



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

MICHELLY DAYANE ARAÚJO DE ALMEIDA

**PESQUISA DE *SPOROTHRIX* SPP. NO SOLO DE BAIRROS COM OCORRÊNCIA
DE ESPOROTRICOSE FELINA NO MUNICÍPIO DE JOÃO PESSOA**

AREIA

2023

MICHELLY DAYANE ARAÚJO DE ALMEIDA

**PESQUISA DE *SPOROTHRIX* SPP. NO SOLO DE BAIRROS COM OCORRÊNCIA
DE ESPOROTRICOSE FELINA NO MUNICÍPIO DE JOÃO PESSOA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária pela
Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Prof. Dr. Inácio José Clementino

AREIA

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A447p Almeida, Michelly Dayane Araujo de.
Pesquisa de Sporothrix spp. no solo de bairros com
ocorrência de esporotricose felina no município de João
Pessoa / Michelly Dayane Araujo de Almeida. - Areia,
2023.
29 f. : il.

Orientação: Inácio José Clementino.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Medicina Veterinária. 2. Ambiente. 3. Sporothrix
brasiliensis. 4. Sporothrix schenckii. 5. Zoonose. I.
Clementino, Inácio José. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA CDU 636.09 (02)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS II – AREIA - PB

DEFESA DO TRABALHO DE GRADUAÇÃO

Aprovada em 10/11/2023

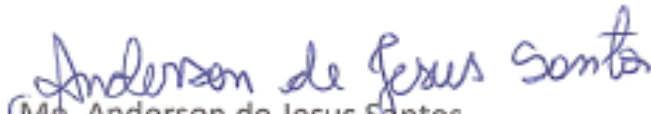
**“PESQUISA DE *SPOROTHRIX* SPP. NO SOLO DE BAIRROS COM
OCORRÊNCIA DE ESPOROTRICOSE FELINA NO MUNICÍPIO
DE JOÃO PESSOA”**

Autor: **MICHELLY DAYANE ARAÚJO DE ALMEIDA**

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Inácio José Clementino
Orientador(a) – UFPB


Bel. Edivaldo da Silva Pereira
Examinador(a) – UFPB


Me. Anderson de Jesus Santos
Examinador(a) – UFPB

Aos meus pais e irmãs, pelo apoio, incentivo e amor,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde, pela oportunidade de estudar, e por sempre me abençoar e guiar os meus passos.

A minha família por estar sempre presente na minha vida me dando todo o apoio que preciso.

Ao meu orientador, Prof. Doutor Inácio José Clementino, pelas oportunidades durante o curso, por todos os ensinamentos e confiança em mim depositados.

À banca examinadora Edivaldo Pereira e Anderson Santos por toda a contribuição e ensinamentos durante todo o projeto, pelos conselhos e amizade de sempre, que foram essenciais nesse processo.

À Coordenação do curso, em especial ao secretário Expedito, que contribuiu durante todo o curso, sempre disposto a ajudar no que fosse preciso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo, durante todo o projeto de pesquisa do PIBIC.

Aos professores do Curso da UFPB, em especial, Danila Campos, Ivya Talieri, Luíz Buquera, Natalia Matos, Sara Dantas, Arthur Carvalho, Ricardo Lucena, e tantos outros professores que contribuíram ao longo desses semestres, por meio das disciplinas e debates, enriquecendo toda formação acadêmica.

À minha melhor amiga Thamillys do Nascimento por todo apoio, incentivo e amizade, durante todos esses anos, sempre solícita e companheira. Agradeço também as minhas amigas Mylena Olga e Francisca Moisés, que sempre me apoiaram, tornando a caminhada mais leve.

A todos os meus amigos que fizeram parte da minha vida acadêmica, caminhando comigo na realização de um mesmo sonho, ser médicos veterinários, dividindo a turma, estudando juntos e sempre apoiando um ao outro. Aos meus amigos, Gabriela Duarte, Jéssica Mayara, Igor Carvalho, Azarias Lemos, Walkleber dos Santos, Larissa Nelo, Iara Geovana, Matheus Lucena, Hugo Gabriel, Lívia Maria e Jéssica Sales.

Agradeço à Daniel Victor, por todo apoio e companheirismo, que foram essenciais. A todos os meus amigos que me apoiaram tanto na vida acadêmica como também na vida pessoal como grandes conselheiros, e aqueles que contribuíram de alguma forma na minha formação.

A família do Laboratório da Preventiva, que fizeram parte dessa fase tão importante na minha vida, em especial aos grandes amigos, os técnicos Yago Venâncio e Diogo, e aos residentes Anderson Santos, Rogéria Lima, Lívia e Samuel, por estarem presentes na minha

vida acadêmica e por dividirem momentos de alegrias e momentos de tristeza, sempre me incentivando a continuar minha jornada.

A todos os técnicos e residentes da Clínica médica de pequenos animais, onde realizei meu estágio obrigatório final, especialmente Paulo Douglas, obrigada por todo apoio, paciência e ensinamentos, vocês foram essenciais em todo esse crescimento profissional e pessoal.

Aos funcionários da UFPB e do Hospital Veterinário, pela presteza e atendimento quando nos foi necessário.

Obrigada!

"Não se precipite em querer vencer. Há sempre um encanto a ser sorvido nos períodos dos preparos. Antes da vitória, a luta"

