso do antifúngico anfotericina B (Carlos, 2015; Orofino-Costa *et al.*, 2017). A forma que afeta as mucosas (nariz e boca) (Figura 1) também necessita de terapias agressivas, especialmente se associada a infecções disseminadas, com opções de tratamento incluindo os antifúngicos da classe dos imidazóis (cetoconazol), triazóis (fluconazol e itraconazol) e alilamina (terbinafina) (Barros *et al.*, 2010; Orofino-Costa *et al.*, 2017).

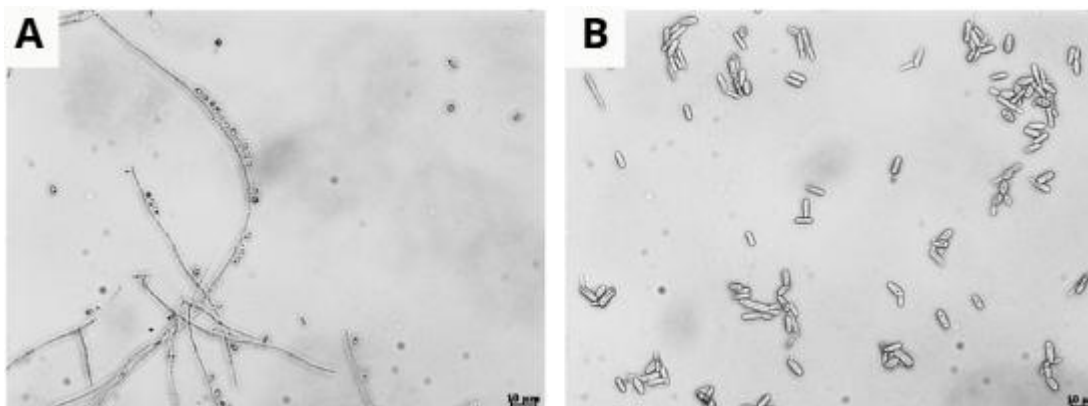
Figura 1. Imagem de gato com lesões nas narinas.



Fonte: Gremião *et al.*, 2020

Este fungo possui capacidade dimórfica, podendo modificar-se morfológicamente para sua adaptação ao meio, onde se diferenciam em sua forma filamentosa e micelial (temperatura de 25°C) e em sua forma leveduriforme (temperatura de 37°C) (Carlos, 2015; Portuondo *et al.*, 2022) (Figura 2).

Figura 2 - Termodimorfismo do *Sporothrix brasiliensis*



Fonte: Gremião *et al.*, 2020. Legenda: A: Representa a fase saprofítica e micelial do fungo à 28°C e B: Representa a forma parasitária e leveduriforme à 37°C.

O fungo possui alguns fatores de proteção como as adesinas localizadas na superfície celular, proteases intra e extracelulares, transformação de ergosterol-peroxidase em ergosterol e sua habilidade dimórfica e termotolerante sendo capazes de favorecer a sua virulência, facilitando a infecção em seu hospedeiro (Carlos, 2015, Raynes *et al.*, 2022), a virulência das cepas podem variar devido à sua apresentação clínica, origem geográfica, genótipo e termotolerância (Raynes *et al.*, 2022).

Pesquisas recentes demonstram variações significativas entre as espécies patogênicas do gênero *Sporothrix*, incluindo diferenças em aspectos como morfologia, fisiologia, genética, epidemiologia, virulência e a resposta aos antifúngicos (Carlos, 2015; Orofino-Costa *et al.*, 2017), assim a sua classificação como complexo *S. schenckii* (*S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. luirei*, *S. mexicana* e o *S. schenckii*) comumente utilizada (Cruz, L., 2013; Hoog *et al.*, 2015) está entrando em desuso, devido às novas pesquisas, sendo encontrado nos termos de “clado clínico” relacionado às espécies de *S. brasiliensis*, *S. schenckii* e *S. luirei* que contribuem aos casos de esporotricose e “clado ambiental” relacionado às espécies de *S. mexicana* encontradas no ambiente (Rodrigues *et al.*, 2022; Kidd, Abdolrasouli; Hagen, 2023). Essas diferenças reforçam a necessidade de reconhecer essas espécies como

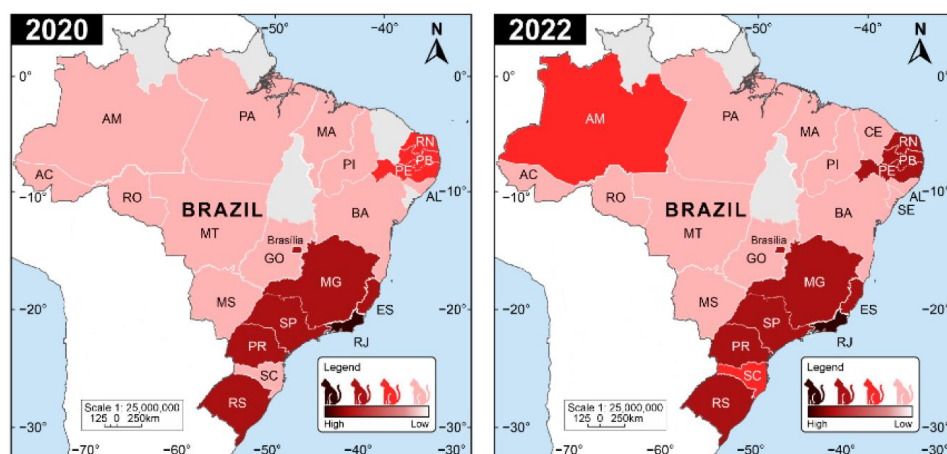
entidades distintas, ao invés de mantê-las em um complexo de espécies (Hoog *et al.*, 2015; Orofino-Costa *et al.*, 2017).

