

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CAMPUS II-AREIA-PB
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

DÉBORA FERREIRA DOS SANTOS ANGELO

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *SPOROTHRIX*
SPP. ORIUNDOS DE FELINOS DOMÉSTICOS DO ESTADO DA PARAÍBA**

**AREIA
2021**

DÉBORA FERREIRA DOS SANTOS ANGELO

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *SPOROTHRIX*
SPP. ORIUNDOS DE FELINOS DOMÉSTICOS DO ESTADO DA PARAÍBA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.
Orientador: Prof. Dr. Inácio José Clementino.

**AREIA
2021**

Catálogo na publicação Seção de

A584c Angelo, Debora Ferreira dos Santos.

Caracterização molecular de isolados clínicos de *Sporothrix* spp. oriundos de felinos domésticos do estado da Paraíba / Debora Ferreira dos Santos Angelo.

- Areia:UFPB/CCA, 2021.

51 f. : il.

Orientação: Inácio José Clementino.Dissertação
(Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Ciência Animal. 2. Zoonose. 3. *Sporothrix brasiliensis*. 4. Epidemia. I.
Clementino, Inácio José.

II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(043.3)

Catálogo e Classificação

Elaborado por MAGNOLIA FELIX DE ARAUJO - CRB-15/883

DÉBORA FERREIRA DOS SANTOS ANGELO

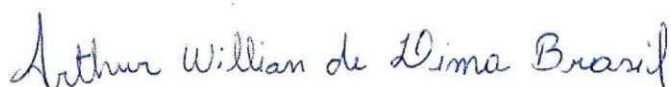
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *Sporothrix* spp. ORIUNDOS DE FELINOS DOMÉSTICOS DO ESTADO DA PARAÍBA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal no Brejo Paraibano.

APROVADA EM 26/02/2021
BANCA EXAMINADORA



Dr. INÁCIO JOSÉ CLEMENTINO
UFPB
Orientador



Dr. ARTHUR WILLIAN DE LIMA BRASIL
UFPB
Examinador



Dra. MARIA DAS GRAÇAS DA SILVA BERNARDINO
UFPB
Examinadora

Dedicatória:

À Deus, minha mãe e avós maternos, eu dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, que providenciou cada oportunidade e pessoa necessária para realização deste trabalho, e mais uma vez me mostrou sua infinita misericórdia.

Ao querido professor Inácio, que me acolheu, ensinou, apoiou e corrigiu sempre com muita empatia, sabedoria e simplicidade. Sou muito sortuda pela oportunidade de trabalhar com ele.

À querida equipe da UFPB que ajudou nas diferentes etapas desse trabalho, Adriele, Sheila e Maria Clara.

Também às veterinárias no Centro de Controle de Zoonoses de João Pessoa, Andreza, Suely e Valéria, sua colaboração foi essencial.

Aos amigos, Camila, Ayrton Senna, Alinne e Felício, que com imensa boa vontade, me ajudaram nas coletas.

Às queridas colaboradoras da Fiocruz, Vanessa e professora Rosely, que prontamente aceitaram nos ajudar. À veterinária e amiga Ividy, que proporcionou essa ligação.

Por fim, agradeço à minha família, que me apoiou e incentivou durante toda a minha vida.

Um grande abraço!

Nunca foi sorte, sempre foi Deus.
(autor desconhecido)

RESUMO GERAL

A esporotricose é uma micose subcutânea, causada por fungos dimórficos do gênero *Sporothrix*. Esta enfermidade pode acometer o homem e uma grande variedade de espécies animais, em especial o gato doméstico, que tem um papel epidemiológico muito importante na manutenção dessa doença em meio urbano no Brasil, sendo considerada uma doença endêmica. No estado da Paraíba os primeiros casos em animais domésticos são relativamente recentes, havendo ainda poucas informações epidemiológicas sobre os focos ocorridos em felinos e em humanos. Diante disto, este trabalho tem por objetivo identificar molecularmente isolados de *Sporothrix* spp. isolados de felinos domésticos procedentes de cidades da Paraíba, e dessa maneira expandir a compreensão da enfermidade no estado. Foram analisadas 39 amostras, de lesões cutâneas de felinos domésticos, oriundos das seguintes cidades paraibanas: João Pessoa (n=29), Pilões (n=4), Patos (n=3), Areia (n=1), Bananeiras (n=1) e Guarabira (n=1). As amostras inicialmente foram processadas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, Brasil, onde o diagnóstico a nível de gênero foi estabelecido por meio de cultura fúngica. A seguir, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Micologia do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, Brasil, onde foi realizada a caracterização molecular dos isolados fúngicos, por meio de PCR espécie-específica para *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis* e *S. globosa* ou sequenciamento parcial do gene calmodulina. Este estudo revelou que 100% dos isolados pertenciam à espécie *Sporothrix brasiliensis*, e o alinhamento das sequências e as análises filogenéticas de seis isolados apresentaram 100% de similaridade com a cepa *S. brasiliensis* CBS 120339. A avaliação da significância da árvore filogenética, realizada por meio do teste *Bootstrap*, revelou nesta avaliação com 1.000 replicatas, um nível de confiança de ocorrência de nós em 98%. Com a análise molecular descrita neste estudo a ocorrência de *Sporothrix brasilienses* foi mostrada pela primeira vez em felinos provenientes da região Nordeste do Brasil. Reforçando o papel dessa espécie de *Sporothrix* na esporotricose felina no estado. A identificação do *S. brasiliensis* em felinos procedentes da Paraíba ressalta a ocorrência do agente predominante em grandes surtos zoonóticos nas regiões Sul e Sudeste do Brasil em áreas geográficas distantes, alertando para a uma possível ocorrência de surtos zoonóticos semelhantes aos encontrados nessas regiões, e salienta o papel do felino na transmissão zoonótica da esporotricose, tendo em vista que esse genótipo é observado na doença em humanos. Por fim, esses dados respaldam a tomada de medidas preventivas contra a doença animal, o que potencialmente impactará na epidemia existente na cidade de João Pessoa, bem como na emergência alarmante de casos para o interior do estado.

Palavras-chave: epidemia, Nordeste brasileiro, *Sporothrix brasiliensis*, PCR espécie-específica, calmodulina.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis caused by dimorphic fungi of the genus *Sporothrix*. This disease can affect man and a wide variety of animal species, especially the domestic cat, which has a very important epidemiological role in maintaining this disease in the urban environment. Being considered an endemic disease in Brazil. In the state of Paraíba, the first cases in domestic animals are relatively recent, with little epidemiological information on the outbreaks in felines and humans. In view of this, this work aims to identify molecularly isolates of *Sporothrix* spp. isolated from domestic cats from cities in Paraíba, and in this way expand the understanding of the disease in the state. 39 samples of skin lesions were collected from domestic cats, from the following cities in Paraíba: João Pessoa (n = 29), Pilões (n = 4), Patos (n = 3), Areia (n = 1), Bananeiras (n = 1) and Guarabira (n = 1). The samples were initially processed at the Preventive Veterinary Medicine Laboratory of the Agricultural Sciences Center of the Federal University of Paraíba, Paraíba, Brazil, where the diagnosis at the gender level was established by means of fungal culture. Then, the samples were sent to the Mycology Laboratory of the National Institute of Infectology Evandro Chagas, Rio de Janeiro, Brazil, where the molecular characterization of fungal isolates was performed, using species-specific PCR for *S. schenckii* sensu stricto, *S. brasiliensis* and *S. globosa* or partial sequencing of the calmodulin gene. This study revealed that 100% of the isolates belonged to the species *Sporothrix brasiliensis*, and the sequence alignment and phylogenetic analyzes of six isolates showed 100% similarity to the *S. brasiliensis* strain CBS 120339. The evaluation of the significance of the phylogenetic tree, carried out by means of the Bootstrap test, it revealed in this evaluation with 1,000 replicates, a 98% confidence level for the occurrence of nodes. With the molecular analysis described in this study, the occurrence of *Sporothrix brasilienses* was shown for the first time in cats from the Northeast region of Brazil. Reinforcing the role of this species of *Sporothrix* in feline sporotrichosis in the state. The identification of *S. brasiliensis* in felines from Paraíba highlights the occurrence of the predominant agent in large zoonotic outbreaks in the South and Southeast regions of Brazil in distant geographic areas, alerting to the possible occurrence of zoonotic outbreaks similar to those found in these regions, and highlights the role of the feline in the zoonotic transmission of sporotrichosis, considering that this genotype is observed in the disease in humans. Finally, these data support the adoption of preventive measures against animal disease, which will potentially impact the epidemic in the city of João Pessoa, as well as the alarming emergence of cases in the interior of the state.

Keywords: epidemic, Northeastern Brazil, *Sporothrix brasiliensis*, species-specific PCR, calmodulin

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Distribuição e amostragem de isolados de <i>Sporothrix brasiliensis</i> procedentes de felinos domésticos de cidades da Paraíba, Brasil	40
Figura 2: Árvore filogenética de isolados de <i>Sporothrix</i> spp. procedentes de felinos domésticos da Paraíba, Brasil. Método de Maximum Likelihood baseado nas sequências parciais do gene da calmodulina. Valor de 1000 bootstrap está representado nos ramos.....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Isolados de <i>Sporothrix</i> spp. procedentes de felinos domésticos de cidades da Paraíba, Nordeste brasileiro, de acordo com a cidade de origem da amostra, espécies identificada e método molecular utilizado.....	40
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERÊNCIAS	14
3. CAPÍTULO 1.....	15
REFERENCIAL TEÓRICO SOBRE ESPOROTRICOSE.	16
REFERÊNCIAS.....	25
4. CAPÍTULO 2.....	33
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS CLÍNICOS DE <i>SPOROTHRIX</i> SPP. ORIUNDOS DE FELINOS DOMÉSTICOS DO ESTADO DA PARAÍBA	33
ABSTRACT	34
RESUMO.....	34
INTRODUÇÃO	35
MATERIAL E MÉTODOS	36
RESULTADOS	39
DISCUSSÃO	42
CONCLUSÕES.....	45
LISTA DE REFERÊNCIAS	46
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma doença causada por fungos do gênero *Sporothrix*, de distribuição mundial, cujas espécies do clado patogênico são *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei* (RODRIGUES *et al.*, 2020).

O agente pode ser encontrado no solo, associado a material orgânico de plantas, na água e em matéria orgânica em decomposição. A partir de 1998 a frequência de casos de esporotricose em gatos e humanos vem crescendo e os gatos passaram a ser considerados os reservatórios principais do *S. brasiliensis*, espécie que atualmente é a mais frequente no Brasil, o que pode ter ocorrido devido a uma mudança de habitat do fungo da planta ou ambiente para o gato (RODRIGUES *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2014a).

É uma doença subaguda ou crônica, que atinge normalmente pele, tecido subcutâneo e vasos linfáticos (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011) e, devido à grande quantidade de leveduras nas lesões dos gatos, havendo possibilidade de isolamento do fungo mesmo em gatos saudáveis (MACEDO-SALES *et al.*, 2018), e aos seus hábitos comportamentais (VIEIRA *et al.*, 2019), os felinos assumiram importante papel epidemiológico na transmissão do fungo intra-espécie e extra-espécie, principalmente para humanos.

Atualmente há uma epidemia de esporotricose comprovada no estado da Paraíba, onde desde janeiro de 2016 o número de casos vem aumentando, tornando-se um desafio para a saúde pública (COSTA, 2019). Entretanto, pouco se sabe sobre a espécie de *Sporothrix* presente no estado, o que é de grande valia para o planejamento das ações de controle e prevenção, uma vez que a espécie *S. brasiliensis* é tida como a mais virulenta do complexo (RODRIGUES *et al.*, 2014a; RODRIGUES *et al.*, 2014b).

A cultura fúngica é a técnica de escolha para diagnóstico da esporotricose, entretanto, apesar da caracterização fenotípica permitir a diferenciação das principais espécies de *Sporothrix*, o padrão ouro para reconhecer esses agentes patogênicos são técnicas moleculares (MARIMON *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2013). Sendo assim, este trabalho objetivou realizar a identificação molecular das espécies de *Sporothrix* spp. envolvidas em casos de esporotricose felina no estado da Paraíba.

Esta dissertação está organizada em dois capítulos: o primeiro refere-se ao referencial teórico sobre esporotricose e o segundo é o artigo sobre a caracterização dos isolados de gatos suspeitos de esporotricose no estado da Paraíba.

2. REFERÊNCIAS

BARROS, M.B.L.; ALMEIDA-PAES, R.; SCHUBACH, A.O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. Clinical microbiology reviews, [s.l.] v. 24, n. 4, p. 633–654, out, 2011. DOI:10.1128/CMR.00007-11

COSTA, M. C. L. Distribuição espacial da esporotricose felina no município de João Pessoa, Estado da Paraíba, Brasil. Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB: 2019. 32 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

MARCEDO-SALES, P. A. de SOUTO, S. R. LS.; DESTEFANI, C. A. et al. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. BMC Veterinary Research, v.14, n 19, 2018.

MARIMON, R.; CANO, J.; GENÉ, J.; SUTTON, D.A. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. J Clin Microbiol, [s.l.], v. 45, n. 10, p. 3198–3206, jul. 2007. DOI:10.1128/JCM.00808-07

RODRIGUES, A.M.; DELLA TERRA, P.P.; GREMIÃO, I.D.; PEREIRA, S.A.; OROFINO-COSTA, R.; DE CAMARGO, Z.P. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 185, n. 5, p. 813-842, fev. 2020. doi: 10.1007/s11046-020-00425-0.

