

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SALENE ANGELINI COLOMBO

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Sporothrix* spp. ISOLADOS DE
GATOS EM UMA ÁREA EPIDÊMICA NO ESTADO DE MINAS GERAIS -
BRASIL**

BELO HORIZONTE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SALENE ANGELINI COLOMBO

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Sporothrix* spp. ISOLADOS DE
GATOS EM UMA ÁREA EPIDÊMICA NO ESTADO DE MINAS GERAIS -
BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientadora: Prof^ª. Dra. Marial Isabel de Azevedo

Co-orientadora: Prof^ª Dra Kelly Moura Keller

BELO HORIZONTE

2022

C718c

Colombo, Salene Angelini, 1992-

Caracterização molecular de *Sporothrix* spp. Isolados de gatos em uma área epidêmica no Estado de Minas Gerais- Brasil / Salene Angelini Colombo. – 2022.

105f.:il.

Orientadora: Maria Isabel de Azevedo

Coorientadora: Kelly Moura Keller

Dissertação (Mestrado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre em Ciência animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva.

Bibliografias: f. 88 a 103.

1. Felino - Doenças - Teses - 2. Zoonose - Teses - 3. Ciência animal - Teses - I. Azevedo, Maria Isabel de - II. Keller, Kelly Moura - III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD – 636.089 4

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO
SALENE ANGELINI COLOMBO

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina Veterinária Preventiva.

Aprovado(a) em 21 de fevereiro de 2022, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Maria Isabel de Azevedo - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Raquel Virgínia Rocha Vilela

Dr.(a). Roselene Ecco

Dr.(a). Elisa Helena Paz Andrade



Documento assinado eletronicamente por **Maria Isabel de Azevedo, Membro**, em 21/02/2022, às 22:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elisa Helena Paz Andrade, Professora do Magistério Superior**, em 22/02/2022, às 11:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Roselene Ecco, Professora do Magistério Superior**, em 22/02/2022, às 15:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Virginia Rocha Vilela, Professora do Magistério Superior**, em 23/02/2022, às 11:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1256271** e o código CRC **687B2A84**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que na sua infinita bondade esteve comigo, me lembrando do seu amor e fidelidade, que fortaleceram a minha fé e esperança em prosseguir nesta jornada.

À minha família, Cirene, minha mãe, e Kelvin, meu irmão, que embora distantes fisicamente sempre estiveram tão presentes nesse período, cuja palavras de esperança me motivaram a continuar mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos meus avós, Aparecida (em memória) e Antônio, cuja palavras de afeto e amor ficarão para sempre guardadas no meu coração. Sinto em não te ter ao meu lado nesse momento, querida Vó Aparecida!

Ao meu grande amigo, Brendhal, uma amizade que levarei para vida toda. Digo que foi a melhor coisa que me aconteceu na residência. Compartilhamos muitos momentos, às vezes felizes e às vezes tristes... momentos de risadas e momentos de choro, mas que sempre estive ao meu lado nesses quase 4 anos. Eu não teria chegado tão longe sem você ao meu lado, obrigada meu amigo!

À minha família de coração, Evelin e Carol, que compartilhamos não apenas uma casa, mas também a vida, obrigada meninas! As minhas amigas de infância Japas e Cia, cuja os encontros se tornaram raros, mas sempre tão especiais. Que entenderam minha ausência nesse período e que sempre me motivaram a seguir meus sonhos... Amo vocês!

Agradeço, especialmente, à minha orientadora, professora Maria Isabel, que me recebeu da melhor forma possível no laboratório de micologia, me permitindo ter um aproveitamento tão rico desse período e me apresentou esse mundo fantástico da micologia, no qual hoje tenho uma verdadeira paixão, meus sinceros agradecimentos!

Ao Professor Guilherme e toda equipe do laboratório AQUAVET, que me permitiram manter o contato com os animais aquáticos.

Aos meus companheiros de bancada, Luiz e Bruna, no qual compartilhei conhecimento, mas também recebi, obrigada! Aos alunos de iniciação científica que me ajudaram no desenvolvimento do projeto, especialmente a Millena, muito obrigada!

Aos meus companheiros e ex-companheiros de batalha na pós-graduação, Brendhal, Amanda, Bruna, Mariana Sebastiani, Andreina, Mariana e Priscila... Obrigada por todos os momentos de conversa, ensinamento, diversão, pela companhia nos almoços...com toda certeza vocês fizeram desses anos mais leves...

Às professoras Kelly Moura, Camila Bastos, Camila Oliveira, Danielle Magalhães e ao professor João Cunha por toda contribuição com o projeto e formação acadêmica.

À equipe da prefeitura de Belo Horizonte e Contagem, que possibilitaram a realização deste estudo através do fornecimento de amostras.

Às equipes dos laboratórios LAMICO e Epidemiologia, pelo tempo em que dedicaram ao processamento das amostras e análise de dados. Em especial ao residente Gustavo Canesso, agradeço pelos excelentes mapas, que inclusive compartilho neste trabalho!

Ao professor Anderson Rodrigues por toda contribuição com o desenvolvimento da análise molecular e a imensa contribuição no artigo científico.

À Escola de Veterinária e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), por propiciarem a realização do mestrado.

À CAPES, pelo fornecimento da bolsa de estudos, me permitindo dedicação exclusiva no desenvolvimento do projeto de mestrado.

Ao CNPq e FAPEMIG pelos recursos financeiros disponibilizados para execução do projeto de pesquisa.

Aos professores, pós-graduandos, técnicos e funcionários do departamento de medicina preventiva, que fizeram parte da minha vida nesses dois anos, sejam com ensinamentos, com palavras de motivação, com um local de trabalho sempre organizado, limpo e seguro... A vocês meus sinceros agradecimentos!

*“E qual de vós poderá, com todos os seus cuidados,
acrescentar um côvado à sua estatura?”
Mateus 6:27*

RESUMO

A esporotricose é uma zoonose fúngica causada por espécies patogênicas do gênero *Sporothrix*. A rápida progressão da doença no estado de Minas Gerais tem se tornado um crescente problema de saúde pública. Os estudos moleculares na região ainda são limitados. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização molecular de *Sporothrix* spp. circulantes, isolados de amostras clínicas de gatos e cães coletadas durante a epidemia de esporotricose na região metropolitana de Belo Horizonte - Minas Gerais. Para isso, foi realizado o estudo dos casos positivos confirmados por critério laboratorial (n= 756) ao longo de 2017 a 2021, bem como a determinação por métodos moleculares baseados na análise do gene da Calmodulina das espécies patogênicas e suas relações filogenéticas. Foi constatado o aumento no número de casos de novembro de 2017 a julho de 2021 na região, sendo os gatos os mais afetados. *S. brasiliensis* foi detectada em 100% dos isolados de gatos e cães. Considerando a análise filogenética, todos os isolados de *S. brasiliensis* foram agrupados em um clado monofilético. Os dados obtidos nas análises filogenética e haplotípica demonstram que os isolados mineiros compartilharam o haplótipo originado no surto de longa duração de esporotricose transmitida por gatos no estado do Rio de Janeiro, porém, com uma contribuição secundária de genótipos circulantes em outros surtos em diferentes regiões do país. Este é o primeiro estudo que realiza a caracterização molecular de um grande número de isolados clínicos de animais em uma área epidêmica no estado de Minas Gerais. Os achados evidenciam a circulação de diferentes genótipos de *S. brasiliensis* associadas a esporotricose em gatos e cães na região metropolitana de Belo Horizonte. Novos estudos são necessários para estimar a prevalência das espécies de *Sporothrix* no estado de Minas Gerais e as relações envolvidas na evolução da doença em áreas urbanas. Técnicas para rastrear diferenças genéticas no genoma dos genótipos podem contribuir para uma melhor compreensão epidemiológica do agente causador da esporotricose zoonótica e na implementação de ações de controle e prevenção da doença no estado.

Palavras-chave: felino; *Sporothrix brasiliensis*; zoonose; saúde pública; diagnóstico molecular; filogenia; vigilância e controle.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a fungal zoonosis of the genus pathogenic species. The rapid progression of the disease in the state of Minas Gerais has become a growing public health problem. Molecular studies in the region are still limited. In this context, the objective of this work was to carry out a molecular characterization of *Sporothrix* spp. circulating, isolated from samples during the sporotrichosis epidemic in the metropolitan region of Belo Horizonte - Minas Gerais. For this, the study of positive cases confirmed by laboratory criteria (n = 756) was carried out from 2017 to 2021, as well as the determination by molecular methods based on the analysis of the Calmodulin gene of pathogenic species and their phylogenetic relationships. There was an increase in the number of cases from November 2017 to July 2021 in the region, with cats being the most affected. *S. brasiliensis* was detected in 100% of isolates from cats and dogs. Considering the phylogenetic analysis, all *S. brasiliensis* isolates were grouped into a monophyletic clade. The data obtained from the phylogenetic and haplotypic analyzes demonstrate that the isolates from Minas Gerais shared the haplotype originated in the long-term outbreak of sporotrichosis transmitted by cats in the state of Rio de Janeiro, however, with a secondary contribution from genotypes circulating in other outbreaks in different regions of the country. parents. This is the first study that performs the molecular characterization of a large number of clinical isolates from animals in an epidemic area in the state of Minas Gerais. The findings evidence the circulation of different *S. brasiliensis* genotypes associated with sporotrichosis in cats and dogs in the metropolitan region of Belo Horizonte. Further studies are needed to estimate the prevalence of *Sporothrix* species in the state of Minas Gerais and the relationships involved in the evolution of the disease in urban areas. Techniques to track genetic differences in the genome of genotypes can contribute to a better epidemiological understanding of the agent that causes zoonotic sporotrichosis and to the implementation of disease control and prevention actions in the state.

Keywords: feline; *Sporothrix brasiliensis*; zoonosis; public health; molecular diagnosis; phylogeny; surveillance and control.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de isolados clínicos de animais previamente identificados como <i>Sporothrix</i> spp. selecionados estrategicamente de acordo com a localização na Região Metropolitana de Belo Horizonte - Minas Gerais para sequenciamento do gene parcial da calmodulina e análise filogenética.....	56
Tabela Suplementar 1. Hospedeiro, distribuição geográfica e ano dos isolados clínicos de gatos e cães previamente identificados como <i>Sporothrix</i> spp. selecionados para a identificação molecular específica da espécie neste estudo.	72
Tabela Suplementar 2. Relação de espécies, origem geográfica, fonte e números de acesso no GenBank de isolados do gênero <i>Sporothrix</i> spp. com relevância clínica utilizados na análise filogenética do estudo.....	77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Delimitação das espécies pertencentes ao gênero *Sporothrix* com base na análise molecular do gene parcial da calmodulina e suas relações filogenéticas, demonstrando a organização em relação a: Origem dos isolados (1); Complexos de espécies/clados genéticos (2); Reprodução sexual (3); e Nicho ecológico (4). Imagem adaptada de Rodrigues et al., 2020. 25
- Figura 2. Morfologia dos conídios sésseis de espécies patogênicas de *Sporothrix*: (A) *S. brasiliensis* (cepa referência CBS 120339; (B e C); *S. schenckii* (cepa FMR 8608 e FMR 8677, respectivamente); (D) *S. globosa* (cepa referência CBS 120340) e (E) *S. mexicana* (cepa referência CBS 120341). Imagem adaptada de Marimon et al., 2007. 31
- Figura 3. Densidade dos casos positivos de esporotricose em gatos e cães da cidade de Belo Horizonte entre novembro de 2017 e julho de 2021 diagnosticados no Laboratório de Micologia do Departamento de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária (UFMG). 43
- Figura 4. Manifestações clínicas da esporotricose em gatos. (A e B) Presença de múltiplas lesões ulcerativas crostosas em membros; (C) Lesões ulcerativas em face com presença de crostas; (D) Lesão ulcerativa nos membros anteriores (E–G) Lesões ulcerativas em região de nariz; (H) Múltiplas lesões ulcerativas crostosas na cabeça. Imagem adaptada de Etchecopaz et al., 2021. 48
- Figura 5. Fluxograma para o manejo terapêutico da esporotricose felina em áreas endêmicas para doença. Imagem adaptada de Gremião et al., 2021. 59
- Figura 6. Distribuição espacial de isolados de *Sporothrix brasiliensis* selecionados para sequenciamento em área hiperendêmica do estado de Minas Gerais. A origem de cada um dos 24 isolados é mostrada por pontos no mapa. Os dados completos dos isolados são mostrados na Tabela 1. 62
- Figura 7. Árvore filogenética gerada pela união de vizinhos, máxima verossimilhança e máxima parcimônia usando sequências de nucleotídeos parciais do gene que codifica a calmodulina (exons 3-5). Os valores de *bootstrap* (1000 réplicas) foram adicionados aos respectivos ramos (NJ / ML / MP). As espécies são indicadas em cada posição respectiva na árvore filogenética. Bar = total de diferenças de nucleotídeos entre táxons. A caixa de

entrada mostra estatísticas resultantes da máxima parcimônia: CI [índice de consistência; RI [índice de retenção; RCI [índice composto (para todos os sites). Informações adicionais sobre a fonte do isolado podem ser encontradas na Tabela Suplementar 2. . 64

Figura 8. Rede de haplótipos de junção mediana de isolados de *Sporothrix* com base na sequências de nucleotídeos do gene que codifica a calmodulina (éxons 3-5). Isolados de *Sporothrix* recuperados de epizootias mineiras estão representadas no H13, H14 (Sbra 66 BR-MG) e H15 (Sbra 85 BR-MG) haplótipos, representados na figura pelo símbolo de felino. O tamanho da circunferência é proporcional à frequência do haplótipo. Os pontos pretos (vetores medianos) são intermediários ausentes hipotéticos, e as etapas mutacionais são representados por pontos brancos. 65

LISTA DE ABREVIATURAS

AFLP	Polimorfismos de comprimento de fragmento amplificado
AFTOL	<i>Assembling the Fungal Tree of Life Project</i>
BHI	Agar infusão de cérebro e coração (sigla do inglês, <i>Brain Heart Infusion</i>)
BT	Gene da beta tubulina
CAL	Gene da calmodulina
CaM	Proteína calmodulina
CBS	<i>Centraalbureau voor Schimmel Cultures</i> - Holanda
CEVUH	Células endoteliais da veia umbilical humana
CMW	Coleção de Culturas do Instituto de Biotecnologia Florestal e Agropecuária (FABI)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EF1 α	Gene associado ao fator de alongamento da tradução-1 alfa
EPI's	Equipamento de proteção individual
EV	Escola de Veterinária
FeLV	Vírus da leucemia felina
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
FMR	Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde - Espanha
IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
ITS	Espaçador transcrito interno
L-DOPA	Levodopa
LSU	Região de subunidades ribossômicas
MALDI-TOF	Espectrometria de massas em tempo de voo por ionização e desorção a laser assistida por matriz
ML	Máxima verossimilhança
MP	Máxima parcimônia
NJ	<i>Neighbour-joining</i>
PAS	Ácido periódico de Schiff
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RMBH	Região metropolitana de Belo Horizonte – Minas Gerais

RNA	Ácido ribonucleico
pH	Potencial hidrogeniônico
SDA	Agar Sabouraud Dextrose
SNC	Sistema nervoso central
TGF- β 1	Fator transformador de crescimento β 1

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
	2.1 OBJETIVO GERAL	19
	2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	Capítulo 1 - Revisão de Literatura.....	20
	3.1 ASPECTOS RELACIONADOS AO AGENTE ETIOLÓGICO	20
	3.1.1 Taxonomia e diversidade genética do gênero <i>Sporothrix</i>	20
	3.1.2 Epidemiologia da esporotricose: uma abordagem da doença do aspecto mundial ao nacional.....	25
	3.1.3 Caracterização fisiológica e fenotípica das espécies patogênicas do gênero <i>Sporothrix</i>	29
	3.1.4 Fatores de virulência associado às espécies patogênicas do gênero <i>Sporothrix</i>	32
	3.1.5 Produção de Melanina	32
	3.1.6 Termotolerância.....	34
	3.1.7 Dimorfismo térmico	35
	3.1.8 Filogenia do gênero <i>Sporothrix</i>	36
	3.2 ASPECTOS RELACIONADOS A DOENÇA	38
	3.2.1 Patogenia	38
	3.2.2 Manifestações clínicas em humanos e em gatos	40
	3.2.3 Diagnóstico.....	43
	3.2.4 Tratamento da esporotricose.....	46
	3.2.5 Medidas de controle e prevenção	48
4	Capítulo 2: Artigo Científico - Emergência da esporotricose zoonótica devido a <i>Sporothrix brasiliensis</i> em Minas Gerais, Brasil: uma abordagem molecular atual para a doença animal.	51
	RESUMO.....	51
	4.1 INTRODUÇÃO	52
	4.2 MATERIAL E MÉTODOS	54
	4.2.1 Levantamento de casos positivos de esporotricose com diagnóstico laboratorial.....	54

4.2.2	Diagnóstico molecular.....	54
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
4.4	REFERÊNCIAS.....	66
4.5	TABELA SUPLEMENTAR.....	72
5	DISCUSSÃO GERAL.....	82
6	CONCLUSÃO.....	86
7	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	87
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
9	ANEXO.....	104

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Sporothrix* compreende um grupo de 53 espécies, dentre as quais um pequeno agrupamento é capaz de causar infecções em hospedeiros mamíferos (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016; RODRIGUES et al., 2020). Desde a descoberta da primeira espécie do gênero em 1898, *Sporothrix schenckii*, apenas a mesma era associada à transmissão da esporotricose por plantas e solo (SCHENCK, 1898). No entanto, em 2007 com o avanço dos estudos moleculares descobriu-se que quatro espécies patogênicas estavam envolvidas na disseminação da doença (MARIMON et al., 2006, 2007). Atualmente as espécies do gênero *Sporothrix* são classificadas de acordo com a relação filogenética. O clado patogênico engloba os principais agentes causadores da esporotricose humana e animal, com alto potencial de causar infecção, como *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei*, embora, eventualmente, a esporotricose possa ser causada por outras espécies ambientais de baixo potencial patogênico, pertencentes ao clado ambiental, como *S. chilensis*, *S. mexicana* e *S. pallida* (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016; RODRIGUES et al., 2020).

Esta descoberta teve um impacto significativo na abordagem clínica e no diagnóstico da esporotricose visto que esses agentes fúngicos divergem de acordo com sua distribuição geográfica, nicho ecológico, rotas de transmissão, aspectos clínicos, virulência e suscetibilidade antifúngica (RODRIGUES et al., 2013, 2014a; ALMEIDA-PAES et al., 2014; DELLA TERRA et al., 2017; GREMIÃO et al., 2017; MACÊDO-SALES et al., 2018).

A esporotricose é uma doença de distribuída mundialmente cuja epidemiologia clássica já é bem compreendida, no entanto ao longo dos últimos 21 anos uma alteração no perfil epidemiológico pôde ser observada (RODRIGUES et al., 2020). O papel dos gatos na propagação da doença é um fator essencial para a compreensão da evolução da esporotricose em áreas urbanas (MONTENEGRO et al., 2014). A doença em gatos já foi relatada em alguns países, como Alemanha (SCHEUFEN et al., 2015), Estados Unidos (REES; SWARTZBERG, 2011), Índia (YEGNESWARAN et al., 2009), México (BOVE-SEVILLA; MAYORGA-RODRÍGUEZ; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, 2008), Malásia (KANO et al., 2015), Peru (KOVARIK; NEYRA; BUSTAMANTE, 2008) e Japão (NAKAMURA et al., 1996), mas a situação epidemiológica de nenhum outro país se compara a observada no Brasil (GREMIÃO et al., 2017).

S. brasiliensis é uma espécie emergente e até 2018 era considerada restrita a casos em humanos e animais no Brasil (CÓRDOBA et al., 2018; ETCHECOPAZ et al., 2020; RODRIGUES et al., 2020). Dentre as espécies causadoras da esporotricose, incluídas no clado clínico, a espécie se destaca pela alta virulência em humanos e vem sendo relatada como causadora de casos severos e atípicos não só em pacientes imunossuprimidos como em pacientes imunocomprometidos (ALMEIDA-PAES et al., 2014; DELLA TERRA et al., 2017; MIALSKI et al., 2018; MATOS et al., 2019; DO MONTE ALVES et al., 2020; CRUZ et al., 2021). Os casos humanos estão diretamente relacionados aos casos em animais (PAIVA et al., 2020). *S. brasiliensis* foi a espécie que melhor se adaptou ao hospedeiro felino (RODRIGUES et al., 2013). As características fisiológicas e comportamentais dos gatos fazem deles a principal fonte de infecção para humanos e outros animais (BARROS et al., 2004; RODRIGUES et al., 2013).

Um estudo recente apontou que em áreas urbanas a proximidade de humanos com gatos com esporotricose, bem como a frequência dos casos em gatos dentro da área, são fatores de risco para a disseminação da doença para outros animais e humanos, o que sugere que a ocorrência da doença na população de gatos pode ser usada como um indicador de alerta dos casos de esporotricose humana (PAIVA et al., 2020). Em Belo Horizonte, no estado de Minas Gerais, entre o período de 2016 a 2019, 346 casos gatos e 135 humanos foram reportados. Nesse mesmo período, a incidência média anual de esporotricose humana no município foi de 1,343 por 100 mil habitantes, superando áreas consideradas endêmicas para doença no país (PAIVA et al., 2020).

Até o momento não há dados consistentes sobre espécies circulantes associadas a casos em animais e humanos no estado de Minas Gerais. Estudos anteriores baseados em dados moleculares evidenciaram a ocorrência de quatro espécies circulantes no sudeste do Brasil, *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. mexicana* (RODRIGUES et al., 2014a; DE CARVALHO et al., 2021a). Este cenário epidemiológico levanta questões sobre a contribuição de outras espécies para a disseminação da doença e sua relação na transmissão animal-humano. Embora a melhoria na taxa de identificação laboratorial verificada recentemente tenha corroborado na melhor compreensão dos aspectos clínicos e epidemiológicos da esporotricose zoonótica, estudos voltados ao estabelecimento de métodos padronizados de isolamento e identificação laboratorial, incluindo o uso de estratégias de identificação molecular são necessários para estimar a prevalência e distribuição das espécies circulantes em áreas epidêmicas para doença do país. Os estudos disponíveis com abordagem molecular ainda são escassos na região de Minas Gerais e

quando disponíveis utilizam um número limitado de isolados (LECCA et al., 2020; PAIVA et al., 2020; MOREIRA et al., 2021). Assim, a utilização de ferramentas moleculares poderá fornecer dados dos isolados sobre a diversidade molecular, distribuição geográfica e espectro de hospedeiros, dados fundamentais para estudos epidemiológicos futuros na região e no país.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a caracterização molecular de isolados clínicos de *Sporothrix* spp. de gatos e cães circulantes em animais da região metropolitana de Belo Horizonte – Minas Gerais (RMBH).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a frequência e a distribuição de *Sporothrix* spp. presentes nas amostras clínicas de gatos e cães diagnosticadas na RMBH durante os anos de 2017 a 2021;
- Verificar a densidade de diagnósticos laboratoriais positivos no território do município de Belo Horizonte;
- Realizar identificação molecular dos isolados clínicos de espécies patogênicas de *Sporothrix* spp. provenientes de gatos e cães na RMBH;
- Realizar o estudo filogenético entre os isolados a partir do sequenciamento da do gene parcial da calmodulina (CAL);
- Avaliar o grau de variabilidade intraespecífica dentro das espécies patogênicas do gênero *Sporothrix* com base na rede de haplótipos entre isolados de gatos obtidos da RMBH e de outras localidades do país;

3 CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS RELACIONADOS AO AGENTE ETIOLÓGICO

3.1.1 Taxonomia e diversidade genética do gênero *Sporothrix*

O gênero *Sporothrix* é constituído por um grupo de fungos dimórficos pertencentes a divisão Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Ophiostomatales e família Ophiostomataceae (GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999). Até o momento o gênero compreende 53 espécies, grande parte destas são consideradas sapróbias da natureza, no entanto algumas espécies são patogênicas para humanos e animais (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016; RODRIGUES et al., 2020). *Sporothrix schenckii* foi a primeira espécie identificada do gênero em 1898 por Benjamin Schenck. O fungo foi isolado originalmente de um quadro de infecção na mão de um homem adulto no hospital Johns Hopkins em Baltimore, nos EUA. A infecção progrediu com comprometimento linfático do braço, apresentando múltiplos abscessos e lesões supurativas refratárias ao tratamento. Na época, o isolado foi classificado pelo micologista Erwin F. Smith como pertencente ao gênero *Sporotrichum* (Basidiomycota: Polyporales) (SCHENCK, 1898). Dois anos depois, um relato de caso, também nos EUA, de um paciente de cinco anos de idade com abscessos subcutâneos semelhantes ao descrito por Schenck (1898), foi publicado. Os autores propuseram a utilização de uma nova nomenclatura para o fungo, reclassificando-o como *Sporothrix schenckii* (HEKTOEN; PERKINS, 1900). No entanto, divergências surgiram em relação a classificação taxonômica do gênero e a nova nomenclatura foi considerada inválida.