O *S. schenckii*, *S. brasiliensis* e *S. globosa* são as principais espécies de interesse clínico, sua origem está associada a surtos específicos na América do Sul, no Brasil a transmissão zoonótica, frequentemente de gatos para humanos, tem se intensificado (Portuondo *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2024). O *S. brasiliensis*, em particular, possui sua virulência superior e uma alta capacidade de disseminação. Através do estudo de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) para investigação detalhada da variabilidade genética e da estrutura populacional das diferentes espécies de *S. spp*, por Rodrigues e colaboradores, em 2021, foi possível verificar a espécie e origem do grupamento de cepas encontradas na América do Sul.

As cepas de *S. brasiliensis* são majoritariamente encontradas na região sudeste e sul do Brasil, presentes nas regiões de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul (Rodrigues *et al.*, 2021). Estas têm sido utilizadas por nosso grupo de pesquisa na obtenção de antígenos da parede celular para uso vacinal (Portuondo *et al.*, 2016) e estudos de prova de conceito envolvendo desafio de animais imunizados para avaliar o efeito protetor induzido por formulações vacinais recombinantes (Portuondo *et al.*, 2019, Téllez-Martinez, 2019, Batista-Duharte *et al.*, 2023) e peptídicas (Portuondo *et al.*, 2022).

O *S. schenckii* possui cepas encontradas em todo o território nacional (Almeida-Paes *et al.*, 2014), majoritariamente em São Paulo, Paraná, Goiás, Rio Grande do Sul e com menor frequência no Rio de Janeiro, Ceará, Pernambuco, Espírito Santo e Amazonas (Sanches, 2013). Estudos mostraram que as cepas de *S. brasiliensis* apresentaram maior virulência quando comparadas às de *S. schenckii*, tendo influência do tamanho do inóculo e local de inoculação (Sanches, 2013; Manente *et al.*, 2017). A forma linfocutânea é a forma clínica em que estas cepas são recorrentemente apresentadas (Almeida-Paes *et al.*, 2015; Manente *et al.*, 2017).

Figura 3 - Expansão dos casos de Esporotricose Felina no Brasil

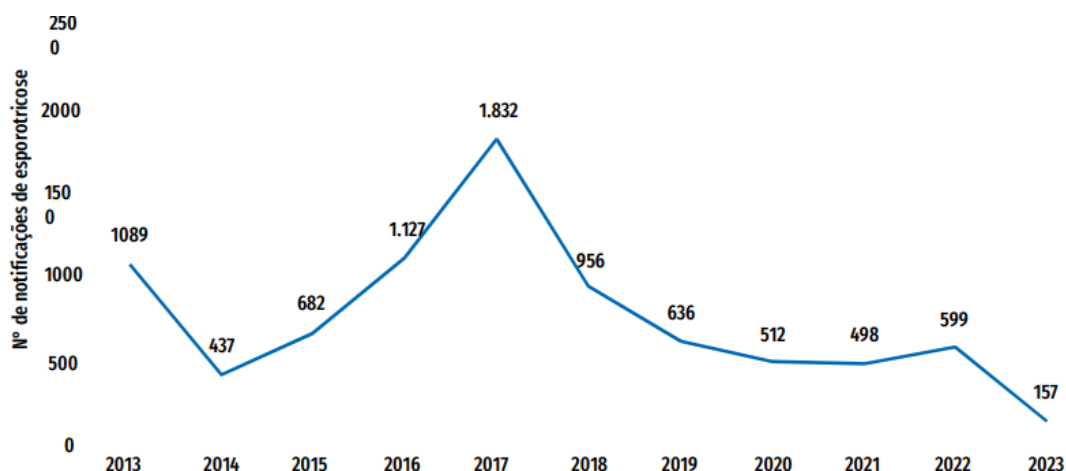


Fonte: Rodrigues *et al.*, 2022.

No estudo conduzido por Gómez-Gaviria et al., (2023), foi evidenciada uma notável similaridade nas sequências de diferentes proteínas associadas aos fatores de virulência em comparação com *S. schenckii* e *S. brasiliensis*. Entre as proteínas mencionadas no artigo, as adesinas emergem como as mais relevantes para potenciais aplicações vacinais, dado seu papel crucial na determinação da patogênese dos microrganismos, especialmente na interação fungo-hospedeiro (Staniszewska et al., 2019; Kumari et al., 2021). Estudos que exploram fragmentos de sequências de adesinas em estratégias de imunização indicam que a produção de anticorpos direcionados a essa molécula podem inibir as interações entre a adesina e o receptor do hospedeiro, dificultando, assim, o estabelecimento do patógeno (Kumari et al., 2021; Kadry et al., 2021).

Para assegurar um acompanhamento eficaz a esporotricose foi integrada à lista de notificação compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional. A medida busca fortalecer o monitoramento, garantir a equidade assistencial e ampliar as estratégias de controle epidemiológico (Portaria GM/MS Nº 6.734, de 18 de março de 2025).

Figura 4 - Gráfico demonstrando casos de Esporotricose em Humanos de 2013 a 2023 no Rio de Janeiro



Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação, consultado em julho de 2023, retirado do Boletim Informativo sobre Esporotricose, Vigilância Sanitária do Rio de Janeiro, 2023

Os patógenos apresentam estratégias para se adaptar, replicar e causar doenças no hospedeiro, um destes fatores está relacionado a adesão fúngica (Talapko *et al.*, 2021). Dentre estas ferramentas de adaptação do *Sporothrix*, destacam-se para este estudo as proteínas Enolase, Tioredoxina Redutase e Gp70.