RODRIGUES, A.M.; DE HOOG, G.S.; DE CASSIA PIRES, D. et al. Gen etic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. BMC Infect Dis, [s.l.] v. 14, n. 219, abr. 2014b. DOI: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/219>

RODRIGUES, A.M.; DE HOOG, G.S.; ZHANG, Y. et al. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. Emerg Microbes Infect, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 1-10, maio. 2014a. DOI: 10.1038/emi.2014.33

RODRIGUES, A.M.; TEIXEIRA, M. de M.; DE HOOG, G.S. et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. PLoS Negl Trop Dis, [s.l.], v. 7, n. 6, :e2281, jun. 2013. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002281

VIEIRA, A.F.S. Investigação epidemiológica da esporotricose na região metropolitana de João Pessoa, Paraíba, Brasil. Areia, PB: 2019. 34 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Vetrinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

3. CAPÍTULO 1.

REFERENCIAL TEÓRICO SOBRE ESPOROTRICOSE

REFERENCIAL TEÓRICO SOBRE ESPOROTRICOSE.

A esporotricose é uma micose endêmica no Brasil, e de grande importância para a saúde pública mundialmente (GREMIÃO *et al.*, 2020; RODRIGUES; HOOG; DE CAMARGO, 2013; ZHANG *et al.*, 2015). Na primeira reunião do grupo de especialistas em antifúngicos da *World Health Organization* (WHO) para identificação de patógenos fúngicos de prioridade, realizada em 2020, os patógenos *Sporothrix* spp. foram mencionados entre os agentes fúngicos a serem incluídos no grupo de *Neglected Tropical Diseases* (NTDs) da WHO, grupo ao qual estão inseridas doenças infecciosas que causam mortalidade e morbidade importantes, em populações pobres de países tropicais e subtropicais (WHO, 2020).

Esta importante micose é causada por agentes do gênero *Sporothrix*, ordem Ophiostomatales, um grande grupo de patógenos associados a plantas e besouros de casca (ROETS *et al.*, 2006; ZHOU *et al.*, 2014). Dentro desse grupo os patógenos do gênero *Sporothrix* ganham destaque por sua ecologia diferenciada, evidenciada por sua virulência aos mamíferos, especialmente a humanos e felinos (MARIMON *et al.*, 2007; ROMEO; SCORDINO; CRISEO, 2011; ZHOU *et al.*, 2014). Sendo as espécies de *Sporothrix* agrupadas no clado patogênico *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei*, além disso, as espécies *S. mexicana*, *S. chilensis* e *S. pallida*, do clado ambiental, apesar de terem potencial patogênico variando de moderado a não-patogênico, foram relatadas recentemente causando infecções acidentais em humanos e animais, e podem impactar na população imunossuprimida (DIAS *et al.*, 2011; MARIMON *et al.*, 2007; MORRISON *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2011b; RODRIGUES *et al.*, 2016).

A frequência, distribuição geográfica, rotas de transmissão, cariótipos, resistência a antifúngicos, mecanismos lesionais e virulência das diferentes espécies de *Sporothrix* variam drasticamente (ARRILLAGA-MONCRIEFF *et al.*, 2009; MARIMON *et al.*, 2008b; SASAKI *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2015). Essas divergências refletem matrizes específicas de espécies de hospedeiros e habitats predominantes, para os quais o material vegetal ou os felinos são as principais fontes de infecção (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2014a). Diante disto, esta interação hospedeiro-ambiente dita as distintas estratégias de saúde pública necessárias para o controle da doença (RODRIGUES *et al.*, 2014a; SASAKI *et al.*, 2014).

Um fenômeno notável da esporotricose, é sua ocorrência em forma de surtos ou casos seriados, quer de origem vegetal (sapronoses), quer de origem animal (zoonoses) (FEENEY *et*

al., 2007; SCHUBACH *et al.*, 2004; SONG *et al.*, 2011). Além disso, na maioria das áreas definidas como endêmicas, ocorre o predomínio de uma única espécie (> 80%). As principais áreas calculadas com suas espécies correspondentes são as seguintes: na Ásia a espécie *S. globosa* (99,3%), Austrália e sul da África a *S. schenckii* (94%), sudeste da América do Sul a *S. brasiliensis* (88%), oeste da América do Sul e América Central e do Norte *S. schenckii* (89%) (ZHANG *et al.*, 2015; ZHOU *et al.*, 2014).

A espécie *S. brasiliensis* compõe uma população de patógenos geneticamente homogênea, com perfil de suscetibilidade *in vitro* semelhante entre os indivíduos, sendo considerada a espécie mais virulenta em felinos e humanos (FERNANDES *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2014a; RODRIGUES *et al.*, 2014b; SILVA-VERGARA *et al.*, 2012). Em um estudo com modelo murino a *S. brasiliensis* foi a única espécie a causar óbito em baixo inóculo, também apresentou maior capacidade de disseminação tecidual e infiltração maciça de células fúngicas nos tecidos estudados, quando comparada a *S. schenckii sensu stricto* e *S. globosa* (ARRILLAGA-MONCRIEFF *et al.*, 2009).

Até recentemente a distribuição geográfica do *S. brasiliensis* era restrita ao Brasil, envolvida com grandes surtos zoonóticos, que incluem principalmente felinos domésticos e humanos (BARROS *et al.*, 2004; MONTENEGRO *et al.*, 2014; RODRIGUES; HOOG; DE CAMARGO, 2013; SCHUBACH *et al.*, 2004), com maiores ocorrências nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Espírito Santo (MONTENEGRO *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2014a). Alguns autores acreditam que a difusão desse agente pode dever-se a migração de animais da região infectada para áreas adjacentes junto com seus tutores (RODRIGUES *et al.*, 2020) ou até mais distantes, uma vez que o agente já foi identificado em estados do nordeste (RODRIGUES *et al.*, 2014a; SILVA *et al.*, 2018), evidenciando que os gatos constituem uma fonte de infecção muito mais difusa (ZHANG *et al.*, 2015).

Entretanto Córdoba *et al.* (2018) analisaram, por métodos moleculares, 24 cepas de *Sporothrix* spp. que, no período de 1984 a 2017, haviam sido depositadas e estavam conservadas na coleção de culturas do Departamento de Micologia do Instituto Nacional de Enfermidades Infecciosas Dr. C. G Malbrán, Buenos Aires, Argentina. As cepas eram provenientes de casos humanos, animais e do ambiente de várias regiões do país. Dessas cepas, 34,7% (8/24) foram classificadas como *S. brasiliensis*. Cabe destacar que, segundo os autores, algumas cepas classificadas como *S. brasiliensis* haviam sido isoladas em 1986 e 1988 de casos humanos nas províncias de Misiones e Buenos Aires, respectivamente. E duas cepas foram isoladas em 2003 a partir do solo em cavernas de tatú na província de Chaco.

Adicionalmente, Caballero *et al.* (2020) diagnosticaram molecularmente a presença de *S. brasiliensis* no Paraguai, em um paciente de nacionalidade brasileira, que residia no país à nove meses. Apesar de não ter identificado a espécie, no Uruguai houve o relato de casos de esporotricose humana em que os pacientes relatam contato com gato trazido de uma zona endêmica do Brasil, o qual apresentava lesões sugestivas de esporotricose há quatro meses (GARCIA DUARTE *et al.*, 2017).

A espécie *S. schenckii sensu stricto* é mundialmente distribuída, sua infecção ocorre principalmente pelo contato com material vegetal em decomposição, como feno, madeira, musgo esfagno e pelo solo, sendo sua infecção considerada uma saproonose, cuja transmissão à humanos ocorre por implantação traumática durante atividades recreativas e ocupacionais agrícolas – jardinagem, agricultura, etc (BARROS, ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011; O'REILLY; ALTMAN, 2006; ZHANG *et al.*, 2015). Além disso, pacientes que vivem em áreas com saneamento básico precário e baixo acesso a serviços de saúde também têm o risco de infecção ampliado (RODRIGUES *et al.*, 2014a). O *S. schenckii sensu stricto* é considerado de alta virulência e diversidade genética (ARRILLAGA-MONCRIEFF *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2014b).

A espécie *S. globosa* apresenta virulência baixa em mamíferos, e ampla distribuição mundial, sendo altamente prevalente entre os casos registrados na Europa e Ásia (ARRILLAGA-MONCRIEFF *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2014a; SONG *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2015). Sua baixa diversidade genética e distribuição global sugerem uma associação com uma fonte ambiental de infecção de ampla disseminação (RODRIGUES *et al.*, 2014b). A identificação de *S. globosa* é relevante especialmente para o manejo terapêutico, pois os antifúngicos polienos e azólicos, comumente usados, apresentam baixa atividade *in vitro* contra esse patógeno (MARIMON *et al.*, 2008b). No continente americano, segundo Madrid *et al.* (2009), o *S. globosa* tem prevalência de 4% entre os isolados de *Sporothrix* no México, 33,3% na Guatemala e 50% na Colômbia. No Brasil, sua ocorrência é rara, e quase sempre não tem envolvimento com hospedeiros felinos (OLIVEIRA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011a).

Sporothrix luriei é relatada como altamente virulenta, porém sua ocorrência é rara (FERNANDÉZ-SILVA *et al.*, 2012; FERNANDES *et al.*, 2013; MARIMON *et al.*, 2008a). Há casos relatados de infecção humana na África do Sul, Itália, Índia e uma infecção canina no Brasil, que adicionalmente exibiu resistência ao Itraconazol (AJELLO; KAPLAN, 1969; ALBERICI *et al.*, 1989; OLIVEIRA *et al.*, 2011a; PADHYE *et al.*, 1992).

A apresentação clínica da esporotricose felina tem um amplo espectro, com lesões variando de pequenas pápulas à extensas áreas de necrose (SCHUBACH *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2018). As lesões são predominantes na pele, tecido subcutâneo e mucosas do trato respiratório superior, e com frequência observa-se lesões cutâneas múltiplas, induzidas por autotrauma, higiene ou disseminação hematológica (PEREIRA *et al.*, 2014; SCHUBACH *et al.*, 2004). Sinais clínicos extracutâneos são frequentes, especialmente em animais com múltiplas lesões, onde sinais respiratórios, como espirros, dispneia e descarga nasal são as alterações extracutâneas mais comuns. Por vezes, sinais respiratórios como o espirro, precedem o acometimento cutâneo, o que pode estar ligado à infecção por inalação e posterior disseminação cutânea por contato com a descarga nasal (LEME *et al.*, 2007; SCHUBACH *et al.*, 2004).

Segundo Pereira *et al.* (2009) a cura clínica de felinos com esporotricose é inversamente associada à presença de sinais respiratórios, enquanto o óbito é diretamente associado. Quanto a distribuição das lesões, diversos estudos apontam a cabeça, com destaque para o nariz e orelhas, e membros, como mais atingidos (SCHUBACH *et al.*, 2003; SCHUBACH *et al.*, 2004; MACIEL, 2020).

O tratamento da esporotricose felina é desafiador por diversos aspectos, como duração prolongada, risco de transmissão da doença durante administração oral dos fármacos, alto custo das medicações, ocorrência de recidivas e efeitos adversos (GREMIÃO *et al.*, 2014; SCHUBACH *et al.*, 2004). A cura clínica espontânea é relatada em felinos, entretanto é rara (SCHUBACH *et al.*, 2004). As opções atualmente disponíveis para tratar esta doença incluem administração de Iodetos (Iodo de Potássio, Iodo de Sódio), Azólicos (Itraconazol, Cetoconazol, Posaconazol), Anfotericina B, Terbinafina, termoterapia, remoção cirúrgica e criocirurgia (PEREIRA *et al.*, 2009; FICHMAN *et al.*, 2018). O Iodeto de potássio e o Itraconazol são as terapias adotadas com maior frequência, sendo o Itraconazol a medicação de escolha para humanos e felinos (SCHUBACH *et al.*, 2004; KAUFFMAN *et al.*, 2007).

A duração do tratamento varia de algumas semanas a vários meses, sendo recomendado manter por, pelo menos, oito semanas após a cura clínica. A duração do tratamento com itraconazol tem variado de 16 a 80 semanas com mediana de 28 a 36 semanas (SCHUBACH *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2010), cuja eficácia do tratamento em gatos variou de 38,3% (PEREIRA *et al.*, 2010) a 77% (SILVA, 2016). Segundo Pereira *et al.* (2010) a mediana do tratamento com cetoconazol pode chegar a 28 semanas com uma eficácia de 28,6%, sendo que o cetoconazol pode causar mais efeitos colaterais que o itraconazol. Esses autores utilizaram itraconazol na dose de 20 mg/kg/dia para gatos até 3kg e 100 mg/dia para

gatos acima de 3kg. Para cetoconazol utilizaram doses de 14 a 27 mg/kg a cada 12 ou 24 horas.

O iodeto de potássio em cápsulas na dose de 2,5 a 20 mg/kg/dia (mediana 15 mg/kg/dia) foi efetivo em 47,9% dos gatos submetidos a esse protocolo. O tratamento deve continuar por 4 a 8 semanas após a cura clínica das lesões (REIS *et al.*, 2012). Já Schubach *et al.* (2004) relataram cura clínica de 26 gatos (38,2%) com a utilização de iodeto de sódio (10mg/kg a cada 12 horas). Com este protocolo, 51,1% apresentaram efeitos clínicos adversos. Neste caso, suspende-se o tratamento por uma semana e retorna-se com a dose mais baixa, ajustando a dose até o máximo sem ocorrência de iodismo (REIS *et al.*, 2012).