Pe. Fábio de Melo

RESUMO

A esporotricose é uma micose subcutânea, sendo causada por agentes fúngicos pertencente ao gênero *Sporothrix*. Acomete diversas espécies de animais domésticos e silvestres, como também humanos, fato esse que caracteriza a doença como uma zoonose, sendo o gato o principal reservatório urbano. O aumento dos casos em locais urbanos ocasionou um problema de saúde pública com várias notificações, tanto em humanos quanto em animais domésticos, principalmente felinos. A transmissão ocorre pelas formas zoonótica e geofílica, estando presente em solos e vegetações. A esporotricose é uma zoonose de grande importância para a saúde única, diante dos diversos transtornos causados em animais e humanos, porém, muito negligenciada. Esse estudo teve como objetivo pesquisar a presença do *Sporothrix* spp. no solo de áreas com maior frequência de esporotricose felina no município de João Pessoa. No total foram coletadas 50 amostras de solo nas regiões próximas às residências com casos positivos. Essas amostras foram processadas com diluição em solução salina contendo estreptomicina 1mg/ml e penicilina 5000 UI/ml, utilizando-se apenas a diluição 10^{-3} para o plaqueamento direto. Foram utilizadas placas com meio ágar sabouraud dextrose contendo cloranfenicol e incubadas a 25°C, sendo acompanhadas diariamente. As amostras com características morfológicas compatíveis ao *Sporothrix* spp. foram isoladas em placas com meio de cultivo ágar sabouraud dextrose com cloranfenicol e após crescimento, foram avaliadas microscopicamente, sendo a lâmina corada com azul dimetileno. Foi realizado também o laminocultivo em amostras sugestivas de *Sporothrix* spp., utilizando ágar batata para crescimento do fungo, e utilização de azul dimetileno na visualização microscópica. Os demais fungos passaram por repiques e transferência da placa mãe com meio ágar sabouraud com cloranfenicol para placas com meio de cultura malte, facilitando assim a esporulação, onde foram identificadas e quantificadas, com base nas características morfológicas das estruturas reprodutivas utilizando literatura especializada. Foram encontradas nove espécies de fungos ambientais, tendo como os principais, o *Cladosporium*, o *Syncephalastrum* e *Curvularia*, sendo a última um patógeno oportunista, causando diversos problemas de saúde em animais, humanos e vegetais. Não foi identificada a presença de *Sporothrix* spp. nas amostras coletadas, não descartando o papel do meio ambiente no processo infeccioso que ocorre entre solo, animal e humano. Por ser uma doença com potencial zoonótico, é importante a contribuição de médicos veterinários, epidemiologistas e biólogos na implementação de medidas de controle e profilaxia junto à população, sendo necessário buscar soluções que se baseiem nos pilares da saúde única.

Palavras-chave: ambiente; *Sporothrix brasiliensis*; *Sporothrix schenckii*; zoonose; saúde única

ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis caused by fungal agents belonging to the genus *Sporothrix*. It affects several species of domestic and wild animals, as well as humans, a fact that characterizes the disease as a zoonosis, with cats being the main urban reservoir. The increase in cases in urban locations has caused a public health problem with several reports, both in humans and domestic animals, especially felines. Transmission occurs through the zoonotic and geophilic forms, being present in soil and vegetation. Sporotrichosis is a zoonosis of great importance to public health, due to the various disorders it causes in animals and humans, but it is widely neglected. The aim of this study was to investigate the presence of *Sporothrix* spp. in the soil of areas with the highest frequency of feline sporotrichosis in the municipality of João Pessoa. A total of 50 soil samples were collected from areas close to homes with positive cases. These samples were processed by diluting them in saline solution containing streptomycin 1mg/ml and penicillin 5000 IU/ml, using only the 10⁻³ dilution for direct plating. Sabouraud dextrose agar plates containing chloramphenicol were used and incubated at 25°C, monitored daily. Samples with morphological characteristics compatible with *Sporothrix* were isolated on plates containing Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol and, after growth, were evaluated microscopically and the slide stained with dimethylene blue. Laminocultivation was also carried out on samples suggestive of *Sporothrix* spp., using potato agar to grow the fungus and dimethylene blue for microscopic visualization. The other fungi were repotted and transferred from the mother plate with Sabouraud agar medium with chloramphenicol to plates with malt culture medium, thus facilitating sporulation, where they were identified and quantified based on the morphological characteristics of the reproductive structures using specialized literature. Nine species of environmental fungi were found, the main ones being *Cladosporium*, *Syncephalastrum* and *Curvularia*, the latter being an opportunistic pathogen, causing various health problems in animals, humans and plants. The presence of *Sporothrix* spp. was not identified in the samples collected, which does not rule out the role of the environment in the infectious process that occurs between soil, animal and human. As this is a disease with zoonotic potential, it is important for veterinarians, epidemiologists and biologists to contribute to the implementation of control and prophylaxis measures for the population, and it is necessary to seek solutions based on the pillars of single health.

Keywords: environment; *Sporothrix brasiliensis*; *Sporothrix schenckii*; zoonosis; one health

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de processamento das amostras de solo.....	21
Figura 2 - Mapa de distribuição das coletas de amostras de solo dos bairros do município de João Pessoa.....	23
Figura 3 - Amostra cultivada em triplicata em placas de ágar sabouraud com cloranfenicol no dia 16 de maio, terceiro dia de incubação a 25°C.....	23
Figura 4 - Amostra cultivada em triplicata em placas de ágar sabouraud com cloranfenicol no dia 16 de maio, sétimo dia de incubação a 25°C, com repicagens realizadas.....	24
Figura 5 - Identificação dos fungos das amostras de solo coletadas, cultivadas em meio de ágar sabouraud com cloranfenicol e incubadas a 25°C.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HV	Hospital Veterinário
LMVP	Laboratório de Medicina Veterinária da Preventiva
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

LISTA DE SÍMBOLOS

°C Grau Celsius

mg Miligrama

ml Mililitro

% Porcentagem

UI Unidade Internacional

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	13
	REFERÊNCIAS	15
2	ARTIGO	16
2.1	INTRODUÇÃO.....	17
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.2.1	Local da pesquisa e amostragem	19
2.2.2	Procedimento laboratorial	19
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
2.4	CONCLUSÃO	26
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
	REFERÊNCIAS	28

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A esporotricose é uma doença zoonótica causada por fungos do complexo *Sporothrix* spp., possui distribuição global, podem ser encontrados em solos e vegetais ricos em matéria orgânica, tronco de árvores e até mesmo em garras de felinos, sendo esse último, o que participa de forma crescente no ciclo de transmissão da doença, apresentando a forma disseminada (Ferreira; Mencalha, 2022). O fungo causador da doença é dimórfico, tem apresentação em forma de filamentos entre 25° e 30°C no ambiente e na forma de levedura entre 35° a 37°C na pele (Hugen *et al.*, 2019).

É prevalente em regiões tropicais e subtropicais, possui diversas espécies de importância na medicina, sendo elas, *Sporothrix. schenckii*, *Sporothrix. brasiliensis*, *Sporothrix. Globosa*, *Sporothrix luriei* e *Sporothrix. mexicana*, sendo *Sporothrix. schenckii* a espécie principal dessa infecção (Han; Kano, 2021). O Brasil tem passado por uma crescente mudança epidemiológica da doença na espécie *Sporothrix. brasiliensis*, sendo a mais isolada em animais e humanos, responsável por cerca de 90% dos casos, provavelmente devido as diversas alterações ambientais, possuindo alta virulência e resistência aos antifúngicos em diversos casos (Gremião *et al.*, 2021).

Essa apresentação fúngica já foi muito conhecida na antiguidade, como “doença do jardineiro das rosas”, tendo em vista que esses fungos ficam presentes em plantas, espinhos e até mesmo solos ricos em matéria orgânica, possui grande índice de contágio também em médicos veterinários, estudantes de medicina veterinária e agricultores, podendo ser classificada como uma zoonose ocupacional, porém, a população de forma geral não está isenta (Pires, 2017).