Em 1903, a doença foi descrita pela primeira vez na França por Beurmann e Ramond, associada a uma nova espécie de fungo, *Sporotrichum beurmanni* (BEURMANN; RAMOND, 1903). Porém, nos anos seguintes as semelhanças entre *Sporotrichum beurmanni* e o agente descrito por Schenck (1898) foram evidenciadas por Matruchot (1910), o que levou a reclassificação dos isolados como *Sporotrichum schenckii* (MATRUCHOT, 1910).

Quase uma década depois da descoberta do fungo, a primeira ocorrência de infecção natural animal-animal foi descrita no Brasil, por Lutz e Splendore em 1907. Neste mesmo período, Lutz e Splendore relataram a ocorrência da esporotricose humana no país e descreveram um achado inédito. Os autores observaram a formação extracelular

de corpos estrelados em exsudato purulento obtido da lesão de uma mulher. Esse achado foi denominado de formação de corpo asteroide e devido a isso uma nova espécie foi denominada *Sporotrichum asteroides* (LUTZ; SPLENDORE, 1907).

Ao longo dos anos muitas “novas espécies” foram descritas na literatura como sinônimos da atual *Sporothrix schenckii*. Como exemplo, *Sporotrichum equi* por Carougeau em 1909 para denominar o agente causador da esporotricose espontânea em equinos (PAGE; FROTHINGHAM; PAIGE, 1910). Outros sinônimos encontrados na literatura são: *Sporotrichum jeanselmei* Brumpt e Langeron 1910; *Sporotrichum councilmani* Wobach 1917; *Sporotrichum grigsby* Dodge 1935; *Sporotrichum fonsecai* Filho 1930; *Sporotrichum cracoviense* Lipinski 1928; *Rhinocladium schencki* Verdun e Mandoul 1924; *Rhinotricum schenckii* Ota 1928 (GBIF Secretariat, 2021). No entanto, um estudo realizado por Carmichael (1962) demonstrou que o novo fungo descrito por Schenck (1898) não era similar à espécie chave do gênero, *Sporotrichum aureum*, evidenciando se tratar de um novo gênero, como proposto anteriormente por Hektoen e Perkins (1900). Porém, apenas em 1974 o gênero *Sporothrix* foi aceito e a primeira espécie foi validada como *Sporothrix schenckii*, em homenagem a Benjamin Schenck (DE HOOG, 1974). Assim, várias espécies foram removidas do gênero *Sporotrichum* por mostrarem similariedade com *S. schenckii* e passaram a ser consideradas na literatura como uma única espécie.

Tradicionalmente a taxonomia de fungos era baseada em características morfológicas reprodutivas. Um sistema de nomenclatura dual era aplicado considerando a morfologia das estruturas reprodutivas sexuadas e assexuadas. As características sexuais eram consideradas preeminentes para a classificação das diferentes espécies fúngicas (GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999). Durante anos a espécie *Ophiostoma stenoceras* foi considerada o morfo tipo sexual do *S. schenckii* (TAYLOR, 1970; DE HOOG, 1974). A primeira associação entre as espécies foi descrita por Mariat e colaboradores em 1971 (MARIAT, 1971). Nos anos seguintes diversos estudos foram publicados, mas foi apenas em 1974 que Hoog apresentou em sua monografia a descrição sistemática de 12 espécies de *Sporothrix* juntamente com seus estados sexuais de *Ophiostoma* sp. (DE HOOG, 1974).

Com o advento das técnicas moleculares, o sistema dual foi substituído e as informações genéticas passaram a ser consideradas como critério principal para classificação sistemática de fungos (GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999). Um estudo, baseado na análise de sequências do espaçador transcrito interno (ITS) do RNA

ribossômico, evidenciou que as espécies *O. stenoceras* e *S. schenckii* eram distintas geneticamente, sugerindo não se tratar do morfo sexual anteriormente descrito para o gênero *Sporothrix* (DE BEER et al., 2003). Com base nessa hipótese, um estudo analisou sequências de DNA de quatro regiões fúngicas distintas de espécies de *Sporothrix* e *Ophiostoma*, utilizando marcadores moleculares para discriminação em nível de gênero (região de subunidades ribossômicas (LSU) e espaçador transcrito interno (ITS)) e em nível de espécie (gene da beta tubulina (BT) e gene da calmodulina (CAL)) e demonstraram que os morfos assexuados do gênero *Sporothrix* não constituíam uma linhagem monofilética da ordem Ophiostomatales, corroborando com os estudos de De Beer et al., (2003). Os autores concluíram que nenhuma morfologia sexual é reconhecida para as espécies patogênicas do gênero *Sporothrix*, permanecendo assim até o momento (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016).

Durante anos *S. schenckii* foi considerada a única espécie causadora da esporotricose (MARIMON et al., 2007). Porém, estudos moleculares observaram que os isolados clínicos de *S. schenckii* apresentavam uma alta variabilidade intraespecífica e que os achados se correlacionavam com a origem geográfica dos isolados (MESA-ARANGO et al., 2002; ISHIZAKI, 2003; MARIMON et al., 2006). De Beer et al. (2003) analisaram a diversidade de isolados de *S. schenckii* com base na região ITS e sugeriram que a alta variabilidade observada poderia ser em virtude da existência de mais de uma espécie. Contudo, o estudo apresentou limitações na discriminação entre as espécies quando empregada a região ITS como marcador molecular. Embora essa região seja amplamente aceita como marcador universal para fungos, outros genes podem fornecer dados mais robustos para distinção interespecífica por codificarem regiões mais variáveis (SCHOCH et al., 2012; DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016). Assim, Marimon e colaboradores (2007) realizaram um estudo com 127 isolados de *S. schenckii* e com base na análise fisiológica, morfológica e molecular do gene da CAL descreveram a existência de mais três espécies patogênicas, reclassificando os isolados em: *S. schenckii* stricto sensu, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. mexicana*. Pouco tempo depois, baseado nas mesmas análises, foi proposta a reclassificação de *S. schenckii* var. *luriei* como uma espécie independente, assim, em 2008 foi adicionado ao gênero *S. luriei* (MARIMON et al., 2008). Em 2016, mais uma espécie foi adicionada ao gênero, *S. chilensis*, como um patógeno causador de infecção oportunista em humanos (RODRIGUES et al., 2016).

Durante anos o termo “complexo *S. schenckii*” foi empregado para se referir e agrupar as espécies patogênicas de *Sporothrix* (LÓPEZ-ROMERO et al., 2011;

RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2013; ZHOU et al., 2013). Esse termo faz referência às espécies consideradas criptas, ou seja, aqueles microrganismos que são altamente relacionados taxonomicamente, de difícil distinção e cuja relevância clínica é considerada equivalente dentro do complexo (DE HOOG et al., 2015; CHEN et al., 2016). No entanto, já se tem conhecimento que as diferentes espécies patogênicas de *Sporothrix* exibem comportamentos fisiológicos, biológicos e patológicos distintos (MARIMON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2013, 2014a; ALMEIDA-PAES et al., 2014; DELLA TERRA et al., 2017; GREMIÃO et al., 2017; MACÊDO-SALES et al., 2018). Após a realização de um novo delineamento do gênero *Sporothrix* apoiando-se em dados filogenéticos, foi observada a formação de seis complexos ou clados de espécies bem delimitadas (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016). Grande parte das espécies do gênero são sapróbias e originam-se de fontes variadas, incluindo solo, plantas e insetos. Por essas características, essas espécies se agrupam dentro do clado ambiental, no qual subdividem-se em cinco complexos distintos (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016) (Figura 1).

O **complexo *S. gossypina*** agrupa a maior parte das espécies do gênero, sendo constituído atualmente por 12 espécies (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016), a maioria das quais são associadas a galerias de besouros que infestam árvores coníferas e se destacam por se reproduzirem sexualmente com ampla distribuição mundial, principalmente na América do Norte e Europa (TAERUM et al., 2013; DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016; MUSVUUGWA et al., 2016). Os outros complexos incluem: **Complexo *S. stenoceras*** com seis espécies originadas de madeiras, solos, bulbos de flores e ácaros (DE BEER et al., 2003; DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016); **Complexo *S. inflata*** que contém apenas três espécies descritas associadas a carvalho e solo (DE HOOG, 1978; AGHAYEVA et al., 2005; DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016); **Complexo *S. candida*** que engloba cinco espécies recuperadas de madeiras nobres (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016) e **Complexo *S. pallida***, constituído por cinco espécies isoladas principalmente do solo, no entanto, três dessas espécies já foram descritas eventualmente causando doença em humanos e animais, sendo estas, *S. mexicana*, *S. chilensis* e *S. pallida* (MARIMON et al., 2007; DIAS et al., 2011; MORRISON et al., 2013; RODRIGUES et al., 2016). Grande parte das espécies constituintes do clado ambiental são intimamente relacionadas geneticamente e em virtude da ausência de delimitação interespecífica o termo complexo é mantido na literatura atual (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016).

O termo **Clado clínico** ou **patogênico** é designado para se referir a um grupo de espécies de *Sporothrix* com alto potencial patogênico para humanos e animais. Atualmente quatro espécies são pertencentes a esse clado. *S. schenckii* e *S. globosa* são relatados frequentemente em casos de sapronoses (MARIMON et al., 2007; ZHOU et al., 2013; RODRIGUES et al., 2014b). *S. brasiliensis* é a espécie predominante nos casos de infecção em humanos e animais no Brasil e está associada a transmissão zoonótica (RODRIGUES et al., 2013; BOECHAT et al., 2018). Até o momento, a origem da espécie ainda não está totalmente compreendida, apenas três isolados de *S. brasiliensis* foram recuperados do ambiente, todos os outros isolados são de origem de amostras clínicas de humanos e animais (MARIMON et al., 2007; CÓRDOBA et al., 2018). E, por último, a quarta espécie, *S. luriei*, é um raro patógeno relatado primariamente de infecções clínicas em humanos (MARIMON et al., 2008; AJELLO; KAPLAN, 2009) e, recentemente, em animais (OLIVEIRA et al., 2011a).

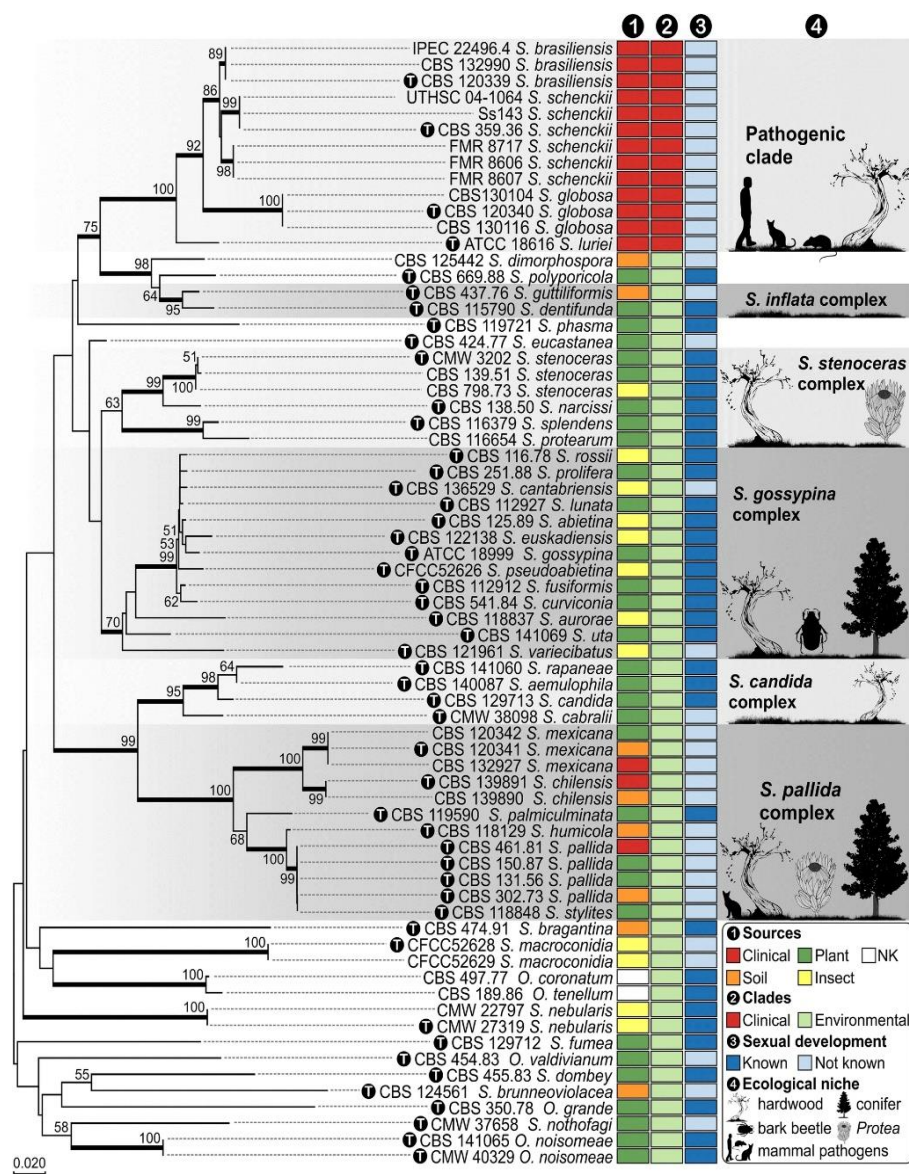


Figura 1. Delimitação das espécies pertencentes ao gênero *Sporothrix* com base na análise molecular do gene parcial da calmodulina e suas relações filogenéticas, demonstrando a organização em relação a: origem dos isolados (1); complexos de espécies/clados genéticos (2); reprodução sexual (3); e nicho ecológico (4). Sigla NK: desconhecido. Imagem adaptada de Rodrigues et al., 2020.

3.1.2 Epidemiologia da esporotricose: uma abordagem da doença do aspecto mundial ao nacional

A esporotricose é uma doença de distribuição mundial, cuja transmissibilidade e epidemiologia está intimamente relacionada às diferentes espécies de interesse clínico (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011; RODRIGUES et al., 2014a). A via clássica de transmissão se dá pela inoculação traumática na pele de conídios fúngicos

causados por detritos contaminados de solo, madeira e matéria orgânica, denominada sapronose (CHAKRABARTI et al., 2015). Por outro lado, a via alternativa ocorre por meio do contato com gatos. A espécie *S. brasiliensis* está associada à infecção animal durante epizootias e apresenta a tendência de evoluir para surtos ou epidemias devido a rápida disseminação espacial do agente durante a transmissão zoonótica (GREMIÃO et al., 2017). Dentro das vias de transmissão e ocorrência da doença, as sapronoses são consideradas cosmopolitas, com maior ocorrência em países com clima tropical e subtropical, de outro modo, a esporotricose zoonótica apresenta ocorrência geográfica delimitada (BARROS et al., 2001; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011; BOECHAT et al., 2018).

Ao longo da história, surtos esporádicos de sapronoses foram documentados. O maior surto já documentado ocorreu na década de 40 na África do Sul, onde três mil garimpeiros foram infectados através do contato com madeiras contaminadas utilizadas como vigas de sustentação em minas (DANGERFIELD; GEAR, 1941). Outro grande número de casos foi relatado nos Estados Unidos no Vale do Mississipi associado a trabalhadores infectados devido ao contato com pinheiros e mudas de musgo em uma área de reflorestamento na década de 80 (DOOLEY, 1997).

As espécies patogênicas do gênero apresentam alto grau de endemidade. Um estudo de filogeografia descreveu 14000 casos de esporotricose humana e animal, no qual a prevalência das espécies patogênicas variou em relação a localidade, evidenciando a predominância de uma espécie distinta na maioria das áreas estudadas. *S. globosa* correspondeu a 99,3% dos casos relatados na Ásia, *S. schenckii* correspondeu a 94% dos casos na Austrália e África do Sul, e a 89% no oeste da América do Sul, Central e América do Norte. Em contrapartida, no sudeste da América do Sul, *S. brasiliensis* foi a espécie predominante em 88% dos casos em gatos e humanos (ZHANG et al., 2015).

S. schenckii é a espécie mais antiga do gênero associada a infecções adquiridas durante atividades laborais, em áreas rurais ou peri-urbanas (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Em virtude disso, a doença foi chamada popularmente como “doença do jardineiro”, uma vez que esses profissionais eram ocasionalmente acometidos através da inoculação traumática de conídios fúngicos durante a manipulação de solo, madeira e matéria orgânica contaminados com o fungo (CHAKRABARTI et al., 2015). *S. globosa*, em relação a *S. schenckii*, apresenta alta prevalência na Ásia e na Europa e em menor proporção nas Américas (MADRID et al., 2009; SONG et al., 2013; CAMACHO et al., 2015). *S. globosa* é considerada endêmica na China e vem sendo

relatada como causadora de surtos na região nordeste deste país (SONG et al., 2013; YU et al., 2013). De outro lado, *S. luriei* tem sido descrito em raros casos em humanos na África, Índia e Itália, e um único caso animal no Brasil (ALBERICI et al., 1989; PADHYE et al., 1992; AJELLO; KAPLAN, 2009; OLIVEIRA et al., 2011a).

No Brasil, os primeiros casos de esporotricose zoonótica constam da década de 1950, no entanto, foi a partir da década de 1990 que os casos da doença começaram a aumentar no Rio de Janeiro e atingiram níveis epidêmicos, contabilizando até 2012 mais de 4.000 casos humanos. Esses casos foram diagnosticados pelo Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)/Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), sendo o maior surto de esporotricose zoonótica já registrado no mundo (SILVA et al., 2012). Desde então, casos da doença em humanos e animais tem sido relatados em diversos estados brasileiros e apresenta um status de epidemia devido a rápida disseminação do agente nas regiões Sul e Sudeste e a recente expansão para o Norte do país, através da região Nordeste (RODRIGUES et al., 2013; MONTENEGRO et al., 2014; BOECHAT et al., 2018; VALERIANO et al., 2020; DA CRUZ BAHIENSE ROCHA et al., 2021; DE OLIVEIRA BENTO et al., 2021; SPANAMBERG et al., 2021). Até pouco tempo, acreditava-se que *S. brasiliensis* estava restrito a casos no Brasil, no entanto, relatos recentes demonstraram a emergência do patógeno em casos em humanos e gatos associados a esporotricose zoonótica na Argentina (ETCHECOPAZ et al., 2020).

Em Belo Horizonte, Minas Gerais, os primeiros casos de esporotricose foram notificados no distrito administrativo Barreiro em 2015, e a partir de então houve um aumento alarmante na ocorrência da doença no município e na região metropolitana. Um estudo realizado em Belo Horizonte evidenciou a ocorrência de 343 casos de esporotricose felina e 135 de esporotricose humana, no período de 2016 a 2019, sugerindo que a proximidade de gatos com esporotricose, bem como a quantidade de casos nestes animais em uma área são fatores de risco para a propagação da doença para outros animais e humanos (PAIVA et al., 2020). Adicionalmente, um estudo realizado também no distrito administrativo do Barreiro, em Belo Horizonte, entre o período de 2016 a 2018 relatou 54 casos humanos e 118 casos em gatos de esporotricose, demonstrando que a maioria dos gatos afetados pela doença tiveram acesso a rua e que os casos humanos foram, em sua maioria, registrados em áreas com alta prevalência da esporotricose felina (LECCA et al., 2020).

Um cenário similar tem sido observado em Contagem, cidade localizada próximo a Belo Horizonte. No período de 2017 a 2018, foram relatados 103 casos de gatos

positivos distribuídos em todos os distritos sanitários do município. No estudo, 34% das amostras positivas para *Sporothrix* spp. foram submetidas à identificação molecular e em todas elas foi confirmada a espécie *S. brasiliensis*, sendo essa espécie a provável causadora do surto naquela localidade (MOREIRA et al., 2021).

O gato é a espécie animal mais afetada pela doença e a principal fonte de infecção para esporotricose em áreas urbanas (BOECHAT et al., 2018). Dentro do perfil clínico-epidemiológico, os gatos machos, não castrados, com acesso irrestrito à rua e comumente sem raça definida, são os mais afetados pela doença (BASTOS DE LIMA BARROS et al., 2004; BOECHAT et al., 2018). Características fisiológicas e comportamentais fizeram deste animal o principal hospedeiro de *S. brasiliensis*, já que estudos demonstram que a temperatura corporal dos gatos exerce um fator essencial de pressão seletiva sobre as espécies patogênicas durante episódios de surto de esporotricose (RODRIGUES et al., 2013). Além disso, a espécie se destaca por apresentar elevada carga leveduriforme nas lesões cutâneas, diferente das outras espécies de mamíferos que também são susceptíveis à doença. Também, o fungo está presente nas unhas e cavidade oral, onde através de arranhaduras, mordedura e/ou do contato direto com lesões ulceradas é possível a transmissão para humanos e outros animais. Esses fatores aliados aos hábitos comportamentais territorialistas e reprodutivos da espécie deixa-os mais expostos à infecção e à transmissão da doença (SCHUBACH et al., 2001, 2004; BASTOS DE LIMA BARROS et al., 2004; SILVA et al., 2012). Acredita-se ainda, que o descarte inadequado de cadáveres de animais que morreram devido a esporotricose é um fator base para disseminação ambiental do fungo (ETCHECOPAZ et al., 2021; MOREIRA et al., 2021).

Em áreas com epizootias de esporotricose felina, *S. brasiliensis* é o mais prevalente em casos humanos, em virtude da transmissão zoonótica, e por isso tem se tornado um problema crescente de saúde pública (RODRIGUES et al., 2013; BOECHAT et al., 2018). Na transmissão zoonótica, o felino inocula a forma leveduriforme, que associado a característica de alta virulência dos isolados de *S. brasiliensis*, quando comparado às outras espécies, levam ao aparecimento de formas mais graves da doença no hospedeiro (ALMEIDA-PAES et al., 2014, 2016b; DO MONTE ALVES et al., 2020; NEPOMUCENO ARAÚJO et al., 2021).

Ao longo da história da esporotricose clássica, a epidemiologia e fatores predisponentes estavam tradicionalmente relacionados a atividades laborais, como floricultura, agricultura, mineração e exploração de madeira, e de lazer e com maior prevalência em indivíduos do sexo masculino (BARROS; DE ALMEIDA PAES;

SCHUBACH, 2011). No entanto, nos últimos anos, uma nova categoria de risco foi identificada, na qual profissionais como veterinários, técnicos, cuidadores e tutores de gatos com esporotricose são considerados mais suscetíveis à contaminação pelo fungo, sendo em sua maioria mulheres, com idade mediana de 40 anos (BARROS et al., 2008; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Além disto, áreas consideradas endêmicas para esporotricose zoonótica, possuem fatores socioambientais que contribuem para a disseminação da doença, como a precariedade sanitária, déficits no sistema de saúde pública e a alta densidade populacional, no qual há uma relação direta entre indicadores socioeconômicos negativos e o avanço da doença na população (ETCHECOPAZ et al., 2021).

3.1.3 Caracterização fisiológica e fenotípica das espécies patogênicas do gênero *Sporothrix*

As espécies de *Sporothrix* spp. são classificadas como organismos eucariotos, heterotróficos, providos de parede celular rica em quitina e imóveis (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Esses agentes apresentam dimorfismo térmico, ou seja, se apresentam na forma filamentosa quando no ambiente e leveduriforme quando parasitária, com a manifestação da doença. Na forma filamentosa, esses fungos possuem como habitat o solo, superfícies de plantas e matéria orgânica em decomposição (CHAKRABARTI et al., 2015). Um estudo demonstrou que a presença de celulose no solo é um fator essencial para o desenvolvimento miceliar, com melhores taxas de crescimento em solos ricos em matéria orgânica com pH variando de 3,5 a 9,4 (TAYLOR, 1970).