A enolase (2-fosfo-D-glicerato hidro-liase) é uma metaloenzima conservada que catalisa a desidratação reversível do 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato, etapa fundamental da via glicolítica, sendo identificada em diversos fungos patogênicos como o *Sporothrix spp*, a *Candida albicans* e o *Cryptococcus neoformans*, sendo considerada um antígeno imunogênico relevante (Nogueira *et al.*, 2010, Langenhorst *et al.*, 2023). Pesquisas mostram que a enolase é expressa na superfície celular, assumindo um perfil altamente imunogênico, funcionando como um antígeno acessível que ativa o sistema imune do hospedeiro. Esse processo culmina em uma resposta integrada, que combina a ativação de mecanismos inatos com o recrutamento de linfócitos T e a síntese de anticorpos específicos pela via adaptativa (Nogueira *et al.*, 2010; Carlos, 2015; Langenhorst *et al.*, 2023). Assim, a enolase surge como um alvo promissor para estratégias terapêuticas e vacinais contra a esporotricose, contribuindo para o desenvolvimento de abordagens mais eficazes no controle dessas infecções (Alba-Fierro *et al.*, 2014; Loesch., 2017; Portuondo *et al.*, 2019, 2022).

Descobertas recentes mostram que a tioredoxina redutase (TR), proteína da família das tioredoxinas, pode ser utilizada como tratamento em doenças, visto seu uso na ataxia de *Friedreich*, uma doença neurodegenerativa (Seco-Cervera *et al.*, 2020), e em imunoterapia para micoses (Godoy *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2020). A TR desempenha um papel essencial na via de resistência ao estresse oxidativo, principalmente nas mitocôndrias de bactérias, fungos e mamíferos, onde atua como antioxidante ao catalisar reduções dependentes de NADPH de pontes dissulfeto em proteínas oxidadas, o que é vital para a sobrevivência celular (Missall e Lodge, 2005; Seco-Cervera *et al.*, 2020). Um estudo, com proteínas TR recombinantes de *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Paracoccidioides lutzii* induziram altos títulos de anticorpos IgG1 específicos em camundongos BALB/c, apresentando reatividade cruzada entre epítomos conservados nas proteínas dessas espécies, mas sem reatividade com a TR humana (Oliveira *et al.*, 2020), sugerindo que a TR recombinante pode ser candidata promissora para o desenvolvimento de terapias contra candidíase, criptococose e paracoccidioidomicose (Oliveira *et al.*, 2020).

A gp70 é uma glicoproteína de 70kDa que compõe a parede celular do *Sporothrix* com função de adesina, permitindo que o fungo se ligue a componentes da matriz extracelular do hospedeiro, como a fibronectina, a laminina e o fibrinogênio, facilitando a colonização e o início da infecção (Castro *et al.*, 2013; Villegas *et al.*, 2025). A gp70 é uma proteína *moonlighting* capaz de exercer atividade enzimática de 3-carboxi-cis,cis-muconato ciclase (Castro *et al.*, 2013; López-Ramirez *et al.*, 2024). Estando ligada a diferentes graus de virulência do fungo, onde, uma maior expressão desta proteína se correlaciona com cepas de alta virulência (López-Ramirez *et al.*, 2024; Padró-Villegas *et al.*, 2025). Estudos com *S. schenckii* demonstraram que o silenciamento da Gp70 leva a alterações fenotípicas, incluindo a modificação da composição da parede celular, a redução da adesão a proteínas da matriz extracelular (como laminina e fibrinogênio) e a consequente atenuação da virulência, registrando o papel crucial da Gp70 na interação patógeno-hospedeiro dessa espécie (López-Ramirez *et al.*, 2024; Padró-Villegas *et al.*, 2025).

O manejo terapêutico da esporotricose fundamenta-se no uso de agentes como itraconazol, terbinafina, iodeto de potássio e anfotericina B (Almeida, 2017). Entretanto, a eficácia desses protocolos é frequentemente limitada por efeitos adversos significativos e pelo surgimento de cepas resistentes, o que impõe a necessidade de terapias combinadas ou medicamentos de segunda linha (Barros *et*

al., 2004; Orofino-Costa *et al.*, 2022). O tratamento pode ser de três meses a um ano considerando a variação na suscetibilidade entre espécies e o sistema imune do indivíduo acometido (Larsson *et al.*, 2011; Carlos, 2015). Diante do alto custo e da toxicidade das drogas convencionais, torna-se indispensável a busca por alternativas inovadoras, destacando-se o desenvolvimento de vacinas como uma via promissora para otimizar o controle da enfermidade (Schechtman *et al.*, 2022; Batista-Duharte *et al.*, 2023).

Tabela 2 - Lista de Antifúngicos usados no tratamento da Esporotricose

Medicamento	Dose	Via	Frequência	Tempo de Tratamento
Itraconazol	Adultos: 100 a 400 mg/dia. Crianças: 5 a 10 mg/kg/dia.	Oral	1x ao dia	Até 1 mês após o desaparecimento dos sinais clínicos/lesões.
Iodeto de Potássio	Adultos: 20 a 25 gotas. Crianças: 10 a 25 gotas.	Oral	2x ao dia	Início gradual (5 gotas/dia). Até 1 mês após cura clínica.
Anfotericina B	Desoxicolato: 1 mg/kg/dia (máx. 50 mg). Lipídica: 3 a 5 mg/kg/dia.	IV	1x ao dia.	10 a 14 dias, substituindo por Itraconazol assim que possível.
Terbinafina	Adultos: 250 mg/dia. Crianças: 10 a 20 mg/kg/dia. Gestantes: 250 mg.	Oral	1x ao dia (2x para gestantes).	Até 1 mês após desaparecimento das lesões. Opção preferencial para gestantes no 1º trimestre.
Posaconazol	400 mg (10 mL da solução oral).	Oral	2x ao dia	Utilizado como terapia de resgate para casos refratários graves.