Uma das formas de transmissão que vem sendo muito debatida, é a causada por felinos. Isso se deve ao seu comportamento que os expõem a nichos ambientais desses fungos. Os felinos infectados se tornam carreadores do microrganismo na cavidade nasal e oral, e também em suas garras, aumentando assim a facilidade de propagação para outros seres através de arranhões, mordidas e contato com fluidos. Comum em gatos domésticos com idade reprodutiva e que têm acesso às ruas, onde acontecem as interações e disputas por território (Dos Santos *et al.*, 2022).

Importante ainda ressaltar, que os felinos são vítimas da doença e não os causadores, pois acabam adquirindo no meio ambiente, nos troncos, no solo e nas vegetações, com isso acabam carreando o fungo em alguns locais do seu corpo, podendo assim ocorrer a transmissão, sendo totalmente relacionada ao seu comportamento.

Os animais afetados podem apresentar como sinais clínicos, nódulos na região de cabeça, cauda e patas, podendo progredir resultando na formação de lesões ulceradas, liberando exsudato purulento, sanguinolento ou hemorrágico, dependendo da gravidade. A forma mais comum é a cutânea disseminada, com lesões purulentas, apresentando crostas de formato circular e alopecica, caso não sejam tratadas, podem levar à necrose. Em casos mais graves, podem afetar ainda os olhos, sistema neurológico e linfático (Dos Santos *et al.*, 2022; Silva; Negrini, 2023).

O diagnóstico dessa doença fúngica pode ser realizado através de exames laboratoriais como isolamento e identificação do fungo através da cultura fúngica, exame citológico e histopatológico, imunohistoquímica, teste sorológico e PCR (Rodrigues *et al.*, 2022). Sendo a cultura fúngica visto como padrão ouro para diagnosticar a doença, com alta sensibilidade, chegando a 95%, deve ser realizado com colheita das amostras nas lesões da pele, tendo apenas uma limitação, que seria o tempo de crescimento da cultura para realizar o diagnóstico (Silva; Negrini, 2023).

O tratamento envolve o uso de antifúngicos, sendo o itraconazol o principal medicamento utilizado, durante um período de tempo prolongado, devendo continuar o tratamento mesmo após desaparecimento da lesão, por pelo menos mais um mês após cicatrização. A prevenção da esporotricose inclui medidas de higiene pessoal e ambiental, evitando o contato com o fungo em áreas de risco (Nakasu *et al.*, 2021).

É considerada uma doença emergente e, sua incidência tem aumentado de forma constante, particularmente no Brasil, gerando abandono de animais e negligência tanto nos tratamentos, quando estes são realizados, como também na falta de informação da população. Esse fato vem gerando grande polêmica diante da saúde pública e dos felinos, que são tratados como vilões, sendo que devido ao seu comportamento no habitat, acabam sendo um forte transmissor da doença, participando do ciclo de transmissão.

Diante desses fatores, há uma necessidade urgente de uma melhor compreensão das fontes de infecção, que envolve a tríade da saúde única, sendo esta, a saúde animal, humana e ambiental, que tem relação direta e indissociáveis (Miranda, 2018). Sendo assim necessária a intervenção de médicos veterinários preparados para diagnosticar, tratar e orientar os tutores e a população de forma geral sobre as medidas de controle e prevenção da doença, principalmente ao se considerar que fungos do gênero *Sporothrix* tem o ambiente como reservatório.

Desse modo, o presente trabalho objetivou pesquisar a presença de *Sporothrix* spp. no ambiente em bairros com maior frequência de esporotricose felina no município de João Pessoa.

REFERÊNCIAS

- DOS SANTOS, A. N. et al. Esporotricose em felino: Revisão. **Pubvet**, v. 16, p. 195, 2022.
- FERREIRA, L. S.; MENCALHA, R. N. Esporotricose felina: Relato de caso. **Pubvet**, v. 16, p. 197, 2022.
- 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, p. 107-124, 2021.
- HAN, H. S.; KANO, R. Feline sporotrichosis in Asia. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 125-134, 2021
- HUGEN, G. F. G. P.; MORAIS, R. M. de; QUEVEDO, L. S.; QUEVEDO, P. S. Doenças infecciosas em cães e gatos: consulta rápida. 1. ed., Lages: Publicação independente, 2019.
- MIRANDA, Michele. A contribuição do médico veterinário a saúde única- one health. **Psicologia e Saúde em debate**, v. 4, n. Suppl1, p. 34–34, 2018.
- NAKASU, C. C. T. et al. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 163- 171, 2021
- PIRES, Camila. Revisão de literatura: esporotricose felina. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 15, n. 1, p. 16-23, 2017.
- RODRIGUES, A. M.; et al. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. **Journal of Fungi**, 2022.
- SILVA, G. L.; NEGRINI, L. K. O. Esporotricose em felinos domésticos: revisão de literatura. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 21, 2023.

2 ARTIGO

Pesquisa de *Sporothrix* spp. no solo de bairros com ocorrência de esporotricose felina no município de João Pessoa

RESUMO

A esporotricose é uma micose cutânea com potencial zoonótico, seu agente etiológico pertence ao gênero *Sporothrix*. O aumento dos casos em locais urbanos ocasionou um problema de saúde pública com várias notificações, tanto em humanos quanto em animais domésticos, como o gato. O envolvimento desses animais tem gerado transmissão e contato contínuo no meio ambiente, sendo uma fonte essencial para o *Sporothrix* spp. Esse estudo teve como objetivo pesquisar a presença do *Sporothrix* spp. no solo de áreas com maior frequência de esporotricose felina no município de João Pessoa. No total foram coletadas 50 amostras de solo nas regiões próximas às residências com casos positivos. Essas amostras foram processadas com diluição em solução salina contendo estreptomicina 1mg/ml e penicilina 5000 UI/ml, utilizando-se apenas a diluição 10^{-3} para o plaqueamento direto. Foram utilizadas placas com meio ágar sabouraud dextrose contendo cloranfenicol e incubadas a 25°C, sendo acompanhadas diariamente. As amostras com características morfológicas compatíveis ao *Sporothrix* foram isoladas e avaliadas microscopicamente. Os demais fungos passaram por repiques e transferência da placa mãe com ágar sabouraud com cloranfenicol para placas com meio de cultura malte, onde foram identificadas e quantificadas. Foram encontradas nove espécies de fungos ambientais, tendo como os principais, o *Cladosporium*, o *Syncephalastrum* e *Curvularia*, sendo a última um patógeno oportunista, causando diversos problemas de saúde em animais, humanos e vegetais. Não foi identificada a presença de *Sporothrix* spp. nas amostras coletadas, não descartando o papel do meio ambiente no processo infeccioso que ocorre entre solo, animal e humano. Importante realizar novos estudos amplificando a área de abrangência, o método de coleta do material, e novas técnicas de detecção. Por ser uma doença com potencial zoonótico, é importante implementar medidas de controle e profilaxia junto à população, sendo necessário buscar soluções que se baseiem nos pilares da saúde única, para que possamos obter resultados positivos em relação a doença.