Macroscopicamente as colônias *in vitro* de *Sporothrix* spp. cultivadas em ágar extrato de malte e ágar batata dextrose a 26°C apresentam-se na forma filamentosa, frequentemente, de aspecto liso a enrugada, com a coloração inicialmente branca evoluindo para tons variados de marrons a preta, em virtude da melanina (MORRIS-JONES, 2002; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Estudos evidenciaram que genótipos patogênicos são capazes de produzir melanina desde o início do crescimento e isso indica uma relação direta com a virulência do agente (ROMERO-MARTINEZ et al., 2000; ALMEIDA-PAES et al., 2009). Microscopicamente, na forma filamentosa visualizam-se hifas hialinas, septadas de 1 a 2 µm de largura, nas quais observam-se conidióforos terminais e laterais com a presença de conídios de formato

ovoide e demáceos, conferindo-lhes o aspecto popular de “flor de margarida”, que podem ser visualizados soltos e/ou dispostos ao longo de toda a hifa, sendo nestes casos denominados conídios sésseis (HEKTOEN; PERKINS, 1900; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011).

A pigmentação dos conídios pode ser utilizada na discriminação de espécies patogênicas e não patogênicas (MARIMON et al., 2007). Os conídios sésseis e a morfologia podem variar entre as espécies patogênicas de *Sporothrix* (Figura 2). *S. brasiliensis* e *S. globosa* apresentam conídios globosos a subglobosos. Já *S. schenckii* apresenta, em sua maioria, conídios em formato triangular a cuneiforme, no entanto, podem se apresentar em formatos irregulares. *S. mexicana* apresenta conídios com formatos variando de subglobosos, ovoides a elipsoidais (MARIMON et al., 2007). *S. luriei* não apresenta conídios sésseis, nem pigmentação e nos tecidos na forma leveduriforme essa espécie produz grandes células em brotamento e, em sua maioria, septadas, diferenciando-se das demais espécies patogênicas do gênero (MARIMON et al., 2007, 2008).

Na forma parasitária, nos tecidos de mamíferos, o fungo se encontra na forma leveduriforme. Macroscopicamente, as colônias de leveduras em meio infusão de cérebro e coração (*Brain Heart Infusion* - BHI) a 37°C são lisas, castanhas ou de cor creme, não apresentando variação em relação às espécies patogênicas. No aspecto microscópico, as células de leveduras geralmente são redondas a ovais, com diâmetros variando de 2 a 6 µm, e, em sua maioria, apresentam-se em estágio de brotamento, visualizando-se protuberâncias alongadas em forma de charuto com uma base estreita (GARRISON; BOYD; MARIAT, 1975; MORRIS-JONES, 2002).

Em geral, a temperatura ideal para o crescimento das espécies de *Sporothrix* varia de 30 a 37°C (GHOSH et al., 2002). Um estudo avaliou a atividade *in vitro* das principais espécies causadoras da esporotricose, onde *S. globosa* e *S. mexicana* foram mais sensíveis à temperatura, tendo um crescimento máximo em torno de 35°C. Os isolados clínicos de *S. brasiliensis* mostraram melhor taxa de crescimento a 37°C, seguido por *S. schenckii* que mostrou ser capaz de suportar temperaturas mais altas, variando entre 35 a 37°C, no entanto, uma inibição relativa do crescimento foi observada quando foi comparada com a temperatura de 28°C. Todas as espécies tiveram seu crescimento inibido a 40°C (RODRIGUES et al., 2013).

Esse grupo de fungos não é capaz de fermentar carboidratos, mas realizam sua assimilação (GHOSH et al., 2002). Marimon et al. (2007) propuseram uma chave de

identificação para as cinco principais espécies do gênero, considerando a assimilação de três carboidratos principais, sendo estes, sucralose, rafinose e ribitol, A concentração de carboidratos é fator de modulação para produção de melanina em *Sporothrix* spp. O aumento da melanização é diretamente proporcional às concentrações de glicose no ambiente *in vitro* (ALMEIDA-PAES et al., 2009).

Além das variações fisiológicas interespecíficas, diferenças entre as morfologias de uma mesma espécie em relação a condições de crescimento podem ser observadas. *S. schenckii*, na fase leveduriforme, apresenta melhor osmotolerância, crescendo em concentrações de NaCl a 11% e em meios com pH entre 3,0 a 8,5. Em contrapartida, na fase filamentosa suportam crescimento em concentrações de NaCl até 7% e toleram uma variação mais ampla de pH, entre 3,0 a 11,5 (ALMEIDA-PAES et al., 2009). Adicionalmente, os micélios são capazes de se desenvolver em meios contendo cicloheximida a 0,25%, um importante inibidor de síntese proteica em eucariotos (MARIMON et al., 2007).

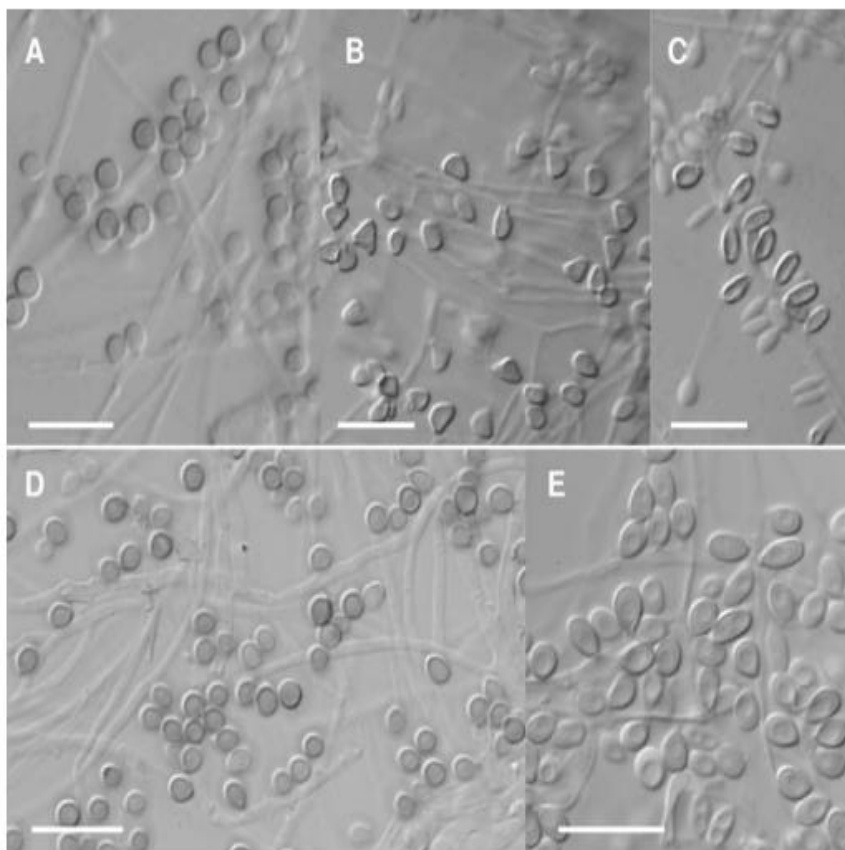


Figura 2. Morfologia dos conídios sésseis de espécies patogênicas de *Sporothrix*: (A) *S. brasiliensis* (cepa referência CBS 120339); (B e C); *S. schenckii* (cepa FMR 8608 e FMR 8677, respectivamente); (D) *S. globosa* (cepa referência CBS 120340) e (E) *S. mexicana* (cepa referência CBS 120341). Imagem adaptada de Marimon et al., 2007.

3.1.4 Fatores de virulência associado às espécies patogênicas do gênero *Sporothrix*

No gênero *Sporothrix* diversas características fenotípicas estão correlacionadas a virulência em espécies patogênicas. Tais fenótipos podem se expressar de forma variável entre as espécies e até mesmo intraespecificamente, o que confere aspectos clínicos distintos na manifestação da esporotricose. Alguns fatores de virulência descrito para este grupo de fungos são melanização, termotolerância, dimorfismo térmico, produção de enzimas, formação de peróxido de ergosterol e formação de biofilme. Estes atuam de forma simultânea durante o processo de invasão dos tecidos, evasão do sistema imune e patogenia da infecção, no entanto, abordaremos os principais fatores de virulência, sendo estes: melanização, termotolerância e dimorfismo térmico (ALMEIDA-PAES et al., 2015).

3.1.5 Produção de Melanina

Os fungos podem sintetizar três tipos distintos de melanina, a DHN-melanina, eumelanina e piomelanina (ALMEIDA-PAES et al., 2009, 2017). No *Sporothrix* spp. a produção de melanina sob condições ambientais e laboratoriais foi relacionada principalmente a via do pentacetídeo 1,8-diidroxi-naftaleno, produzindo a DHN-melanina, a qual é sintetizada principalmente nos conídios, que correspondem a estrutura infectante do fungo, bem como em células leveduriformes quando na forma parasitária (ROMERO-MARTINEZ et al., 2000; MORRIS-JONES et al., 2003). A presença de pigmentos confere aos fungos a capacidade de resistência às variações ambientais e aumenta a sobrevivência tanto no ambiente como no hospedeiro mamífero (ROMERO-MARTINEZ et al., 2000; ALMEIDA-PAES et al., 2015). A síntese de DHN-melanina (pentacetídeo 1,8-diidroxi-naftaleno) é comumente relatada em fungos do filo Ascomycota. De modo geral, a produção se inicia a partir da conversão de acetilcoenzima A (acetil-CoA) ou malonil coenzima A (malonil-CoA), por meio da atividade de um policetídeo, em 1,3,6,8-tetrahidroxinaftaleno. Subsequentemente, uma série de reações de desidratação e redução resultam na produção de 1,8- diidroxi-naftaleno (DHN), o último intermediário na via antes da oxidação/polimerização em melanina (ALMEIDA-PAES et al., 2017). Sob a forma parasitária, as células leveduriforme podem sintetizar além da DHN-melanina, eumelanina e piomelanina, através de substratos pré-existentes fenólicos, como 3,4-di-

hidroxi-1-fenilalanina (L-DOPA) (eumelanina), e L-tirosina (piomelanina) (ALMEIDA-PAES et al., 2009, 2015).

Fatores relacionados ao meio podem influenciar na produção de melanina em *Sporothrix* spp., como temperatura, pH, concentrações de substratos e carboidratos. As reações de glicólise em concentrações elevadas de glicose, resultam no aumento da formação do ácido pirúvico, que após um processo de descarboxilação e oxidação, formam a acetil-CoA, o substrato inicial da via DHN-melanina, que por sua vez intensifica o processo de melanização (ALMEIDA-PAES et al., 2009). Por outro lado, o precursor da eumelanina, a levodopa (L-DOPA), é produzida naturalmente pelos neurônios, sugerindo que em situações parasitárias durante a infecção do sistema nervoso central, como é relatado em quadros de esporotricose sistêmica, as formas leveduriformes poderiam utilizar o substrato para aumentar potencialmente a produção de melanina e conseqüentemente sua virulência *in vivo* (ALMEIDA-PAES et al., 2009, 2015). Complementarmente, estudos sugerem que isolados clínicos de *S. schenckii* podem produzir melanina através de L-DOPA ou outros compostos fenólicos associados à produção de pigmentos pelos melanócitos na pele em quadros de esporotricose cutânea (ALMEIDA-PAES et al., 2009).

In vivo, a melanização das leveduras pode atuar de diferentes formas para sua persistência e instalação da infecção, sendo enumerados três aspectos principais: **I-** a sobrevivência aos mecanismos do sistema imune do hospedeiro é relatada frente a redução na ativação das células de defesa, como células T e macrófagos, e supressão da inflamação, com conseqüente redução da fagocitose (MOHAGHEGHPOUR et al., 2000). Isso foi observado em um estudo, onde células não pigmentadas são facilmente fagocitadas quando comparadas com células produtoras de melanina (ROMERO-CABELLO et al., 2011); **II-** isolados melanizados tendem a causar infecção sistêmica mais facilmente do que isolados amelanóticas (MADRID et al., 2010). A pigmentação das espécies patogênicas é variável, *S. luriei* na forma micelial produz apenas um tipo de melanina, a piomelanina, no entanto, a forma de levedura não é capaz de produzir pigmentos e isso pode explicar o fato da espécie, embora seja capaz de crescer em temperaturas mais altas, apresente baixa frequência em infecções em humanos e animais (CRUZ et al., 2018); e por fim **III-** a melanina é um fator de resistência às drogas antifúngicas. Um estudo demonstrou *in vitro* a capacidade de *Sporothrix* spp. em inibir a ação da anfotericina B e terbinafina após melanização (ALMEIDA-PAES et al., 2016a; MARIO et al., 2016).

3.1.6 Termotolerância

A incidência de doenças fúngicas em mamíferos é relativamente baixa quando comparada a anfíbios e plantas. Acredita-se que a endotermia e homeotermia desses hospedeiros exerça um mecanismo de defesa inespecífico não permitindo que a maioria dos fungos ambientais colonizem e causem infecção (ROBERT; CASADEVALL, 2009). No entanto, nos últimos anos, houve um aumento considerável de casos de infecções fúngicas em humanos, com impactos significativos na saúde pública, principalmente em pacientes imunodeprimidos (RODRIGUES; NOSANCHUK, 2020). As mudanças climáticas vem desempenhando um papel importante na modulação de fatores fenotípicos na população de fungos ambientais, os quais frente a um desafio podem adaptar-se fisiologicamente a temperaturas mais elevadas para colonização de novos *habitats* e possíveis hospedeiros (MEAD et al., 2020). Essa capacidade de tolerar temperaturas elevadas é denominada termotolerância e é um fator de virulência fundamental para fungos patogênicos, permitindo que espécies anteriormente consideradas ambientais, infectem hospedeiros mamíferos. Essa possibilidade de suportar temperaturas mais altas vem sendo observada em uma crescente variedade de espécies, como *Cryptococcus neoformans* (BLOOM et al., 2019), *Aspergillus fumigatus* (BHABHRA; ASKEW, 2005), *Histoplasma capsulatum* (GARFOOT et al., 2018), *Coccidioides posadasii* (RODRIGUES; NOSANCHUK, 2020) e *Paracoccidioides brasiliensis* (CAMACHO; NIÑO-VEGA, 2017).

Durante a infecção por *Sporothrix* spp. a capacidade de desenvolver-se a 37°C exerce uma pressão de seleção sobre a espécie envolvida na doença, capacidade de disseminação e órgãos afetados (RODRIGUES et al., 2013). Dentro do clado patogênico, *S. brasiliensis* e *S. schenckii* são capazes de crescer a 37°C. Em contrapartida, *S. globosa* é incapaz de se desenvolver em temperaturas acima de 35°C (MARIMON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2013).

Um modelo experimental murino evidenciou que camundongos inoculados com isolados de *S. schenckii* originados de casos disseminados da doença desenvolveram lesões mais graves e com menor tempo de evolução quando comparados com camundongos inoculados com isolados clínicos originados de esporotricose linfocutânea, ainda nesse mesmo estudo, lesões brandas e restritas foram observadas nos animais inoculados com isoladas originados de forma clínica cutânea fixa de humanos (KONG et al., 2006). Desse modo, comprova-se que isolados clínicos capazes de crescerem até 35°C

estão associados a manifestações cutâneas fixas, enquanto isolados que apresentam tolerância e crescimento a 37°C podem disseminar-se pela via linfática e hematogênica, levando a quadros de esporotricose extracutânea e disseminada (RODRIGUES et al., 2013; DELLA TERRA et al., 2017; BOECHAT et al., 2018).

Resultados de um estudo recente demonstram que isolados de *S. brasiliensis* classificados com alta termotolerância apresentaram correlação positiva com sinais respiratórios mais graves e comprometimento do estado geral em gatos (BOECHAT et al., 2018). Foi observado que durante a infecção experimental, ao fornecer as mesmas condições para genótipos de *S. brasiliensis* proveniente de diferentes localidades e origens clínicas, esses isolados apresentaram uma variação intraespecífica, em que aqueles isolados altamente patogênicos foram capazes de se disseminar para uma infecção sistêmica, enquanto outra parte dos isolados provocaram apenas uma infecção local (DELLA TERRA et al., 2017). Essa espécie é considerada a mais virulenta do gênero, com alta carga fúngica tecidual e frequentemente vinculado a disseminação sistêmica (DELLA TERRA et al., 2017).

3.1.7 Dimorfismo térmico

O dimorfismo térmico refere-se à capacidade do agente fúngico em transitar da sua forma ambiental filamentosa, para uma forma leveduriforme após a inoculação em um hospedeiro mamífero ou quando submetidos a determinadas condições laboratoriais (RODRIGUES et al., 2013). Em *Sporothrix* essa transição está relacionada a eventos moleculares e celulares dependentes de íons de cálcio, que induzem a síntese de RNA e proteínas na célula fúngica (RODRÍGUEZ-DEL VALLE; RODRÍGUEZ-MEDINA, 1993). O cálcio está presente em diversos eventos celulares, atuando principalmente como mensageiro intracelular em expressão gênica, secreção, motilidade, metabolismo intermediário e atividade do canal iônico (SERRANO; VALLE, 1990; BOOTMAN et al., 2001; BERRIDGE, 2004). Nesse processo, proteínas de ligação ao cálcio modulam a ação dessas moléculas, sendo um dos principais representantes dessa classe de proteínas a calmodulina (CaM) (CHIN; MEANS, 2000; HOOK; MEANS, 2001).

Estudos demonstraram que diante de alterações ambientais, íons de cálcio extracelulares estimulam a transição do micélio para levedura, onde ocorre primariamente a divisão celular e posteriormente inicia-se a formação do brotamento na levedura parental progredindo para septação da célula-mãe e a nova levedura (BETANCOURT;

TORRES-BAUZÁ; RODRÍGUEZ-DEL VALLE, 1985; RODRÍGUEZ-DEL VALLE; RODRÍGUEZ-MEDINA, 1993; VALLE-AVILES et al., 2007). Na patogênese da doença, a forma leveduriforme foi relacionada à manifestação de formas mais graves da doença, na transmissão zoonótica (FERNANDES et al., 2000; RODRIGUES et al., 2013).

3.1.8 Filogenia do gênero *Sporothrix*

Abordagens filogenéticas sobre as espécies patogênicas de *Sporothrix* têm sido alvo de vários estudos nas últimas décadas. Essas investigações se baseiam na utilização de marcadores padrões baseados em genes codificadores de proteínas, tal como o gene da CAL (MARIMON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2013; MONTENEGRO et al., 2014; SUZUKI et al., 2016; CÓRDOBA et al., 2018; MACÊDO-SALES et al., 2018; ETCHECOPAZ et al., 2020; SPANAMBERG et al., 2021), gene associado ao fator de alongamento da tradução-1 alfa (EF1 α) (RODRIGUES et al., 2013; MONTENEGRO et al., 2014; RUDRAMURTHY et al., 2021) e β -tubulina (BT) (RUDRAMURTHY et al., 2021), como também o ITS (ZHOU et al., 2013), a fim de oferecer informações em relação a origem evolutiva e similaridade genética.

Marimon e colaboradores (2007; 2008) demonstraram em seus estudos, baseados na análise molecular do gene da CAL, a formação de clados genéticos específicos das principais espécies patogênicas. Nos achados, o **Clado I** agrupou todos os isolados brasileiros de *S. brasiliensis* em um grupo monofilético. De forma similar, o **Clado III**, constitui-se de um grupo monofilético de isolados de *S. globosa*, com baixa diversidade genética. Em contrapartida, o **Clado II** agrupou apenas isolados de *S. schenckii*, no qual demonstraram uma alta diversidade intraespecífica, evidenciada pela formação de subclados altamente delimitados, agrupando isolados de diferentes localidades geográficas, como Reino Unido, Estados Unidos, América do Sul e África do Sul (MARIMON et al., 2007).

Grande parte dos estudos filogenéticos disponíveis atualmente utilizam como marcador molecular o gene parcial da CAL. Alguns fatores levaram a seleção desse marcador, podendo ser enumerado: **I-** Presença do gene em todos os eucariotos; **II-** Regiões codificadoras são altamente conservadas; **III-** Poucas variações em regiões codificantes em sequências de *Sporothrix* spp. fornecem dados para delimitação interespecífica. Assim, essa análise é considerada o método padrão ouro para

discriminação interespecífica do gênero *Sporothrix* (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2015).

Estudos realizados utilizando este marcador molecular em isolados clínicos de *S. brasiliensis* provenientes de casos humanos e animais do Brasil, corroboraram com os resultados observados por Marimon et al. (2007), revelando que, com base nesse marcador, *S. brasiliensis* é uma linhagem clonal com baixa diversidade genética. Esses dados apoiam a hipótese de um evento de seleção originado no Rio de Janeiro, considerado o epicentro da doença no Brasil, seguido de rápida expansão clonal para áreas adjacentes dentro do estado do Rio de Janeiro e para estados vizinhos, como São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (OLIVEIRA et al., 2011b; RODRIGUES et al., 2013, 2014a; MONTENEGRO et al., 2014; MACÊDO-SALES et al., 2018; JESUS, 2020). Recentemente, foi relatada a ocorrência de surtos por *S. brasiliensis* na Argentina, nos quais observou-se na análise filogenética empregando o gene da CAL a mesma clonalidade entre isolados de humanos e felinos, onde todos os isolados agruparam-se em um clado monofilético, juntamente com isolados clínicos do Brasil (ETCHECOPAZ et al., 2020, 2021).

Dados epidemiológicos publicados por Rodrigues et al. (2013), ao utilizar o marcador molecular EF1 α , evidenciaram a circulação de dois genótipos distintos associados a transmissão zoonótica de *S. brasiliensis*, um originado no Rio Grande do Sul e outro no Rio de Janeiro. O genótipo circulante no Rio de Janeiro é o mais antigo e foi detectado em isolados clínicos de surtos nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná, o que reforça a hipótese da disseminação da espécie a partir do Rio de Janeiro. Adicionalmente, ao avaliar eventos de recombinação utilizando o *loci* da CAL e EF1 α , os pesquisadores constataram, em ambos os casos, a ausência de eventos de recombinação, constatando se tratar de uma espécie clonal circulante no país.

Mais recentemente, um estudo demonstrou ao analisar filogeneticamente isolados clínicos de gatos e humanos da região Sul do país, um subgrupo dentro do clado monofilético de *S. brasiliensis* com isolados clínicos gatos no Rio Grande do Sul (SPANAMBERG et al., 2021). Os autores levantaram a hipótese sobre a ocorrência de diferentes genótipos causadoras da esporotricose zoonótica relacionada a uma variação intraespecífica. Interessante, que outro estudo baseado na tipagem de sequência do genoma completo de *S. brasiliensis* originados de Brasília e do Rio de Janeiro constaram diferenças, tanto na análise filogenética quanto nas genômicas, dos isolados. No qual as duas populações se divergiram geneticamente entre 2,2 e 3,1 milhões de anos atrás,

sugerindo que surtos independentes podem estar ocorrendo em diferentes locais do Brasil (EUDES FILHO et al., 2020). Tal hipótese pode ser reforçada com os achados de Della Terra et al. (2017), que constataram durante a infecção experimental em camundongos uma variação intraespecífica da espécie *S. brasiliensis*.

Neste contexto, estudos recentes demonstraram por meio do uso de polimorfismos de comprimento de fragmento amplificado (AFLP) a presença de padrões de variação de genótipos de *S. brasiliensis* aplicadas no rastreamento do agente em processos epidemiológicos, indicando, ao contrário do que se acreditava, que se trata de uma população com alta diversidade genética (DE CARVALHO et al., 2020, 2021a). O AFLP é uma técnica capaz de rastrear diferenças genéticas entre DNA genômico de genótipos distintos, onde um par de iniciadores é o suficiente para gerar impressões digitais complexas de DNA, e diferentes conjuntos de iniciadores produzirão perfis únicos (DE CARVALHO et al., 2020). Isso traz implicações diretas na clínica e epidemiologia da doença, pois a virulência da infecção é dependente da cepa, onde isolados altamente patogênicos disseminam para uma infecção sistêmica mais facilmente e com uma resposta muito variável aos fármacos de escolha (DELLA TERRA et al., 2017; DE CARVALHO et al., 2021a).