Em casos refratários ao tratamento com uma única droga, a associação de itraconazol e iodeto de potássio têm aumentado a eficácia. Reis *et al.*, (2016) observaram cura clínica em 96,15% (25/30) dos gatos tratados com esta associação com doses medianas de 26,3 mg/kg/dia de itraconazol e 3,1 mg/kg/dia de iodeto de potássio, com duração mediana de 14 semanas (variando de oito a 30 semanas), sendo a dose e a duração do tratamento maiores em casos com envolvimento das mucosas. Cabe destacar ainda que metade dos gatos tratados com este protocolo apresentou algum tipo de efeito adverso.

Diante da variedade de espécies de *Sporothrix* de interesse médico, e suas diferenças na distribuição geográfica, predileção do hospedeiro, virulência e suscetibilidades antifúngica tornou-se essencial a identificação do *Sporothrix* em nível de espécie (ARRILLAGA-MONCRIEFF *et al.*, 2009; MARIMON *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2015). A cultura fúngica é a técnica de escolha para diagnóstico da esporotricose, por isolar e permitir a identificação do agente etiológico (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011). Porém, apesar da caracterização fenotípica permitir a diferenciação das principais espécies de *Sporothrix* (MARIMON *et al.*, 2007), resultados discordantes podem ocorrer (MACEDO-SALES *et al.*, 2018a), por isso o padrão-ouro para reconhecer esses agentes patogênicos são técnicas moleculares que visam reconhecer o marcador espaçador ribossomal transcrito interno, ou loci codificadores das proteínas calmodulina, beta-tubulina e fator de alongamento de tradução (DE MEYER *et al.*, 2008; MARIMON *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2014). Adicionalmente, para obtenção de um diagnóstico preliminar, a nível de gênero, as técnicas de citologia e histopatologia são muito úteis, com sensibilidades de 84,9% e 94%, respectivamente (MIRANDA *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2015). Além disso, técnicas sorológicas também são importantes ferramentas de triagem para detecção de anticorpos específicos de *Sporothrix* spp. em felinos e humanos (ALVARADO *et al.*, 2015; BERNARDES-ENGEMAN *et al.*, 2014; FERNANDES *et al.*, 2011).

A transmissão zoonótica da esporotricose através dos gatos e a magnitude da endemia diferenciam o Brasil de outros surtos em todo o mundo (BARROS *et al.*, 2004; BARROS *et al.*, 2008; GREMIÃO *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2014). Dados filogenéticos sustentam que *S. brasiliensis* passou recentemente por uma mudança de habitat, de plantas para felinos, no sudeste do Brasil, o que foi responsável por seu surgimento e emergência no país (RODRIGUES *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2014a), onde, só no Rio de Janeiro, 91% dos casos de esporotricose humana estavam associados ao ato de cuidar de animais doentes (FREITAS *et al.*, 2010), uma vez que o *S. brasiliensis* apresenta alta prevalência em gatos com esporotricose, representando 96,9% dos isolados. Além disso, o genótipo dos *Sporothrix* isolados de gatos foi idêntico ao *S. brasiliensis* de fontes humanas, confirmando que a doença é transmitida por gatos (RODRIGUES *et al.*, 2013), evidenciando que a esporotricose mudou de uma infecção endêmica para um problema de saúde zoonótico epidêmico (GREMIÃO *et al.*, 2020).

Diversas peculiaridades dos felinos facilitam a infecção e dispersão do fungo, como: adaptabilidade da espécie *S. brasiliensis* às condições do corpo felino, hábitos como enterrar suas fezes, brigas e brincadeiras constantes, criação semi-domiciliada e a íntima convivência desses animais com os seres humanos (CRISEO; ROMEO, 2010; MADRID *et al.*, 2011; VIEIRA, 2019). A temperatura corporal (faixa normal de 37,7 – 39,1 °C) e pH da saliva (7,5 – 8,0) podem ter sido importantes eventos que facilitaram a adaptabilidade entre os felinos e a espécie *S. brasiliensis*, pois esta espécie apresenta a melhor taxa de crescimento vegetativo quando incubado a 37 °C (RODRIGUES *et al.*, 2013). E em condições experimentais de matéria orgânica em decomposição, o pH fica em cerca de 8,0, assemelhando-se ao encontrado na saliva dos felinos, o que facilita a produção da fase de levedura do *S. brasiliensis*, considerada a mais patogênica (ZHANG *et al.*, 2015). Casos de infecção por outras espécies de *Sporothrix* em gatos também ocorrem, mas com uma frequência muito menor (OLIVEIRA *et al.*, 2011a; KANO *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2015).

O isolamento dos fungos de unhas, cavidades oral e nasal, e lesões de pele de felinos domésticos, indicam que a transmissão ocorre por meio de arranhadura, mordida e contato direto com as secreções cutâneas (LOPEZ-BEZERRA *et al.*, 2006; SCHUBACH *et al.*, 2003; SCHUBACH *et al.*, 2004). Devendo-se considerar ainda que o *S. brasiliensis* foi isolado das unhas, cavidades nasal e oral de gatos saudáveis e, em 54% das cavidades orais dos gatos com esporotricose, bem como da cavidade nasal e unhas (MACEDO-SALES *et al.*, 2018b). Para esses autores, os gatos com diagnóstico clínico e/ou micológico confirmado são aqueles com maior chance de atuarem como fonte de infecção e transmissão, uma vez que carregam o

Sporothrix spp. em lesões cutâneas, unhas e mucosa oral. Além disso, o *S. brasiliensis* também foi isolado de fezes coletadas do intestino delgado de gatos necropsiados e também de bolo de fezes coletadas em caixa de areia, evidenciando que gatos infectados podem contaminar o solo, criando um ambiente reservatório favorável para o agente e fonte de contaminação para humanos ou outros animais (MONTENEGRO *et al.*, 2014).

Foi demonstrado por Rodrigues *et al.* (2013) uma correlação entre os surtos de esporotricose em gatos e a prevalência de *S. brasiliensis* entre humanos da mesma área geográfica, o que demonstra que as epizootias de esporotricose felinas são um sério problema de saúde pública, pois agem como fator perpetuante da infecção da população humana no Brasil. No mesmo sentido, Macedo-Sales *et al.* (2018b), sugeriram que a esporotricose é uma epidemia uniforme em todo o estado do Rio de Janeiro, cuja transmissão depende, principalmente do contato com gatos infectados, já que o aumento no número de casos em gatos é geralmente seguido por um aumento no número de casos humanos, o que representa um sério problema de saúde pública.

Deve-se considerar que as áreas endêmicas de esporotricose no Brasil são caracterizadas por condições socioeconômicas precárias, distantes dos centros urbanos e com pouco acesso a serviços de saúde (BARROS *et al.*, 2010; GREMIÃO *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2013).

Medidas de controle e prevenção para a esporotricose têm padrões variados, em diferentes regiões do mundo. De forma geral, elas enfocam a interrupção da transmissão por contato com material orgânico em decomposição contaminado ou com animais infectados (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011). Na Austrália, onde se confirmou a ligação entre contato com feno e o aumento de casos de esporotricose, a adoção do uso de luvas e camisas de mangas compridas durante o manuseio desse material diminuiu acentuadamente o número de casos da doença (FEENEY *et al.*, 2007). No Uruguai, e mais recentemente no Brasil, onde a transmissão zoonótica por tatús tem sido relacionada à casos de esporotricose, a interrupção da caça desses animais é tida como uma medida de prevenção e controle da doença (ALVES *et al.*, 2010; CONTI-DIAS, 1989; RODRIGUES *et al.*, 2014c; WENKER *et al.*, 1998).

No Brasil as estratégias de controle e prevenção estão focadas à contenção da esporotricose felina, e visam evitar a transmissão dentro da espécie e de animais para humanos (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011). Entre as medidas indicadas estão: evitar a exposição direta ao fungo usando equipamentos de proteção individual ao se manipular animais doentes; tratar adequadamente e isolar animais doentes; castrar os felinos,

a fim de inibir os comportamentos de caça, acasalamento e perambulação do animal; não abandonar animais ou cadáveres infectados; cremar animais mortos, uma vez que esse patógeno não morre com o hospedeiro, mas perpetua-se no solo adjacente quando enterrado; e realizar a limpeza do ambiente onde os animais estão instalados (BARROS *et al.*, 2010; BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011). Para Gremião *et al.* (2020) uma abordagem de saúde única com ações coordenadas entre veterinários, profissionais de laboratório e autoridades de vigilância, são necessárias para um controle bem-sucedido da esporotricose zoonótica no Brasil.

Na região Nordeste do Brasil, os dados publicados sobre a esporotricose humana e felina ainda são escassos (RAMOS *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2020). Em Alagoas, em 2014, foi publicado um relato da primeira ocorrência da doença em felino e humano, sem identificação da espécie de *Sporothrix* (MARQUES-MELO *et al.*, 2014). No Pernambuco, Silva *et al.* (2018) relataram um surto de esporotricose felina na região metropolitana de Recife, acometendo 27 gatos no período de 2014 a 2016, cujo diagnóstico foi confirmado por citologia e/ou cultura. No Rio Grande do Norte há relatos de casos em gatos e humanos, conforme matéria publicada no G1RN, (2020). Em um levantamento das internações hospitalares por esporotricose, Falcão *et al.* (2019) relatam a ocorrência de 782 internações por esporotricose em todos os estados do país, exceto Roraima, com pequeno número de casos no Nordeste.

O primeiro relato da ocorrência de esporotricose felina da Paraíba foi feito por Nunes *et al* (2011) em um gato do município de Itaporanga, cujo diagnóstico foi feito por citologia e histologia. Entretanto, em 2016, vários veterinários começaram a relatar a ocorrência de leões cutâneo-difusas em gatos no município de João Pessoa e, em abril de 2016, o médico veterinário patologista Jackson Suélio Vasconcelos confirmou o diagnóstico por meio de testes citológicos e histopatológicos (comunicação pessoal). Em um estudo em parceria com o Centro de Controle de Zoonoses de João Pessoa, Costa (2019) identificou a presença de esporotricose em gatos provenientes de 86% (56/65) dos bairros da capital paraibana, confirmando a existência de uma epidemia na região. Entretanto, os estudos basearam-se apenas em pesquisa direta ou cultura do microrganismo com identificação apenas do gênero.

A escassez de conhecimento sobre a esporotricose no estado da Paraíba, principalmente relacionado à epidemia de esporotricose felina, dificulta a determinação dos fatores de risco, medidas de controle e prevenção para a doença na região, diante disto, este trabalho objetivou realizar a identificação molecular das espécies de *Sporothrix* spp. envolvidas em casos de esporotricose felina, e dessa maneira ampliar o entendimento da

epidemia existente, bem como inferir sobre o risco da população humana ante essa zoonose, e fornecer dados que auxiliem o desenvolvimento de medidas profiláticas e esquemas terapêuticos adequadas para felinos na região.

REFERÊNCIAS

- AJELLO, L.; KAPLAN, W. A new variant of *Sporothrix schenckii*. **Mycoses**, [s.l.], v. 12, n. 11, p. 633–644, 1969.
- ALBERICI, F.; PATIES, C.T.; LOMBARDI, G.; AJELLO, L.; KAUFMAN, L.; CHANDLER, L. *Sporothrix schenckii* var. *luriei* as the cause of sporotrichosis in Italy. **European Journal of Epidemiology**, [S.L.], v. 5, n. 2, p.173–177, jun. 1989.
- ALVARADO, P.; OSTOS, A.; FRANQUIZ, N.; ROSCHMAN-GONZÁLEZ, A.; ZAMBRANO, E.A.; MENDONZA, M. Diagnóstico serológico de la esporotricosis mediante el empleo del antígeno de micelio de *Sporothrix schenckii* sensu stricto. **Invest. Clín.**, [s.l.], v.56, n. 2, jun. 2015.
- ALVES, S.H.; BOETTCHER, S.C.; OLIVEIRA, D.C.; TRONCO-ALVES, G.R.; SGARIA, M.A.; THADEU, P. *et al.* *Sporothrix schenckii* associated with armadillo hunting in Southern Brazil: epidemiological and antifungal susceptibility profiles. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 43, n. 5, p. 523-525, set-out. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000500010>
- ARRILLAGA-MONCRIEFF, I.; CAPILLA, J.; MAYAYO, E.; MARIMON, R.; MARINÉ, M.; GENÉ, J. *et al.* Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. **Clin Microbiol Infect**, [s.l.], v. 15, p. 651–655, jul. 2009. DOI:10.1111/j.1469-0691.2009.02824.x
- BARROS, M.B.L.; ALMEIDA-PAES, R.; SCHUBACH, A.O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical microbiology reviews**, [s.l.] v. 24, n. 4, p. 633–654, out, 2011. DOI:10.1128/CMR.00007-11
- BARROS, M.B.L.; SCHUBACH, T.P.; COLL, J.O.; GREMIÃO, I.D.; WANKE, B.; SCHUBACH, A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Rev Panam Salud Publica**, [s.l.], v. 27, n. 6, jan. 2010.
- BARROS, M.B.L.; SCHUBACH, A.; SCHUBACH, T.M.P.; WANKE, B.; LAMBERT-PASSOS, S.R. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. **Epidemiol Infect**, [s.l.] v. 136, n. 9, p. 1192–1196, set. 2008. DOI: 10.1017/S0950268807009727.
- BARROS, M.L.B.; SCHUBACH, A.O.; FRANCESCONI-DO-VALLE, A.C.; GUTIERREZ-GUARDALHO, M.C.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, T.M.P. *et al.* Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. **Clin Infect Dis**, [s.l.], v. 38, n. 4, p.529 – 535, jan. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1086/381200>
- BERNARDES-ENGERMANN, A.R.; DE LIMA BARROS, M.; ZEITUNE, T.; RUSSI, D.C.; OROFINO-COSTA, R.; LOPES-BEZERRA, L.M. Validation of a serodiagnostic test for sporotrichosis: a follow-up study of patients related to the Rio de Janeiro zoonotic outbreak. **Medical Mycology**, [s.l.], v. 0, n. 0, p. 28-33, ago. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myu058>

CABALLERO, A.A.; NEGRETE, J.G.A.; BRUNELLI, J.P. Valor de las técnicas moleculares y de los factores de riesgo en el diagnóstico y evolución de la esporotricosis. A propósito de 2 casos por *Sporothrix brasiliensis* y *S. globosa*. **An. Fac. Cienc. Méd.** [Asunción] v. 53, n. 3, set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.18004/anales/2020.053.03.177>

CONTI-DIAS, I.A. Epidemiology of sporotrichosis in Latin America. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 108, p. 113-116, 1989.