Fonte: Adaptado de DCCI/SVS/MS

A biotecnologia, biologia molecular e a bioinformática estão impulsionando o desenvolvimento de vacinas seguras e eficazes, onde a bioinformática desempenha um papel fundamental ao identificar alvos antigênicos por meio de predições e modelagem computacional (Macedo Junior; Melo; Peconick, 2019; Pereira *et al.*, 2021). Essas tecnologias podem ajudar no combate à esporotricose, reduzindo sua disseminação (Rodrigues *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2019). A vacinologia reversa utiliza predição e modelagem computacional para obter vacinas com alvos antigênicos. As vacinas multiepítomos contêm componentes necessários para ativar a resposta imune em uma única molécula, incluindo epítomos de células T auxiliares, células B e células T citotóxicas, além de adjuvantes para fortalecer a resposta imune (He *et al.*, 2018; Cheng *et al.*, 2020).

As primeiras vacinas desenvolvidas consistiram de vírus atenuados ou de bactérias inativadas, com o passar dos anos métodos mais refinados foram desenvolvidos como: vírus purificados, partículas semelhantes a vírus e as vacinas de polissacarídeos (Plotkin *et al.*, 2017). As vacinas podem ser classificadas em diferentes tipos como: vacinas de organismos completos, macromoléculas purificadas, antígenos combinados e vetores recombinantes, peptídeos sintéticos ou vacinas de DNA (Wilson-Welder *et al.* 2021). Algumas limitações vacinais são a eficácia variável, dependendo do alvo vacinal, a resistência e mutação do patógeno, principalmente ao se falar de fungos; as limitações logísticas, necessitando condições de armazenamento específicas e as reações adversas, que, mesmo raras, acontecem (Carlos, 2015; Plotkin *et al.*, 2017). Os pacientes imunocomprometidos podem apresentar limitações no desenvolvimento de respostas protetoras contra a esporotricose, tornando o uso de vacinas potencialmente menos eficaz nesse grupo populacional (Almeida *et al.*, 2012; Plotkin *et al.*, 2017).

As ferramentas como Immune Epitope, EpyPred, IFNepitope, Tepitool, NetMHCIIpan, ABCpred, são ferramentas utilizadas para desenvolvimento e desenho de candidatos vacinais permitindo predizer quais epítomos serão mais interessantes para o uso, verificando seu grau de eficiência, toxicidade e alergenicidade (Patronov *et al.*, 2013; Paul *et al.*, 2016; Reynisson *et al.*, 2020). Alguns candidatos vacinais para Monkeypox vírus (Shamim *et al.*, 2022), Non-typhoidal Salmonella (NTS) (Beikzadeh, 2023), Leishmaniose (Fontes L.V.C., 2020) foram desenvolvidos pela obtenção de predições através da imuno informática. Estudos recentes mostram o uso das vacinas de proteínas multiepítomos para fungos como *Candida albicans*, *Cryptococcus*

neoformans, e *Paracoccidioides lutzii*, utilizando as ferramentas de bioinformática como auxiliadoras (Li *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2020).

Os estudos prévios do nosso grupo de pesquisa foram capazes de demonstrar que seis peptídeos derivados da proteína enolase de *Sporothrix spp.* (Portuondo *et al.*, 2016, 2022) podem ser potenciais alvos antigênicos para o desenvolvimento de vacinas preventivas ou terapêuticas contra esporotricose felina. Neste estudo, os seis peptídeos foram formulados utilizando o adjuvante de *Freund*, que induziu altos títulos de anticorpos antígeno específicos e um perfil de resposta imune Th1 que conferiu proteção em camundongos BALB/c desafiados com *S. brasiliensis*. O uso de ferramentas computacionais para a criação de uma proteína recombinante contendo os peptídeos já identificados e novos peptídeos da mesma proteína poderá gerar alta resposta imune, ainda mais efetiva no organismo que a formulação de epítomos individuais, permitindo formular e controlar de maneira mais efetiva a produção da proteína recombinante multiepítomo em larga escala. Assim, neste trabalho é proposto desenhar um imunógeno recombinante vacinal, a partir de proteínas derivadas da parede celular de *Sporothrix spp.*, para fins de vacinação em gatos.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que os peptídeos derivados da enolase, tioredoxina redutase e Gp70, selecionados a partir do desenho estrutural da proteína, apresentam potencial imunogênico quando administrados em modelo murino, especialmente quando associados a sistemas lipossomais. As formulações lipossomais desenvolvidas exibiram características físico-químicas adequadas, incluindo tamanho nanométrico homogêneo, baixo índice de polidispersão e potencial zeta positivo, evidenciando sua estabilidade e viabilidade como sistemas de entrega antigênica.

A imunização com o lipossoma contendo MPL e o mix de peptídeos da enolase promoveu uma resposta humoral específica mais robusta em comparação aos peptídeos administrados de forma livre, conforme evidenciado pelo aumento dos títulos de IgG total e de suas subclasses. Esses achados indicam que a associação dos peptídeos ao lipossoma favorece a captação e apresentação antigênica, potencializando a resposta imune humoral, aspecto relevante para o desenvolvimento de estratégias vacinais antifúngicas.

A análise do perfil de citocinas demonstrou que a formulação lipossomal não induziu inflamação sistêmica exacerbada, mantendo um perfil imunológico seguro. Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, verificou-se uma tendência à modulação da resposta do tipo Th1, caracterizada por discretos aumentos em citocinas pró-inflamatórias, compatível com o perfil desejável para o controle de infecções fúngicas.