3.2 ASPECTOS RELACIONADOS A DOENÇA

3.2.1 Patogenia

Nas doenças fúngicas invasivas, o primeiro obstáculo encontrado pelos patógenos para o seu estabelecimento e consequente desenvolvimento da infecção são as barreiras do endotélio e as membranas basais (PARK et al., 2004; FILLER; SHEPPARD, 2006). A infecção por *Sporothrix* spp. em mamíferos não se limita apenas ao tecido subcutâneo; formas sistêmicas são relatadas acometendo diversos órgãos, incluindo sistema nervoso central (SNC) (ARRILLAGA-MONCRIEFF et al., 2009; FREITAS et al., 2015; OROFINO-COSTA et al., 2017). Nesse sentido, alguns fatores de virulência associados a gênero *Sporothrix* corroboram para sua translocação entre células endoteliais e epiteliais, invasão e disseminação tecidual e/ou sistêmica (ARRILLAGA-MONCRIEFF et al., 2009).

Na via clássica de transmissão, após a inoculação do conídio na pele, o fungo altera sua forma filamentosa para leveduriforme por meio do estímulo térmico exercido

pela temperatura corporal do hospedeiro. Por outro lado, na via zoonótica há transmissão direta da forma leveduriforme para o novo hospedeiro (SCHUBACH et al., 2004; NASCIMENTO; ALMEIDA, 2005).

A estimulação de endocitose pelas células epiteliais vem sendo relatada como um mecanismo de invasão utilizado por *Sporothrix* spp. durante a infecção (LIMA et al., 2001; FIGUEIREDO et al., 2004). Figueiredo et al. (2004) demonstraram *in vitro* células leveduriformes viáveis internalizadas em células endoteliais após um período de uma hora de incubação pós inoculação em culturas de células endoteliais da veia umbilical humana (CEVUH). Esse processo de endocitose ocorre mediante da atuação de moléculas localizadas nas células leveduriformes que auxiliam no reconhecimento de fibronectinas nas células hospedeiras humanas (LIMA et al., 2001). Essas células fúngicas ainda são capazes de reconhecer outras duas importantes glicoproteínas da matriz extracelular e das membranas basais, o colágeno tipo II e a laminina, respectivamente (LIMA et al., 1999, 2004; TEIXEIRA et al., 2009). A expressão dessas moléculas auxilia na aderência do fungo aos tecidos e disseminação na matriz subendotelial (FIGUEIREDO et al., 2004). Esta habilidade também foi observada em hifas de *S. schenckii in vitro* (LIMA et al., 2004). Além disso, também foi verificada a capacidade de *Sporothrix* spp. de migrar pelo espaço transendotelial, sendo este processo mediado por proteínas da matriz extracelular, principalmente o fator transformador de crescimento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) (FIGUEIREDO et al., 2007). Assim, ambas as vias colaboram para progressão da infecção, favorecendo o agente em alcançar a corrente sanguínea e disseminar-se pela via hematogênica para diversos órgãos (FIGUEIREDO et al., 2004, 2007).

Nascimento e Almeida (2005) descreveram durante a infecção experimental em camundongos BALB/c, monitorados por cultura de órgão, o aumento gradual da carga fúngica sistêmica logo na primeira semana pós infecção. De forma complementar, Arrillaga-Moncrieff et al. (2009) relataram, em camundongos inoculados por via intravenosa, a variação da carga fúngica, diferentes danos teciduais e distintos índices de mortalidade entre as espécies de interesse clínico causadoras da esporotricose. *S. brasiliensis* foi claramente a mais virulenta em todos os parâmetros analisados, seguida de *S. schenckii*, *S. globosa*, *S. mexicana* e *S. pallida* (antigo *S. albicans*), sendo que esta última espécie apresentou de virulência baixa a ausente no modelo animal. Além disso, *S. brasiliensis* foi capaz de espalhar em diversos órgãos, atingindo alta carga fúngica, principalmente, em fígado, rins e cérebro.

A carga fúngica tecidual elevada foi observada nos estágios iniciais da doença, com o decréscimo gradual após 14 dias de início da infecção. Isso indica uma interação entre o agente fúngico e aspectos imunológicos do hospedeiro. A resistência de células de *S. schenckii* durante a doença pode não estar ligada à capacidade natural inata do hospedeiro de controlar a multiplicação e eliminar a carga do patógeno dos órgãos nos primeiros dias da infecção, mas sim devido a uma resposta imune adaptativa desenvolvida tardiamente pelo hospedeiro (NASCIMENTO; ALMEIDA, 2005).

3.2.2 Manifestações clínicas em humanos e em gatos

A apresentação clínica da esporotricose humana varia de acordo com a espécie fúngica e depende de fatores como carga do inóculo, termotolerância, virulência da cepa, estado imune do hospedeiro, via e profundidade de inoculação (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). A doença era classificada de acordo com a localidade das lesões em formas cutânea, mucosa e extracutânea (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). No entanto, com o aumento dos casos humanos e de novas apresentações clínicas, uma atualização foi proposta para a classificação, que compreende as seguintes formas e suas variações: cutânea (cutânea fixa, linfocutânea e inoculação múltipla), mucosa (ocular, nasal e outras), sistêmica (osteoarticular, disseminado cutâneo, pulmonar, neurológico, sepse e outros locais), imunorreativo (eritema nodoso, eritema multiforme, síndrome de Sweet, artrite reativa) e regressão espontânea (OROFINO-COSTA et al., 2017).

O período de incubação da esporotricose humana pode variar entre dias ou meses até o aparecimento das lesões iniciais, sendo considerado um tempo médio de 2-3 semanas (OROFINO-COSTA et al., 2017). Classicamente em humanos, na forma cutânea a infecção geralmente está restrita a pele, tecido subcutâneo e sistema linfático, e se desenvolve a partir da inoculação traumática do fungo na pele (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Quando o desenvolvimento do fungo no tecido subcutâneo é limitado a área de inoculação é denominada cutânea fixa. Essa forma se apresenta clinicamente com lesões nodulares, ulceradas ou eritemoescamosas, de difícil cicatrização, com a presença de secreção purulenta (cancro de inoculação). As lesões cutâneas ainda podem disseminar-se, manifestando a forma clínica cutânea disseminada, caracterizada pela presença de múltiplas lesões na pele, multifocal e sem invasão sistêmica. Até o surgimento da esporotricose zoonótica a forma cutâneo-disseminada era

associada a disseminação por via hematogênica em pacientes imunodeprimidos para tecidos não contíguos (CARVALHO et al., 2002). Porém, tem-se observado uma mudança no perfil epidemiológico dos pacientes, sendo observada essa forma em indivíduos imunocompetentes que relatam múltiplos traumas através do contato com gatos, por meio de arranhões e mordeduras durante o manejo com o animal (DE LIMA BARROS et al., 2003; OROFINO-COSTA et al., 2017).

Com a evolução das lesões cutâneas podem surgir lesões secundárias ao longo dos vasos linfáticos regionais, assumindo um caráter esporotricóide, popularmente conhecido como “colar de pérolas”, que podem ulcerar e fistular, sendo classificada como a forma linfocutânea (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Essa é a forma mais comum em humanos, representando cerca de 80% dos casos, acometendo principalmente membros superiores e inferiores (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006). A esporotricose humana apresenta alta morbidade e, em casos de indivíduos imunodeprimidos, alta mortalidade (ALMEIDA-PAES et al., 2014; FREITAS et al., 2014). As formas extracutâneas sistêmicas são consideradas raras, no entanto quando ocorrem podem afetar diversos órgãos, incluindo articulações, ossos, sistema nervoso central e pulmões (FREITAS et al., 2014; CRUZ et al., 2020). Em pacientes imunodeprimidos a doença assume um caráter oportunista, com curso grave e frequentemente são relatados casos de meningite (GALHARDO et al., 2010; ALMEIDA-PAES et al., 2014). Recentemente, casos atípicos de esporotricose pulmonar primária em pacientes imunocompetentes também foram relatados devido a inalação de conídios (DO MONTE ALVES et al., 2020).

Diferentemente de humanos, em gatos as manifestações clínicas podem se apresentar na forma cutânea, cutâneo-linfática, mucosa e disseminada (SCHUBACH et al., 2004; BOECHAT et al., 2021). O foco inicial da doença pode ocorrer por duas vias principais, classicamente por uma lesão na pele, causando nódulos e lesões cutâneas com ou sem envolvimento de mucosas (SCHUBACH et al., 2004), como também pela via respiratória, através da inalação, causando sinais respiratórios primários e posteriormente disseminando-se pela via hematogênica (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010).

Em gatos, as lesões cutâneas após a inoculação traumática apresentam um período de incubação variável, sendo um tempo médio de 21 dias, no entanto, pode se estender por mais de 80 dias para a ocorrência da manifestação clínica. As lesões cutâneas se apresentam únicas ou múltiplas, principalmente em regiões como face, cabeça e plano

nasal, com aspecto ulcerado, crostosas e com exsudato serosanguinolento (Figura 3) (SCHUBACH et al., 2003, 2004). Em quadros crônicos, os tecidos podem se tornar necróticos, com a exposição de tecidos subjacentes e infecção bacteriana secundária (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010). O hábito da espécie em se lambem e coçar contribui para disseminação do fungo por meio de autoinoculação para outras partes do corpo, como dorso, membros, orelha e base da cauda (SCHUBACH et al., 2001, 2003; SANTOS et al., 2018). Frequentemente o fungo pode disseminar-se da lesão inicial da pele por meio do sistema linfático regional produzindo um quadro de linfangite e linfadenite (SCHUBACH et al., 2004).

Estudos correlacionam uma melhor evolução da doença, com manifestações mais brandas em gatos, com bom estado corporal, apresentando lesões cutâneas localizadas e a presença de granulomas bem formados, na análise histopatológica (DE SOUZA et al., 2018). Por outro lado, o acometimento da mucosa nasal, com sinais respiratórios como tosse, espirros, dispneia e secreção nasal, estão comumente associados a evolução negativa, com comprometimento extracutâneo e, não raramente, o óbito do animal (PEREIRA et al., 2010). Estudos estimaram a frequência das lesões em gatos acometidos por esporotricose e demonstraram que as lesões cutâneas múltiplas são as mais comuns, seguida das lesões em mucosa do sistema respiratório e com menor frequência a forma linfocutânea (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010; BOECHAT et al., 2018; LECCA et al., 2020).

Os gatos representam a espécie mais afetada pela doença e a forma disseminada não é rara em animais imunocompetentes (SCHUBACH et al., 2004). Estudos não demonstraram associação estatística significativa entre manifestações clínicas mais graves em gatos com coinfeção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) e / ou vírus da leucemia felina (FeLV) (SCHUBACH et al., 2004; DE SOUZA et al., 2018). No entanto, Souza et al. (2018) observaram durante o monitoramento do tratamento de gatos com esporotricose uma resposta imune menos eficiente em animais coinfectados por FIV e / ou FeLV quando comparada a gatos não coinfectados, com uma maior carga fúngica e ausência de granulomas bem formados, na análise histopatológica de lesões cutâneas, resultando assim em uma menor capacidade de eliminação do fungo pelo animal.



Figura 3. Manifestações clínicas da esporotricose em gatos. (A e B) Presença de múltiplas lesões ulcerativas crostosas em membros; (C) Lesões ulcerativas em face com presença de crostas; (D) Lesão ulcerativa nos membros anteriores (E–G) Lesões ulcerativas em região de nariz; (H) Múltiplas lesões ulcerativas crostosas na cabeça. Imagem adaptada de Etchecopaz et al., 2021.

3.2.3 Diagnóstico

O diagnóstico da esporotricose pode ser obtido através da correlação de dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Atualmente o método diagnóstico de referência é o isolamento do agente em cultivo a 25°C com posterior conversão para forma de levedura a 37°C (GREMIÃO et al., 2021). Amostras clínicas de humanos e animais como suabes de lesões cutâneas armazenados em meio de transporte, bem como biópsia, aspirado de abscessos,

exudato purulento, líquido sinovial, sangue e líquido cefalorraquidiano (principalmente em humanos) podem ser enviados para cultivo micológico laboratorial (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011).

Espécies patogênicas de *Sporothrix* spp. crescem em diferentes meios de cultura. Para rotina laboratorial, preconiza-se o processamento de amostras clínicas em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol a 10% e Agar Mycosel[®], com posterior incubação a temperatura de 25°C-30°C durante 7-10 dias, para visualização da forma filamentosa e posteriormente incubação em meio BHI a 37°C durante 7 dias, a fim de observar a conversão para forma leveduriforme (MORRIS-JONES, 2002). A identificação do agente é baseada em características fisiológicas, macro e micromorfológicas. Uma sequência de testes fisiológicos, como teste para avaliação das taxas de crescimento fúngico em temperaturas variadas e testes para assimilação de diferentes carboidratos, estão disponíveis para auxiliar na identificação preliminar do gênero e na distinção de algumas espécies (MARIMON et al., 2007). A cultura fúngica apresenta como vantagens a praticidade e o baixo custo, em contrapartida a sensibilidade é variável, dependendo da carga fúngica na lesão e da espécie hospedeira isolada, além disso, o resultado diagnóstico pode levar um tempo médio de 30 dias para ser concluído (GREMIÃO et al., 2021).

Diante disso, métodos alternativos podem contribuir para identificação preliminar da doença. Um método amplamente utilizado no diagnóstico em gatos é a citologia por *imprint* de lesões ulceradas (JESSICA et al., 2015; SANTOS et al., 2018). Esse método consiste na pressão de uma lâmina de vidro sobre uma lesão ulcerada, previamente higienizadas com clorexidina degermante a 2%, em locais distintos da lâmina. Em seguida, após a lâmina seca, procede-se com a coloração pelo método panótico rápido e visualização ao microscópio (SANTOS et al., 2018). Em razão da elevada carga fúngica nessa espécie (SCHUBACH et al., 2004), as leveduras em macrófagos podem ser facilmente visualizadas em amostras positivas (JESSICA et al., 2015). A citologia por *imprint* em gatos apresenta como vantagens a praticidade e alta sensibilidade, acima de 80%, fornecendo resultado prévio a cultura e isolamento fúngico, sem a necessidade de uma estrutura laboratorial complexa para execução (PEREIRA et al., 2011). Por outro lado, para caninos e humanos, o método citológico direto de diagnóstico apresenta limitações devido à baixa carga leveduriforme nas lesões, em comparação a gatos (MORRIS-JONES, 2002; SCHUBACH et al., 2006).

A identificação histoquímica pelo ácido periódico-Schiff (PAS) ou métodos de impregnação pela prata (Grocott Methenamine Silver - GMS) em amostras teciduais

(histopatologia) pode ser aplicada como uma ferramenta diagnóstica complementar para esporotricose (SCHUBACH et al., 2004). Na análise histopatológica, as alterações observadas são caracterizadas por áreas de inflamação granulomatosa ou piogranulomatosa com células leveduriformes em macrófagos (MIRANDA et al., 2013). Em humanos, pode-se observar também estruturas denominadas “corpos de asteróides” ou fenômeno de Splendore-Hoepli, que correspondem a presença de material eosinófilo ao redor da célula fúngica basofílica devido a formação e deposição de complexos antígenos-anticorpos. Semelhante aos métodos de cultura micológica e citopatologia, citados anteriormente, a histopatologia possui sensibilidade diagnóstica limitada em caninos, devido à baixa carga fúngica na lesão (SCHUBACH et al., 2006; DE MIRANDA et al., 2009; QUINTELLA et al., 2011).

Em todos os métodos descritos acima, o diagnóstico se limita apenas na identificação em nível de gênero do agente, até mesmo quando aplicadas chaves de identificação fenotípicas, essas características não são suficientes para diferenciar com precisão as espécies de *Sporothrix*. Nesse sentido, a correlação com técnicas moleculares para delimitação de espécies patogênicas do gênero vem se destacando pela alta sensibilidade, especificidade e rapidez, se comparada às metodologias de cultivo, além das informações genéticas geradas fornecerem dados auxiliares para o desenvolvimento de estudos epidemiológicos futuros (RODRIGUES et al., 2013; RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2015; DELLA TERRA et al., 2021). Atualmente, genes relacionados a *loci* codificadores de proteínas são os mais empregados, pois reconhecem com maior precisão os limites das espécies (MARIMON et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011b; RODRIGUES et al., 2013; CÓRDOBA et al., 2018; MAKRI et al., 2020; RUDRAMURTHY et al., 2021; SPANAMBERG et al., 2021). Dentre estes, o método padrão para discriminação interespecífica se baseia no sequenciamento do gene parcial da calmodulina (MARIMON et al., 2007b, 2008; RODRIGUES et al., 2016). Um estudo apresentou o desenho e a utilização, baseado em regiões informativas do gene parcial da CAL, iniciadores espécie-específico para identificação das espécies de *Sporothrix* pertencentes ao clado patogênico e comprovou ser um método capaz de distinguir de maneira confiável espécies patogênicas do gênero *Sporothrix* (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2015). Outros estudos corroboraram com os resultados, confirmando a eficiência da técnica em diferenciar essas espécies (DO MONTE ALVES et al., 2020; DA CRUZ BAHIENSE ROCHA et al., 2021; SPANAMBERG et al., 2021).

Por fim, outra ferramenta que pode ser aplicada em conjunto com métodos tradicionais é a técnica de espectrometria de massas de tempo de voo associada à ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF). O uso do MALDI-TOF vem se apresentando como método diagnóstico tecnológico na identificação das principais espécies causadoras da esporotricose em isolados clínicos humanos (MATOS et al., 2019; TSHISEVHE et al., 2021).

3.2.4 Tratamento da esporotricose

O estabelecimento de medidas terapêuticas em gatos contribui positivamente para redução da carga fúngica das lesões e, conseqüentemente, para o controle da transmissão zoonótica (GREMIÃO et al., 2021). O sucesso terapêutico vai depender de algumas variáveis como estado geral do animal, localização das lesões cutâneas/mucosas e comprometimento extracutâneo, principalmente respiratório (DE SOUZA et al., 2018). Mais recentemente, foi publicada uma diretriz para o manejo da esporotricose felina, bem como os protocolos terapêuticos atuais preconizados (Figura 4) (GREMIÃO et al., 2021).

O itraconazol é considerado o fármaco de escolha para tratamento da esporotricose animal. Outros medicamentos, como iodeto de potássio e anfotericina B intralesional podem ser usados de forma complementar ou alternativamente, como terbinafina e fluconazol em casos de falha terapêutica e recidivas. A dose de itraconazol recomendada na monoterapia é de 50 mg para gatos entre 1 e 3 quilos e 100 mg para animais com peso superior a 3 quilos, administrados a cada 24 horas. Em casos de animais abaixo de 1kg se recomenda o uso de 25 mg/kg a cada 24 horas. Associação com cápsula de iodeto de potássio na dose de 2,3–20 mg/kg oral tem sido preconizada em relação a monoterapia em gatos (GREMIÃO et al., 2021).

A resposta ao tratamento com itraconazol tem se mostrado satisfatória em gatos. Um estudo observou a cura clínica de dois terços dentre 52 gatos tratados com itraconazol após um tempo médio de 16 semanas, em uma área endêmica do Rio de Janeiro. Além disso, os autores observaram durante o início de tratamento, entre cinco a onze semanas, uma redução significativa na carga fúngica, no número e na distribuição das lesões cutâneas (DE SOUZA et al., 2018). No entanto, estudos apontam maiores taxas de falha terapêutica e óbito em gatos que apresentam o comprometimento nasal (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010). A ocorrência de sinais respiratórios, bem como a presença de lesões em mucosa nasal e lesões cutâneas com alta carga fúngica tem sido

associada frequentemente a falha no tratamento (PEREIRA et al., 2010; BOECHAT et al., 2018; DE SOUZA et al., 2018). Um estudo observou a evolução clínica e histopatológica de gatos submetidos ao tratamento com itraconazol e notaram que gatos mais jovens tiveram uma pior resposta ao tratamento pois continham carga fúngica alta nas lesões cutâneas juntamente com granulomas mal formados, sugestivo de uma resposta imune não eficiente (DE SOUZA et al., 2018).

Embora o tratamento da esporotricose felina apresente resultados positivos, este exige esforços de longo prazo com tempo prolongado de terapia antifúngica e necessitando ainda da manutenção da terapia por um mês após a cura clínica (PEREIRA et al., 2010). Esse tempo pode se estender por até dois meses após a remissão dos sinais clínicos em casos graves com chances de recorrência (ROSSOW et al., 2020). Esses fatores podem resultar em falhas e abandono do tratamento pelos tutores, contribuindo assim para o insucesso terapêutico, progressão da doença, e até mesmo o óbito do animal (PEREIRA et al., 2010).

Em humanos, o tratamento da esporotricose é baseado na forma clínica e estado imunológico do paciente. Atualmente o medicamento de escolha para formas cutânea, linfocutânea e sistêmica sem risco de disseminação é o itraconazol, com a dose variando entre 200-400 mg/dia por um período de três a seis meses (KAUFFMAN et al., 2007; OROFINO-COSTA et al., 2017). Nesses casos pode-se associar a solução supersaturada de iodeto de potássio. Por outro lado, para a forma disseminada com risco de comprometimento da vida e forma pulmonar grave, a anfotericina B é o medicamento de escolha (KAUFFMAN et al., 2007).

Fatores associados ao fungo, como virulência da cepa, produção de melanina, diversidade genética corroboram para resistência *in vivo* do fungo (ARRILLAGA-MONCRIEFF et al., 2009; DELLA TERRA et al., 2017). Isso tem sido evidenciado em humanos, em que *S. brasiliensis* já demonstrou ser capaz de modificar sua virulência durante a infecção e vem apresentando resistência *in vivo* em casos refratários aos fármacos de escolha inicial (ALMEIDA-PAES et al., 2016b; DO MONTE ALVES et al., 2020).

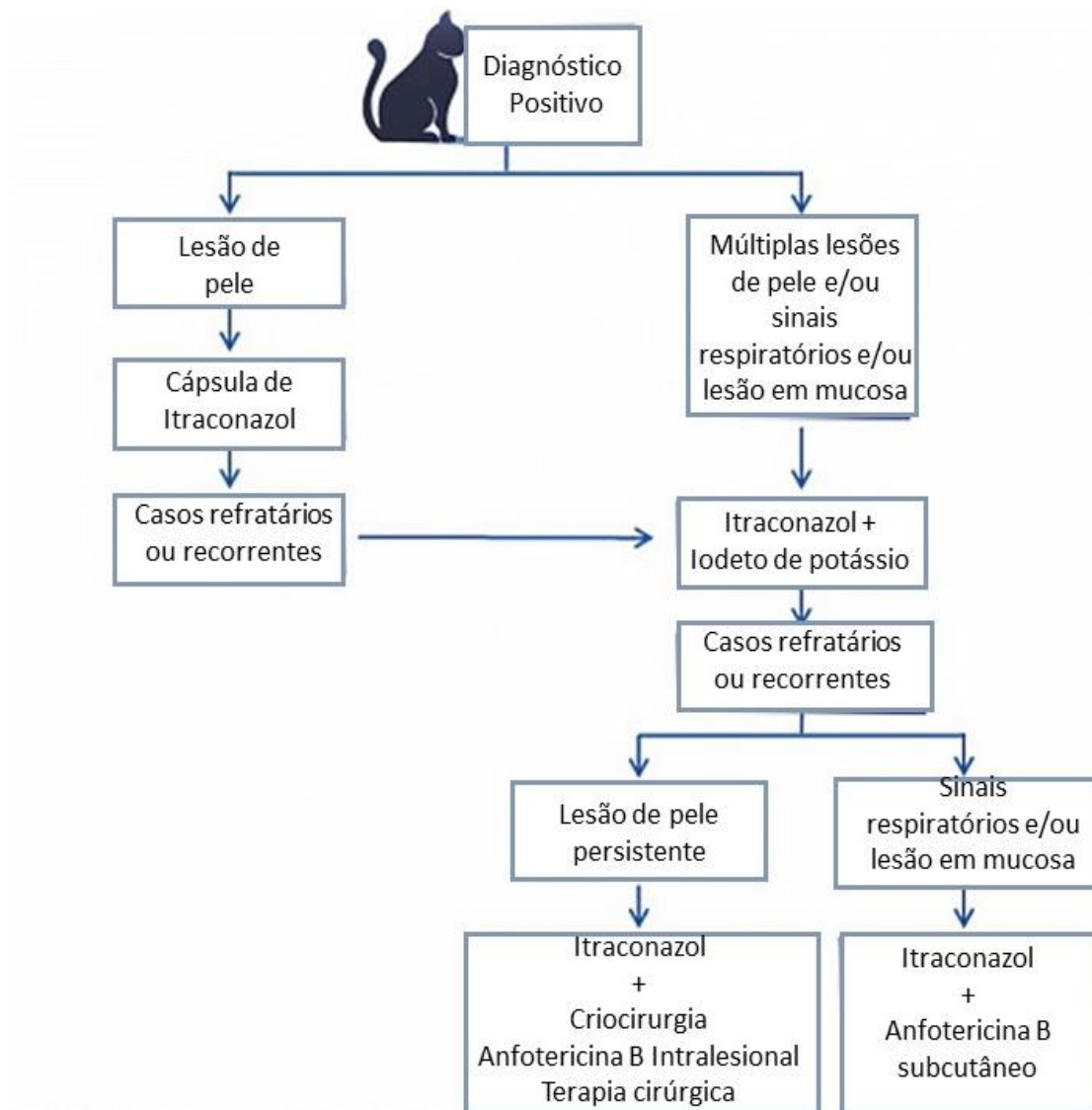


Figura 4. Fluxograma para o manejo terapêutico da esporotricose felina em áreas endêmicas para doença. Imagem adaptada de Gremião et al., 2021.