CÓRDOBA, S.; ISLA, G.; SZUSZ, W.; VIVOT, W.; HEVIA, A.; DAVEL, G.; CANTEROS, C.E. Molecular identification and susceptibility profile of *Sporothrix schenckii* sensu lato isolated in Argentina. **Micoses**, [s.l.], v.61, n.7, p. 441-448, fev. 2018. DOI: 10.1111/myc.12760.

COSTA, M. C. L. Distribuição espacial da esporotricose felina no município de João Pessoa, Estado da Paraíba, Brasil. Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB: 2019. 32 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

CRISEO, G.; ROMEO, O. Ribosomal DNA sequencing and phylogenetic analysis of environmental *Sporothrix schenckii* strains: comparison with clinical isolates. **Mycopathologia**, [s.l.] v. 169, p. 351–358, fev. 2010. DOI: 10.1007/s11046-010-9274-9

DE MEYER, E.L.; BEER, Z.W.; SUMMERBELL, R.C.; MOHARRAN, A.M.; HOOG, G.S.; VISMER, H.F. *et al.* Taxonomy and phylogeny of new wood- and soil-inhabiting *Sporothrix* species in the *Ophiostoma stenoceras*-*Sporothrix schenckii* complex. **Mycologia**, [s.l.], v. 100, n. 4, p. 647–661, abri. 2008. DOI: 10.3852/07-157R.

DIAS, N.M.; OLIVEIRA, M.M.; SANTOS, C.; PORTELA, M.A.; SANTOS, C.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. Sporotrichosis caused by *Sporothrix mexicana*, Portugal. **Emerg Infect Dis**, [s.l.], v. 17, p. 1975 – 1976, out. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1710.110737>

FALCÃO, E.M.M.; LIMA FILHO, J.B.; CAMPOS, D.P.; VALLE, A.C.F.; BASTOS, F.I.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C. *et al.* Hospitalizações e óbitos relacionados à esporotricose no Brasil (1992-2015). **Cad. Saúde Pública**, [s.l.], v. 35, n. 4, e00109218, 2019. DOI: 10.1590/0102-311X00109218

FEENEY, K.T.; ARTHUR, I.H.; WHITTLE, A.J.; ALTMAN, S.A.; SPEERS, D.J. Outbreak of Sporotrichosis, Western Australia. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 13, n. 8, p. 1228-1231, ago. 2007. DOI: 10.3201/eid1308.061462

FERNANDES, G.F.; DOS SANTOS, P.O.; RODRIGUES, A.M.; SASAKI, A.A.; BURGER, E.; DE CAMARGO, Z.P. Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different *Sporothrix schenckii* sensu stricto isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis* species. **Virulence**, [s.l.], v. 4, n. 3, p. 241–249, jan. 2013. DOI: 10.4161/viru.23112

FERNANDES, G.F.; LOPES-BEZERRA, L.M.; BERNARDES-ENGERMANN, A.R.; SCHUBACH, T.M.P.; DIAS, M.A.G.; PEREIRA, S.A. Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and

crude exoantigens. **Veterinary Microbiology**, [s.l.], v. 147, n. 3-4, p. 445–449, jan. 2011. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.07.007

FERNÁNDEZ-SILVA, F.; CAPILLA, J.; MAYAYO, E.; GUARRO, J.; Virulence of *Sporothrix luriei* in a Murine Model of Disseminated Infection. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 173, n. 4, p. 245–249, abr. 2012. DOI: 10.1007/s11046-011-9506-7

FREITAS, D.F.S.; DO VALLE, A.C.F; ALMEIDA-PAES, R.; BASTOS, F.I.; GALHARDO, M.C.G. Zoonotic Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: A Protracted Epidemic yet to Be Curbed. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 50, n. 3, p.452–3, fev. 2010. DOI: 10.1086/649890

G1RN. Estudo aponta 1 morte e 131 infectados por esporotricose no RN; pesquisadores alertam para crescimento da doença. **G1 Rio Grande do Norte**, 2020. Disponível em: <<https://g1.globo.com/rn/rio-grande-do-norte/noticia/2020/01/24/estudo-aponta-1-morte-e-131-infectados-por-esporotricose-no-rn-pesquisadores-alertam-para-crescimento-da-doenca.ghml>>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2021.

GARCIA DUARTE, J.M.; ACOSTA, V.R.W.; FORNERÓN VIEIRA, P.M.L.; CABALLERO, A.A.; MATIAUDA, G.A.G.; DE ODDONE, V.B.R.; BRUNELLI, J.G.P. Esporotricosis transmitida por gato doméstico. Reporte de un caso familiar. **Rev. Nac. (Itaiguá)**, Itaiguá, v. 9, n. 2, p. 67-76, Dez. 2017. DOI: 10.18004/rdn2017.0009.02.086-095

GREMIÃO, I.D.F.; OLIVEIRA, M.M.E.; MIRANDA, L.H.H.; FREITAS, D.F.S.; PEREIRA, S.A. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerg infect Dis.** [S.L.], v. 26, n. 3, p. 621-624, mar. 2020. DOI: 10.3201 / eid2603.190803.

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 Pathog**, [s.l.], v. 13, n. 1, e1006077, Jan. 2017. Doi:10.1371/ornal.ppat.1006077

GREMIÃO, I.D.; MENEZES, R.C.; SCHUBACH, T.M.; FIGUEIREDO, A.B.; CAVALCANTI, M.C.; PEREIRA, S.A.; Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. **Med Mycol**, [s.l.] v. 53, n. 1, p. 15–21, ago. 2014. DOI: 10.1093/mmy/myu061

KANO, R.; OKUBO, N.; SIEW, H.H.; KAMATA, H.; HASEGAWA, A. Molecular typing of *Sporothrix schenckii* isolates from cats in Malaysia. **Mycoses**,[s.l.], v. 58, n. 4, p. 220-224, fev. 2015. DOI: 10.1111/myc.12302

KAUFFMAN, C.A.; BUSTAMANTE, B.; CHAPMAN, S.W.; PAPPAS, P.G. Clinical Practice Guidelines for the Management of Sporotrichosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. **IDSA Guidelines**, [s.l.], v. 45, n. 10, p. 1255-1265, nov. 2007. DOI: 10.1086/522765

LEME, L.R.P.; SCHUBACH, T.M.P.; SANTOS, I.B.; FIGUEIREDO, F.B.; PEREIRA, S.A.; REIS, R.S. *et al.* Mycological evaluation of bronchoalveolar lavage in cats with respiratory signs from Rio de Janeiro, Brazil. **Mycoses**, [s.l.], v. 50, n. 3, p. 510-514, jan. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01358.x>

LOPEZ-BEZERRA, L.M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R.O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 78, n. 2, p. 293-308, out. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0001-37652006000200009>

MARCEDO-SALES, P. A. de SOUTO, S. L. da S. DESTEFANI, C. A. et al. Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina em amostras coletadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil: limitações da citopatologia por imprint. **Rev Pan-Amaz Saude**, [s.l.] v.9, n2, p.13-19, 2018a. DOI: <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232018000200002>.

MACÊDO-SALES, P.A.; SOUTO, S.R.L.S.; DESTEFANI, C.A. et al. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. **BMC Vet Res**, [s.l.], v. 14, n. 19, 2018b. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1340-4>

MACIEL, M.A.S. Esporotricose: relato de casos atendidos no hospital veterinário da UFPB. Areia, PB: 2020. 40 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

MADRID, I.M.; MATTEI, A.S.; FERNANDES, C.G.; NOBRE, N.O.; MEIRÉLES, M.C.A. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: A description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. **Mycopathologia**, [S.L.], v. 173, n. 4, p. 265–273, dez. 2011. DOI 10.1007/s11046-011-9509-4

MADRID, H.; CANO, J.; GENÉ, J.; BONIFAZ, A.; TORIELLO, C. GUARRO, J. *Sporothrix globosa*, apathogenic fungus with widespread geographical distribution. **Ver Iberoam Micol**, [s.l.], v. 26, n. 3, p. 218–222, jul. 2009. DOI:10.1016/j.riam.2009.02.005

MARIMON, R.; CANO, J.; GENÉ, J.; SUTTON, D.A.; KAWASAKI, M.; GUARRO, J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **J Clin Microbiol**, [s.l.], v. 45, n. 10, p. 3198–3206, jul. 2007. DOI:10.1128/JCM.00808-07

MARIMON, R.; GENÉ, J.; CANO, J.; GUARRO, J. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. **Medical Mycology**, [s.l.], v. 46, 621-625, set. 2008a. DOI: 10.1080/13693780801992837

MARIMON, R.; SERENA, C.; GENÉ, J.; CANO, J.; GUARRO, J. In vitro antifungal susceptibilities of five species of *Sporothrix*. **Antimicrob Agents Chemother**. [s.l.], v. 52, n. 2, p. 732–734., fev. 2008b. DOI:10.1128/AAC.01012-07

MARQUES-MELO, E.H.; LESSA, D.F.S.; NUNES, A.C.B.T.; CHAVES, K.P.; PORTO, W.J.N.; NOTOMI, M.K.; et al. Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato do primeiro caso no estado de Alagoas. **Revista Baiana de Saúde Pública**, [s.l.], v. 38, n. 2, p. 490-498, jun. 2014. DOI: 10.5327/Z0100-0233-2014380200018

MIRANDA, L.H.M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; QUINTELLA, L.P.; KURAIEM, B.BP.; PEREIRA, S.A.P.; SCHUBACH, T.M.P. Feline sporotrichosis: Histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. **Microbiology and Infectious Diseases**, [s.l.], v. 36, n. 4, p. 425– 432, jul. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2013.03.005>

MONTENEGRO, H.; RODRIGUES, A.M.; DIAS, M.A.G.; SILVA, E.A.; BERNARDI, F.; CARMARGO, Z.P. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC Veterinary Research**, [s.l.], v. 10, n. 269, nov. 2014. DOI:10.1186/s12917-014-0269-5

MORRISON, A.S.; LOCKHART, S.R.; BROMLEY, J.G. KIM, J.Y.; BURD, E.M. An environmental *Sporothrix* as a cause of corneal ulcer. **Medical Mycology Case Reports**, [s.l.] v. 2, p. 88-90, mar. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mmcr.2013.03.002>

NUNES, G.D.L.; CARNEIRO, R.S.; FILGUEIRA, K.D.; FILGUEIRA, F.G.F.; FERNANDES, T.H.T. Esporotricose felina no município de Itaporanga, estado da Paraíba, Brasil: relato de um caso. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 14, n. 2, 2011.

O'REILLY, L.C.; ALTMAN, S.A. Macrorestriction Analysis of Clinical and Environmental Isolates of *Sporothrix schenckii*. **Journal of clinical microbiology**, [s.l.], v. 44, n. 9, p. 2547–2552, jul. 2006. DOI: 10.1128/JCM.00078-06

OLIVEIRA, D.C.; LOPES, P.G.M.; SPADER, T.B.; MAHL, C.D.; TRONCO-ALVES, G.R.; LARA, V.M. *et al.* Antifungal Susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* Complex Identified in Brazil. **Journal of clinical microbiology**, [s.l.], v. 49, n. 8, p. 3047–3049, ago, 2011b. doi:10.1128/JCM.00255-11

OLIVEIRA, M.M.; ALMEIDA-PAES, R.; MUNIZ, M.M.; GUTIERREZ-GUARDALHO, M.C.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an epidemic area of sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 172, p. 257 – 267, jun. 2011a. DOI: 10.1007/s11046-011-9437-3

OLIVEIRA, M.M.E.; ALMEIDA-PAES, R.; MUNIZ, M.M.; BARROS, M.B.L.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio de Janeiro, Brazil: case report. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 169, p. 359–63, fev. 2010. DOI: 10.1007/s11046-010-9276-7

PADHYE, A.A.; KAUFMAN, L.; DURRY, E.; BANERJEE, C.K.; JINDAL, S.K.; TALWAR, P. *et al.* Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix schenckii* var. *luriei* in India. **Journal of Clinical Microbiology**, [s.l.] v. 30, n. 9, p. 2492–2494, set. 1992.