Em conjunto, os dados indicam que os peptídeos da enolase associados a lipossomas contendo MPL constituem uma abordagem promissora como candidatos vacinais antifúngicos, capazes de induzir resposta humoral específica e modular de forma controlada a resposta imune. No entanto, estudos adicionais como avaliações funcionais da resposta celular são necessários para confirmar o potencial protetor e otimizar a eficácia imunológica dessa forma vacinal.

Os resultados apresentados validam a continuidade do estudo utilizando a proteína recombinante da enolase, considerando que seus peptídeos constituintes demonstraram imunogenicidade. A avaliação da proteína recombinante permitirá investigar de forma mais abrangente o potencial imunológico do antígeno completo, bem como validar a resposta induzida frente ao agente etiológico *Sporothrix spp.*,

contribuindo para o avanço no desenvolvimento de estratégias vacinais ou imuno terapêuticas direcionadas à esporotricose.

REFERÊNCIAS

- ALBA-FIERRO, C. A. *et al.* Cell wall proteins of *Sporothrix schenckii* as immunoprotective agents. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 31, n. 1, p. 86–89, 2014.
- ALMEIDA, A. *et al.* Lipossomas como veículos inovadores em terapias medicamentosas: otimização de sistemas de entrega de fármacos. **Caderno Pedagógico**, v. 21, n. 13, p. e12978–e12978, 31 dez. 2024.
- ALMEIDA, J. R. F. Avaliação da virulência e da resposta imune de diferentes espécies de *Sporothrix* sp. na esporotricose experimental. 2017. Dissertação (Mestrado em Farmácia – Área de Análises Clínicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-27022014-101337/>. Acesso em: 20 set. 2023
- ALMEIDA-PAES, R. *et al.* Phenotypic characteristics associated with virulence of clinical isolates from the *Sporothrix* complex. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–10, 2015.
- ALMEIDA-PAES, R. *et al.* Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* is associated with atypical clinical presentations. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, p. e3094, 2014.
- BAREA-SEPÚLVEDA, M. *et al.* Total ion chromatogram and total ion mass spectrum as Alternative Tools for Detection and Discrimination (A Review). **Chemosensors**, v. 10, n. 11, p. 465, 1 nov. 2022.
- BARROS, M. *et al.* Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 4, p. 529–535, 2004.
- BARROS, M. *et al.* Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 455–460, 2010.
- BATISTA-DUHARTE, A.; TÉLLEZ-MARTÍNEZ, D.; PORTUONDO, D. L.; CARLOS, I. Z. Selective depletion of regulatory T cells enhances the immunogenicity of a recombinant-based vaccine against *Sporothrix* spp. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 1084526, 2023.
- BEIKZADEH, B. Immunoinformatics design of multi-epitope vaccine using OmpA, OmpD and enterotoxin against non-typhoidal salmonellosis. **BMC Bioinformatics**, v. 24, n. 1, 2023.
- BORBA-SANTOS, L. P. *et al.* $\delta(24)$ -Sterol methyltransferase plays an important role in the growth and development of *Sporothrix schenckii* and *Sporothrix brasiliensis*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–13, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00311>.

BORMAN, A. M.; JOHNSON, E. M. Name changes for fungi of medical importance, 2018–2019. **Journal of Clinical Microbiology**, 2020.

CARLOS, I. Z. **Sporotrichosis. New developments and future prospects**. 1. ed. Switzerland: Springer International Publishing, 2015. 186 p. (ISBN 978-3-319-11911-3. eBook ISBN 978-3-319-11912-0).

CASTRO, R. A. *et al.* Differences in cell morphometry, cell wall topography and Gp70 expression correlate with the virulence of *Sporothrix brasiliensis* clinical isolates. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e75656, 2013.

CHAKRABORTY, S. *et al.* Application of toll-like receptors (TLRs) and their agonists in cancer vaccines and immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 23 out. 2023.

CHAVES, M. A *et al.* Current Applications of Liposomes for the Delivery of Vitamins: A Systematic Review. **Nanomaterials**, v. 13, n. 9, p. 1557–1557, 5 maio 2023.

CHEN, C. *et al.* A fast peptide match service for UniProt Knowledgebase. **Bioinformatics**, v. 29, n. 21, p. 2808–2809, 2013.

CHEN, X. *et al.* Fusion protein linkers: property, design and functionality. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 10, p. 1357–1369, 2013.

CHENG, N. *et al.* Comparison and integration of computational methods for deleterious synonymous mutation prediction. **Briefings in Bioinformatics**, v. 21, n. 3, p. 970–981, 2019.

CRUZ, L. Complexo *Sporothrix schenckii*: revisão de parte da literatura e considerações sobre o diagnóstico e a epidemiologia. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, edição comemorativa, p. 8–28, 2013.

DHALL, A. *et al.* Computer-aided prediction and design of IL-6 inducing peptides: IL-6 plays a crucial role in COVID-19. **Briefings in Bioinformatics**, 2020.

DHANDA, S. K. *et al.* Designing of interferon-gamma inducing MHC class-II binders. **Biology Direct**, v. 8, n. 1, 2013.

DHANDA, S. K. *et al.* Prediction of IL-4 inducing peptides. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2013, p. 1–9, 2013.

DIMITROV, I. *et al.* AllerTOP v.2 — a server for *in silico* prediction of allergens. **Journal of Molecular Modeling**, v. 20, n. 6, 2014.