3.2.5 Medidas de controle e prevenção

Características intrínsecas da esporotricose zoonótica vivenciada nos últimos anos, como adaptação de *S. brasiliensis* ao hospedeiro felino, o surgimento de genótipos mais virulentas, os desafios enfrentados no diagnóstico e tratamento, tornam o cenário desafiador para controlar os impactos deste patógeno na saúde humana e animal (ROSSOW et al., 2020).

Sabe-se que os gatos são um fator central na cadeia de transmissão, porém a notificação da doença em animais não é obrigatória no âmbito nacional, o que torna os

dados de distribuição e incidência subestimados. Algumas unidades federais e municipais passaram a considerar a notificação obrigatória dos casos humanos, como nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, Pernambuco e alguns municípios dos estados de São Paulo e unidade federal do Distrito Federal (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, 2021, 2020, 2018, 2016, 2013).

Há uma necessidade emergencial em desenvolver ações que reduzam a transmissão zoonótica e a disseminação para novas áreas. Isso pode ser obtido através de ações que visem o diagnóstico precoce dos casos humanos e em animais, esforços para educação em saúde, controle da doença na população felina e tratamento acessível (ETCHECOPAZ et al., 2020; ROSSOW et al., 2020). O desenvolvimento de estratégias de controle demanda ações multissetoriais de diversas áreas da saúde no contexto da Saúde Única, contando com a atuação de profissionais como médicos veterinários, médicos, epidemiologistas, microbiologistas, biólogos, agentes de combates a endemias e muitos outros (ROSSOW et al., 2020). Em março de 2018, a Prefeitura de Belo Horizonte publicou o protocolo para enfrentamento da doença, permitindo a notificação dos casos suspeitos e confirmados em humanos, além da ficha de notificação de epizootias, para avaliar o alcance da doença no município.

Dentro de um programa de vigilância, ações de educação em saúde são um elo fundamental, com a conscientização de tutores de animais acerca da posse responsável, castração, destinação adequada dos cadáveres e de medidas de limpezas em espaços públicos e residências que colaboram para redução da disseminação da doença em áreas epidêmicas (SCHUBACH et al., 2005). Nesse sentido, medidas gerais de saúde pública também devem ser adotadas simultaneamente para conter o avanço da doença, com melhorias nas condições de saneamento básico, controle da população de animais errantes, programas de castração e recolhimento de cadáveres seguidos da incineração (SCHUBACH et al., 2005; BARROS et al., 2008).

Os médicos veterinários e seus auxiliares constituem um importante grupo de risco para esporotricose, por isso, medidas de prevenção e controle devem ser estendidas para a prática clínica quando se manipula diretamente animais suspeitos (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Silva et al. (2012) recomendam o uso de equipamentos de proteção individual (EPI's) como luvas de procedimento descartáveis e avental de manga longa descartáveis, e quando na presença de um gato com quadro respiratório, a utilização de máscara facial N95 ou PFF2, óculos de proteção e touca descartável, são aconselháveis. Além disso, é necessária a desinfecção do ambiente e

materiais utilizados para manipulação do animal durante o atendimento ou internação. Desinfetantes como amônia quaternária e hipoclorito de sódio a 1% podem ser empregadas sobre superfícies, devendo deixar o produto agir por 10 minutos, no mínimo (SILVA et al., 2012; SANTOS et al., 2018). Tais recomendações também são aplicáveis no ambiente domiciliar, bem como o isolamento de animais positivos durante o tratamento (GREMIÃO et al., 2021).

4 CAPÍTULO 2: ARTIGO CIENTÍFICO - Emergência da esporotricose zoonótica devido a *Sporothrix brasiliensis* em Minas Gerais, Brasil: uma abordagem molecular atual para a doença animal.

RESUMO

A esporotricose é uma zoonose fúngica negligenciada que vem causando impactos significativos na saúde humana e animal. O diagnóstico preciso, o tratamento e a compreensão da dinâmica de transmissão das espécies de *Sporothrix* são essenciais para mitigar a disseminação dessa doença. Atualmente, a esporotricose transmitida por gatos tem se disseminado no Brasil e se tornou um importante problema de saúde pública. Este estudo teve como objetivo identificar as espécies de *Sporothrix* envolvidas no surto de esporotricose animal na região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e estabelecer inferências filogenéticas sobre esses isolados. Para isso, foi realizado o levantamento dos casos positivos nos últimos quatro anos com cultura comprovada para *Sporothrix* spp. em gatos e cães e aplicou-se a filogenética molecular para investigar a origem do surto. Foi constatado o aumento significativo nos casos de animais de novembro de 2017 a junho de 2021, sendo o gato o hospedeiro mais afetado. *Sporothrix brasiliensis* foi o agente predominante em 100% (n=756) dos casos de gatos e cães, sendo a espécie responsável pelo surto. A análise filogenética e haplotípica confirmou que os isolados mineiros compartilharam o haplótipo originado no surto de longa duração de esporotricose transmitida por gatos no Rio de Janeiro, porém, com uma contribuição secundária de genótipos circulantes em outros surtos no país. Assim, foi apresentado fortes evidências da circulação de diferentes genótipos de *S. brasiliensis* associados à esporotricose animal na região metropolitana de Belo Horizonte. O estudo da epidemiologia molecular pode contribuir para o entendimento da dinâmica de circulação do agente causador da esporotricose zoonótica e colaborar na implementação de ações de controle e prevenção da doença no estado.

Palavras-chave: felino; zoonose; saúde pública; diagnóstico molecular; filogenia; prevenção.

4.1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma zoonose fúngica negligenciada com impactos significativos na saúde humana e animal. Anteriormente era conhecida como a doença do jardineiro e a espécie clássica, *Sporothrix schenckii*, era considerada o único agente patogênico (CHAKRABARTI et al., 2015). No entanto, com o avanço da filogenética e estudos fisiológicos, foi descoberto que os isolados previamente identificados como *S. schenckii* correspondem a várias espécies próximas molecularmente agrupadas em um clado clínico (MARIMON et al., 2006, 2007, 2008). Durante anos, as espécies patogênicas de *Sporothrix* para humanos foram tratadas como um complexo de espécies crípticas com relevância clínica equivalente. Recentemente, com base na análise filogenética, foi proposta uma nova terminologia que se divide em dois grupos principais. O termo clado clínico ou patogênico tem sido sugerido para designar os principais agentes da esporotricose com alto potencial patogênico para humanos e animais, como *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei*. Por outro lado, o clado ambiental inclui espécies com baixo potencial patogênico, mas que podem eventualmente causar a doença, como *S. chilensis*, *S. mexicana* e *S. pallida* (DE BEER; DUONG; WINGFIELD, 2016; RODRIGUES et al., 2020).

No Brasil, o surgimento de *S. brasiliensis* tem levantado preocupações no âmbito da saúde pública devido à transmissão zoonótica (MONTENEGRO et al., 2014; BOECHAT et al., 2018). Os primeiros relatos de esporotricose zoonótica datam de 1950 (FREITAS; MIGLIANO; NETO, 1956). Porém, a partir de 1990, os casos da doença começaram a aparecer no Rio de Janeiro (BARROS et al., 2001). Em 2012, a doença atingiu níveis epidêmicos alcançando mais de 4.000 casos humanos. Este foi o maior surto de esporotricose do mundo já registrado (SILVA et al., 2012). Desde então, casos humanos e animais foram observados em vários estados brasileiros (RODRIGUES et al., 2014a; DE CARVALHO et al., 2021a).

S. brasiliensis é a espécie responsável pela contínua epidemia de esporotricose felina nas regiões Sul e Sudeste e pela recente expansão espacial para o nordeste do país (RODRIGUES et al., 2013; MONTENEGRO et al., 2014; BOECHAT et al., 2018; VALERIANO et al., 2020; DE OLIVEIRA BENTO et al., 2021; SPANAMBERG et al., 2021). Esse fungo tem chamado a atenção por ter sido associado a maior virulência e casos clínicos com manifestações atípicos em humanos, quando comparado às outras espécies (ALMEIDA-PAES et al., 2014, 2016; DO MONTE ALVES et al., 2020). Assim,

devido aos impactos na saúde humana, algumas unidades federais e municipais passaram a considerar a notificação obrigatória dos casos humanos, como nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, Pernambuco e alguns municípios dos estados de São Paulo e unidade federal do Distrito Federal. Porém, para animais, ainda não há notificação nacional obrigatória (SECRETARIA DO ESTADO DA SAÚDE, 2013, 2016, 2018, 2020, 2021).

Os relatos de casos humanos de esporotricose estão diretamente relacionados aos casos em animais, com evidência da transmissão zoonótica. Dentre as espécies patogênicas, *S. brasiliensis* é o agente com melhor aptidão para infectar o hospedeiro felino (RODRIGUES et al., 2013). As características fisiológicas e comportamentais dos gatos fazem deles a principal fonte de infecção para humanos e outros animais (BASTOS DE LIMA BARROS et al., 2004; RODRIGUES et al., 2013). Um estudo recente apontou que a proximidade e a frequência de casos de gatos com esporotricose em uma área geográfica são fatores de risco para a disseminação da doença para outros animais e humanos, sugerindo que a ocorrência da doença na população felina pode ser utilizada como um indicador de alerta precoce de esporotricose humana (PAIVA et al., 2020).

Estudos anteriores evidenciaram a ocorrência de quatro espécies circulando no Brasil, como *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. mexicana* (DE CARVALHO et al., 2021; RODRIGUES et al., 2014). Este cenário epidemiológico levanta questões sobre a contribuição de outras espécies de *Sporothrix* para a disseminação da doença e sua relação na transmissão animal-humano. Até o momento, são escassos os dados de espécies circulantes associadas a casos em animais e humanos no estado de Minas Gerais. Os estudos disponíveis com abordagem molecular usam um número limitado de isolados da região (LECCA et al., 2020; PAIVA et al., 2020; MOREIRA et al., 2021). Assim, o presente estudo teve como objetivo realizar a identificação molecular de isolados clínicos de *Sporothrix* associados à epidemia em curso de esporotricose animal na região metropolitana de Belo Horizonte - Minas Gerais (RMBH), bem como, analisar as relações filogenéticas entre as espécies patogênicas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Levantamento de casos positivos de esporotricose com diagnóstico laboratorial

Foi realizado o levantamento do número de gatos e cães com diagnóstico positivo de esporotricose residentes na região metropolitana de Belo Horizonte no período de novembro de 2017 a julho de 2021. As amostras desses animais foram enviadas para diagnóstico laboratorial de rotina no Laboratório de Micologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). No diagnóstico, as amostras foram previamente semeadas em ágar Mycosel® (Kasvi, Itália) e incubadas a 26°C por 7 dias. Colônias suspeitas de *Sporothrix* spp. foram submetidos à caracterização macro e microscópica primária para identificação. No total, 1.272 amostras foram analisadas ao longo do período, 756 foram diagnosticadas como espécies de *Sporothrix*.

Para representação dos casos positivos ao longo do tempo, os mapas de kernel foram gerados a partir da densidade de pontos georreferenciados de amostras positivas na cidade de Belo Horizonte. Os raios foram calculados subtraindo-se a média do desvio padrão da distância dos pontos da média das distâncias entre eles. Como símbolo, foi utilizada uma faixa de cor em tons de vermelho, onde o tom mais escuro refere-se à maior densidade de pontos e o tom mais claro, conseqüentemente, a menor densidade de pontos.

4.2.2 Diagnóstico molecular

4.2.2.1 Triagem de espécies de *Sporothrix* com PCR espécie-específico

Entre os isolados previamente identificados como *Sporothrix* spp. (n = 756 isolados), 180 isolados foram selecionados para análise molecular (Tabela Suplementar 1). Para isso, os isolados foram submetidos à extração de DNA com o kit FastDNA (MP Biomedicals, Vista, CA, EUA), de acordo com as especificações do fabricante. A identificação molecular foi realizada usando um par de iniciadores espécie-específico direcionados ao gene da calmodulina (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2015). A PCR foi realizada usando pares de iniciadores espécie-específico de *S. brasiliensis* (Sbra-F 5 'GCC CCG TTT GAC GCT TGG-3' e Sbra-R 5 'CCC GGA TAA CCG TGT GTC

ATA AT-3'), considerando que este é o principal agente causador da esporotricose zoonótica na região sudeste do país (RODRIGUES et al., 2013; DE CARVALHO et al., 2021a). Para os isolados negativos para *S. brasiliensis*, as demais espécies patogênicas foram investigadas. As concentrações de reagentes e à amplificação da PCR foram conduzidas de acordo com o método descrito por Rodrigues et al. (2015). Controles positivos das reações foram usados. Os produtos da amplificação foram verificados em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta para observação do tamanho das bandas. Estas amostras estão registradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) sob o número de cadastro AED6C29 (Anexo A).

4.2.2.2 Reação de amplificação e sequenciamento: gene parcial da calmodulina

Vinte e quatro isolados foram selecionados estrategicamente de acordo com a localização do animal para amplificar o gene parcial da calmodulina (Tabela 1). Para isso, os pares de *iniciadores* degenerados CL1 5 'GA (GA) T (AT) CAA GGA GGC CTT CTC-3' e CL2A: 5 'TTT TTG CAT CAT GAC TTG GAC 3' foram usados conforme descrito por O'Donnell et al. (2000), seguindo as condições de ciclagem: um ciclo de 5 minutos a 95 °C, seguido por 35 ciclos de 1 minuto a 95 °C, 1 minuto a 60 °C e 1 minuto a 72 °C, seguido por um ciclo de 10 minutos a 72 °C. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio para verificação da amplificação por meio da visualização das bandas em luz ultravioleta. Os produtos foram purificados com o kit PureLink PCR Purification (Invitrogen) de acordo com as recomendações do fabricante e enviados para sequenciamento.

Tabela 1. Lista de isolados clínicos de animais previamente identificados como *Sporothrix* spp. selecionados estrategicamente de acordo com a localização na Região Metropolitana de Belo Horizonte - Minas Gerais para sequenciamento do gene parcial da calmodulina e análise filogenética.

Código do Isolado	Origem geográfica		Ano	Hospedeiro	GenBank Gene Calmodulina
	Município	Código da Regional Administrativa*			
Sbra 01	Belo Horizonte	4	2018	Felino	OL770362
Sbra 07	Belo Horizonte	8	2018	Felino	OL888131
Sbra 16	Belo Horizonte	9	2018	Felino	OL888132
Sbra 18	Belo Horizonte	4	2018	Felino	OM473284
Sbra 21	Contagem	NA	2018	Felino	OL888133
Sbra 30	Belo Horizonte	5	2018	Felino	OL888134
Sbra 49	Belo Horizonte	5	2018	Felino	OL888135
Sbra 66	Contagem	NA	2018	Felino	OL888136
Sbra 69	Belo Horizonte	5	2018	Felino	OL888137
Sbra 75	Belo Horizonte	7	2018	Felino	OL888138
Sbra 81	Contagem	NA	2018	Felino	OL953006
Sbra 85	Belo Horizonte	3	2018	Felino	OL953007
Sbra 92	Contagem	NA	2018	Felino	OL953008
Sbra 95	Contagem	NA	2018	Felino	OL953009
Sbra 107	Contagem	NA	2018	Felino	OL953010
Sbra 109	Sabará	NA	2019	Felino	OL953011
Sbra 110	Sabará	NA	2019	Felino	OL953012
Sbra 135	Belo Horizonte	4	2019	Felino	OL953013
Sbra 151	Belo Horizonte	9	2019	Felino	OL953014
Sbra 152	Belo Horizonte	7	2019	Felino	OL953015
Sbra 156	Belo Horizonte	4	2019	Felino	OL953016
Sbra 175	Belo Horizonte	2	2019	Felino	OL953017
Sbra 176	Belo Horizonte	9	2019	Felino	OM473285
Sbra 177	Ribeirão das Neves	NA	2019	Felino	OL953018

* Divisão administrativa do município de Belo Horizonte mostrada na Figura 2; NA: Não aplicável.

4.2.2.3 Análise filogenética

A análise filogenética de *Sporothrix* foi baseada no gene da calmodulina, usando *neighbour-joining* (NJ), máxima verossimilhança (ML) e máxima parcimônia (MP). Um total de 123 sequências foram analisadas, das quais 24 sequências recém-geradas em Minas Gerais-Brasil e 99 sequências de referência originadas do banco de dados do NCBI (Tabela Suplementar 2). A filogenia foi conduzida por meio do programa MEGA7 (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016), com o modelo de substituição de nucleotídeos Kimura- 2 parâmetros (K2P + G) (KIMURA, 1980). O suporte dos ramos foi estimado em 1000 réplicas de *bootstrap* (FELSENSTEIN, 1985).

4.2.2.4 Rede de haplótipos e análise de recombinação

A estimativa da diversidade de nucleotídeos (π) e haplótipos (Hd) foi calculada por meio do software DnaSP versão 6 (ROZAS et al., 2017), de acordo com o método descrito por Nei (1987). As regiões de lacuna e os dados ausentes nas sequências de *Sporothrix* não foram incluídos para análise. A análise de haplótipos foi gerada pelo método *Median-Joining* (BANDELT; FORSTER; ROHL, 1999), utilizando o software NETWORK 10.2.0.0 (Fluxus-Technology), conforme descrito por Rodrigues et al. (2014).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora a esporotricose seja uma doença milenar e de epidemiologia bem conhecida, *S. brasiliensis* é considerado um patógeno emergente (RODRIGUES et al., 2020). Ao contrário de outras espécies que estão associadas a sapronoses levando a surtos esporádicos e delimitados, *S. brasiliensis* segue uma transmissão animal-animal e animal-ser humano (RODRIGUES et al., 2013). Este fungo ainda se destaca pela sua adaptação ao hospedeiro felino, o que tem colaborado com a rápida expansão do agente em um curto período (BASTOS DE LIMA BARROS et al., 2004; RODRIGUES et al., 2013; BOECHAT et al., 2018). Os gatos domésticos possuem alta carga de levedura nas lesões, assim como nas unhas e na cavidade oral, podendo transmitir mais facilmente o fungo (SCHUBACH et al., 2001, 2004). Isso foi aprimorado pela maior proximidade dos humanos com os gatos como animais de estimação. Ao mesmo tempo, a inserção pelo tutor de um gato portador da doença também contribui para surtos recentes em áreas previamente livres de doença (DE CARVALHO et al., 2021a; DE OLIVEIRA BENTO et al., 2021).

Em Belo Horizonte, os primeiros casos notificados da doença ocorreram não distrito administrativo do Barreiro em 2015. A região do Barreiro corresponde a maior extensão territorial e a maior população de gatos em comparação com as outras oito áreas da cidade (SANTOS et al., 2018; LECCA et al., 2020). O fungo tornou-se proeminente à medida que o número de gatos infectados aumentou significativamente e surgiram casos humanos (LECCA et al., 2020; PAIVA et al., 2020). Somente na região, entre 2016 e 2018, foram diagnosticados 118 casos de gatos positivos e 56 pacientes humanos (LECCA et al., 2020). Nesse mesmo período, a taxa de incidência anual de esporotricose humana no município era em média de 1,33 por 100.000 habitantes, superando áreas consideradas endêmicas para a doença no país (PAIVA et al., 2020). Foram analisados 756 casos de esporotricose animal por aproximadamente quatro anos. O número de casos aumentou substancialmente ao longo dos anos na cidade de Belo Horizonte (Figura 5). O número mais significativo de casos concentra-se ainda na região distrito do Barreiro. No entanto, casos da doença foram registrados em todas as regiões administrativas do município e cidades próximas, como Contagem, Sabará, Betim e Ribeirão das Neves. No estado do Rio de Janeiro, a doença começou com alguns casos em gatos, sem controle, a doença se espalhou e assume proporções hiperepidêmicas. Inicialmente, a doença se espalhou para áreas adjacentes à Grande Região Metropolitana do Rio de Janeiro,

seguindo sucessivamente para estados vizinhos no Sudeste, Sul e recentemente foi relatada no Nordeste do país, bem como em países vizinhos como Argentina e Bolívia (SILVA et al., 2012; RODRIGUES et al., 2013; MONTENEGRO et al., 2014; MACÊDO-SALES et al., 2018; ETCHECOPAZ et al., 2020; VALERIANO et al., 2020; DE OLIVEIRA BENTO et al., 2021; SPANAMBERG et al., 2021).

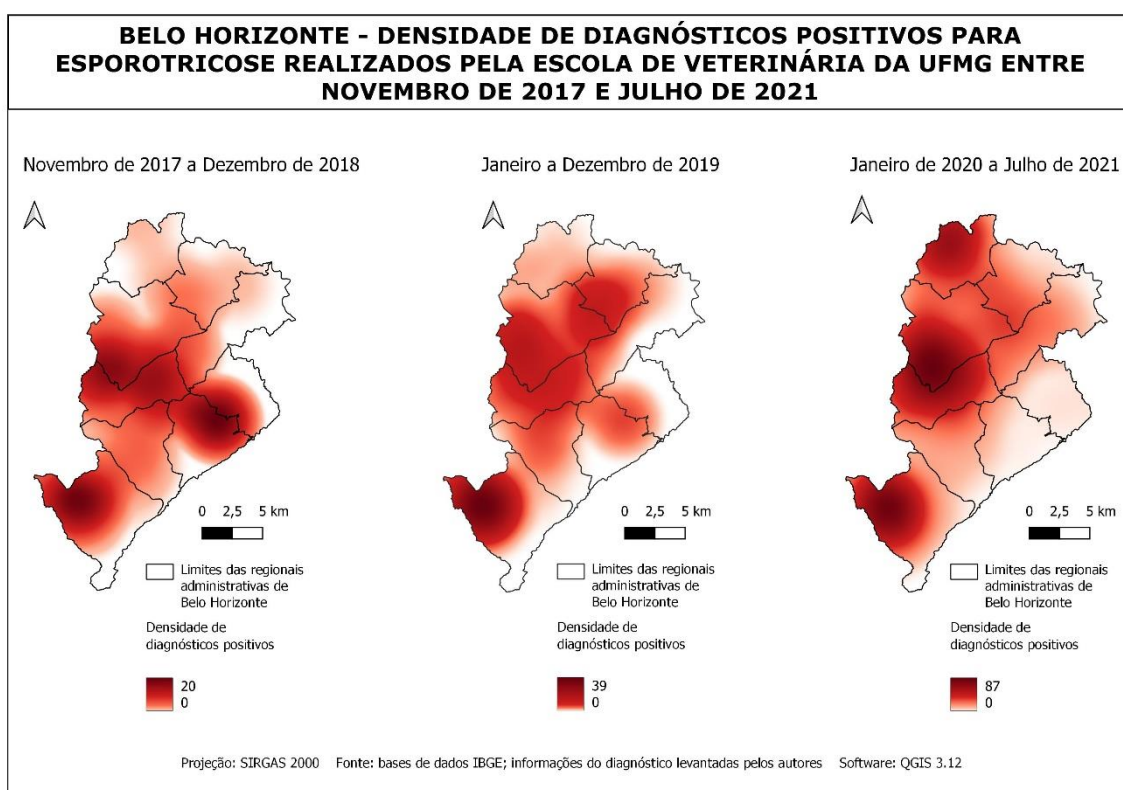


Figura 5. Densidade de diagnósticos positivos de esporotricose em gatos e cães da cidade de Belo Horizonte entre novembro de 2017 e julho de 2021 diagnósticos no Laboratório de Micologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária (UFMG).