PEREIRA, S.A. GREMIÃO, I.D.F.; KITADA, A.A.B.; BOECHAT, J.S.; VIANA, P.G.; SCHUBACH, T.M.P. The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 47, n. 3, p. 392–393, jun. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0092-2013>

PEREIRA, S.A.; PASSOS, S.R.L.; SILVA, J.N.; GREMIÃO, I.D.F.; FIGUEIREDO, F.B.; TEIXEIRA, J.L.; MONTEIRO, P.C.F.; SCHUBACH, T.M.P. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. **Veterinary Record**, n.166, 2010, p. 290-294. doi: 10.1136/vr.b4752

PEREIRA, S.A.; SCHUBACH, T.M.P.; GREMIÃO, I.D.F.; SILVA, D.T.; FIGUEIREDO, F.B.; ASSIS, N.V. *et al.* Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. **Acta Scientiae**

Veterinariae, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 331-341, mar. 2009. DOI: <https://doi.org/10.22456/1679-9216.16781>

RAMOS, A.C.M.O.; CARDOSO, I.R.S.; FILGUEIRA, K.D.; PAULA, V.V.; REIS-LIMA, R.K. Esporotricose canina com potencial zoonótico no estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, [s.l.], v. 13, n. 3, p. 52-52, jan. 2016.

REIS, E.G.; SCHUBACH, T.M.P.; PEREIRA, S.A.; SILVA, J.N.; CARVALHO, B.W.; QUINTANA, M.S.B.; GREMIÃO, I.D.F. Associação de itraconazol e iodeto de potássio no tratamento de esporotricose felina: um estudo prospectivo. **Mycologia Médica**, [s.l.], v. 54, n. 7, p. 684-690, mai. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myw027>

REIS, E.G.; GREMIÃO, I.D.F.; KITADA, A.A.D.; ROCHA, R.R.D.B.; CASTRO, V.S.P.; BARROS, M.B.L.; MENESES, R.C.; PEREIRA, S.A.; SCHUBACH, T.M.P. Potassium iodide capsule treatment of feline sporotrichosis. **J Feline Med Surg**, [s.l.], 14, n. 6, 399–404, mar, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1177/1098612x12441317>.

RODRIGUES, A.M.; DELLA TERRA, P.P.; GREMIÃO, I.D.; PEREIRA, S.A.; OROFINO-COSTA, R.; DE CAMARGO, Z.P. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 185, n. 5, p. 813-842, fev. 2020. doi: 10.1007/s11046-020-00425-0.

RODRIGUES, A.M.; CHOAPPA, R.C.; FERNANDES, G.S.; SYBREN DE HOOG, G.; DE CAMARGO, G.P. *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. 2016. **Fungal Biology**, [s.l.] v. I20, p. 246-264. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2015.05.006>

RODRIGUES, A.M.; BAGAGLI, E.; CAMARGO, Z.P.; BOSCO, S.M.G. *Sporothrix schenckii* sensu stricto Isolated from Soil in an Armadillo's Burrow. **Mycopathologia**, [S.L.], p. 199-206, fev. 2014c. DOI 10.1007/s11046-014-9734-8

RODRIGUES, A.M.; DE HOOG, G.S.; DE CASSIA PIRES, D.; BRIHANTE, R.S.N.; DA COSTA SIDRIM, J.J.; GADELHA, M.F. et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. **BMC Infect Dis**, [s.l.] v. 14, n. 219, abr. 2014b. DOI: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/219>

RODRIGUES, A.M.; DE HOOG, G.S.; ZHANG, Y.; CAMARGO, Z.P. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. **Emerg Microbes Infect**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 1-10, maio. 2014a. DOI: 10.1038/emi.2014.33

RODRIGUES, A.M.; TEIXEIRA, M. de M.; DE HOOG, G.S.; SCHUBACH, T.M.P.; PEREIRA, S.A.; FERNANDES, G.F. et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. **PLoS Negl Trop Dis**, [s.l.], v. 7, n. 6, :e2281, jun. 2013. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002281

RODRIGUES, A.M.; DE HOOG, S.; DE CAMARGO, Z.P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Med Mycol**. [s.l.] v. 51, n. 4, p. 405–12. 2013 doi: 10.3109/13693786.2012.719648

ROETS, F.; DE BEER, Z.W.; DREYER, L.L.; ZIPFEL, R. CROUS, P.W. WINGFIELD, M.J. Multi-gene phylogeny for *Ophiostoma* spp. reveals two new species from Protea infructescences. **Stud Mycol**, [s.l.], v. 55, p. 199–212. 2006. DOI:10.3114/sim.55.1.199

ROMEO, O.; SCORDINO, F.; CRISEO, G. New insight into molecular phylogeny and epidemiology of *Sporothrix schenckii* species complex based on calmodulin-encoding gene analysis of Italian isolates. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 172, p. 179–186, abr. 2011 DOI:10.1007/s11046-011-9420-z

SASAKI, A.A.; FERNANDES, G.F.; RODRIGUES, A.M.; LIMA, F.M.; MARINI, M.M.; DOS S. FEITOSA, L. *et al.* Chromosomal polymorphism in the *Sporothrix schenckii* complex. **PLoS One**, [s.l.] v. 9, n. 1, :e86819, jan. 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0086819

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.B.L.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T. *et al.* Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **JAVMA**, [s.l.], v. 224, n. 10, p. 1623-1629, mai. 2004. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.1623>

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.; OKOMOTO, T.; PELLON, I.V.; FIALHO-MOTEIRO, P.C.; REIS, R.S. *et al.* Haematogenous spread of *Sporothrix schenckii* in cats with naturally acquired sporotrichosis. **Journal of Small Animal Practice**, [s.l.] v. 44, n. 9, p. 395–398, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2003.tb00174.x>

SILVA, N.S. 2016. **Avaliação da sensibilidade de métodos diagnósticos e da carga fúngica durante o tratamento com itraconazol na esporotricose felina**. Porto Alegre – RS, 109f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SILVA, G.M.; HOWES, J.C.F.; LEAL, C.A.S.; MESQUITA, E.P.; PEDROSA, C.M.; OLIVEIRA, A.A.F. *et al.* Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. **Pesq. Vet. Bras**, [s.l.], v. 38, n. 9, p. 1767-1771, set. 2018. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5027

SILVA, J.N.; PASSOS, S.R.L.; MENZES, R.C.; GREMIÃO, I.D.F.; SCHUBACH, T.M.P.; OLIVEIRA, J.C. *et al.* Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. **Medical Mycology**, [s.l.], v. 0, n. 0, p. 1–5, jun. 2015. DOI: doi: 10.1093/mmy/myv038

SILVA-VERGARA, M.L.; DE CAMARGO, Z.P.; SILVA, P.F.; ABDALLA, M.R.; SGARBIERI, R.N.; RODRIGUES, A.M. *et al.* Disseminated *Sporothrix brasiliensis* infection with endocardial and ocular involvement in an HIV-infected patient. **Am J Trop Med Hyg**, [s.l.], v. 86 n. 3, p. 477–480, mar. 2012. doi: 10.4269/ajtmh.2012.11-0441

SONG, Y.; LI, S.S.; ZHONG, S.X.; LIU, Y.Y.; YAO, L.; HUO, S.S. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, [s.l.], v. 27, n. 3, p. 313–318, mar. 2011. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2011.04389

SOUZA, E.W.; BORBA, C.M.; PEREIRA, S.A.; GREMIÃO, I.D.F.; LANGOHR, I.M.; OLIVEIRA, M.M.E. *et al.* Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin

changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Scientific reports**, [l.s.], v. 8, n. 9074, jun. 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-27447-5

VIEIRA, A.F.S. Investigação epidemiológica da esporotricose na região metropolitana de João Pessoa, Paraíba, Brasil. Areia, PB: 2019. 34 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

WENKER, C.J.; KAUFMAN, L.; BACCIARINI, L.N.; ROBERT, N. Sporotrichosis in a Nine-Banded Armadillo (*Dasypus novemcinctus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [S.L.], v. 29, n. 4, p. 474-478, dez. 1998. DOI: <https://www.jstor.org/stable/20095804>

WHO - world health organization. First meeting of the who antifungal expert group on identifying priority fungal pathogens - Meeting Report. 2020. Disponível em: < <https://www.who.int/publications/i/item/9789240006355> >. Acesso em: 10 de janeiro de 2021.

ZHANG, Y.; HAGEN, F.; STIELOW, B.; RODRIGUES, A.M.; SAMERPITAK, K.; ZHOU, X. et al. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14,000 human and animal case reports. **Persoonia**, v. 35, p. 1–20, jan. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.3767/003158515X687416>

ZHOU, X.; RODRIGUES, A.M.; FENG, P.; HOOG, G.S. Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Fungal Divers**, [s.l.], v. 66, p. 153–165. 2014. DOI: 10.1007/s13225-013-0220-2

4. CAPÍTULO 2.

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *SPOROTHRIX* SPP. ORIUNDOS DE FELINOS DOMÉSTICOS DO ESTADO DA PARAÍBA

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *SPOROTHRIX* SPP. ORIUNDOS DE FELINOS DOMÉSTICOS DO ESTADO DA PARAÍBA

ANGELO, D.F.¹; RABELLO, V.B.²; MACIEL, M.A.S.¹; ATANAZIO, S.S.L.¹; COSTA, M.C.L.¹; SILVA, S. R.³; ALMEIDA-PAES, R.²; BERNARDES-ENGEMANN, A.R.²; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M.²; CLEMENTINO, I.J.¹.

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba.

² Laboratório de Micologia, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas-Fundação Oswaldo Cruz

³ Centro de Vigilância Ambiental e Zoonoses, João Pessoa.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a zoonotic mycosis caused by dimorphic fungi of the genus *Sporothrix*, with the cat being the main source of infection in the urban environment. Its occurrence in the state of Paraíba increased from 2016, however, there is little data on the agent in the state. In view of this, the objective was to identify molecularly isolates of *Sporothrix* spp., obtained from domestic cats from cities in Paraíba. 39 isolates from cutaneous lesions of cats from the following cities were analyzed: João Pessoa (n = 29), Pilões (n = 4), Patos (n = 3), Areia (n = 1), Bananeiras (n = 1) and Guarabira (n = 1). The samples identified at the gender level were characterized molecularly, using species-specific PCR for *S. schenckii* sensu stricto, *S. brasiliensis* and *S. globosa* or partial sequencing of the calmodulin gene. All isolates corresponded to the species *Sporothrix brasiliensis*. The sequence alignment and phylogenetic analyzes of six isolates showed 100% similarity to the strain *S. brasiliensis* CBS 120339. The evaluation of the significance of the phylogenetic tree, performed using the Bootstrap test, revealed in this evaluation with 1,000 replicates, a level of confidence of nodes occurring by 98%. Thus, the species *S. brasiliensis* is responsible for the cases of feline sporotrichosis in the state of Paraíba, Brazil. The presence of the *S. brasiliensis* CBS 120339 genotype in Paraíba alerts to a possible occurrence of zoonotic outbreaks similar to those found in the South and Southeast regions of Brazil, and highlights the role of the feline in the zoonotic transmission of sporotrichosis, considering that this genotype is seen in the disease in humans.

Keywords: epidemic, Northeastern Brazil, *Sporothrix brasiliensis*, species-specific PCR, calmodulin.

RESUMO

A esporotricose é uma micose zoonótica causada por fungos dimórficos do gênero *Sporothrix*, sendo o gato a principal fonte de infecção no meio urbano. Sua ocorrência no estado da Paraíba aumentou a partir de 2016, no entanto, há poucos dados sobre o agente no estado. Diante disto, objetivou-se identificar molecularmente isolados de *Sporothrix* spp.,

obtidos de felinos domésticos procedentes de cidades da Paraíba. Analisou-se 39 isolados provenientes de lesões cutâneas de gatos, oriundos das seguintes cidades: João Pessoa (n=29), Pilões (n=4), Patos (n=3), Areia (n=1), Bananeiras (n=1) e Guarabira (n=1). As amostras identificadas a nível de gênero foram caracterizadas molecularmente, por meio de PCR espécie-específica para *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis* e *S. globosa* ou sequenciamento parcial do gene calmodulina. Todos os isolados corresponderam à espécie *Sporothrix brasiliensis*. O alinhamento das sequências e as análises filogenéticas de seis isolados apresentaram 100% de similaridade com a cepa *S. brasiliensis* CBS 120339. A avaliação da significância da árvore filogenética, realizada através do teste *Bootstrap*, revelou nesta avaliação com 1.000 replicatas, um nível de confiança de ocorrência de nós em 98%. Sendo assim, a espécie *S. brasiliensis* é a responsável pelos casos de esporotricose felina no estado da Paraíba, Brasil. A presença do genótipo *S. brasiliensis* CBS 120339 na Paraíba alerta para a uma possível ocorrência de surtos zoonóticos semelhantes ao encontrados nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, e salienta o papel do felino na transmissão zoonótica da esporotricose, tendo em vista que esse genótipo é observado na doença em humanos.

Palavras-chave: epidemia, zoonose, saúde pública, Nordeste brasileiro, *Sporothrix brasiliensis*, PCR espécie-específica, calmodulina.

INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose mundialmente importante para a saúde pública, causada por agentes do gênero *Sporothrix* (RODRIGUES *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2015). As espécies de importância médica são *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei*, as quais compõem o chamando clado patogênico (RODRIGUES *et al.*, 2020), espécies do clado ambiental como *S. mexicana*, *S. chilensis* e *S. pallida* apesar de terem potencial patogênico, variando de moderado a não-patogênico, foram relatadas recentemente causando infecções acidentais em humanos e animais, e podem impactar na população imunossuprimida (MARIMON *et al.*, 2007; DIAS *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011; MORRISON *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2016).