DIPALMA, D. T.; LUMBRERAS, M. K.; SHINOHARA, M. L. Interplay between fungal infections and autoimmunity: mechanisms and therapeutic perspectives. **EMBO Molecular Medicine**, 17 jun. 2025.

DOYTCHINOVA, I. A.; FLOWER, D. R. VaxiJen: a server for prediction of protective antigens, tumour antigens and subunit vaccines. **BMC Bioinformatics**, v. 8, n. 1, 2007.

DU, Z. *et al.* The trRosetta server for fast and accurate protein structure prediction. **Nature Protocols**, v. 16, n. 12, p. 5634–5651, 2021.

DURO-CASTAÑO, A.; CONEJOS-SÁNCHEZ, I.; VICENT, M. Peptide-based polymer therapeutics. **Polymers**, v. 6, n. 2, p. 515–551, 2014.

FINCHAM, J. R. *et al.* Transformation in fungi. **Microbiological Reviews**, v. 53, n. 1, p. 148–170, 1989.

FLORES-GARCÍA, A. *et al.* Recombinant murine IL-12 promotes a protective Th1/cellular response in Mongolian gerbils infected with *Sporothrix schenckii*. **Journal of chemotherapy** (Florence, Italy), v. 27, n. 2, p. 87–93, fev. 2015.

FONTES, L. B. C. **Avaliação da segurança do 17-AAG para sua utilização como quimioterápico no tratamento da leishmaniose visceral c danina**. 2020. Dissertação (Mestrado em Patologia Humana e Experimental) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2020.

GARCÍA-LOZANO, A. *et al.* *Sporothrix schenckii* Immunization, but Not Infection, Induces Protective Th17 Responses Mediated by Circulating Memory CD4+ T Cells. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01275>. Disponível em: www.frontiersin.org. Acesso em: 30 out. 2025

GERALDES, A. *et al.* Calculation of the Budget of Uncertainty on Measurements Size Nanoparticles Using Dynamic Light Scattering. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2024.

GHOSH, R. K. *et al.* Aberration in the structural paradigm of lens protein α -crystallin by UV-C irradiation. **Applied Biological Chemistry**, v. 61, n. 3, p. 281–287, 2018.

GODOY, J. *et al.* Structural and functional characterization of the recombinant thioredoxin reductase from *Candida albicans* as a potential target for vaccine and drug design. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 9, p. 4015–4025, 2016.

GOMAA, A. I. *et al.* Enhanced unfolding of bovine β -lactoglobulin structure using microwave treatment: a multi-spectroscopic study. **Food Biophysics**, v. 11, n. 4, p. 370–379, 2016.

GÓMEZ-GAVIRIA, M. *et al.* Current progress in *Sporothrix brasiliensis* basic aspects. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 5, p. 533, 2023.

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, 2020.

GUPTA, S. *et al.* *In silico* approach for predicting toxicity of peptides and proteins. **PLoS One**, v. 8, n. 9, p. e73957, 2013.

HOOG, G. S. *et al.* Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 1056–1062, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.02016-14>.

JAIN, S. *et al.* IL13Pred: a method for predicting immunoregulatory cytokine IL-13 inducing peptides. **Computers in Biology and Medicine**, v. 143, p. 105297, 2022.

JELLMAYER, J. A. *et al.* Dendritic Cell-Based Therapeutic Immunization Induces Th1/Th17 Responses and Reduces Fungal Burden in Experimental Sporotrichosis. **Microorganisms**, v. 13, n. 10, p. 2351, Summer 2025.

JESPERSEN, M. C. *et al.* BepiPred-2.0: improving sequence-based B-cell epitope prediction using conformational epitopes. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W24–W29, 2017.

KADRY, N. A. *et al.* Immunization with Hmw1 and Hmw2 adhesins protects against colonization by heterologous strains of nontypeable *Haemophilus influenzae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 32, 2021.

KIDD, S. E.; ABDOLRASOULI, A.; HAGEN, F. Fungal nomenclature: managing change is the name of the game. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, 2023.

KO, J. *et al.* GalaxyWEB server for protein structure prediction and refinement. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. W1, p. W294–W297, 30 maio 2012.

KUMARI, A. *et al.* Adhesins in the virulence of opportunistic fungal pathogens of human. **Mycology**, v. 12, n. 4, p. 296–324, 5 jul. 2021.

LANGENHORST, D. *et al.* Soluble enolase 1 of *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* stimulates human and mouse B cells and monocytes. **Journal of Immunology**, v. 211, n. 5, p. 804–815, 12 jul. 2023.

LARSSON, C. E. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 3, p. 250–259, 1 jun. 2011.

LEE, P. Y. *et al.* Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. **Journal of Visualized Experiments**, n. 62, v. 3923, 20 abr. 2012.

LI, H.; WEI, X. A Concise Review of Biomolecule Visualization. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 46, n. 2, p. 1318–1334, 1 fev. 2024. DOI: 10.3390/cimb46020084. Disponível em: www.mdpi.com. Acesso em: 20 jan. 2025

LI, M. *et al.* Intranasal vaccination against *HIV-1* with adenoviral vector-based nanocomplex using synthetic *TLR-4* agonist peptide as adjuvant. **Molecular Pharmaceutics**, v. 13, n. 3, p. 885–894, 15 fev. 2016.

LI, P. *et al.* Recent Advances of Trained immunity in Macrophages. **International Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 12, p. 5258–5283, 11 ago. 2025.

LI, W. Q. *et al.* Immunization with the glycolytic enzyme enolase confers effective protection against *Candida albicans* infection in mice. **Vaccine**, v. 29, n. 33, p. 5526–5533, jul. 2011.