A esporotricose é uma doença baseada em um conjunto de fatores. Em áreas urbanas fatores socioambientais adicionais, como falta de saneamento básico, desigualdade econômica e aglomeração urbana, favorecem a manutenção e disseminação da doença (ETCHECOPAZ et al., 2020). No estudo, os 180 isolados identificados foram confirmados molecularmente como *S. brasiliensis*. Esses resultados corroboram outros estudos, apontando *S. brasiliensis* como espécie predominante em epidemias em gatos e humanos no sudeste do país (RODRIGUES et al., 2013; MONTENEGRO et al., 2014; BOECHAT et al., 2018; MACÊDO-SALES et al., 2018; DE CARVALHO et al., 2021a). Em contrapartida, um estudo publicado recentemente demonstrou a ocorrência em uma

aérea endêmica para esporotricose felina uma frequência aproximada de 25% dos casos humanos causados por *S. schenckii* no estado do Espírito Santo, ressaltando que embora a rota zoonótica seja a principal do país, a rota clássica não deve ser excluída (DA CRUZ BAHIENSE ROCHA et al., 2021).

Dos isolados identificados molecularmente, 173 (93,11%) pertenciam a gatos e 7 (6,89%) a cães. Os gatos são a principal fonte de infecção e também os mais afetados pela doença. A esporotricose felina geralmente se manifesta como uma micose subcutânea que progride para infecção sistêmica com alta morbidade e mortalidade (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010; BOECHAT et al., 2018). *S. brasiliensis* é a espécie predominante em gatos (RODRIGUES et al., 2013; DE CARVALHO et al., 2021a). Um estudo mostrou que esta espécie tem a melhor taxa de crescimento vegetativo a 37 °C quando comparada a outras espécies patogênicas (RODRIGUES et al., 2013). Isso sugere que a temperatura corporal mais alta do gato pode ser um fator crítico de pressão seletiva durante os episódios de surto de esporotricose. Embora existam casos descritos por outras espécies patogênicas em gatos causando esporotricose, como *S. schenckii* e *S. pallida*, esses fungos parecem ser menos eficientes na manutenção no gato e no desenvolvimento da doença (OLIVEIRA et al., 2011b; RODRIGUES et al., 2013; SASAKI et al., 2014). No entanto, sua participação na epidemiologia da doença não deve ser subestimada. Nossos resultados estão de acordo com outros estudos, que demonstram alta prevalência de esporotricose causada por *S. brasiliensis* em cães e gatos no país (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2013; MONTENEGRO et al., 2014; BOECHAT et al., 2018; EUDES FILHO et al., 2020; VALERIANO et al., 2020; DA CRUZ BAHIENSE ROCHA et al., 2021; DE CARVALHO et al., 2021a; MOREIRA et al., 2021; SPANAMBERG et al., 2021). Nos últimos anos, houve um aumento no número de casos de esporotricose canina. No entanto, acredita-se que a esporotricose canina ainda seja subdiagnosticada em regiões endêmicas para leishmaniose canina (SCHUBACH et al., 2006; BOECHAT et al., 2021). Ambas as doenças podem se sobrepor na apresentação clínica (SCHUBACH et al., 2006). Isso sugere que o diagnóstico micológico deve ser adotado como um diferencial em cães suspeitos em áreas endêmicas para esporotricose felina, e ensaios moleculares devem ser empregados para especificar as espécies de *Sporothrix* envolvidas (DELLA TERRA et al., 2021).

Sabe-se que as espécies associadas à doença têm implicações clínicas diretas. O diagnóstico da esporotricose em animais e humanos pode ser obtido a partir de testes clínicos e laboratoriais (BARROS et al., 2001; SANTOS et al., 2018). Atualmente, a

cultura é considerada o método de referência para o diagnóstico laboratorial. No entanto, a identificação é limitada em nível de gênero, sendo possível apenas em nível de espécie com técnicas moleculares (DELLA TERRA et al., 2021). Foi relatado que *S. brasiliensis* está associado a casos mais graves em humanos. Estudos têm mostrado a plasticidade da espécie. Nos últimos anos, houve um aumento de pacientes com esporotricose sistêmica, não apenas em imunodeprimidos, mas também em imunocompetentes (ALMEIDA-PAES et al., 2014, 2016b; DO MONTE ALVES et al., 2020; CRUZ et al., 2021; NEPOMUCENO ARAÚJO et al., 2021).

As abordagens filogenéticas têm sido objeto de vários estudos. A maioria dos estudos é baseada em marcadores padrão baseados em genes codificadores de proteínas, como o gene da calmodulina (RODRIGUES et al., 2013, 2014; MONTENEGRO et al., 2014; EUDES FILHO et al., 2020; SPANAMBERG et al., 2021). Na análise filogenética, foram selecionados isolados de diferentes locais distribuídos na RMBH, conforme mostrado na figura 6. Todos os isolados de *S. brasiliensis* de origem clínica foram agrupados em um único clado monofilético. A análise revelou alta confiança na distinção intraespecífica, porém, com este marcador molecular, apresentou baixa diversidade genética para *S. brasiliensis* (Figura 7). Esses resultados são semelhantes aos observados em outros estudos, nos quais os autores caracterizaram os isolados brasileiros como uma espécie predominantemente clonal (RODRIGUES et al., 2013, 2014; MONTENEGRO et al., 2014).

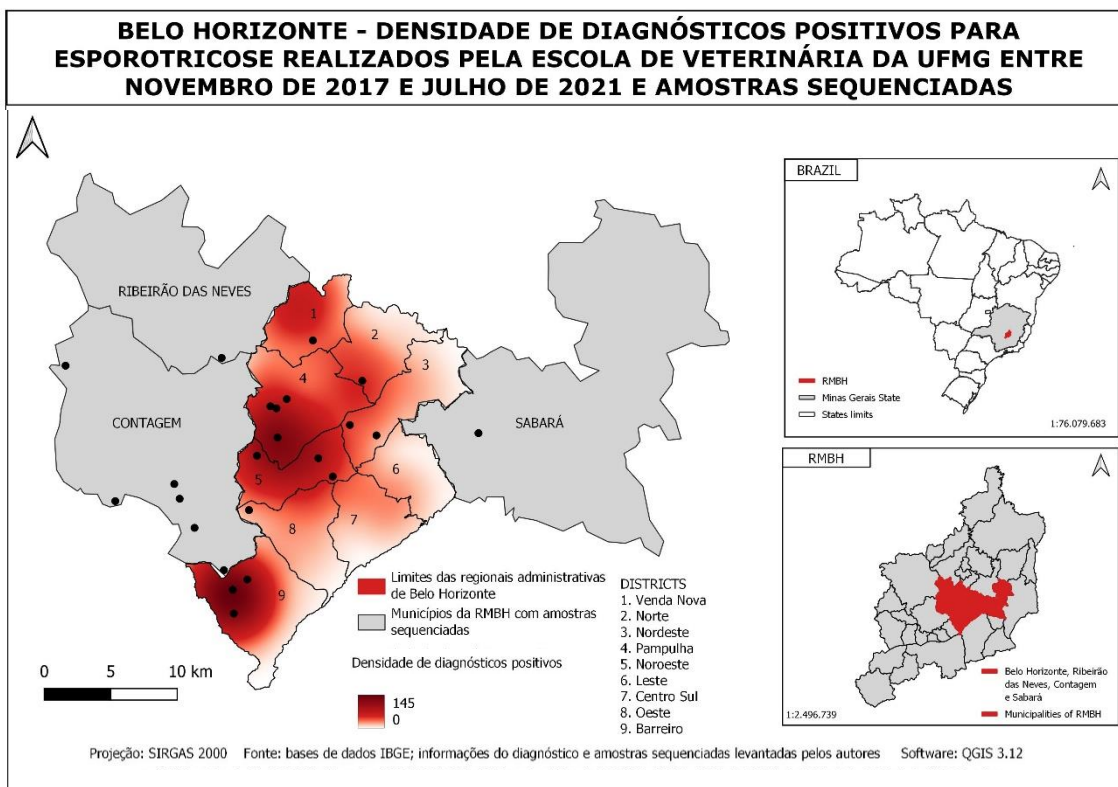


Figura 6. Distribuição espacial de isolados de *Sporothrix brasiliensis* selecionados para sequenciamento em área hiperendêmica do estado de Minas Gerais. A origem de cada um dos 24 isolados é mostrada por pontos no mapa. Os dados completos dos isolados são mostrados na Tabela 1.

Na análise filogenética, foi possível observar pequenos subgrupos dentro do clado de *S. brasiliensis*. Porém, não foi possível fazer inferências filogenéticas devido aos baixos valores de *bootstrap* que sustentam os ramos. Notavelmente, marcadores de polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado revelaram diversidade críptica em *S. brasiliensis*, que está diretamente associada à distribuição de idiomorfos sexuais (DE CARVALHO et al., 2021b), revelando uma estrutura filogeográfica crítica em *S. brasiliensis*; no Rio Grande do Sul há predominância do idiomorfo MAT 1-1 e no Rio de Janeiro e outros estados da região Sudeste há prevalência dos idiomorfos MAT 1-2 (DE CARVALHO et al., 2020, 2021a; DELLA TERRA et al., 2021).

Ao mesmo tempo, em nossa análise, os isolados brasileiros de *S. brasiliensis* foram divididos em nove haplótipos distintos (Figura 8). A maioria dos isolados agruparam-se no haplótipo H13, constituindo um grupo com alta diversidade quanto à origem geográfica. Os isolados são predominantemente da região sudeste, dos quais 22 são originários deste estudo. O segundo haplótipo predominante (H16) é um grupo de isolados em sua maioria provenientes do Paraná, assim como do Rio Grande do Sul e São

Paulo. Um ponto que chama a atenção é a separação dos isolados Sbra 66 do município de Contagem (H5), e Sbra 85 da região Nordeste de Belo Horizonte (H6) em haplótipos distintos. Isso levanta a questão sobre a ocorrência de diferentes genótipos causadoras da esporotricose na região metropolitana de Belo Horizonte.

A hipótese que diferentes genótipos de *S. brasiliensis* podem causar esporotricose felina pode ser explicada por achados recentes que demonstram que a virulência da infecção é dependente da cepa. Isolados altamente virulentos podem se espalhar para uma infecção sistêmica de forma mais eficiente e com uma resposta variável aos medicamentos (DELLA TERRA et al., 2017). Nesse sentido, o estudo se destaca por ser o primeiro que abrange a caracterização molecular de diversos isolados clínicos de gatos e cães em uma área epidêmica no estado de Minas Gerais. Os achados fornecem evidências da circulação de diferentes genótipos de *S. brasiliensis* associadas à esporotricose animal na região metropolitana de Belo Horizonte. Estudos anteriores baseados no genoma de espécies patogênicas de *Sporothrix* spp. têm mostrado resultados promissores para o estabelecimento de padrões de variação de genótipos de *S. brasiliensis* (DE CARVALHO et al., 2020, 2021a). A aplicação dessas diferentes técnicas pode contribuir no entendimento da variação intraespecífica da espécie e pode auxiliar no futuro desenvolvimento de ações de controle e prevenção da esporotricose zoonótica no estado. Portanto, mais estudos são necessários para compreender da variação molecular, distribuição geográfica e evolução dos aspectos epidemiológicos deste fungo e suas implicações clínicas.

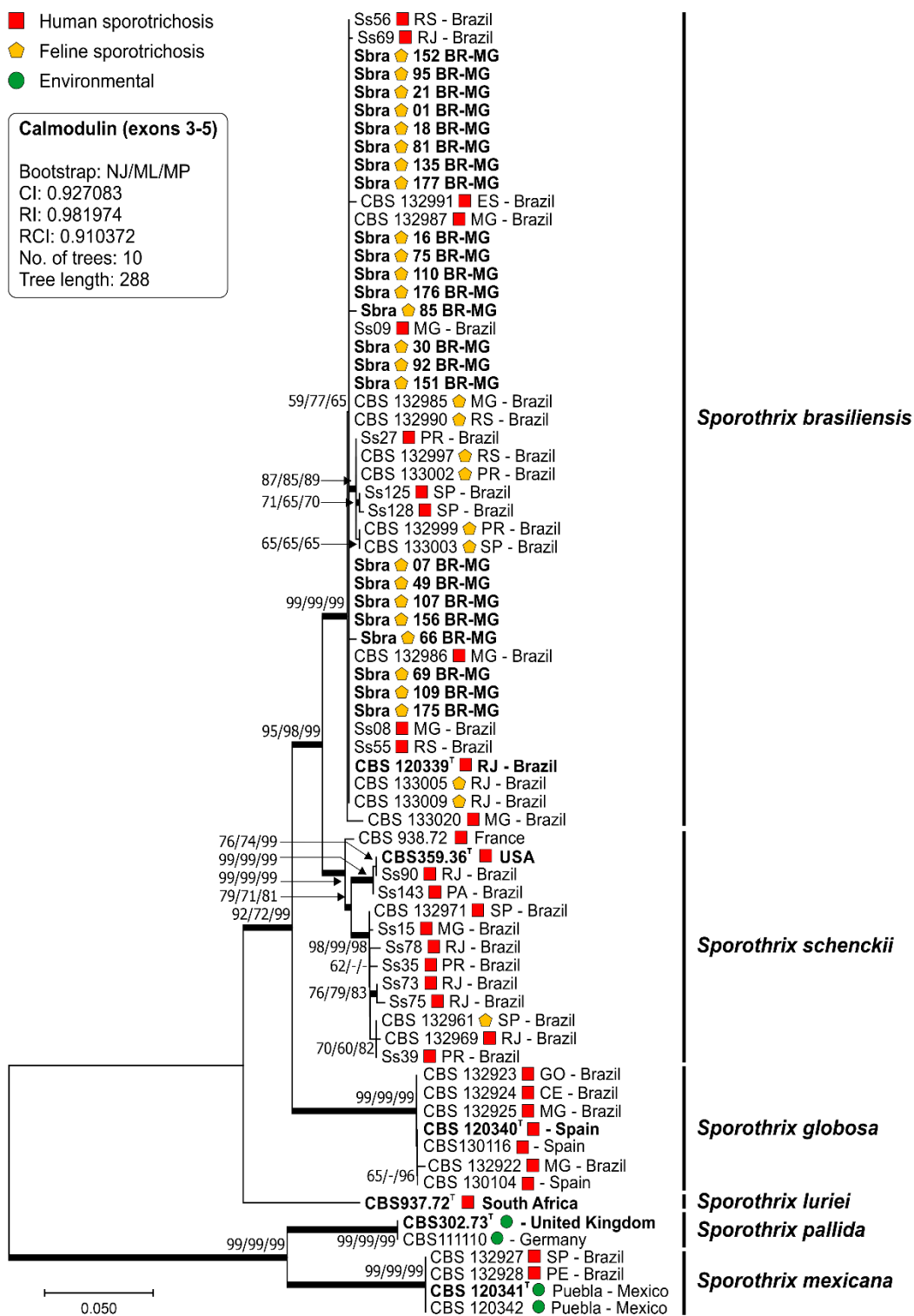


Figura 7. Árvore filogenética gerada pela união de vizinhos, máxima verossimilhança e máxima parcimônia usando sequências de nucleotídeos parciais do gene que codifica a calmodulina (exons 3-5). Os valores de *bootstrap* (1000 réplicas) foram adicionados aos respectivos ramos (NJ / ML / MP). As espécies são indicadas em cada posição respectiva na árvore filogenética. Bar = total de diferenças de nucleotídeos entre táxons. A caixa de entrada mostra estatísticas resultantes da máxima parcimônia: CI [índice de consistência; RI [índice de retenção; RCI [índice composto (para todos os sites). Informações adicionais sobre a fonte do isolado podem ser encontradas na Tabela Suplementar 2.

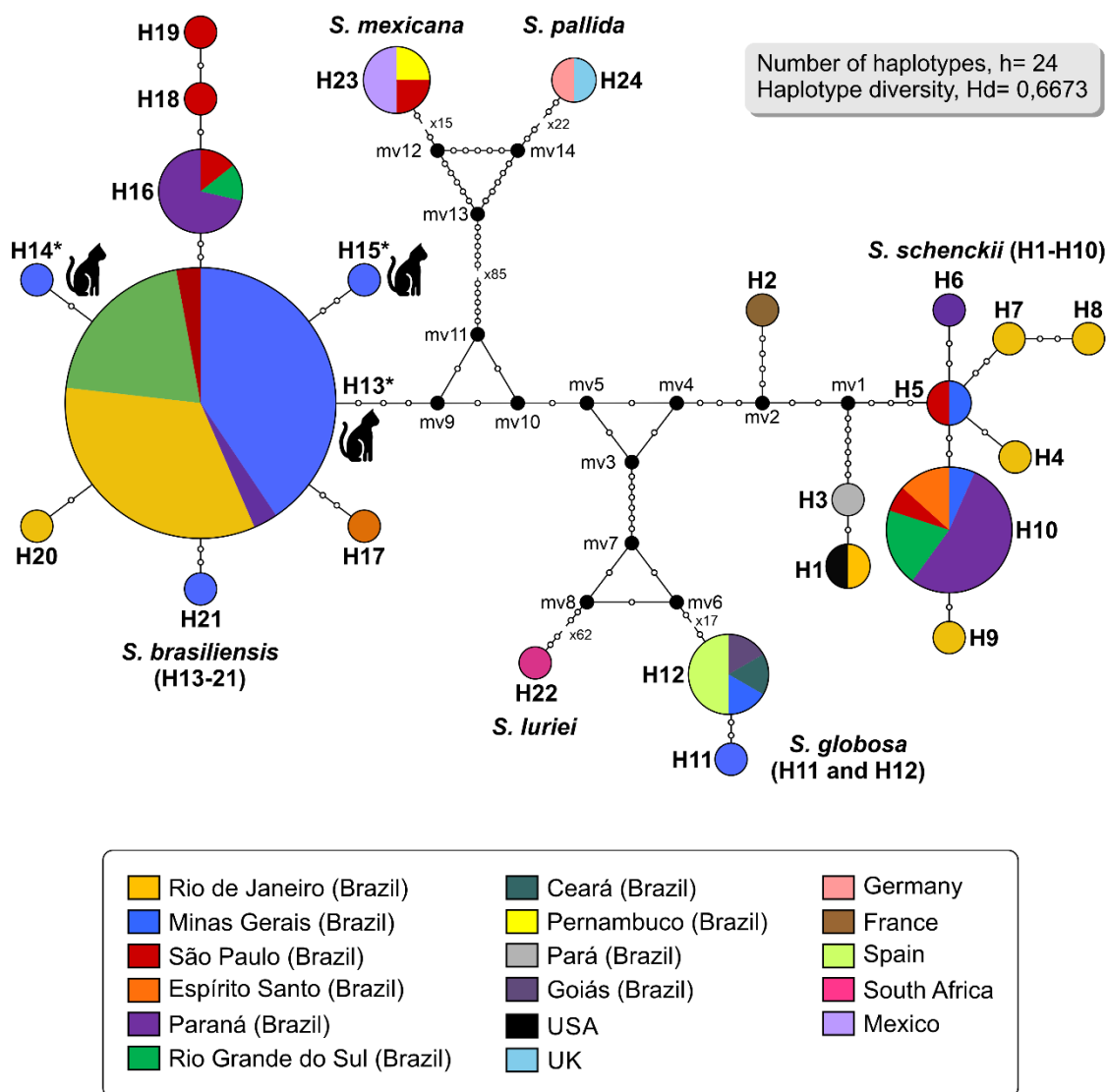


Figura 8. Rede de haplótipos de junção mediana de isolados de *Sporothrix* com base nas sequências de nucleotídeos do gene que codifica a calmodulina (éxons 3-5). Isolados de *Sporothrix* recuperados de epizootias mineiras estão representadas no H13, H14 (Sbra 66 BR-MG) e H15 (Sbra 85 BR-MG) haplótipos, representados na figura pelo símbolo de felino. O tamanho da circunferência é proporcional à frequência do haplótipo. Os pontos pretos (vetores medianos) são intermediários ausentes hipotéticos, e as etapas mutacionais são representados por pontos brancos.

4.4 REFERÊNCIAS

ABDALLA, M. R. et al. Disseminated *Sporothrix brasiliensis* Infection with Endocardial and Ocular Involvement in an HIV-Infected Patient. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 3, p. 477–480, 1 mar. 2012. Disponível em: <<https://ajtmh.org/doi/10.4269/ajtmh.2012.11-0441>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* Is Associated with Atypical Clinical Presentations. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, p. e3094, 18 set. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003094>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Refractory sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in humans appears to be unrelated to in vivo resistance. **Medical Mycology**, p. myw103, 22 out. 2016. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1093/mmy/myw103>>.

BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; ROHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, n. 1, p. 37–48, 1 jan. 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>>.

BARROS, M. B. de L. et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 6, p. 777–779, ago. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762001000600006&lng=en&tlng=en>.

BASTOS DE LIMA BARROS, M. et al. Cat-Transmitted Sporotrichosis Epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: Description of a Series of Cases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 4, p. 529–535, 15 fev. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/381200>>.

BOECHAT, J. S. et al. Feline sporotrichosis: associations between clinical-epidemiological profiles and phenotypic-genotypic characteristics of the etiological agents in the Rio de Janeiro epizootic area. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 3, p. 185–196, mar. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762018000300185&lng=en&tlng=en>.

BOECHAT, J. S. et al. Canine sporotrichosis: polyphasic taxonomy and antifungal susceptibility profiles of *Sporothrix* species in an endemic area in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 135–143, 2 mar. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s42770-020-00328-8>>.

CHAKRABARTI, A. et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 3–14, 1 jan. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1093/mmy/myu062>>.

CRUZ, I. L. R. et al. Evolution of virulence-related phenotypes of *Sporothrix brasiliensis* isolates from patients with chronic sporotrichosis and acquired immunodeficiency

syndrome. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 5–18, 22 mar. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s42770-020-00297-y>>.

DA CRUZ BAHIANSE ROCHA, I. et al. Molecular-based assessment of diversity and population structure of *Sporothrix* spp. clinical isolates from Espírito Santo-Brazil. **Mycoses**, v. 64, n. 4, p. 420–427, 28 abr. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/myc.13230>>.

DE BEER, Z. W.; DUONG, T. A.; WINGFIELD, M. J. The divorce of *Sporothrix* and *Ophiostoma*: solution to a problematic relationship. **Studies in Mycology**, v. 83, p. 165–191, mar. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166061616300033>>.

DE CARVALHO, J. A. et al. Genome-wide mapping using new AFLP markers to explore intraspecific variation among pathogenic *Sporothrix* species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 7, p. e0008330, 1 jul. 2020. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0008330>>.

DE CARVALHO, J. A. et al. Trends in the molecular epidemiology and population genetics of emerging *Sporothrix* species. **Studies in Mycology**, v. 100, p. 100129, set. 2021a. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166061621000166>>.

DE CARVALHO, J. A. et al. A new duplex PCR assay for the rapid screening of mating-type idiomorphs of pathogenic *Sporothrix* species. **Fungal Biology**, v. 125, n. 10, p. 834–843, out. 2021b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187861462100074X>>.

DE OLIVEIRA BENTO, A. et al. The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 8, p. e0009693, 30 ago. 2021. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0009693>>.

DELLA TERRA, P. P. et al. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 8, p. e0005903, 30 ago. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0005903>>.

DELLA TERRA, P. P. et al. Development and evaluation of a multiplex qPCR assay for rapid diagnostics of emerging sporotrichosis. **Transboundary and Emerging Diseases**, 2 nov. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.14350>>.

DO MONTE ALVES, M. et al. Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Northeast Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 5, p. e0008141, 26 maio 2020. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0008141>>.

EUDES FILHO, J. et al. A novel *Sporothrix brasiliensis* genomic variant in Midwestern Brazil: evidence for an older and wider sporotrichosis epidemic. **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n. 1, p. 2515–2525, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1847001>>.

FELSENSTEIN, J. CONFIDENCE LIMITS ON PHYLOGENIES: AN APPROACH USING THE BOOTSTRAP. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783–791, 31 jul. 1985. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>>.