Palavras-chave: ambiente; *Sporothrix brasiliensis*; *Sporothrix schenckii*; zoonose; saúde única

2.1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose de caráter zoonótico, causada por fungos do complexo *Sporothrix* spp. (Gonçalves *et al.*, 2019). Possui distribuição mundial, conhecida por ter evolução subaguda ou crônica, tem maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais (Rodrigues *et al.*, 2020). Afeta geralmente a pele, tecido subcutâneo e vasos linfáticos, apresentando diversas formas clínicas inicialmente, podem ser confundidos com um abscesso, mas com o tempo, tornam-se nódulos que ulceram, comprometendo derme e hipoderme. Quando o microorganismo afeta o sistema linfáticos, os linfonodos ficam aumentados. Podendo haver evolução para uma forma sistêmica com o agravamento da doença (Mcvey; Kennedy; Chengappa, 2016).

O *Sporothrix* é um fungo dimórfico e geofílico (Almeida *et al.*, 2018), encontrado na forma filamentosa quando em temperatura ambiente, entre 25°C e 30°C, apresentando-se como um fungo saprófita ambiental e cosmopolita de tronco de árvores, de solos e vegetações ricas em matéria orgânica e vegetação, com predisposição de crescimento em locais quentes e úmidos (Araújo *et al.*, 2020). Quando está infectando um hospedeiro ou em cultivo a temperatura de 35°C a 37°C, muda para a forma leveduriforme, sendo esta a forma mais virulenta (Cavalcanti *et al.*, 2018).

O gato tem papel fundamental no ciclo de transmissão, principalmente em regiões urbanas, onde acaba se infectando em locais como jardins ou qualquer outro em que o fungo esteja presente, desse modo acaba transmitindo para outros gatos e também para o homem, por meio de arranhaduras e mordeduras (Almeida *et al.*, 2018).

Deve-se ressaltar que, mesmo sem lesões clínicas, é possível o isolamento do *Sporothrix* spp. das patas e garras de gatos. Gatos infectados apresentam grande quantidade de estruturas leveduriformes nas lesões, inclusive nas patas e, devido aos hábitos de amolar as garras em árvores e soterrar as fezes, podem contaminar o solo e vegetação (Souza, 2020). Tendo em vista que o fungo está no ambiente, tanto em solos, como também em troncos de árvores e plantas.

Diante disso, é importante destacar que existem diversas medidas de controle e prevenção a serem adotadas, a proteção com luvas, roupas e calçados adequadas ao manusear plantas ou solos bem como no tratamento de animais afetados com seu devido isolamento, lavando sempre as mãos após manipulação (Nelson; Couto, 2015).

A prevenção e controle depende do rápido diagnóstico da doença no gato doméstico, para que se interrompa a ocorrência e sua transmissão aos seres humanos (Berocal; Gomes, 2020). É importante realizar o tratamento dos animais doentes de forma correta, isolando o

animal até que ocorra a cicatrização das lesões evitando assim sua transmissão, bem como a proteção de quem irá manusear toda a parte de tratamento do mesmo, utilizando luvas de proteção.

Cavalcanti *et al.* (2018) relatam que a esporotricose é considerada um problema de saúde pública por ser uma doença muito negligenciada no Brasil. A transmissão usualmente acontece devido ausência de projetos e ações de controle a nível nacional, desqualificação de diagnósticos, e ainda a falta de informação da população concernente às medidas de controle da doença e tratamentos realizados sem consulta de um médico veterinário.

Estudos realizados na Paraíba por Costa e Clementino (2019) citam que a infecção já foi registrada em 86,5% (56/64) dos bairros da cidade de João Pessoa. A infecção encontra-se disseminada em vários municípios do interior do estado como Pilões, Patos, Areia, Bananeiras e Guarabira, sendo causada pela espécie *S. brasiliensis* (Angelo *et al.*, 2023). Diante dos diversos casos confirmados no estado da Paraíba, a doença foi incluída na lista de doenças de notificação compulsória no ano de 2018 (SES-PB, 2018).

Diante disso, faz-se necessário buscar soluções que se baseiem nos pilares da saúde única, para que possamos obter um controle da doença, sendo indispensável a contratação de médicos veterinários para atender toda a população, com os recursos necessário na realização de diagnóstico e tratamento, podendo ainda obter contribuição de epidemiologistas para ajudar na criação de medidas sanitárias para cada região (Duarte; Carvalho, 2021).

A notificação dos casos na cidade de João Pessoa poderá contribuir para que ações sejam devidamente executadas com o intuito de controlar surtos e informar a população dos cuidados que devem ser tomados, evitando a contaminação ambiental, uma vez que o fungo é um agente ambiental. Com isso, é de suma importância a realização de estudos para verificar a existência de áreas urbanas contaminadas com o *Sporothrix* spp., o que poderá custear os órgãos de saúde única na idealização de planos de controle. Diante disso, a presente pesquisa teve como objetivo pesquisar a presença de *Sporothrix* spp. no solo de áreas com maior frequência de esporotricose felina no município de João Pessoa.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Local da pesquisa e amostragem

A pesquisa de campo foi realizada no município de João Pessoa. Os procedimentos laboratoriais de cultura e identificação fúngica, foram realizados no Laboratório de Medicina Veterinária da Preventiva (LMVP) do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias da UFPB. A amostragem foi por conveniência, selecionando-se bairros com maior frequência de casos registrados de esporotricose felina, conforme identificado por Costa e Clementino (2019).

No total foram colhidas 50 amostras de solo das áreas selecionadas, totalizando 22 bairros. Os endereços foram selecionados de acordo com o valor total de casos onde, a cada 5 casos confirmados em determinado bairro, era realizada uma coleta, realizando assim um roteiro, afim de promover uma rota de coleta eficiente.