LIAN, Z. *et al.* Characterization of Synthetic Peptide Therapeutics Using Liquid Chromatography–Mass Spectrometry: Challenges, Solutions, Pitfalls, and Future Perspectives. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, [s. l.], v. 29, n. 18, p. 4321, jun. 2021.

LIAO, Y. *et al.* Bioinformatics analysis reveals biomarkers with cancer stem cell characteristics in lung squamous cell carcinoma. **Frontiers in Genetics**, v. 11, 13 maio 2020.

LOESCH, M. L. D. A. **Avaliação das propriedades adesivas e imunogênicas da enolase de *Sporothrix* spp.** 2017. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2017 Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/151627>. Acesso em: 30 out. 2024.

LÓPEZ-RAMÍREZ, L. A. *et al.* Silencing of *Sporothrix schenckii* GP70 reveals its contribution to fungal adhesion, virulence, and the host–fungus interaction. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 5, p. 302, 23 abr. 2024.

MACEDO JUNIOR, L. M. de; MELO, T. F.; PECONICK, A. P. Predição *in silico* de epítomos antigênicos para produção de uma vacina humana contra leishmaniose visceral. **Scire Salutis**, v. 9, n. 1, p. 62–71, 19 set. 2019.

MAGNAN, C. N. *et al.* Solpro: accurate sequence-based prediction of protein solubility. **Bioinformatics**, v. 25, n. 17, p. 2200–2207, 23 jun. 2009.

MANENTE, F. A. *et al.* Experimental sporotrichosis in a cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice model. **Medical Mycology**, v. 56, n. 6, p. 711–722, 7 set. 2017.

MARÍA, R. R. *et al.* The impact of bioinformatics on vaccine design and development. **Vaccines**, 6 set. 2017.

MIRHOSSEINI *et al.* The Efficient Solubilization and Refolding of Recombinant Organophosphorus Hydrolyses Inclusion Bodies Produced in *Escherichia coli*. **Applied biotechnology reports**, v. 6, n. 1, p. 20–25, 15 mar. 2019.

MISSALL, T. A.; LODGE, J. K. Thioredoxin reductase is essential for viability in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic Cell**, v. 4, n. 2, p. 487–489, 2005.

NAGPAL, G. *et al.* Computer-aided designing of immunosuppressive peptides based on *IL-10* inducing potential. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 17 fev. 2017.

NAIR, R. *et al.* P-1858. Exploring the Role of Fatty acid synthase (FASN) Inhibition in Interferon Gamma Mediated Killing of *Histoplasma capsulatum*. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 12, n. Supplement_1, 29 jan. 2025.

NOGUEIRA, S. *et al.* *Paracoccidioides brasiliensis* enolase is a surface protein that binds plasminogen and mediates interaction of yeast forms with host cells. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 9, p. 4040–4050, 2010.

OLIVEIRA, F. *et al.* Thioredoxin reductase 1 is a highly immunogenic cell surface antigen in *Paracoccidioides* spp., *Candida albicans*, and *Cryptococcus neoformans*. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. January, p. 1–8, 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Ending the neglect to attain the sustainable development goals: a strategic framework for integrated control and management of skin-related neglected tropical diseases*. **World Health Organization**, Geneva, 2022. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. Geneva: **World Health Organization**, 2022. 160 p. ISBN 978-92-4-006024-1.

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.

PADRÓ-VILLEGAS, L. *et al.* *Sporothrix brasiliensis* Gp70 is a cell wall protein required for adhesion, proper interaction with innate immune cells, and virulence. **Cell Surface (Amsterdam, Netherlands)**, v. 13, p. 100139, jun. 2025.

PATRONOV, A.; DOYTCHINOVA, I. T-cell epitope vaccine design by immunoinformatics. **Open Biology**, v. 3, n. 1, p. 120139, jan. 2013.

PAUL, S. *et al.* *Tepitool: a pipeline for computational prediction of T cell epitope candidates*. **Current Protocols in Immunology**, v. 114, n. 1, p. 18.19.1–18.19.24, ago. 2016.

PEREIRA, N. G. *et al.* Bioinformática como ferramenta na análise de epítomos antigênicos no design de vacinas contra *Anaplasma marginale*, *Leishmania* spp., SARS-CoV-2 e toxina de *Clostridium septicum* / *Bioinformatics as a tool in the analysis of antigenic epitopes in the design of vaccines against Anaplasma marginale, Leishmania spp., SARS-CoV-2, and Clostridium septicum toxin*. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 41634–41650, 23 abr. 2021.

PLANZ, O.; KIRCHEIS, R. Editorial: The role of toll-like receptors and their related signaling pathways in viral infection and inflammation. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 19 jan. 2024.

PORTUONDO, D. L. *et al.* A *Sporothrix* spp. enolase derived multi-epitope vaccine confers protective response in BALB/c mice challenged with *Sporothrix brasiliensis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 166, p. 105539, 1 maio 2022.

PORTUONDO, D. L. *et al.* Immunization with recombinant enolase of *Sporothrix* spp. (rSsEno) confers effective protection against sporotrichosis in mice. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 20 nov. 2019. (Duplicada na fonte original, mantida a primeira ocorrência).

POURI, S. et al. Quality by Design in Downstream Process Development of Romiplostim. **Iranian Biomedical Journal**, v. 26, n. 6, p. 414–425, 1 out. 2022.

PRADO, M. K. B. et al. IL-22 Promotes IFN- γ -Mediated Immunity against *Histoplasma capsulatum* Infection. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 865–865, 5 jun. 2020.

QIN, Y. et al. Innate immune cell response upon *Candida albicans* infection. **Virulence**, v. 7, n. 5, p. 512–526, 14 abr. 2016.