S. brasiliensis tem alta prevalência na América do Sul, e era considerada restrita ao Brasil (MONTENEGRO *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2014), até que Córdoba *et al.* (2018) demonstrou sua presença na Argentina, apontando o potencial de disseminação transfronteiriça dessa espécie. Esta espécie compõe uma população de patógenos geneticamente homogênea, com perfil de suscetibilidade *in vitro* semelhante entre os indivíduos, sendo considerada a espécie mais virulenta em felinos e humanos (FERNANDES *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2014a; RODRIGUES *et al.*, 2014b; SILVA-VERGARA *et al.*, 2012).

Diante da variedade de espécies de *Sporothrix* de interesse médico, e suas diferenças na distribuição geográfica, predileção do hospedeiro, virulência e suscetibilidades antifúngica, tornou-se essencial a identificação do *Sporothrix* em nível de espécie (ARRILLAGA-MONCRIEFF *et al.*, 2009; MARIMON *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2015). Técnicas moleculares que visam reconhecer o marcador espaçador ribossomal transcrito interno, ou loci codificadores das proteínas calmodulina, beta-tubulina e fator de alongamento de tradução são tidas como padrão-ouro para reconhecer esses agentes patogênicos a nível de espécie (DE MEYER *et al.*, 2008; MARIMON *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2014).

Estudos dos surtos de esporotricose no Brasil apontam os felinos domésticos como principais transmissores da esporotricose de origem zoonótica (Haddad *et al.* 2002, Schubach *et al.* 2006, Alves *et al.* 2010, Gremião *et al.* 2015, Gremião *et al.* 2017). Até 1997 os casos de esporotricose eram esporádicos, entretanto, a partir de 1998, o Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), centro de referência nacional para o diagnóstico de micoses no Brasil, vem identificando um número crescente da doença em felinos e humanos na cidade do Rio de Janeiro e seus arredores, registrando entre 1991 e 2015 4.517 humanos e até 2017 foram 4.916 felinos com a doença (Barros *et al.* 2010, Silva *et al.* 2012, Gremião *et al.* 2017, Rodrigues *et al.* 2020), o que representa a maior epidemia de esporotricose de transmissão zoonótica. Adicionalmente a análise molecular das cepas de *Sporothrix* spp. observadas na epidemia do Rio de Janeiro, e de estados próximos, como Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul e Paraná, apresentou alta prevalência (96,9%) de *S. brasiliensis*, mostrando genótipos compartilhados, o que demonstra a expansão da doença pelo país (Rodrigues *et al.* 2013a).

No estado da Paraíba, a esporotricose felina foi relatada pela primeira vez, por Nunes *et al.* (2011) em um animal proveniente do município de Itaporanga, sertão do estado. Posteriormente Costa (2019) e Vieira (2019) descreveram diversas características epidemiológicas, como distribuição territorial e aspecto clínico da doença em felinos procedentes de João Pessoa, capital da Paraíba. Porém, ainda há muitos aspectos epidemiológicos a serem esclarecidos a respeito da esporotricose humana e animal no estado, diante disto, este trabalho objetivou realizar a identificação molecular de amostras *Sporothrix* spp. isolados de casos clínicos de esporotricose felina procedentes da Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e processamento inicial

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPB sob protocolo 091/2017. A colheita de amostras foi realizada no período entre junho de 2018 e novembro de 2020. O trabalho de campo realizado no Centro de Controle de Zoonoses da cidade de João Pessoa, e em clínicas e consultórios veterinários de diferentes cidades da Paraíba, Brasil.

Foram colhidas 39 amostras de secreções de lesões cutâneas de felinos domésticos, provenientes das seguintes cidades paraibanas: João Pessoa (n=29), Pilões (n=4), Patos (n=3), Areia (n=1), Bananeiras (n=1) e Guarabira (n=1).

As amostras foram obtidas com o auxílio de um *swab* estéril, o qual era friccionado na superfície de lesões cutâneas dos felinos com suspeita de esporotricose. As amostras colhidas foram inicialmente inoculadas em tubos Falcon com culturas inclinadas de Sabouraud dextrose acrescido com Clorafenicol (Laboratórios Difco, Detroit, MI) e, acondicionadas em temperatura ambiente, até o processamento no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, Brasil. No laboratório, cada amostra foi repicada em ágar Sabouraud dextrose acrescido com Clorafenicol e incubada a temperaturas de 25 e 37°C. O crescimento foi observado diariamente por 15 dias a partir da última semeadura. Havendo crescimento fúngico, foram confeccionadas lâminas para observação dos aspectos micromorfológicos.

Após confirmação diagnóstica por meio da cultura fúngica, as amostras foram inoculadas em *eppendorfs* contendo meio de cultivo Agar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, à temperatura de 25°C, por 7 dias, havendo crescimento, elas foram refrigeradas (4 a 8°C) e armazenadas até posterior envio para o Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, Brasil, onde foi realizada a caracterização molecular dos isolados.

Avaliação molecular

Extração do DNA e PCR espécie-específica

O DNA foi extraído diretamente de colônias de *Sporothrix* spp. em fase filamentosa, após cultivo em meio ágar PDA a 30°C por 7 dias. Para isso, células fúngicas foram coletadas e maceradas, após congelamento com nitrogênio líquido, e adicionados 500µL do tampão de lise TES (1M Tris pH 8; 50mM EDTA; 20% sacarose), com posterior incubação em *heat block* a 65°C por 5 minutos, seguida por incubação no gelo por 5 minutos. A seguir, foram

adicionados 500µl de Clorofórmio – Álcool Isoamílico, homogeneizado por 30 segundos utilizando vortex, centrifugou-se a 14000rpm por 5 minutos, e a fase aquosa foi removida usando um tubo novo, descartando-se o sobrenadante, estes passos foram repetidos de duas a três vezes. Posteriormente, foram acrescentados 1/10 do volume total de acetato de sódio 3M, e 1000µL de etanol PA (100%), seguido por centrifugação a 14000rpm durante 5 minutos. O sobrenadante foi desprezado, e realizada lavagem com 500µL de Etanol 70%, repetida centrifugação a 14000rpm por 5 minutos e eliminação do sobrenadante. Por fim, o *pellet* foi secado em microcentrifuga a vácuo e ressuspendeu-se o DNA em 50µL de água deionizada.

A concentração de DNA foi determinada com um espectrofotômetro NanoDrop 2000, depois disso, o DNA foi diluído para uma concentração de 25ng/µL. A qualidade do DNA foi avaliada determinando ODs em comprimentos de onda de 260 e 280nm e calculando a razão OD 260/280; apenas amostras com razões OD 260/280 entre 1,8 e 2,0 foram usadas em análises posteriores. As amostras de DNA foram armazenadas a -20°C até o uso nas reações de PCR.

O DNA total extraído de *Sporothrix* spp. foi usado como um modelo em reações de PCR com os pares de primer espécie-específicos, Sbra-F e Sbra-R para *S. brasiliensis*; Ssch-F e Ssch-R para *S. schenckii*; Sglo-F e Sglo-R para *S. globosa*. Para cada reação, foram adicionados 100ng de DNA template, concentração de 10mM de cada primer, 2,5x Buffer PCR, dNTPs 0,5mM, MgCl₂ 0,75mM, Taq Platinum 0,2mM em um volume total de 25µL. As condições foram as seguintes: uma etapa inicial de desnaturação de 10 min a 95°C; seguido por 35 ciclos de 1 min a 95°C, 1 min na temperatura de anelamento (touchdown PCR) e 1 min a 72°C; seguido por uma etapa final de 10 min a 72°C. No protocolo de toque, a temperatura de recozimento no primeiro ciclo foi de 70°C e, subsequentemente, a temperatura de recozimento foi reduzida em 1°C/2 ciclos para os próximos 20 ciclos; finalmente, a PCR foi completada com uma temperatura de anelamento de 60°C para os 15 ciclos restantes. Os amplicons de PCR foram resolvidos com eletroforese em gel de agarose a 1% por 1h a 100V, coradas com brometo etídio. As bandas coradas foram visualizadas com luz ultravioleta.

Tratamento com RNase

Para quatro isolados foi necessário tratamento com RNase e Protease, pois inicialmente não amplificaram na PCR espécie-específica, provavelmente porque a extração continha proteína e RNA residuais.

Para isso foram adicionados 10µg de proteinase K e 10µg de RNase H (5µl de RNase), e mixados por pipetagem. Seguidos por incubação durante 1 hora a 65°C. Logo após

adicionou-se o mesmo volume de Clorofórmio - Álcool Isoamílico (24:1), centrifugou-se a 14000rpm por 10 minutos, a fase aquosa foi removida, e adicionou-se o mesmo volume de Isopropanol. Após mixar gentilmente (até que o DNA comece a ser precipitado), foi deixado em repousar por 5 minutos à temperatura ambiente, depois centrifugado a 14000rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi removido, feita a lavagem do pellet com etanol 70% gelado, e secagem a temperatura ambiente. Por fim, foi adicionado 50µl de água ao pellet, e deixado repousar overnight a 4°C.

Sequenciamento parcial do gene Calmodulina

Para seis isolados não houve amplificação usando-se a técnica de PCR espécie-específica, e optou-se por sequenciamento parcial do gene calmodulina. Para isso, foram utilizados os seguintes primers do gene calmodulina: *Forward* CL1 (5'- GAR TWC AAG GAG GCC TTC TC-3') e *Reverse* CL2A (5'-TTT TTG CAT CAT GAG TTG GAC-3'). Para cada reação, foram adicionados 100ng de DNA template, concentração de 10 mM de cada primer, 2,5x Buffer PCR, dNTPs 0,5mM, MgCl₂ 0,75mM, Taq Platinum 0,2mM em um volume total de 25µL. O programa de amplificação incluiu uma desnaturação inicial a 94°C por 5 min, seguida por 35 ciclos consistindo em desnaturação a 95°C por 30 segundos, anelamento por 1 min a 60°C e extensão por 1 min a 72°C. Uma etapa de extensão final de 72°C por 7 min. Os produtos gerados pela PCR foram purificados pelo Kit de purificação (QIAquick PCR Purification Kit - Qiagen) e enviados para Plataforma de Sequenciamento da Fundação Oswaldo Cruz. O alinhamento das sequências e as análises filogenéticas foram realizados pelo *software* MEGA, versão 6.0, utilizando o método de Maximum Likelihood. A avaliação da significância da árvore foi realizada por meio do teste de confiança *Bootstrap* com 1.000 repetições (Felsenstein, 1985). As sequências parciais do gene constitutivos da calmodulina foram analisadas, editadas no programa Sequencher 4.9 (*Genes Code Corporation*) e comparadas pelo BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool* - NIH) com as sequências de *Sporothrix* spp. depositadas no GenBank (*S. brasiliensis* CBS 120339, *S. schenckii* FMR 8604, *S. globosa* FMR 8600, *S. luriei* CBS 937.72, *S. pallida* CBS 302.73, *S. mexicana* FMR 9108 e *S. chilensis* Ss470). Como grupo externo foi utilizada a espécie *Grosmannia serpens* (CBS 141.36).

RESULTADOS

Foi feita avaliação molecular de 39 isolados fúngicos previamente identificados como pertencentes ao gênero *Sporothrix* por meio de cultura fúngica, procedentes de lesões cutâneas de felinos domésticos das seguintes cidades paraibanas: João Pessoa, Pilões, Patos, Areia, Guarabira e Bananeiras (Figura 1). Em 33 amostras foi realizada a técnica de PCR espécie-específica, em quatro destas foi necessária a realização de tratamento com RNase, pois inicialmente não amplificaram as sequências-alvo, e nas seis amostras restantes o sequenciamento parcial do gene calmodulina foi realizado, pois não houve amplificação com os primers específicos.



Figura 1. Distribuição geográfica e n amostral de isolados de *Sporothrix brasiliensis* procedentes de felinos domésticos de cidades da Paraíba, Brasil.

Conforme observado no Quadro 1, todos os isolados foram caracterizados como pertencentes à espécie *S. brasiliensis*.

Quadro 1: Isolados de *Sporothrix* spp. procedentes de felinos domésticos de cidades da Paraíba, Nordeste brasileiro, de acordo com a cidade de origem da amostra, espécies identificadas e método molecular utilizado

Isolado	Cidade de origem	Espécies	Método
PB 2	Patos	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 6	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 7	Pilões	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 8	Pilões	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 9	Patos	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 11	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 12	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	CAL
PB 15	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico *
PB 16	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 17	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico *

PB 18	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 20	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 21	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 22	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico *
PB 23	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 24	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 26	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 27	Areia	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 28	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 29	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	CAL
PB 31	Pilões	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 32	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico *
PB 33	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 34	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	CAL
PB 35	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 38	Guarabira	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 39	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 40	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB41	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 42	Pilões	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 45	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 46	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 47	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 49	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	CAL
PB 50	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	CAL
PB 51	Patos	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 53	Bananeiras	<i>S. brasiliensis</i>	CAL
PB 54	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 66	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico
PB 68	João Pessoa	<i>S. brasiliensis</i>	PCR – primer específico

*Amostras tratadas com RNase. PCR – Primer específico: (Sbra-F e Sbra-R; Ssch-F e Ssch-R, Sglo-F e Sglo-R). CAL: sequenciamento parcial do gene calmodulina.

O alinhamento das sequências e as análises filogenéticas dos seis isolados apresentaram 100% de similaridade com a espécie *S. brasiliensis* cepa CBS 120339 depositada no GenBank. A avaliação da significância da árvore, realizada através do teste *Bootstrap*, o qual mede o grau de suporte dos nós formados nas árvores filogenéticas (Felsenstein, 1985), revelou em nossa avaliação, com 1.000 replicatas, um nível de confiança de ocorrência de nós de 98% (Figura 2).