Os locais de coleta foram selecionados através de uma lista de casos confirmados em felinos, solicitada pelo Centro de zoonose de João Pessoa, levando em consideração os exames de citologia e cultura fúngica positivas onde, a cada 5 casos confirmados em um determinado bairro, era realizada uma coleta, quantos mais casos confirmados no bairro, maior seria a quantidade de coletas. Os endereços eram selecionados também de forma a facilitar o roteiro de coleta entre os bairros, sendo realizadas 5 a 8 coletas há cada 15 dias, entre os meses de dezembro de 2022 e junho de 2023, nas épocas de verão e outono.

Foram colhidas aproximadamente 25 g de solo rico em matéria orgânica (Poester *et al.*, 2018) dos endereços dos animais com esporotricose ou regiões vizinhas. A coleta do solo foi realizada em locais sombreados no local selecionado ou próximo, limpando as folhagens e gravetos do local e retirando a parte superficial, a coleta foi realizada em 3 pontos. As amostras de solo foram armazenadas em frascos estéreis e encaminhadas para o LMVP para realização do processamento.

2.2.2 Procedimento laboratorial

O estudo ambiental foi obtido por técnica modificada e utilizada por Poester *et al.* (2018). A amostra de solo coletada 25g foi homogeneizada e, em seguida, retirada uma fração de 3g e diluída em 27ml de solução salina estéril contendo estreptomicina 1mg/ml e penicilina 5000 UI/ml. Todo processamento realizado em materiais estéreis.

Essas alíquotas foram agitadas intermitentemente em temperatura ambiente durante 1h. Aproximadamente 5 minutos após a última agitação foi colhido 1mL do sobrenadante das amostras e diluído para as proporções de 1:10 em solução salina estéril contendo antibiótico e

realizada uma nova agitação. Após descanso de 5 minutos de agitação foi retirada uma nova alíquota de 1 ml e diluída na proporção de 1:100 na mesma solução salina estéril anterior, e assim, uma nova diluição de 1:100, seguindo todos os passos citados anteriormente. Assim foram realizadas três diluições de cada amostra coletada. Subsequentemente, uma alíquota de 0,2 ml foi semeada em placa de Petri contendo meio ágar Sabouraud Dextrose acrescido de cloranfenicol, em triplicata para as diluições.

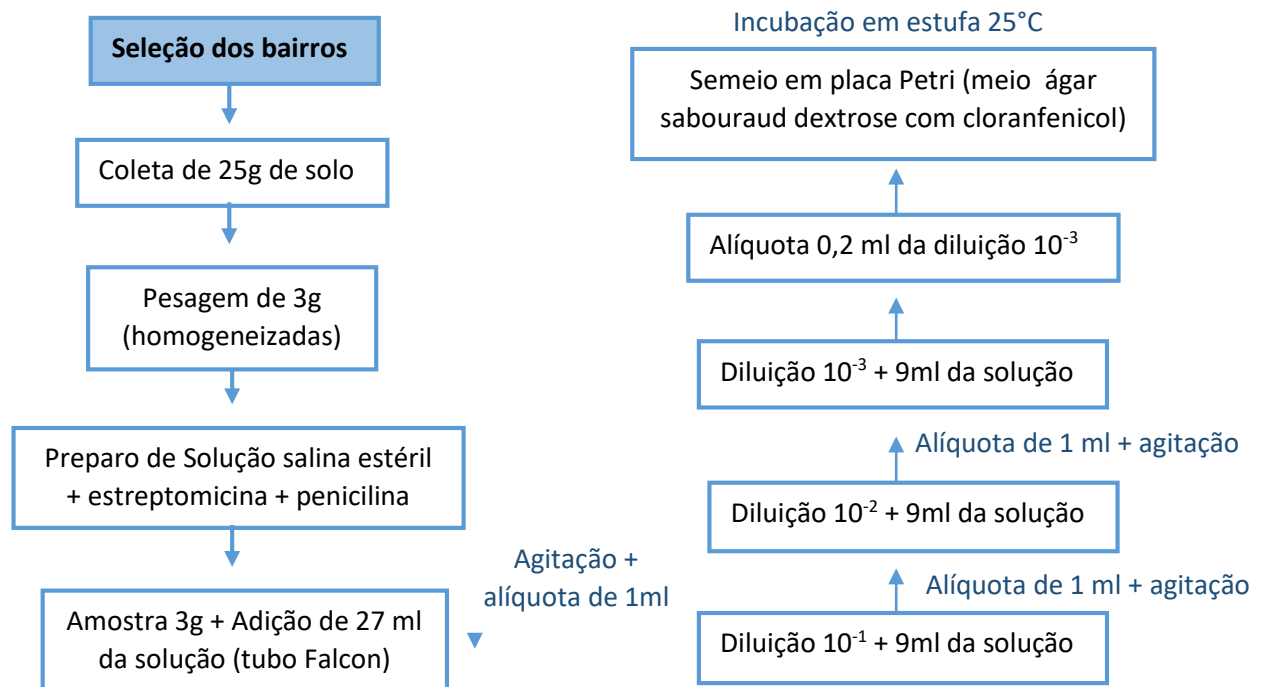
As placas com a amostra, foram incubadas na estufa na temperatura de 25°C com observação diária durante cinco dias para verificar o crescimento. As placas que apresentaram colônias morfológica semelhante com *Sporothrix* spp., foram novamente submetidas a semeio em Agar Sabouraud Dextrose com Cloranfenicol, para purificação. Estas colônias purificadas foram observadas quanto às características macroscópicas e microscópicas, sendo estas últimas obtidas com uso de coloração de azul dimetileno, seguida da observação do dimorfismo, semeando as culturas puras em Ágar BHI (brain-heart infusion) e incubar a 37°C.

Em geral, na forma filamentosa ou micelial, as colônias de crescimento branco e úmido em aproximadamente 3 a 5 dias. À medida que envelhecem, começam a ficar duros e enrugados e, no caso de algumas espécies apresentam conídios pigmentados, variando de um tom marrom a preto (Arenas & Torres, 2020). Microscopicamente, observam-se micélios finos septado e ramificado, bem como microconídios hialinos sésseis e que se assemelham a “flores de pêssego” (Iglessias; Osore, 2019).

Devendo então ser confeccionadas lâminas de microscopia no 4º e no 12º dia após a incubação, sendo coradas com coloração de Gram para observação das leveduras. Os isolados confirmados deveriam ser submetidos a identificação por técnicas moleculares conforme técnicas usadas por Oliveira *et al.* (2013) e Rodrigues *et al.* (2014). Para a realização desta técnica, as amostras isoladas serão conservadas em meios apropriados e enviados para uma instituição parceira.

Na figura 1 podemos observar o fluxograma do processamento das amostras de solo conforme descrito anteriormente.

Figura 1. Fluxograma de processamento das amostras de solo.