FREITAS, DC, MIGLIANO, MF, ZANI NETO, L. Sporotrichosis. Observation of spontaneous case in domestic cat (*Felis catus*). **Rev Fac Med Vet Univ Sao Paulo**, v. 5, p. 601–604, 1956.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, jun. 1980. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF01731581>>.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870–1874, 1 jul. 2016. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mbe/article/33/7/1870/2579089>>.

LECCA, L. O. et al. Associated factors and spatial patterns of the epidemic sporotrichosis in a high density human populated area: A cross-sectional study from 2016 to 2018. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 176, p. 104939, mar. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587719307597>>.

MACÊDO-SALES, P. 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. 1, p. 19, 18 dez. 2018. Disponível em: <<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1340-4>>.

MARIMON, R. et al. Molecular Phylogeny of *Sporothrix schenckii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 9, p. 3251–3256, set. 2006. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00081-06>>.

MARIMON, R. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 10, p. 3198–3206, 1 out. 2007. Disponível em: <<https://jcm.asm.org/content/45/10/3198>>.

MARIMON, R. et al. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. **Medical Mycology**, v. 46, n. 6, p. 621–625, jan. 2008. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/13693780801992837>>.

MONTENEGRO, H. et al. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, p. 269, 19 dez. 2014. Disponível em: <<http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-014-0269-5>>.

MOREIRA, S. M. et al. Implementation of an Animal Sporotrichosis Surveillance and Control Program, Southeastern Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 3, p. 949–952, mar. 2021. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/27/3/20-2863_article.htm>.

NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics**. [s.l.] Columbia University Press, 1987.

NEPOMUCENO ARAÚJO, M. J. C. L. et al. Case Report: Invasive Sinusitis due to *Sporothrix brasiliensis* in a Renal Transplant Recipient. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, n. 5, p. 1218–1221, 3 nov. 2021. Disponível em: <<https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/105/5/article-p1218.xml>>.

O'DONNELL, K. et al. A Multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. **Mycoscience**, v. 41, n. 1, p. 61–78, jan. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1340354000708333>>.

OLIVEIRA, D. C. et al. Antifungal Susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* Complex Identified in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 8, p. 3047–3049, 1 ago. 2011. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00255-11>>.

PAIVA, M. T. et al. Spatial association between sporotrichosis in cats and in human during a Brazilian epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 183, p. 105125, out. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587720304670>>.

PEREIRA, S. A. et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. **Veterinary Record**, v. 166, n. 10, p. 290–294, mar. 2010. Disponível em: <<https://doi.wiley.com/10.1136/vr.166.10.290>>.

RODRIGUES, A. M. et al. Phylogenetic Analysis Reveals a High Prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in Feline Sporotrichosis Outbreaks. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 6, p. e2281, 20 jun. 2013. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002281>>.

RODRIGUES, A. M. et al. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. **Emerging Microbes & Infections**, v. 3, n. 1, p. 1–10, 25 jan. 2014. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1038/emi.2014.33>>.

RODRIGUES, A. M. et al. *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. **Fungal Biology**, v. 120, n. 2, p. 246–264, fev. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878614615000884>>.

RODRIGUES, A. M. et al. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v. 185, n. 5, p. 813–842, 12 out. 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s11046-020-00425-0>>.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. **PLOS Pathogens**, v. 12, n. 7, p. e1005638, 14 jul. 2016. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1005638>>.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, S.; DE CAMARGO, Z. P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Medical Mycology**, v. 51, n. 4, p. 405–412, maio 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.3109/13693786.2012.719648>>.

RODRIGUES, A. M.; HOOG, G. S. De; CAMARGO, Z. P. De. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. p. 1–22, 2015.

ROZAS, J. et al. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 12, p. 3299–3302, 1 dez. 2017. Disponível em: <<http://academic.oup.com/mbe/article/34/12/3299/4161815>>.

SANTOS, A. F. et al. Guia Prático para enfrentamento da Esporotricose Felina em Minas Gerais Practical. **V&Z Em Minas**, n. 137, p. 16–27, 2018. Disponível em: <<http://www.crmvmg.gov.br/arquivos/ascom/espоро.pdf>>.

SASAKI, A. A. et al. Chromosomal Polymorphism in the *Sporothrix schenckii* Complex. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e86819, 23 jan. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0086819>>.

SCHUBACH, T. M. P. et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 10, p. 1623–1629, maio 2004. Disponível em: <<https://avmajournals.avma.org/doi/10.2460/javma.2004.224.1623>>.

SCHUBACH, T. M. P. et al. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998–2003). **Medical Mycology**, v. 44, n. 1, p. 87–92, jan. 2006. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/13693780500148186>>.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2013. Resolução SES/MG nº 674, de 12 de julho de 2013. Redefine a relação de doenças e agravos de notificação compulsória no âmbito do Estado do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/4364979/4115670/ResolucaoSESN674DE12.07.2013.pdf>. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2016. Resolução SES/PE nº 390, de 14 de setembro de 2016. Redefine a relação de doenças e agravos de notificação compulsória no âmbito do Estado do Rio de Janeiro. Disponível em: https://www.cievspe.com/_files/ugd/3293a8_02b375ede52442ee92b773465b284a0a.pdf. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2018. Resolução SES/MG nº 6.532, de 5 de dezembro de 2018. Adiciona Doenças e Eventos de Saúde Pública de Interesse Estadual à Lista Nacional de Doenças Com Notificação Obrigatória e dá Outras Providências. Disponível em: <http://vigilancia.saude.mg.gov.br/index.php/download/resolucao-no-6532-2018-acrescenta-doencas-agravos-e-eventos-de-saude-publica-de-interesse-estadual-a-lista-nacional-de-doencas-de-notificacao-compulsoria/>. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2020. Resolução SES/SP nº 470, de 1 de dezembro de 2020. Institui, no Município de São Paulo, a notificação compulsória de Esporotricose. Disponível em: <https://www.sinesp.org.br/179-saiu-no-doc/11183-portaria-sms-g-n-470-2020-institui-no-municipio-de-sao-paulo-a-notificacao-compulsoria-de-esporotricose>. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2021. Resolução SES/DF nº 664, de 8 de julho

de 2021. Estabelece a esporotricose como doença de notificação compulsória no Distrito Federal. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=417154>. Acessado em: 27 dezembro de 2021. SILVA, M. B. T. da et al. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, n. 10, p. 1867–1880, out. 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2012001000006&lng=pt&tlng=pt.

SPANAMBERG, A. et al. *Sporothrix brasiliensis* on cats with skin ulcers in Southern Brazil. **Medical Mycology**, v. 59, n. 3, p. 301–304, 4 mar. 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/mmy/article/59/3/301/5908081>.

VALERIANO, C. A. T. et al. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic area: Case series in the northeast of Brazil. **JAAD Case Reports**, v. 6, n. 10, p. 988–992, out. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352512620305610>.

4.5 TABELA SUPLEMENTAR

Tabela Suplementar 1. Hospedeiro, distribuição geográfica e ano dos isolados clínicos de animais previamente identificados como *Sporothrix* spp. selecionados para a identificação molecular específica da espécie neste estudo.

Código do isolado	Ano	Hospedeiro	Município/ Região Administrativa	Bairro
Sbra 01	2018	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Conjunto da Lagoa
Sbra 02	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Dom Bosco
Sbra 03	2018	Felino	Belo Horizonte - Centro-Sul	São Lucas
Sbra 04	2017	Canino	São José da Lapa	São José da Lapa
Sbra 05	2018	Felino	Contagem	Santa Cruz
Sbra 06	2018	Felino	Contagem	Icaivera
Sbra 07	2018	Felino	Belo Horizonte - Oeste	Camargos
Sbra 08	2018	Felino	Contagem	Industrial - São Luís
Sbra 10	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Conjunto Túnel
Sbra 11	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Santa Helena
Sbra 12	2018	Felino	Contagem	Parque Maracanã
Sbra 13	2018	Felino	Belo Horizonte - Norte	São Bernardo
Sbra 14	2017	Felino	Contagem	Riacho das Pedras
Sbra 15	2018	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Santa Mônica
Sbra 16	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 17	2018	Felino	Contagem	São Caetano
Sbra 18	2018	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Glória
Sbra 19	2018	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Glória
Sbra 20	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 21	2018	Felino	Contagem	Novo Riacho
Sbra 22	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 23	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 24	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 25	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 26	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 27	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Santa Helena
Sbra 28	2018	Felino	Contagem	Linda Vista
Sbra 29	2018	Felino	Belo Horizonte - Norte	São Bernardo
Sbra 30	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Caiçara
Sbra 31	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Conjunto Túnel
Sbra 32	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 34	2018	Canino	Belo Horizonte - Oeste	Buritis
Sbra 35	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Lindéia
Sbra 36	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Carlos Prates
Sbra 37	2018	Felino	Contagem	Jardim Laguna
Sbra 38	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Santa Cecília

Sbra 39	2018	Felino	Belo Horizonte - Oeste	Camargos
Sbra 40	2017	Felino	Contagem	Cinco
Sbra 41	2017	Felino	Belo Horizonte - Norte	São Bernardo
Sbra 42	2017	Felino	Contagem	Cinco
Sbra 43	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 44	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Regina
Sbra 45	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 47	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Carlos Prates
Sbra 48	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Vale do Jatobá
Sbra 49	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Carlos Prates
Sbra 50	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Carlos Prates
Sbra 52	2018	Felino	Contagem	Jardim Laguna
Sbra 53	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Vila Pinho
Sbra 54	2018	Felino	Contagem	Novo Riacho
Sbra 55	2017	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Goiânia
Sbra 56	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Lindéia
Sbra 57	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Lindéia
Sbra 59	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 60	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Lindéia
Sbra 61	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Teixeira Dias
Sbra 62	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Bonsucesso
Sbra 64	2018	Felino	Contagem	Vargem das Flores
Sbra 65	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Tirol
Sbra 66	2018	Felino	Contagem	Cinco
Sbra 69	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Santa Cruz
Sbra 70	2018	Felino	Contagem	Capim Rasteiro/ Retiro
Sbra 71	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	São Salvador
Sbra 72	2017	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Nova Santa Cecília
Sbra 73	2018	Felino	Contagem	São Luiz
Sbra 74	2018	Felino	Belo Horizonte - Norte	São Bernardo
Sbra 75	2018	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Bandeirantes
Sbra 76	2018	Felino	Belo Horizonte - Centro-Sul	São Lucas
Sbra 77	2018	Felino	Contagem	Parque Industrial
Sbra 79	2018	Felino	Contagem	Petrolândia
Sbra 80	2018	Canino	Belo Horizonte - Noroeste	Santa Maria
Sbra 81	2018	Felino	Contagem	Industrial
Sbra 82	2018	Felino	Contagem	Novo Riacho
Sbra 83	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 84	2018	Felino	Contagem	Alvorada
Sbra 85	2018	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Cidade Nova
Sbra 87	2018	Felino	Belo Horizonte - Leste	São Geraldo
Sbra 88	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Olaria
Sbra 89	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Dom Bosco

Sbra 90	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	São Salvador
Sbra 92	2018	Felino	Contagem	Funcionários
Sbra 93	2018	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Vila Pinho
Sbra 94	2019	Felino	Belo Horizonte - Norte	Floramar
Sbra 95	2018	Felino	Contagem	Petrolândia
Sbra 96	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	São Luiz
Sbra 97	2019	Felino	Belo Horizonte - Leste	Horto
Sbra 98	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Lindéia
Sbra 99	2018	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Carlos Prates
Sbra 100	2019	Felino	Contagem	Riacho
Sbra 101	2019	Felino	Contagem	Oitis
Sbra 102	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 103	2018	Felino	Contagem	Vila Vaquinha
Sbra 104	2019	Felino	Contagem	Contagem
Sbra 105	2019	Felino	Contagem	Linda Vista
Sbra 107	2018	Felino	Contagem	Retiro
Sbra 109	2019	Felino	Sabará	Sabará
Sbra 110	2019	Felino	Sabará	Sabará
Sbra 111	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Vila Pinho
Sbra 113	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Barreiro de Baixo
Sbra 114	2019	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Padre Eustáquio
Sbra 115	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Olaria
Sbra 117	2019	Felino	Belo Horizonte - Centro-Sul	São Lucas
Sbra 118	2019	Felino	Contagem	Nova Contagem
Sbra 119	2019	Felino	Contagem	Praia
Sbra 121	2019	Felino	Contagem	Novo Riacho
Sbra 122	2019	Felino	Belo Horizonte - Oeste	Palmeiras
Sbra 123	2019	Felino	Contagem	Novo Riacho
Sbra 124	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Olaria
Sbra 126	2019	Felino	Contagem	Cinco
Sbra 127	2019	Felino	Contagem	Novo Eldorado
Sbra 129	2019	Felino	Contagem	Quintas Coloniais
Sbra 133	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Santa Terezinha
Sbra 134	2019	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Coqueiros
Sbra 135	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Santa Terezinha
Sbra 136	2019	Felino	Contagem	Novo Eldorado
Sbra 138	2019	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Alto Caiçaras
Sbra 139	2019	Felino	Contagem	Vila Nova Esperança
Sbra 140	2019	Felino	Contagem	Icaivera
Sbra 141	2019	Felino	Belo Horizonte - Norte	Tupi
Sbra 142	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Pampulha
Sbra 144	2019	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Santa Cruz
Sbra 146	2019	Felino	Belo Horizonte - Norte	São Bernardo

Sbra 149	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Santa Cecília
Sbra 151	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Mangueiras
Sbra 152	2019	Felino	Belo Horizonte - Venda Nova	Santa Mônica
Sbra 156	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Castelo
Sbra 157	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Tirol
Sbra 158	2019	Felino	Contagem	Novo Eldorado
Sbra 159	2019	Felino	Belo Horizonte - Norte	Tupi
Sbra 160	2019	Felino	Contagem	Bela Vista
Sbra 162	2019	Felino	Belo Horizonte - Norte	São Tomás
Sbra 163	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Olaria
Sbra 164	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Barreiro
Sbra 165	2019	Felino	Contagem	Cabral
Sbra 166	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Santa Terezinha
Sbra 167	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Olaria
Sbra 168	2019	Felino	Belo Horizonte - Norte	São Bernardo
Sbra 169	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Ouro Preto
Sbra 170	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Santa Cecília
Sbra 173	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 174	2019	Felino	Belo Horizonte -Leste	Horto
Sbra 175	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	São Bernardo
Sbra 176	2019	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Olaria
Sbra 177	2019	Felino	Ribeirão das Neves	Jardim Alvorada
Sbra 178	2019	Canino	Ribeirão das Neves	Jardim Alvorada
Sbra 179	2020	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Araguaia
Sbra 180	2020	Felino	Belo Horizonte - Venda Nova	Nova York
Sbra 181	2018	Felino	Sabará	Itacolomi
Sbra 182	2020	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Urca
Sbra 183	2020	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Diamante
Sbra 184	2020	Canino	Contagem	Industrial Contagem
Sbra 185	2020	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Santa Cecília
Sbra 186	2019	Felino	Contagem	Petrolândia
Sbra 187	2019	Canino	Betim	Açude
Sbra 188	2020	Felino	Belo Horizonte - Oeste	Nova Granada
Sbra 189	2019	Felino	Belo Horizonte - Norte	Floramar
Sbra 190	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Jardim Alvorada
Sbra 191	2020	Felino	Belo Horizonte - Oeste	Barroca
Sbra 192	2020	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Santa Cruz
Sbra 193	2021	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Cachoeirinha
Sbra 194	2020	Felino	Belo Horizonte - Oeste	Maraj
Sbra 195	2020	Canino	Belo Horizonte - Leste	Horto
Sbra 196	2019	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Jardim Alvorada
Sbra 197	2020	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Santa Cruz
Sbra 198	2018	Felino	Belo Horizonte - Centro-Sul	Vila Nossa Senhora Aparecida

Sbra 199	2020	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Santa Cruz
Sbra 200	2020	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Santa Terezinha
Sbra 201	2020	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Santa Terezinha
Sbra 202	2020	Felino	Belo Horizonte - Barreiro	Olaria
Sbra 203	2020	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Santa Amélia
Sbra 204	2020	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Pampulha
Sbra 205	2020	Felino	Belo Horizonte - Norte	Juliana
Sbra 206	2020	Felino	Belo Horizonte -Leste	Horto
Sbra 207	2021	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Jardim Montanhês
Sbra 208	2021	Felino	Belo Horizonte - Venda Nova	NA
Sbra 209	2021	Felino	Belo Horizonte - Pampulha	Havaí
Sbra 210	2021	Felino	Belo Horizonte - Oeste	Santa Cruz
Sbra 211	2021	Felino	Belo Horizonte - Nordeste	Jardim Alvorada
Sbra 212	2021	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Caícaras
Sbra 213	2021	Felino	Belo Horizonte - Noroeste	Havaí

*NA: Informação não disponível.

Tabela Suplementar 2. Relação de espécies, origem geográfica, fonte e números de acesso no GenBank de isolados do gênero *Sporothrix* spp. com relevância clínica utilizados na análise filogenética do estudo.

Código do isolado	Código CBS	Espécies	Origem Geográfica	Origem	Número de acesso GenBank
Sbra 01		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL770362
Sbra 07		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL888131
Sbra 16		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL888132
Sbra 18		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	
Sbra 21		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Contagem, MG, Brasil	Felino	OL888133
Sbra 30		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL888134
Sbra 49		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL888135
Sbra 66		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Contagem, MG, Brasil	Felino	OL888136
Sbra 69		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL888137
Sbra 75		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL888138
Sbra 81		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Contagem, MG, Brasil	Felino	OL953006
Sbra 85		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL953007
Sbra 92		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Contagem, MG, Brasil	Felino	OL953008
Sbra 95		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Contagem, MG, Brasil	Felino	OL953009
Sbra 107		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Contagem, MG, Brasil	Felino	OL953010
Sbra 109		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Sabará, MG, Brasil	Felino	OL953011
Sbra 110		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Sabará, MG, Brasil	Felino	OL953012
Sbra 135		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL953013
Sbra 151		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL953014
Sbra 152		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL953015
Sbra 156		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL953016
Sbra 175		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	OL953017
Sbra 176		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	
Sbra 177		<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Ribeirão das Neves, MG, Brasil	Felino	OL953018
Ss05	CBS 132985	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Felino	KC693830

Ss53	CBS 132989	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio Grande, RS, Brasil	Felino	KC693846
Ss54	CBS 132990	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio Grande, RS, Brasil	Felino	JQ041903
Ss152	CBS 132995	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Felino	KC693865
Ss153	CBS 132996	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Felino	KC693866
Ss154	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Felino	KC693867
Ss155	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Felino	KC693868
Ss156	CBS 132997	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Felino	KC693869
Ss157	CBS 132998	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Felino	KC693870
Ss171	CBS 132999	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Londrina, PR, Brasil	Felino	KC693871
Ss172	CBS 133000	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Londrina, PR, Brasil	Felino	KC693872
Ss173	CBS 133001	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Londrina, PR, Brasil	Felino	KC693873
Ss174	CBS 133002	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Londrina, PR, Brasil	Felino	KC693874
Ss226	CBS 133003	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	São Paulo, SP, Brasil	Felino	KC693875
Ss245	CBS 133005	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693878
Ss246	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693879
Ss247	CBS 133006	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693880
Ss248	CBS 133007	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693881
Ss249	CBS 133008	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693882
Ss250	CBS 133009	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693883
Ss251	CBS 133010	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693884
Ss252	CBS 133011	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693885
Ss253	CBS 133012	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693886
Ss254	CBS 133013	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693887
Ss255	CBS 133014	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693888
Ss256	CBS 133015	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693889
Ss257	CBS 133016	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693890
Ss258	CBS 133017	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693891
Ss259	CBS 133018	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Felino	KC693892
Ss260	CBS 133019	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Felino	KC693893
Ss151	CBS 132994	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Canino	KC693864

Ss227	CBS 133004	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	São Paulo, SP, Brasil	Canino	KC693876
Ss07	CBS 132986	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	KC693831
Ss08	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	KC693832
Ss09	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	KC693833
Ss10	CBS 132987	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	KC693834
Ss12	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	KC693835
Ss25	CBS 132988	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	KC693840
Ss27	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	JX077111
Ss38	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	KC693844
Ss52	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	São Paulo, SP, Brasil	Humano	KC693845
Ss55	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio Grande, RS, Brasil	Humano	KC693847
Ss56	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio Grande, RS, Brasil	Humano	KC693848
Ss62	CBS 132991	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Vila Velha, ES, Brasil	Humano	JX077113
Ss69	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693849
Ss70	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693850
Ss71	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693851
Ss72	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693852
Ss79	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693856
Ss82	CBS 132992	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693857
Ss87	CBS 132993	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693858
Ss125	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Campinas, SP, Brasil	Humano	JX077116
Ss128	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Campinas, SP, Brasil	Humano	KC693861
Ss149	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Humano	KC693862
Ss150	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Humano	KC693863
CBS 120339T	CBS 120339 ^T	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	AM116899
IPEC 16919	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	AM116898
Ss261	-	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Pelotas, RS, Brasil	Humano	KC693894
Ss265	CBS 133020	<i>Sporothrix brasiliensis</i>	Uberaba, MG, Brasil	Humano	JN204360
Ss01	CBS 132961	<i>Sporothrix schenckii</i>	São Paulo, SP, Brasil	Felino	KC693828
Ss02	CBS 132962	<i>Sporothrix schenckii</i>	Porto Alegre, RS, Brasil	Humano	KC693829

Ss03	CBS 132963	<i>Sporothrix schenckii</i>	Porto Alegre, RS, Brasil	Humano	JX077117
Ss04	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Porto Alegre, RS, Brasil	Humano	JX077118
Ss13	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	KC693836
Ss15	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	KC693837
Ss17	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	KC693838
Ss20	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	JX077119
Ss24	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	KC693839
Ss26	CBS 132965	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	KC693841
Ss28	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	JX077121
Ss31	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	JX077122
Ss35	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	KC693842
Ss36	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	KC693843
Ss39	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Curitiba, PR, Brasil	Humano	JQ041899
Ss63	CBS 132968	<i>Sporothrix schenckii</i>	Vila Velha, ES, Brasil	Humano	JX077123
Ss64	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Vila Velha, ES, Brasil	Humano	JX077124
Ss73	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693853
Ss75	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693854
Ss78	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693855
Ss80	CBS 132969	<i>Sporothrix schenckii</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	JX077125
Ss90	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Rio de Janeiro, RJ, Brasil	Humano	KC693859
Ss111	CBS 132971	<i>Sporothrix schenckii</i>	São Paulo, SP, Brasil	Humano	KC693860
Ss143	-	<i>Sporothrix schenckii</i>	Belém, PA, Brasil	Humano	JQ041903
CBS 359.36^T	CBS 359.36 ^T	<i>Sporothrix schenckii</i>	USA	Humano	AM117437
CBS93872	CBS 93872	<i>Sporothrix schenckii</i>	França	Humano	AM490340
Ss06	CBS 132922	<i>Sporothrix globosa</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	Humano	JF811336
Ss41	CBS 132923	<i>Sporothrix globosa</i>	Fortaleza, CE, Brasil	Humano	JF811337
Ss49	CBS 132924	<i>Sporothrix globosa</i>	Goiânia, GO, Brasil	Humano	JF811338
CBS 120340^T	CBS 120340 ^T	<i>Sporothrix globosa</i>	Espanha	Humano	AM116908
CBS 130104	CBS 130104	<i>Sporothrix globosa</i>	Espanha	Humano	AM116905
Ss236	CBS 132925	<i>Sporothrix globosa</i>	Minas Gerais, MG, Brasil	Humano	KC693877
FMR 8598	CBS130116	<i>Sporothrix globosa</i>	Espanha	Humano	AM116903

CBS 937.72^T	CBS 937.72 ^T	<i>Sporothrix luriei</i>	África do Sul	Humano	AM747302
Ss132	CBS 132927	<i>Sporothrix mexicana</i>	São Paulo, SP, Brasil	Humano	JF811340
Ss133	CBS 132928	<i>Sporothrix mexicana</i>	Recife, PE, Brasil	Humano	JF811341
CBS 120342	CBS 120342	<i>Sporothrix mexicana</i>	México	Vegetal	AM398392
CBS 120341^T	CBS 120341 ^T	<i>Sporothrix mexicana</i>	México	Solo	AM398393
CBS 302.73^T	CBS 302.73 ^T	<i>Sporothrix pallida</i>	Reino Unido	Solo	AM398396
CBS 111110	CBS 111110	<i>Sporothrix pallida</i>	Alemanha	Inseto	AM398382

Abreviaturas: Todas os isolados identificados com **Sbra** pertencentes à coleção de fungos do Laboratório de Micologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); **Ss**, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP); **IPEC**, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fiocruz, Brasil; **FMR**, Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde, Reus, Espanha; **CBS**, *Centraalbureau voor Schimmel Cultures*, Utrecht, Holanda; **KMU**, Universidade Médica de Kanazawa, Ishikawa, Japão; **CMW**, Coleção de Culturas do Instituto de Biotecnologia Florestal e Agropecuária (FABI); **AFTOL**, *Assembling the Fungal Tree of Life Project*; **NK**, não conhecido; **T**, *tension type*. Representação dos estados brasileiros: **MG**, Minas Gerais; **RS**, Rio Grande do Sul; **PR**, Paraná; **SP**, São Paulo; **RJ**, Rio de Janeiro; **ES**, Espírito Santo; **PA**, Pará; **CE**, Ceará; **GO**, Goiás e **PE**, Pernambuco.