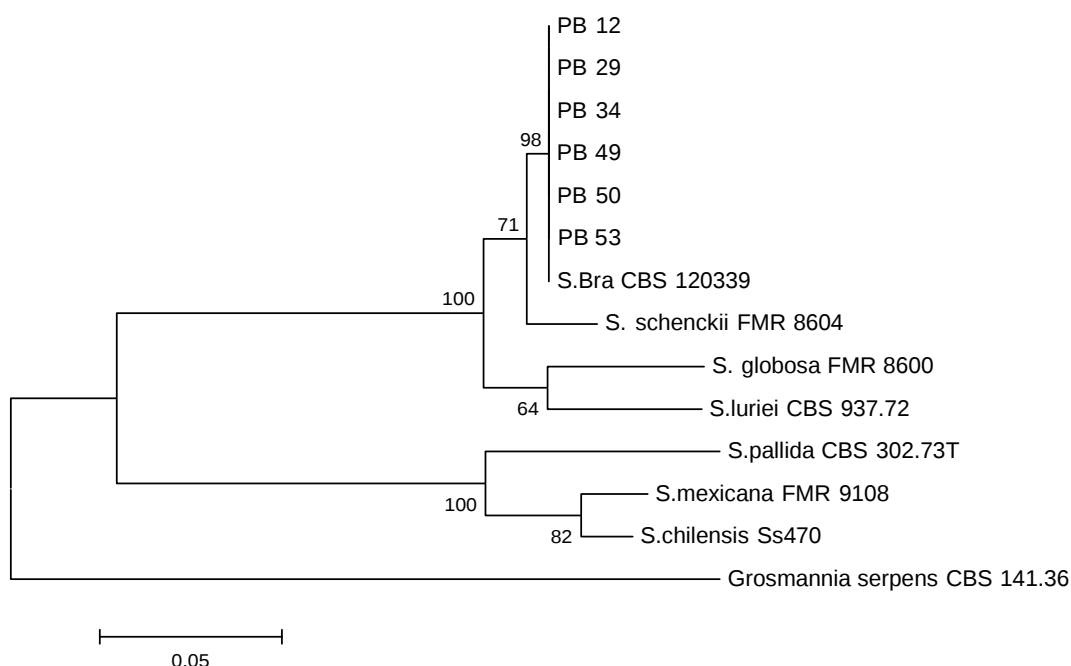


Figura 2: Árvore filogenética de isolados de *Sporothrix* spp. procedentes de felinos domésticos da Paraíba, Brasil. Método de Maximum Likelihood baseado nas sequências parciais do gene da calmodulina. Valor de 1000 bootstrap está representado nos ramos.

DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo que demonstra molecularmente a presença de *Sporothrix brasiliensis* em isolados procedentes de felinos da região Nordeste do Brasil. Dados publicados sobre a esporotricose humana e felina nesta região ainda são escassos, especialmente estudos moleculares (MARQUES-MELO *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2018). Estes dados chamam atenção para a expansão da esporotricose de origem zoonótica nesta região.

Em Alagoas foi publicado um relato da primeira ocorrência da doença em felino e humano, sem identificação da espécie de *Sporothrix* (MARQUES-MELO *et al.*, 2014). No Pernambuco, Valeriano *et al.* (2020) descreveram recentemente os primeiros casos de esporotricose cutânea humana disseminada causada por *S. brasiliensis*. Segundo Rodrigues *et al.* (2014), a infecção por *S. brasiliensis* em humanos é registrada de forma esporádica em isolados do Nordeste desde 1997. Do Monte-Alves *et al.* (2020) relataram um caso de esporotricose pulmonar fatal em uma mulher procedente do Rio Grande do Norte, causada por *S. brasiliensis*, a paciente costumava descansar após o almoço em uma pequena sala fechada onde circulavam vários gatos errantes que costumava alimentar.

No estado da Paraíba, a esporotricose felina ocorre de forma epidêmica na cidade de João Pessoa, onde, durante o período de junho de 2018 a fevereiro de 2019 foram registrados, por diagnóstico citológico e cultura fúngica, 232 casos da doença em felinos (COSTA, 2019). Vasconcelos *et al.* (2020) relataram uma infecção por *S. brasiliensis* em um cão proveniente da capital paraibana. O presente estudo constatou a presença do *S. brasiliensis* em cidades além da capital paraibana, as quais estão distribuídas em diferentes mesorregiões do estado – Sertão, Mata Paraibana e Agreste - corroborando com o observado por Maciel (2020) e Nunes *et al.* (2011), que constataram a presença de *Sporothrix* spp. de origem felina nas cidades de Pilões, Cuitegi e Itaporanga, esse fato alerta a população do estado a respeito da disseminação da doença para o interior do estado.

O *S. brasiliensis* foi encontrado em 100% das amostras analisadas, o que reforça o fato desta espécie ser a responsável predominantemente pela esporotricose felina no Brasil (RODRIGUES *et al.*, 2013a). Sua alta virulência para humanos e felinos é um fator a ser destacado, pois está associada a formas incomuns e mais graves da doença em humanos (SILVA-VERGARA *et al.*, 2012, OROFINO-COSTA *et al.*, 2013, ALMEIDA-PAES *et al.*, 2014); exibe maior potencial de disseminação e infiltração tecidual por células fúngicas quando comparada às espécies *S. schenckii stricto sensu* e *S. globosa* (ARRIGALA-MONCRIEFF *et al.*, 2009). Além disso, Castro *et al.* (2013) demonstraram que a molécula Gp70, um importante antígeno e adesina expressa na superfície da célula fúngica, é encontrada em níveis reduzidos em cepas de *S. brasiliensis* altamente virulentas, indicando que essas cepas podem ter menor resposta humoral em animais infectados.

Os casos aqui relatados reforçam o papel dos felinos como potenciais disseminadores da doença também no estado da Paraíba. Segundo dados do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) – Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH) em João Pessoa-PB, hospital referência na área de doenças infecciosas e parasitárias da região, o aumento no número de pacientes com esporotricose assistidos por essa instituição, ocorreu a partir de 2016 (FERREIRA, 2018). Um estudo fenotípico feito com 24 amostras de pessoas atendidas no HULW revelou que seis isolados pertenciam a espécie *S. brasiliensis*, o que levanta a questão da transmissão zoonótica por gatos infectados, uma vez que felinos são responsáveis pela contínua transmissão animal-animal e animal-humano do *S. brasiliensis* durante os surtos ocorridos no Sul e Sudeste do Brasil (RODRIGUES *et al.*, 2014; FERREIRA, 2018).

O sequenciamento do gene calmodulina foi realizado em seis das amostras estudadas, sendo cinco provenientes de felinos da cidade de João Pessoa e uma da cidade Bananeiras,

Paraíba. O genótipo evidenciado *S. brasiliensis*, também encontrado em isolados de fontes humanas do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul (RODRIGUES *et al.*, 2013b), alerta para a uma possível ocorrência de surtos zoonóticos semelhantes aos encontrados nessas regiões, e reforça o papel dos felinos na transmissão da doença para humanos.

Técnicas moleculares que visam o reconhecimento de loci codificadores de proteínas como a calmodulina, beta-tubulina e fator de alongamento de tradução, ou do marcador espaçador ribossomal transcrito interno, são consideradas padrão-ouro para diferenciação das principais espécies de *Sporothrix*, pois possuem alta sensibilidade e processos operacionais padronizados (MARIMON *et al.*, 2007; DE MEYER *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2013a; ZHOU *et al.*, 2014). Neste estudo, em seis amostras a técnica de PCR espécie-específica para *S. brasiliensis*, *S. Schenckii sensu stricto* e *S. globosa*, não foi suficiente para identificação em nível de espécie. Essa negatividade, segundo o experimento de Zhang *et al.* (2019), está ligada à necessidade de valores de curva padrão maiores que 35, pois em seu experimento a PCR espécie-específica teve uma taxa de detecção de amostras positivas de 39,4%, enquanto a PCR multiplex em tempo real, realizada em 45 ciclos, detectou 93,9% dos casos positivos.

Interromper a cadeia de transmissão zoonótica da esporotricose no Brasil é o grande desafio imposto por essa doença (BARROS *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2013a). Nos seres humanos a doença tem baixa mortalidade, pois a apresentação clínica predominante (linfocutânea) atinge apenas a pele e tecido subcutâneo, porém seu custo indireto social, ligado ao desconforto tocante ao aspecto desagradável das lesões, causa sofrimento e privação ao trabalho durante a doença ativa (BARROS *et al.*, 2010). Nos felinos, por outro lado, a esporotricose apresenta uma gama maior de adversidades, como apresentação clínica comumente multifocal, acometendo, com frequência, mucosas do trato respiratório superior, podendo evoluir para quadros de difícil tratamento e posterior óbito (SCHUBACH *et al.* 2003; SCHUBACH *et al.*, 2004). Além disso, o tempo médio de tratamento é maior; com frequência os animais são abandonados ou sacrificados desnecessariamente após apresentarem as lesões; e a indisponibilidade de medicamento gratuito para os animais por parte dos setores públicos de saúde, são alguns pontos complicadores ao controle da doença nos animais (KAUFFMAN *et al.*, 2007; CHAVES *et al.*, 2013; LLORET *et al.*, 2013).

A partir de 2018 a esporotricose humana passou a ser considerado um agravo de interesse estadual e de notificação compulsória na Paraíba (PARAÍBA, 2019). Considerando o perfil epidemiológico da doença, medidas que inibam a transmissão do *Sporothrix* spp. felino-felino e felino-homem podem impactar consideravelmente no controle desse agravo à saúde pública na Paraíba. Entre as medidas recomendadas, estão: a ampliação do número de

Unidades de Vigilância em Zoonoses (UVZ) no estado, tendo em vista que apenas duas das 223 cidades do estado possuem uma UVZ, sendo elas João Pessoa e Campina Grande (IBGE 2010); disponibilização gratuita de castração, tratamento e, quando necessário, eutanásia e cremação dos animais mortos, por essas instituições, pois embasando-se no estudo epidemiológico de Costa (2019), sobre esporotricose em felinos de procedência paraibana, a distribuição dos casos na cidade de João Pessoa segue o padrão de outras regiões do Brasil, atingindo bairros com população de menor poder aquisitivo; campanhas com divulgação de informações sobre a doença, por todo o estado; coibição do abandono de animais doentes; uso de luvas grossas e roupas de mangas longas ao manusear animais infectados; e notificação dos casos de esporotricose felina para órgão reguladores, como a UVZ, uma vez que esses animais atuam como sentinelas para os casos da doença em humanos.

A longo prazo, a intervenção na disseminação da doença animal irá impactar positivamente no sistema de saúde pública no estado, e preservar a população sob maior vulnerabilidade.

CONCLUSÕES

Estes dados mostraram molecularmente pela primeira vez a ocorrência de *Sporothrix brasilienses* em felinos provenientes da região Nordeste do Brasil, especificamente do estado da Paraíba, o que demonstra a expansão da esporotricose felina na região, e reforça o papel dessa espécie de *Sporothrix* na esporotricose felina na região.

O genótipo *S. brasiliensis* CBS 120339, aqui evidenciado, é encontrada também em isolados humanos nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, o que alerta para a uma possível ocorrência de surtos zoonóticos semelhantes aos encontrados nessas regiões, e salienta o papel do felino na transmissão zoonótica da esporotricose.

Além disso, este trabalho respalda e sugere um apanhado de medidas para intervir na doença animal, que potencialmente impactarão na epidemia existente na cidade de João Pessoa, bem como na emergência alarmante de casos para o interior do estado.

Agradecimentos: ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba e ao Laboratório de Micologia do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

Declaração de conflito de interesse: os autores declaram não haver conflitos de interesse.