2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve crescimento de colônias de *Sporothrix* spp. nas 50 amostras de solo analisadas, provenientes de 22 bairros do município de João Pessoa (Figura 2). Este resultado, entretanto, não significa ausência ambiental deste fungo na região estudada, uma vez que, segundo Poester *et al.* (2018), o não isolamento de espécies do complexo *Sporothrix* spp. pode indicar um papel mínimo para a manutenção e incremento de casos da doença nesta área.

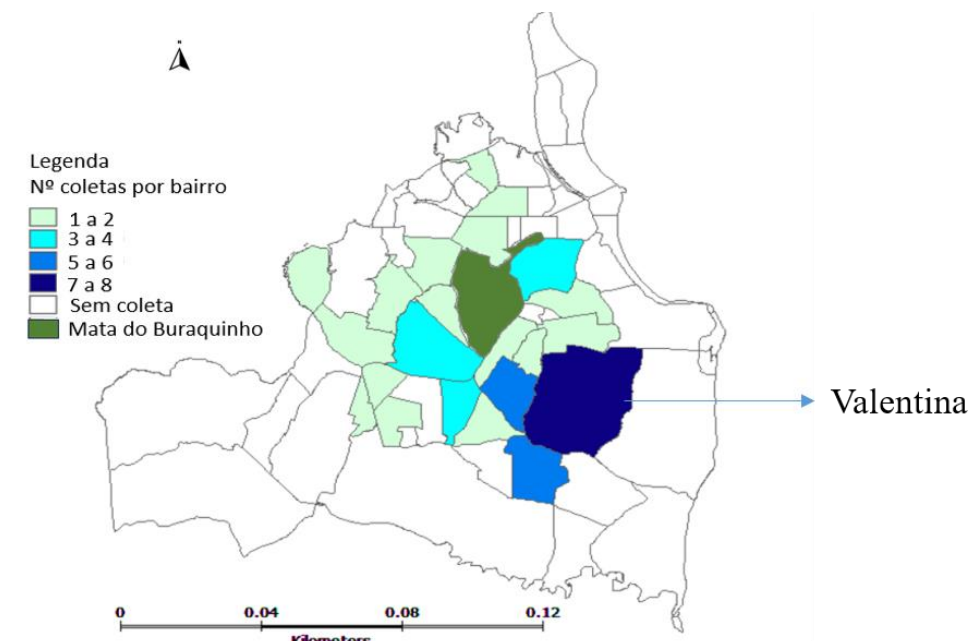
Entre os bairros selecionados para coletas, o bairro do Valentina apresentou o maior número de coletas, consequentemente maior prevalência de casos confirmados de esporotricose em felinos, podendo ser justificado por ser um local com diversos locais arborizados, muitas ruas sem calçamento e diversos felinos povoando a região.

A ausência de isolamento ambiental do fungo dever-se a modificação epidemiológica da esporotricose, em que a espécie *Sporothrix brasiliensis* vem sendo a mais isolada, tanto em animais como também em humanos, podendo ser justificada pela mudança do habitat do fungo, o que pode ter ocorrido no sudeste do Brasil, tornando-a emergente (Gremião *et al.*, 2017). Cabe ressaltar que a espécie *Sporothrix brasiliensis* foi identificada como a causa da esporotricose felina no estado da Paraíba (Angelo *et al.*, 2023).

O comportamento específico do felino os evidenciam a possíveis nichos ambientais dos fungos, desde arranhar troncos de árvores ou superfícies próximas, enterrando as fezes e o constante hábito de lambedura, que acabam facilitando o acesso a unhas toda cavidade oral (Santos; Alessi, 2016; Souza, 2020). O *Sporothrix brasiliensis* possui grande interação com gatos, tornando-se predominantes neste hospedeiro, indicando assim uma forte adaptação às condições do hospedeiro felino, pois apresentam um habitat próprio para *Sporothrix brasiliensis* (Rodrigues *et al.*, 2013).

Além disso, vários outros fatores podem limitar o crescimento do *Sporothrix* spp., tendo como exemplo o município de estudo, cidade litorânea com pouca matéria orgânica armazenada, onde se encontram diversas áreas já calçadas e solo arenoso, bem como a disputa dos microorganismos no solo. Alguns locais com pouca arborização também, que seria outra forma de infecção por parte dos felinos. Corroborando com Montenegro *et al.* (2014) que justificou seu estudo com resultado negativo relatando que *Sporothrix* spp. são fungos dimórficos com crescimento moderado, e seu isolamento em amostras de solo por cultura é difícil devido ao crescimento abundante de inúmeros outros microrganismos sapróbios que podem crescer rapidamente competindo por nutrientes do local.

Figura 2. Mapa de distribuição das coletas de amostras de solo dos bairros do município de João Pessoa.



Fonte: Elaborado por Inácio J. Clementino. Software TerraView 4.2.2.

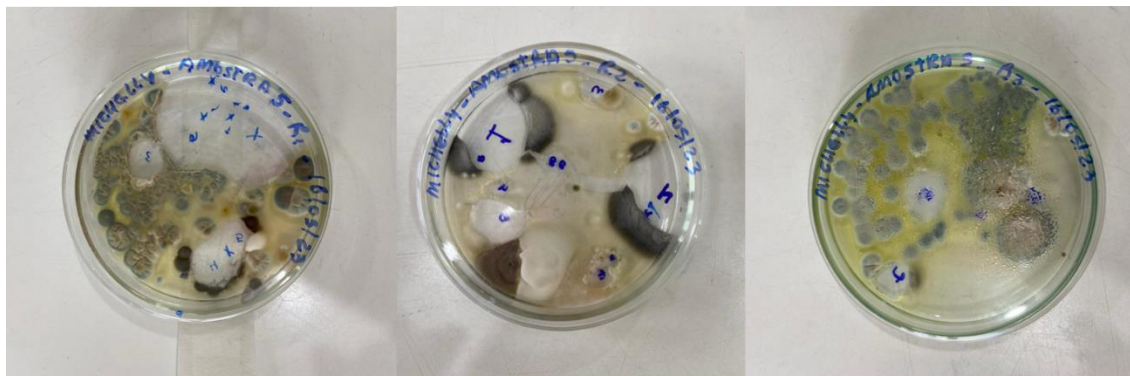
Foi possível identificar a disputa dos fungos quando realizada a cultura da amostra, onde observou-se que diversos fungos tinham o crescimento muito rápido podendo inibir ou mesmo povoar toda placa antes mesmo do *Sporothrix* spp. iniciar seu crescimento. Nas figuras 3 e 4 podemos observar o crescimento de duas amostras à 25°C de incubação, no terceiro e sétimo dia, respectivamente.