RAMACHANDRAN, G. N.; RAMAKRISHNAN, C.; SASISEKHARAN, V. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. **Journal of Molecular Biology**, v. 7, n. 1, p. 95–99, jul. 1963.

RAYNES, J. M. et al. Protein adhesins as vaccine antigens for Group A *Streptococcus*. **Pathogens and Disease**, v. 76, n. 2, 1 mar. 2018.

REYNISSON, B. et al. NetMHCpan-4.1 and NetMHCIIpan-4.0: improved predictions of MHC antigen presentation by concurrent motif deconvolution and integration of MS MHC eluted ligand data. **Nucleic Acids Research**, v. 48, n. W1, p. W449–W454, 14 maio 2020.

RODRIGUES, A. M. et al. Proteomics-based characterization of the humoral immune response in sporotrichosis: toward discovery of potential diagnostic and vaccine antigens. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 8, p. e0004016, 25 ago. 2015.

RODRIGUES, A. M. et al. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v. 185, n. 5, p. 813–842, 12 fev. 2020.

ROSANO, G. L.; CECCARELLI, E. A. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 172, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00172>.

SAHA, S. et al. Prediction of continuous B-cell epitopes in an antigen using recurrent neural network. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 65, n. 1, p. 40–48, 7 ago. 2006.

SAHU, S. R. et al. Immunogenicity and efficacy of CNA25 as a potential whole-cell vaccine against systemic candidiasis. **EMBO Molecular Medicine**, v. 16, n. 6, p. 1254–1283, 23 maio 2024.

SANCHES, G. **Interação de isolados do complexo *Sporothrix schenckii* com modelo de derme humana e matriz do tipo lâmina basal**. 2013. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013. Acesso em 30 set. 2025

SANTOS, C. H. dos et al. Aspectos geográficos e epidemiológicos da esporotricose: relatos de casos nos estados brasileiros. **Revista Contemporânea**, v. 4, n. 6, p. e4333–e4333, 13 jun. 2024.

- SCHECHTMAN, R. C. *et al.* Sporotrichosis: hyperendemic by zoonotic transmission, with atypical presentations, hypersensitivity reactions and greater severity. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, n. 1, p. 1–13, jan. 2022.
- SECO-CERVERA, M. *et al.* Thioredoxin and glutaredoxin systems as potential targets for the development of new treatments in Friedreich's ataxia. **Antioxidants**, v. 9, n. 12, p. 1–25, 2020.
- SHAMIM, M. A. *et al.* Pharmacological treatment and vaccines in monkeypox virus: a narrative review and bibliometric analysis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, 5 maio 2023.
- SHUKLA, A.; MEENA, S.; RATHORE, A. S. Mechanistic Modeling of Size Exclusion Chromatography-Assisted In Vitro Refolding of the Recombinant Biosimilar Teriparatide (PTH-34). **ACS Omega**, v. 9, n. 3, p. 3204–3216, 5 jan. 2024.
- SIPPL, M. J. *et al.* Prosa-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. Web Server, p. W407–W410, 8 maio 2007.
- SMITH, D. J. *et al.* South-East Asia regional neglected tropical disease framework: improving control of mycetoma, chromoblastomycosis, and sporotrichosis. **The Lancet Regional Health – Southeast Asia**, v. 35, p. 100561, abr. 2025.
- STANISZEWSKA, S. *et al.* Experiences of in-patient mental health services: systematic review. **The British Journal of Psychiatry**, v. 214, n. 6, p. 329–338, 21 mar. 2019.
- TALAPKO, J. *et al.* *Candida albicans*—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 79, 22 jan. 2021.
- TEIXEIRA, M. *et al.* Comparative genomics of the major fungal agents of human and animal sporotrichosis: *Sporothrix schenckii* and *Sporothrix brasiliensis*. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, 29 out. 2014.
- TÉLLEZ-MARTÍNEZ, D. *et al.* A recombinant enolase-Montanide™ PETGel A vaccine promotes a protective Th1 immune response against a highly virulent *Sporothrix schenckii* by toluene exposure. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 3, p. 144, 2019.
- TÉLLEZ-MARTÍNEZ, D. *et al.* Prophylactic and therapeutic vaccines against sporotrichosis. Feasibility and prospects. **Microbes and Infection**, v. 21, n. 10, p. 432–440, 1 dez. 2019.
- VERGIDIS, Paschalis. Visão geral das infecções fúngicas. In: MANUAL MSD: Versão para Profissionais de Saúde. [S. l.]: Merck & Co., Inc., [2024]. Acesso em: 12 de dezembro de 2025.
- WILKINS, M. R. *et al.* Protein identification and analysis tools in the ExPASy server. **2-D Proteome Analysis Protocols**. 2019. p. 531–552.
- WILSON-WELDER, J. H. *et al.* Vaccine adjuvants: current challenges and future approaches. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 4, p. 1278–1316, abr. 2009.

WÜTHRICH, M.; DEEPE, G. S.; KLEIN, B. Adaptive Immunity to Fungi. **Annual Review of Immunology**, v. 30, n. 1, p. 115–148, 23 abr. 2012.

XU, J. *et al.* How significant is a protein structure similarity *with TM-score = 0.5*? **Bioinformatics**, v. 26, n. 7, p. 889–895, 17 fev. 2010.

YANG, K. *et al.* The Influence of Exogenous CdS Nanoparticles on the Growth and Carbon Assimilation Efficiency of *Escherichia coli*. **Biology**, v. 13, n. 10, p. 847, 21 out. 2024.

ZU, J. *et al.* Th2 Biased Immunity With Altered B Cell Profiles in Circulation of Patients With Sporotrichosis Caused by *Sporothrix globosa*. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 13 nov. 2020.