LISTA DE REFERÊNCIAS

- Ajello L. & Kaplan W. 1969. A new variant of *Sporothrix schenckii*. Mycoses. 12(11):633-644. <<https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1969.tb03423.x>>
- Alberici F., Paties C.T., Lombardi G., Ajell O.L., Kaufman L. & Chandler, L. 1989. *Sporothrix schenckii* var. *luriei* as the cause of sporotrichosis in Italy. Eur. J. Epidemiol. 5(2):173-177. <<https://doi.org/10.1007/BF00156825>>
- Almeida-Paes R., Oliveira M.M.E., Freitas D.F.S., Valle A.C.F., Zancopé-Oliveira, R.M. & Gutierrez-Galhardo. 2014. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* Is Associated with Atypical Clinical Presentations. PLoS Negl Trop Dis. 8(9):e3094. <<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003094>>
- Alves S.H., Boettcher S.C., Oliveira D.C., Tronco-Alves G.R., Sgaria M.A., Thadeu P. et al. 2010. *Sporothrix schenckii* associated with armadillo hunting in Southern Brazil: epidemiological and antifungal susceptibility profiles. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 43(5):523-525. <<https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000500010>>
- Arrillaga-Moncrieff I., Capilla J., Mayayo E., Marimon R., Mariné M., Gené J., Cano J. & Guarro J. 2009. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. Clin Microbiol Infect. 15(7):651–655. <<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02824.x>>
- Barros M.B.L., Almeida-Paes R. & Schubach A.O. 2011. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. Clinical microbiology reviews. 24(4):633–654. <<https://doi.org/10.1128/CMR.00007-11>>
- Barros M.B.L., Schubach T.P., Coll J.O., Gremião I.D., Wanke B. & Schubach A. 2010. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. Rev Panam Salud Publica. 27(6):455-460. <http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892010000600007>
- Castro R.A., Kubitschek-Barreira P.H., Teixeira P.A., Sanches G.F., Teixeira M.M., Quintella L.P., Almeida, S.R., Costa, R.O., Camargo, Z.P., Felipe, M.S., de Souza, W. & Lopes-Bezerra, L.M. 2013. Differences in Cell Morphometry, Cell Wall Topography and Gp70 Expression Correlate with the Virulence of *Sporothrix brasiliensis* Clinical Isolates. PloS one. 8(10):e75656. <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075656>>
- Chakrabarti A., Bonifaz A., Gutierrez-Galhardo M. C., Mochizuki T. & Li S. 2015. Global epidemiology of sporotrichosis. Med. Mycol. 53(1):3-14. <<https://doi.org/10.1093/mmy/myu062>>
- Chaves A.R., de Campos M.P., Barros M.B., do Carmo C.N., Gremião I.D., Pereira S.A. & Schubach T.M. 2013. Treatment Abandonment in Feline Sporotrichosis – Study of 147 Cases. Zoonoses and Public Health. 60(2):149–153. <<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01506.x>>
- Córdoba S., Isla G., Szusz W., Vivot W., Hevia A., Davel G. & Canteros C.E. 2018. Molecular identification and susceptibility profile of *Sporothrix schenckii* sensu lato isolated in Argentina. Mycoses, 61(7):441–448. <<https://doi.org/10.1111/myc.12760>>

Costa M.C.L. 2019. Distribuição espacial da esporotricose felina no município de João Pessoa, Estado da Paraíba, Brasil. Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB. 32p.

de Meyer E.M., de Beer Z.W., Summerbell R.C., Moharram A.M., de Hoog G.S., Vismer H.F. & Wingfield M.J. 2008. Taxonomy and phylogeny of new wood- and soil-inhabiting *Sporothrix* species in the *Ophiostoma stenoceras-Sporothrix schenckii* complex. *Mycologia*. 100(4):647-661. <<https://doi.org/10.3852/07-157r>>

Dias N.M., Oliveira M.M., Santos C., Zancoppe-Oliveira R.M. & Lima N. 2011. Sporotrichosis caused by *Sporothrix mexicana*, Portugal. *Emerg Infect Dis*. 17(10):1975–1976. <<https://doi.org/10.3201/eid1710.110737>>

do Monte Alves M., Pipolo Milan E., da Silva-Rocha W.P., Soares de Sena da Costa A., Araújo Maciel B., Cavalcante Vale P.H., de Albuquerque P.R., Lopes Lima S., Salles de Azevedo Melo A., Messias Rodrigues A. & Chaves G.M. 2020. Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Northeast Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 14(5):e0008141. <<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008141>>

Falcão E.M.M., Lima Filho J.B., Campos D.P., Valle A.C.F. Bastos F.I., Gutierrez-Galhardo M.C. & Freitas D.F.S. 2019. Hospitalizações e óbitos relacionados à esporotricose no Brasil (1992-2015). *Cad. Saúde Pública*. 35(4): e00109218. <<https://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00109218>>

Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the Bootstrap. *Evolution*. 39(4):783-791. <<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>>

Ferreira J.S. 2018. Caracterização fenotípica de cepas dentro do complexo *Sporothrix schenckii* e correlação com as formas clínicas da esporotricose. 2018. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. 67p.

Gremião I.D.F., Miranda L.H.M., Reis E.G., Rodrigues A.M., Pereira S.A. 2017. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PloS Pathog*. 13(1):e1006077. <<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006077>>

Gremião I.D., Menezes R.C., Schubach T.M., Figueiredo A.B., Cavalcanti M.C. & Pereira S.A. 2015. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. *Med Mycol*. 53(1):15–21. <<https://doi.org/10.1093/mmy/myu061>>

Haddad V.J., Miot H.A., Bartoli L.D., Cardoso C.R. & de Camargo R.M. 2002. Localized lymphatic sporotrichosis after fish-induced injury (*Tilapia* sp.). *Med. Mycol*. 40(4):425–427. <<https://doi.org/10.1080/mmy.40.4.425.427>>

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Brasil/Paraíba* [online]. Brasília: IBGE; 2010. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados.html?>> Acesso em: 25 de janeiro de 2021.

- Kauffman C. A., Bustamante B., Chapman S. W., Pappas P. G. & Infectious Diseases Society of America. 2007. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 45(10):1255–1265. <<https://doi.org/10.1086/522765>>
- Lloret A., Hartmann K., Pennisi M.G., Ferrer L., Addie D., Belák S. et al. 2013. Sporotrichosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg*. 15(7):619-623. <<https://doi.org/10.1177/1098612X13489225>>
- Maciel M.A.S. 2020. Esporotricose: relato de casos atendidos no hospital veterinário da UFPB. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB. 40p.
- Madrid H., Cano J., Gené J., Bonifaz A., Toriello C. & Guarro J. 2009. *Sporothrix globosa*, apathogenic fungus with widespread geographical distribution. *Rev Iberoam Micol*. 26(3):218-222. <<https://doi.org/10.1016/j.riam.2009.02.005>>
- Marimon R., Gené J., Cano J. & Guarro J. 2008. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. *Med Mycol*. 46(6):621-625. <<https://doi.org/10.1080/13693780801992837>>
- Marimon R., Cano J., Gené J., Sutton D.A., Kawasaki M. & Guarro J. 2007. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol*. 45(10): 3198-3206. <<https://doi.org/10.1128/JCM.00808-07>>
- Marques-Melo E.H., Lessa D.F.S., Nunes A.C.B.T., Chaves K.P., Porto W.J.N., Notomi M.K. & Garrido L. 2014. Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato do primeiro caso no estado de Alagoas. *Revista Baiana de Saúde Pública*. 38(2):490-498. <<https://doi.org/10.22278/2318-2660.2014.v38.n2.a535>>
- Montenegro H., Rodrigues A.M., Dias M.A.G., da Silva E.A., Bernardi F. & Carmargo Z.P. 2014. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. *BMC Vet Res*. 10:269. <<https://doi.org/10.1186/s12917-014-0269-5>>
- Morrison A.S., Lockhart S.R., Bromley J.G., Kim J.Y., & Burd E.M. 2013. An environmental *Sporothrix* as a cause of corneal ulcer. *Med Mycol Case Rep*. 10(2):88–90. <<https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2013.03.002>>
- Nunes G.D.L., Carneiro R.S., Filgueira K.D., Filgueira F.G.F. & Fernandes T.H.T. 2011. Esporotricose felina no município de Itaporanga, estado da Paraíba, Brasil: relato de um caso. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*. 14(2):157-161.
- Oliveira M.M., Almeida-Paes R., Muniz, M.M., Gutierrez-Guardalho M.C. & Zancoppe-Oliveira R.M. 2011. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an epidemic area of sporotrichosis in Brazil. *Mycopathologia*. 172(4):257-267. <<https://doi.org/10.1007/s11046-011-9437-3>>
- Orofino-Costa R., Unterstell N., Gripp, A.C., Macedo, P.M., Dias E.B.E., Teixeira, M.M. et al. 2013. Pulmonary cavitation and skin lesions mimicking tuberculosis in a HIV negative patient caused by *Sporothrix brasiliensis*. *Med Mycol Case Rep*. 16(2):65-71. <<https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2013.02.004>>

Padhye A.A., Kaufman L., Durry E., Banerjee C.K., Jindal S.K., Talwar P. & Chakrabarti A. 1992. Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix schenckii* var. *luriei* in India. *Journal of Clinical Microbiology*. 30(9): 2492–2494. <<https://doi.org/10.1128/JCM.30.9.2492-2494.1992>>

Paraíba – Secretaria de Estado da Saúde. Nota informativa nº 01/2019 – NDTA/GOVE/GOVS/SES-PB. 2019. Disponível em: <<https://paraiba.pb.gov.br/noticias/secretaria-da-saude-orienta-municipios-sobre-a-micose-esporotricose/nota-tecnica-esporotricose.pdf>>. Acesso em: 25 de janeiro de 2021.

Ramos A.C.M.O., Cardoso I.R.S., Filgueira K.D., Paula V.V. & Reis-Lima R.K. 2016. Esporotricose canina com potencial zoonótico no estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*. 13(3): 52-52.

Rodrigues A.M., Della Terra P.P., Gremião I.D., Pereira S.A., Orofino-Costa R. & de Camargo Z.P. 2020. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. *Mycopathologia*. 185(5):813-842. <<https://doi.org/10.1007/s11046-020-00425-0>>

Rodrigues A.M., Cruz Choappa R., Fernandes G.F., de Hoog G.S. & de Camargo ZP. 2016. *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. *Fungal Biology*. 120(2):246-264. <<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.05.006>>

Rodrigues A.M., de Hoog G.S., Zhang Y. & Camargo Z.P. 2014. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. *Emerg Microbes Infect.* 3(5):e32. <<https://doi.org/10.1038/emi.2014.33>>

Rodrigues A.M., de Hoog S. & de Camargo Z.P. 2013b. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. *Med Mycol.* 51(4):405-412. <<https://doi.org/10.3109/13693786.2012.719648>>

Rodrigues A.M., de Melo Teixeira M., de Hoog G.S., Schubach T.M., Pereira S.A., Fernandes G.F., Bezerra L.M., Felipe M.S. & de Camargo Z.P. 2013a. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis*. 7(6):e2281. <<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002281>>

Schubach T.M., Schubach A., Okamoto T., Barros M.B., Figueiredo F.B., Cuzzi T., Pereira S.A., Dos Santos I.B., Almeida Paes R.D., Paes Leme L.R. & Wanke B. 2006. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998-2003). *Medical Mycology*. 44(1):87-92. <<https://doi.org/10.1080/13693780500148186>>

Schubach T.M.P., Schubach A., Okamoto T., Barros M.B.L., Figueiredo F.B., Cuzzi T. et al. 2004. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). *JAVMA*. 224(10):1623-1629. <<https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.1623>>

Schubach T.M., Schubach A., Okamoto T., Pellon I.V., Fialho-Monteiro P.C., Reis R.S., Barros M.B., Andrade-Perez M. & Wanke B. 2003. Haematogenous spread of *Sporothrix*

schlenckii in cats with naturally acquired sporotrichosis. J Small Anim Pract. 44(9):395–398. <<https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2003.tb00174.x>>

Silva G.M., Howes J.C.F., Leal C.A.S., Mesquita E.P., Pedrosa, C.M.; Oliveira, A.A.F. *et al.* 2018. Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. Pesq. Vet. Bras. 38(9):1767-1771. <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5027>>

Silva M.B.T., Costa M.M.M., Torres C.C.S., Gutierrez-Guardalho M.C., Valle A.C.F., Magalães M.A.F.M. *et al.* 2012. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 28(10):1867-1880. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2012001000006>>

Silva-Vergara M.L., de Camargo Z.P., Silva P.F., Abdalla M.R., Sgarbieri R.N., Rodrigues A.M. *et al.* 2012. Disseminated *Sporothrix brasiliensis* infection with endocardial and ocular involvement in an HIV-infected patient. Am J Trop Med Hyg. 86(3):477–480. <<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0441>>

Song Y., LI S.S., Zhong S.X., Liu Y.Y. Yao L. & Huo S.S. 2013. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region. J Eur Acad Dermatol Venereol. 27(3):313–318. <<https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2011.04389.x>>

Valeriano C., Ferraz C. E., Oliveira M., Inácio C. P., de Oliveira E. P., Lacerda A. M., Neves R. P. & de Lima-Neto R. G. 2020. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic area: Case series in the northeast of Brazil. JAAD case reports. 6(10):988–992. <<https://doi.org/10.1016/j.jdcr.2020.07.047>>

Vasconcelos J.S., Siqueira R.S., Clementino I.J. Gama A., Alves A., Lucena R.B. *et al.* 2020. Frequência das doenças de pele não tumorais em cães no município de João Pessoa, Paraíba, Brasil (2014-2016). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec, Belo Horizonte. 72(4):1172-1184. <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-11248>>

Vieira A.F.S. 2019. Investigação epidemiológica da esporotricose na região metropolitana de João Pessoa, Paraíba, Brasil. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária). Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB. 34p.

Zhang M., Li F., Li R., Gong J. & Zhao F. 2019. Fast diagnosis of sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa*, *Sporothrix schenckii*, and *Sporothrix brasiliensis* based on multiplex real time PCR. PLoS Negl Trop Dis. 13(2):e0007219. <<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007219>>

Zhang Y., Hagen F., Stielow B., Rodrigues A.M., Samerpitak K., Zhou X. *et al.* 2015. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14,000 human and animal case reports. Persoonia. Persoonia. 35. 1–20. <<https://doi.org/10.3767/003158515X687416>>

Zhou X., Rodrigues A.M., Feng P. & Hoog G.S. 2014. Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. Fungal Divers. 66: 153–165. <<https://doi.org/10.1007/s13225-013-0220-2>>

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A esporotricose, micose subcutânea de distribuição mundial, cuja casuística vem emergindo no Brasil, atinge especialmente humanos e felinos domésticos. No Rio de Janeiro, maior foco da doença no país, a esporotricose vem tomando proporções alarmantes a partir de 1998, e atualmente encontra-se em expansão para outros estados do país. Na Paraíba a literatura existente sobre os casos da doença na população humana e felina ainda é escassa, sendo necessário a elucidação de muitos aspectos epidemiológicos. O que demonstra, a importância do conhecimento gerado através desse estudo, para caracterização da epidemia existente no estado.