Figura 3. Amostra cultivada em triplicata em placas de ágar sabouraud com cloranfenicol no dia 16 de maio, terceiro dia de incubação a 25°C.



Fonte: Autor, 2023.

Figura 4. Amostra cultivada triplicata em placas de ágar sabouraud com cloranfenicol no dia 16 de maio, sétimo dia de incubação a 25°C, com repicagens realizadas.



Fonte: Autor, 2023.

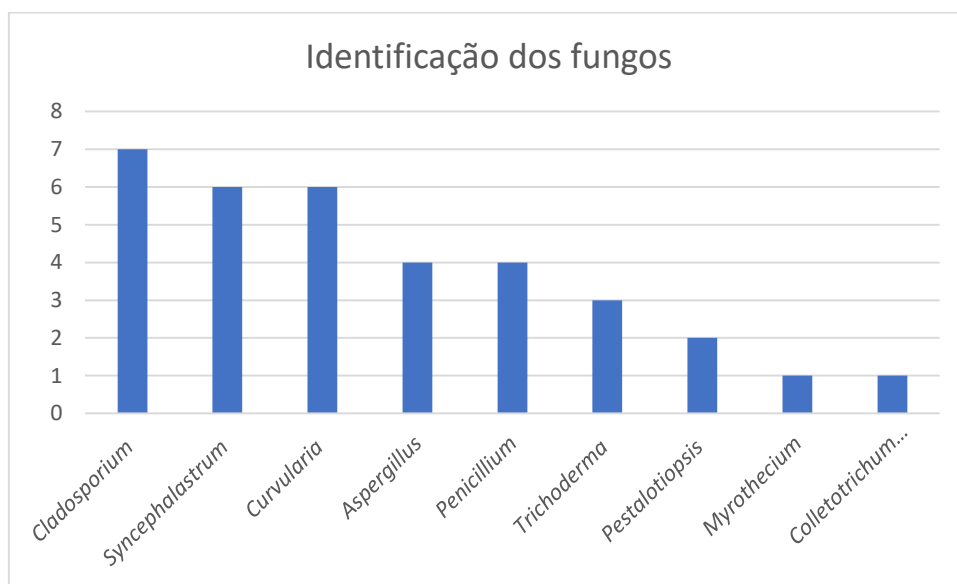
Na primeira imagem podemos observar um crescimento de 3 dias em uma das amostras cultivadas, onde diversos fungos já começaram a surgir na placa com crescimento acelerado. Já na segunda imagem pode-se observar outra amostra com 7 dias de cultivo e uma completa distribuição fúngica na placa estudada, com repicagens já realizadas para identificação. Estudos sobre o isolamento *Sporothrix* spp. em amostras ambientais são escassos, provavelmente pela dificuldade de isolá-los desse habitat (Téllez *et al.*, 2014).

Poester *et al.* (2018) relatam em sua pesquisa com *Sporothrix* spp. que, o não isolamento pode estar relacionado a limitações na metodologia, tais como: o tipo da amostra, tamanho, abrangência do local, entre outros fatores, tendo em vista que a abrangência desse fungo no ambiente já está bem estabelecida.

Diante desses fatores, realizou-se a identificação e contabilização dos fungos ambientais das amostras coletadas, sendo acompanhados durante 30 dias. Realizando um repique a cada novo fungo que surgia na placa mãe, sendo transferido para uma placa menor contendo meio de cultura Malte, para que assim pudessem crescer e esporular, facilitando sua identificação individual, onde foram identificadas e quantificadas, com base nas características morfológicas das estruturas reprodutivas utilizando literatura especializada. Mesmo com o crescimento acelerado na placa contendo ágar sabouraud com cloranfenicol, foi possível realizar a identificação de diversos fungos ambientais, através da esporulação, que ocorre quando os fungos liberam seus esporos havendo a germinação e formação de um novo micélio.

Na figura 5 podemos observar o gráfico com as nove espécies de fungos que foram encontradas nas amostras de solo coletadas nos bairros do município de João Pessoa.

Figura 5. Identificação dos fungos das amostras de solo coletadas, cultivadas em meio de ágar sabouraud com cloranfenicol e incubadas a 25°C.



Fonte: Autor, 2023.

Podemos observar que os seis primeiros fungos isolados tiveram uma maior prevalência nas amostras de solo estudadas. Resultados similares foram encontrados por Correa et. al., (2021) em solos da floresta amazônica onde, dos 50 fungos isolados, 60% eram isolados do gênero *Penicillium* e os demais isolados foram de *Aspergillus* e *Trichoderma*.

No estudo realizado não foi isolado fungos do gênero *Sporothrix* spp., porém, é importante destacar outras dermatopatias na rotina de cães e gatos, como as micoses que são causadas geralmente por dermatófitos. Diversos outros fungos considerados não-dermatófitos podem estar ligados à dermatomicoses, a exemplo do *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp., como em estudo realizado por Da Costa Portugal (2017) que diagnosticou vários casos desses fungos, tanto em cães como em gatos.

A *Curvularia* spp., foi a terceira espécie mais encontrada no estudo realizado, podendo causar diversos problemas. Os fungos do gênero *Curvularia* spp., geralmente são encontrados em diversos substratos vegetais, podem ser isolados a partir do solo ou mesmo do ar. Esse fungo causa diversas doenças em humanos, animais e vegetais, e são considerados patógenos oportunistas (Rodrigues et al., 2021).

2.4 CONCLUSÃO

Embora nenhuma das amostras de solo tenha sido detectada a presença de *Sporothrix* spp., não pode ser descartado o papel do meio ambiente no processo infeccioso, que ocorre entre solo, humano e animal. É importante realizar novos estudos amplificando a área de abrangência, o tipo, quantidade e o método de coleta das amostras, como também as técnicas de detecção. Por se tratar de uma doença infecciosa, de potencial zoonótico, é importante implementar medidas de controle e profilaxia junto à população, bem como estudos sobre tratamento adequado e manuseio ao se confirmar a doença.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do não isolamento do *Sporothrix* spp., é importante lembrar sua presença no meio ambiente participando ativamente do processo infeccioso, seja através de solo, tronco de árvores ou vegetações. Embora sua importância seja evidente, a doença zoonótica é muito negligenciada, afetando diretamente a saúde pública, podendo ser através da subnotificação por parte dos profissionais da área, bem como a falta de investimento local e desinformação da população.

Um dos fatores que vem gerando grande polêmica quanto à doença, é a falta de informação, sendo o felino tratado como o causador da doença, ocasionando assim diversos abandonos de animais acometidos, bem como a falta de recursos financeiros da população de realizar o tratamento de forma correta. Em caso de óbitos, animais que deveriam ser incinerados, acabam sendo enterrados em terrenos baldios ou mesmo no quintal das casas, aumentando assim a disseminação através do solo.

Deve-se levar em consideração também o diagnóstico realizado por um médico veterinário, sendo esse o profissional habilitado. Porém, nem sempre esses profissionais são procurados, seja por falta de informação ou mesmo devido a carência de boa parte da população, em arcar com os custos de um médico veterinário com consultas e exames, como também adquirir o medicamento por diversos meses de tratamento. Assim, muitos iniciam um “tratamento” passado por terceiros, sem diagnóstico prévio, podendo realiza-lo de forma errônea, acarretando em diversos problemas para o animal.

Desta forma, evidencia-se a importância de constatar a esporotricose como um assunto de grande impacto na saúde única promovendo a divulgação de informação acerca da doença, além de programas públicos com atendimento acessível à população, e a realização de exames de diagnóstico e tratamento, com a distribuição dos medicamentos necessários, afim de contribuir na redução das notificações. Importante destacar a multidisciplinaridade entre os profissionais da saúde incluindo médicos veterinários, médicos, epidemiologistas e biólogos que podem participar ativamente promovendo melhorias de forma geral à população.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. J. et al. Esporotricose em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em Campos dos Goytacazes, RJ. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2018.
- ANGELO, D. F. S. et al. *Sporothrix brasiliensis* infecting cats in northeastern Brazil: New emerging areas in Paraíba state. **Ciência Rural**, v. 53, p. e20220351, 2023.
- ARAÚJO, A. K. L. et al. Esporotricose felina e humana—relato de um caso zoonótico. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 14(2), 237–247. 2020.
- ARENAS G. R.; TORRES G. E. Esporotricosis. **Micología Médica Ilustrada**. 2020.
- BEROCAL, G. M. C.; GOMES, D. E. Esporotricose em felinos. **Revista Científica**, 2020.
- CAVALCANTI, E. A. N. L. D. et al. Esporotricose: Revisão. **PUBVET**, 12, 133, 2018.
- CAVALCANTI, M.A.Q. et. al. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 2006.
- CORREA, L. O. et al. Amazonian soil fungi are efficient degraders of glyphosate herbicide; novel isolates of *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Trichoderma*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e242830, 2021.
- COSTA, M. C. L. da .Distribuição espacial da esporotricose felina no município de João Pessoa, estado da Paraíba, Brasil. 2019.
- DA COSTA PORTUGAL, Sofia Raquel. **Diagnóstico de Dermatofitose em Cães e Gatos Domésticos pelo Método de Mackenzie**. Tese de Doutorado. Universidade de Tras-os-Montes e Alto Douro (Portugal), 2017.
- DUARTE, Tallita Lougon; CARVALHO, Gabriel Domingos. Esporotricose no contexto da saúde única. In: II CONGRESSO BRASILEIRO INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2021. Diamantina/MG. **Anais [...]** Diamantina: UFVJM, 2021. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/354366162_ESPOROTRICOSE_NO_CONTEXTO_DA_SAUDE_UNICA. Acesso em: 12 nov. 2023.
- GONÇALVES, J. C. et al. Esporotricose, o gato e a comunidade. **Encicloédia Biosfera**, 16(29), 769–787, 2019.
- Gremião, I. D. F., Miranda, L. H. M., Reis, E. G., Rodrigues, A. M., & Pereira, S. A. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 1, p. e1006077, 2017.
- IGLESIAS OSORES S. Características microscópicas de *Sporothrix* sp. **Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque**, v. 5, n. 2, p. 108-109, 2019.
- Lacaz C.S., Porto E., Martins J.E.C., Heins-Vaccari E.M. & Melo N.T. Esporotricose. p.479-497. In: Lacaz C.S., Porto E., Martins J.E.C., HeinsVaccari E.M. & Melo (ed.) **Tratado de Micologia Médica**, 9ª ed., Savier, São Paulo, 2002.
- MCVEY, D. S; KENNEDY, M. A; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia veterinária**, 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
- MONTENEGRO H. et al. Esporotricose felina por *Sporothrix brasiliensis*: uma infecção animal emergente em São Paulo, Brasil. **BMC Vet Res** [Internet]. 2014.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

OLIVEIRA, M.M.E. et al. Molecular identification of *Sporothrix* species involved in the first familial outbreak of sporotrichosis in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil.

Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 108, n. 7, p. 936–938, 2013.

POESTER, V. R. et al. Avaliação da presença de *Sporothrix* spp. Em solo de área hiperendêmica para esporotricose no extremo sul do Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-8, 2018.

POUTAHIDIS, T. et al. Mycotic encephalitis and nephritis in a dog due to infection with *Cladosporium cladosporioides*. **Journal of comparative pathology**, v. 140, n. 1, p. 59-63, 2009.

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

RODRIGUES, A.M. et al. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. **Emerging microbes & infections**, v. 3, 2014.

RODRIGUES, A.M.; HOOG, S.; CAMARGO, Z.P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. *Med Mycol.* v. 51, n. 4, p. 405-412, 2013.

RODRIGUES, D. M. et al. Dermatomicose em cão causada por *Curvularia* sp.: relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v. 28, p. 1-6, 2021.

SCHOENLEIN, N. C. et al. Fungos anamorfos do solo da região dos lagos no Município de Santa Gertrudes, SP, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, p. 667-678, 2008.

SCHUBACH A. et. al. Esporotricose zoonótica–abordagem entre medicina humana e veterinária. **Ciência Animal**, v. 11, p. 192, 2001.

SES-PB. **Resolução CIB/SES-PB nº 80 de 07 de agosto de 2018**. SES-PB acrescenta doenças, agravos e eventos estaduais à Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória e dá outras providências. Paraíba., 2018. Disponível: <http://static.paraiba.pb.gov.br/2018/08/Diario-Oficial-22-08-2018.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2023.

SILVA, D. C. V. D. et al. Isolamento e seleção de fungos filamentosos do solo de sistemas agroflorestais do Município de Bom Jardim (PE) com base na capacidade de produção de enzimas hidrolíticas. **Brazilian Journal of Botany**, 34, 2011.

SOUZA, L.L. de et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of healthy cats. **Braz. J. Microbiol.**, v.37, n.3, p.372-374, 2006.

SOUZA, Mary'Anny. **Clínica Médica de Pequenos Animais**. 1. ed. Salvador: Sanar, 2020.

TÉLLEZ, M. D. et al. *Sporothrix schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity. **Microbiology**, v. 160, n. 11, p. 2352-2365, 2014.