5 DISCUSSÃO GERAL

A esporotricose é uma doença antiga cuja epidemiologia clássica já é bem compreendida, no entanto, ao longo dos últimos 21 anos uma alteração no perfil epidemiológico pôde ser observada (RODRIGUES et al., 2020; ETCHECOPAZ et al., 2021a). A transmissão animal- ser humano foi descrita pela primeira vez em 1952 nos Estados Unidos, porém só assumiu importância epidemiológica no Brasil, no início do surto de esporotricose transmitido por gatos em 1998, no Estado do Rio de Janeiro (CANTOR, JI; MUNCIE, 1952; BARROS et al., 2001).

Em Minas Gerais, os primeiros casos da doença foram reportados ao serviço de controle de zoonoses em 2015 no distrito administrativa do Barreiro, no município de Belo Horizonte (LECCA et al., 2020; PAIVA et al., 2020). Conforme os casos em gatos e humanos continuaram a crescer, em 2016 foi criada a Comissão de Enfrentamento da Esporotricose em Belo Horizonte afim de mobilizar ações para vigilância e controle da doença. No estudo, foi constatado o aumento de casos em animais ao longo dos últimos quatro anos na cidade de Belo Horizonte. A expansão da doença no município pode ser associada ao aumento da população de gatos nos últimos anos, principalmente de animais semi-domiciliados e errantes, que apresentam maior exposição à infecção pelo fungo (SANTOS et al., 2018). Tais fatores associados as condições socioeconômicas locais fazem da região o foco de propagação da doença para áreas vizinhas. Estudos apontam que existe uma correlação entre indicadores socioeconômicos negativos e o avanço da doença na população humana e animal (SILVA et al., 2012; LECCA et al., 2020; ETCHECOPAZ et al., 2021). Em áreas consideradas endêmicas, fatores socioambientais como a precariedade sanitária, déficits no sistema de saúde pública e a alta densidade populacional favorecem a propagação e manutenção da doença animal e consequentemente humana (ETCHECOPAZ et al., 2021; ROSSOW et al., 2020).

O cenário atual observado no país ilustra o quão crítico e importante é a notificação da esporotricose zoonótica. Atualmente, cerca de 23% dos municípios do estado de Minas Gerais já registraram casos em animais (MARTINS, 2018). O cenário observado em Belo Horizonte é preocupante, à medida que a taxa de incidência humana da doença já superaram áreas endêmicas do país (PAIVA et al., 2020). Casos positivos em gatos e cães foram relatados em todos as regionais administrativas do município, como também em municípios vizinhos pertencentes a RMBH. Os gatos representaram a principal espécie acometida. Sabe-se que os hábitos comportamentais dessa espécie

corroboram para a manutenção e transmissão da esporotricose, estando associada principalmente a espécie *S. brasiliensis* (BARROS et al., 2004; BOECHAT et al., 2018), no entanto, outros fatores adicionais como falhas terapêuticas, recidivas e abandono do tratamento do felino pelo tutor contribuem para manutenção da cadeia de transmissão na população animal e humana (LECCA et al., 2020).

Paralelamente, notou-se o aumento da ocorrência da esporotricose em caninos. A maioria dos relatos de casos da doença na espécie são no Rio de Janeiro (BOECHAT et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2011a; SCHUBACH et al., 2006; VIANA et al., 2018). Porém, acredita-se que a esporotricose canina ainda seja subdiagnosticada em regiões endêmicas para leishmaniose canina. O estado de Minas Gerais é considerado endêmico para leishmaniose canina (ALVES SOUZA et al., 2019; REIS et al., 2017). A ausência de cultura é frequente em cães devido à falta de suspeita clínica ou dificuldade de isolamento a partir da coleta de suabe. Portanto, o diagnóstico micológico em regiões endêmicas para esporotricose felina deve ser adotado como protocolo em cães suspeitos.

Este é o primeiro trabalho que abrange a caracterização molecular de diversos isolados clínicos provenientes de animais em uma área epidêmica no estado de Minas Gerais. Os achados observados no estudo demonstraram que 100% dos isolados clínicos analisados avaliados foram positivos para *S. brasiliensis*. Os resultados corroboram com outros estudos no país, nos quais *S. brasiliensis* é a espécie predominante em casos humanos e animais na região Sul e Sudeste e recentemente Nordeste do Brasil (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2013; MONTENEGRO et al., 2014; BOECHAT et al., 2018; EUDES FILHO et al., 2020; VALERIANO et al., 2020; DA CRUZ BAHIANSE ROCHA et al., 2021; DE CARVALHO et al., 2021a; MOREIRA et al., 2021; SPANAMBERG et al., 2021). Recentemente, um estudo realizou a caracterização de 47 casos de esporotricose canina no estado do Rio de Janeiro e demonstrou a ocorrência predominante de *S. brasiliensis*, onde apenas um isolado foi identificado como *S. schenckii* (BOECHAT et al., 2021). Outro estudo descreveu a primeira ocorrência de infecção por *S. luriei* em cães no Rio Grande do Sul (OLIVEIRA et al., 2011a). Ressaltando que, embora a rota zoonótica seja a principal do país, a rota clássica não deve ser descartada.

Esses achados destacam a necessidade da utilização de ferramentas moleculares para identificação específica da espécie envolvida nos casos de esporotricose. A aplicação de um par de iniciadores espécie-específico comprovou ser um método capaz de identificar de maneira confiável as espécies patogênicas do gênero *Sporothrix* circulantes.

O diagnóstico laboratorial é um ponto fundamental para mitigação da esporotricose e traz implicações clínicas diretas para o tratamento da doença, especialmente por se tratar de espécies patogênicas distintas que apresentam comportamentos patológicos e susceptibilidade a antifúngicos variáveis (ALMEIDA-PAES et al., 2014, 2016b; DELLA TERRA et al., 2017; BOECHAT et al., 2021).

Embora a cultura fúngica seja ainda o método padrão, os resultados podem apresentar um tempo prolongado para serem concluídos, entre 7 a 21 dias, e ainda assim a identificação baseada em características macro e micromorfológicas fornecem, em sua grande maioria, resultados em nível de gênero. Uma abordagem com métodos tradicionais aliados a métodos moleculares apresenta-se como uma necessidade futura para o diagnóstico da esporotricose humana e animal. Nesse contexto, análises filogenéticas podem ainda ser empregadas durante uma epidemia para fornecer informações em relação a evolução e distribuição do agente ao longo do tempo (VILLABONA-ARENAS; HANAGE; TULLY, 2020). Dessa forma, durante os surtos de esporotricose registrados no país as relações filogenéticas podem auxiliar os estudos de correlação dos casos principalmente na ocorrência da transmissão animal-ser humano.

A filogenia foi aplicada com intuito de investigar a origem do surto da esporotricose em curso na RMBH. A utilização do gene parcial da CAL foi eficiente na discriminação interespecífica dos isolados patogênicos de *Sporothrix*. Esse marcador molecular é considerado referência nos estudos filogenéticos para *Sporothrix*. Um dos pontos que fortalecem o emprego do gene parcial da CAL é a geração de sequências *in situ* que possibilitaram a formação de um banco de dados representativo para aplicação em estudos de inferência filogenética e detecção de alterações genéticas nas sequências de *Sporothrix*. Diversos estudos empregando marcadores padrões baseados em genes, tal como o gene da calmodulina, apontaram *S. brasiliensis* como espécie clonal com baixa diversidade genética (MARIMON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2013; MONTENEGRO et al., 2014; SUZUKI et al., 2016; CÓRDOBA et al., 2018; MACÊDO-SALES et al., 2018; ETCHECOPAZ et al., 2020). Isso resultou ao longo da história de evolução de *S. brasiliensis* a hipótese de um evento de seleção originado na região central do surto no país, o estado do Rio de Janeiro, com uma rápida propagação clonal para os outros estados do Brasil (RODRIGUES et al., 2013). Os dados obtidos com a análise filogenética das sequências são condizentes com esses estudos.

Os dados encontrados neste estudo apresentam fortes evidências de que existe a circulação de diferentes genótipos nos casos de esporotricose animal por meio da análise

de haplótipos. Isso salienta a possibilidade da ocorrência de diferentes genótipos de *S. brasiliensis* acometendo animais na região metropolitana de Belo Horizonte. A análise de haplótipos busca avaliar as relações microevolutivas em sequências de DNA. À medida que mutações intraespecíficas ocorrem novos haplótipos são visualizados em uma população (PARADIS, 2018). Interessantemente que nos últimos dois anos, técnicas moleculares baseadas no genoma vêm demonstrando diferenças genéticas em genótipos de *Sporothrix* spp., indicando, ao contrário do que se acreditava, que *S. brasiliensis* se tratar de uma população com alta diversidade genética (DE CARVALHO et al., 2020; DE CARVALHO et al., 2021a).

Assim, nas análises filogenética e haplotípica foi evidenciado que os isolados mineiros compartilharam o haplótipo originado no surto de longa duração de esporotricose transmitida por gatos no Rio de Janeiro, porém, com uma contribuição secundária de genótipos circulantes em outros surtos no país. Um estudo recente levantou a hipótese da diversidade genética observada em *S. brasiliensis* ser decorrente de um fenômeno denominado “efeito fundador”, no qual a diversidade genética é construída ao longo do tempo. Assim, em surtos recentes, quando o fungo ainda não divergiu em linhagens diferentes, a diversidade genética será conseqüentemente baixa. Porém, com o passar do tempo e a contribuição de genótipos de outras localidades inicia-se um processo local de reconstrução e a formação de uma população parental. Com a ausência de barreiras sanitárias, a subtração de um indivíduo dessa população e inserção em um novo local dá-se início a fundação de nova população e assim sucessivamente (DE CARVALHO et al., 2021a).

Neste sentido, este estudo é o primeiro que abrange a caracterização molecular de uma grande diversidade de isolados clínicos de origem animal em uma área epidêmica no estado de Minas Gerais. *S. brasiliensis* é a espécie circulante em animais e os achados moleculares fornecem evidências da circulação de diferentes genótipos associadas à esporotricose animal na região metropolitana de Belo Horizonte. A aplicação de técnicas voltadas ao genoma de *Sporothrix* podem contribuir para o entendimento da evolução da espécie e da variação intraespecífica observada recentemente. A correlação dos dados moleculares com epidemiológicos podem ainda auxiliar no futuro desenvolvimento de ações de controle e prevenção da esporotricose zoonótica no estado. Neste sentido, mais estudos são necessários para compreender a diversidade molecular e a evolução dos aspectos epidemiológicos deste fungo e suas implicações clínicas.

6 CONCLUSÃO

S. brasiliensis é a espécie causadora da esporotricose gatos e cães analisados provenientes do município de Belo Horizonte e região metropolitana. Os casos animais aumentarem drasticamente nos últimos quatro anos na região. O número crescente da população de gatos semi-domiciliados e errantes, associados as características comportamentais e mobilidade da espécie podem ter contribuído para a disseminação e instalação da epizootia vivenciada na RMBH. Com base nos dados obtidos na análise filogenética e haplotípica há evidências da ocorrência de mais de um genótipo na população animal causando a esporotricose. Esses dados são essenciais pois a doença animal está diretamente relacionada aos casos humanos. Isso levanta perspectivas futuras no desenvolvimento de mais estudos para estabelecer uma relação entre a diversidade genética de *S. brasiliensis*, clínica e a epidemiologia da doença do estado de Minas Gerais.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Nos últimos anos pode-se observar o crescente aumento do número de casos de esporotricose em humanos e animais, apresentando a via zoonótica de transmissão no estado de Minas Gerais. Manifestações clínicas graves, com disseminação e formas atípicas tem sido associada às infecções por *S. brasiliensis*, e em grande parte dos casos, correlacionados a dificuldades no tratamento, tanto humano quanto animal. Todos esses fatores têm chamado a atenção de médicos e pesquisadores para essa espécie circulante e impulsionado muitas investigações nessa área do conhecimento. Nesse contexto, mais estudos são necessários para o desenvolvimento de métodos de diagnósticos precisos e acessíveis, incluindo abordagens moleculares em relação a espécie e diversidade genética, além de estudos que evidenciem melhores opções de tratamento para uso humano e animal, os quais são essenciais para conter os avanços da doença.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGHAYEVA, D. N. et al. *Ophiostoma dentifundum* sp. nov. from oak in Europe, characterized using molecular phylogenetic data and morphology. **Mycological Research**, v. 109, n. 10, p. 1127–1136, out. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095375620860235X>>.

AJELLO, L.; KAPLAN, W. A New Variant of *Sporothrix Schenckii*. **Mycoses**, v. 12, n. 11, p. 633–644, 24 abr. 2009. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0507.1969.tb03423.x>>.

ALBERICI, F. et al. *Sporothrix schenckii* var *luriei* as the cause of sporotrichosis in Italy. **European Journal of Epidemiology**, v. 5, n. 2, p. 173–177, jun. 1989. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF00156825>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Growth conditions influence melanization of Brazilian clinical *Sporothrix schenckii* isolates. **Microbes and Infection**, v. 11, n. 5, p. 554–562, abr. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1286457909000410>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* Is Associated with Atypical Clinical Presentations. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, p. e3094, 18 set. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003094>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Phenotypic Characteristics Associated with Virulence of Clinical Isolates from the *Sporothrix* Complex. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–10, 2015. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/212308/>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Melanins Protect *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* from the Antifungal Effects of Terbinafine. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0152796, 31 mar. 2016a. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0152796>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Refractory sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in humans appears to be unrelated to in vivo resistance. **Medical Mycology**, p. myw103, 22 out. 2016b. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1093/mmy/myw103>>.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Melanin biosynthesis in pathogenic species of *Sporothrix*. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 1, p. 50–59, jan. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1749461316300537>>.

ARRILLAGA-MONCRIEFF, I. et al. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, n. 7, p. 651–655, jul. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14608818>>.

BANDEL, H. J.; FORSTER, P.; ROHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, n. 1, p. 37–48, 1 jan.

1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>>.

BARROS, M. B. de L. et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 6, p. 777–779, ago. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762001000600006&lng=en&tlng=en>.

BARROS, M. B. de L.; DE ALMEIDA PAES, R.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 633–654, out. 2011. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00007-11>>.

BARROS, M. B. L. et al. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. **Epidemiology and Infection**, v. 136, n. 9, p. 1192–1196, 21 set. 2008. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0950268807009727/type/journal_article>.

BASTOS DE LIMA BARROS, M. et al. Cat-Transmitted Sporotrichosis Epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: Description of a Series of Cases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 4, p. 529–535, 15 fev. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/381200>>.

BERRIDGE, M. J. Calcium signal transduction and cellular control mechanisms. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1742, n. 1–3, p. 3–7, dez. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167488904001934>>.

BETANCOURT, S.; TORRES-BAUZÁ, L. J.; RODRÍGUEZ-DEL VALLE, N. Molecular and cellular events during the yeast to mycelium transition in *Sporothrix schenckii*. **Medical Mycology**, v. 23, n. 3, p. 207–218, jan. 1985. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/00362178585380311>>.

BEURMANN, L.; RAMOND, L. Abcès sous-cutané multiples d'origine mycosique. **Ann Dermatol Syph**, v. 4, p. 678–85, 1903.

BHABHRA, R.; ASKEW, D. S. Thermotolerance and virulence of *Aspergillus fumigatus*: role of the fungal nucleolus. **Medical Mycology**, v. 43, n. s1, p. 87–93, jan. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/13693780400029486>>.

BLOOM, A. L. M. et al. Thermotolerance in the pathogen *Cryptococcus neoformans* is linked to antigen masking via mRNA decay-dependent reprogramming. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 4950, 30 dez. 2019. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41467-019-12907-x>>.

BOECHAT, J. S. et al. Feline sporotrichosis: associations between clinical-epidemiological profiles and phenotypic-genotypic characteristics of the etiological agents in the Rio de Janeiro epizootic area. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 3, p. 185–196, mar. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762018000300185&lng=en&tlng=en>.

BOECHAT, J. S. et al. Canine sporotrichosis: polyphasic taxonomy and antifungal susceptibility profiles of *Sporothrix* species in an endemic area in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 135–143, 2 mar. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s42770-020-00328-8>>.

BOOTMAN, M. D. et al. Calcium signalling—an overview. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 12, n. 1, p. 3–10, fev. 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1084952100902118>>.

BOVE-SEVILLA, P. M.; MAYORGA-RODRÍGUEZ, J.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O. Sporotrichosis transmitted by a domestic cat. Case report. **Medicina Cutanea Ibero-Latino-Americana**, v. 36, n. 1, p. 33–35, 2008.

CAMACHO, E. et al. Molecular epidemiology of human sporotrichosis in Venezuela reveals high frequency of *Sporothrix globosa*. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 94, 25 dez. 2015. Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-015-0839-6>>.

CAMACHO, E.; NIÑO-VEGA, G. A. *Paracoccidioides* spp.: Virulence Factors and Immune-Evasion Strategies. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, p. 1–19, 2017. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/mi/2017/5313691/>>.

CANTOR, JI; MUNCIE, J. Sporotrichosis: etiologic considerations and report of additional cases from New York. **N Y State J Med.**, v. 52, n. 17, p. 2147–53, 1952.

CARMICHAEL, J. W. CHRYSOSPORIUM AND SOME OTHER ALEURIOSPORIC HYPHOMYCETES. **Canadian Journal of Botany**, v. 40, n. 8, p. 1137–1173, 1 ago. 1962. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/b62-104>>.

CARVALHO, M. T. M. et al. Disseminated cutaneous sporotrichosis in a patient with AIDS: report of a case. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 655–659, dez. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822002000600018&lng=en&tlng=en>.

CHAKRABARTI, A. et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 3–14, 1 jan. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1093/mmy/myu062>>.

CHEN, M. et al. The ‘species complex’ issue in clinically relevant fungi: A case study in *Scedosporium apiospermum*. **Fungal Biology**, v. 120, n. 2, p. 137–146, fev. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878614615001695>>.

CHIN, D.; MEANS, A. R. Calmodulin: a prototypical calcium sensor. **Trends in Cell Biology**, v. 10, n. 8, p. 322–328, ago. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0962892400018006>>.

CÓRDOBA, S. et al. Molecular identification and susceptibility profile of *Sporothrix schenckii* sensu lato isolated in Argentina. **Mycoses**, v. 61, n. 7, p. 441–448, jul. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/myc.12760>>.

CRUZ, I. L. R. et al. Evaluation of melanin production by *Sporothrix luriei*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 1, p. 68–70, jan. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762018000100068&lng=en&tlng=en>.

CRUZ, I. L. R. et al. Evolution of virulence-related phenotypes of *Sporothrix brasiliensis* isolates from patients with chronic sporotrichosis and acquired immunodeficiency syndrome. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 5–18, 22 mar. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s42770-020-00297-y>>.

DA CRUZ BAHIANSE ROCHA, I. et al. Molecular-based assessment of diversity and population structure of *Sporothrix* spp. clinical isolates from Espírito Santo-Brazil. **Mycoses**, v. 64, n. 4, p. 420–427, 28 abr. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/myc.13230>>.

DANGERFIELD, L.; GEAR, J. Sporotrichosis among miners on the Witwatersrand gold mines. **S Afr Med J**, p. 128–31, 1941.

DE BEER, Z. W. et al. Phylogeny of the *Ophiostoma stenoceras*: *Sporothrix schenckii* Complex. **Mycologia**, v. 95, n. 3, p. 434, maio 2003. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/3761885?origin=crossref>>.

DE BEER, Z. W.; DUONG, T. A.; WINGFIELD, M. J. The divorce of *Sporothrix* and *Ophiostoma*: solution to a problematic relationship. **Studies in Mycology**, v. 83, p. 165–191, mar. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166061616300033>>.

DE CARVALHO, J. A. et al. Genome-wide mapping using new AFLP markers to explore intraspecific variation among pathogenic *Sporothrix* species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 7, p. e0008330, 1 jul. 2020. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0008330>>.

DE CARVALHO, J. A. et al. Trends in the molecular epidemiology and population genetics of emerging *Sporothrix* species. **Studies in Mycology**, v. 100, p. 100129, set. 2021a. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166061621000166>>.

DE CARVALHO, J. A. et al. A new duplex PCR assay for the rapid screening of mating-type idiomorphs of pathogenic *Sporothrix* species. **Fungal Biology**, v. 125, n. 10, p. 834–843, out. 2021b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187861462100074X>>.

DE HOOG, G. S. The Genera *Blastobotrys*, *Sporothrix*, *Calcarisporium* and *Calcarisporiella* Gen. Nov. 7. ed. [s.l.] **Studies in mycology**, 1974.

DE HOOG, G. S. Notes some fungicolous *Hyphomycetes* and their relative. **Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 10, n. 1, p. 33–81, 1978.

DE HOOG, G. S. et al. Name Changes in Medically Important Fungi and Their Implications for Clinical Practice. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 1056–1062, abr. 2015. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.02016-14>>.

DE LIMA BARROS, M. B. et al. Sporotrichosis with widespread cutaneous lesions: report of 24 cases related to transmission by domestic cats in Rio de Janeiro, Brazil. **International Journal of Dermatology**, v. 42, n. 9, p. 677–681, set. 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-4362.2003.01813.x>>.

DE MIRANDA, L. H. M. et al. Histopathology of Canine Sporotrichosis: A Morphological Study of 86 Cases from Rio de Janeiro (2001–2007). **Mycopathologia**, v. 168, n. 2, p. 79–87, 10 ago. 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11046-009-9198-4>>.

DE OLIVEIRA BENTO, A. et al. The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 8, p. e0009693, 30 ago. 2021. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0009693>>.

DE SOUZA, E. W. et al. Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 9074, 13 dez. 2018. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-018-27447-5>>.

DELLA TERRA, P. P. et al. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 8, p. e0005903, 30 ago. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0005903>>.

DELLA TERRA, P. P. et al. Development and evaluation of a multiplex qPCR assay for rapid diagnostics of emerging sporotrichosis. **Transboundary and Emerging Diseases**, 2 nov. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.14350>>.

DIAS, N. M. et al. Sporotrichosis Caused by *Sporothrix mexicana*, Portugal. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 10, p. 1975–1976, out. 2011. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/10/11-0737_article.htm>.

DO MONTE ALVES, M. et al. Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Northeast Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 5, p. e0008141, 26 maio 2020. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0008141>>.

DOOLEY, D. P. Spook house sporotrichosis. A point-source outbreak of sporotrichosis associated with hay bale props in a Halloween haunted-house. **Archives of Internal Medicine**, v. 157, n. 16, p. 1885–1887, 8 set. 1997. Disponível em: <<http://archinte.ama-assn.org/cgi/doi/10.1001/archinte.157.16.1885>>.

ETCHECOPAZ, A. et al. *Sporothrix brasiliensis*: A Review of an Emerging South American Fungal Pathogen, Its Related Disease, Presentation and Spread in Argentina. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 3, p. 170, 26 fev. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/7/3/170>>.

ETCHECOPAZ, A. N. et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Argentina: Case report, molecular identification and in vitro susceptibility pattern to antifungal drugs. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 30, n. 1, p. 100908, abr. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1156523319301994>>.

EUDES FILHO, J. et al. A novel *Sporothrix brasiliensis* genomic variant in Midwestern Brazil: evidence for an older and wider sporotrichosis epidemic. **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n. 1, p. 2515–2525, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1847001>>.

FELSENSTEIN, J. CONFIDENCE LIMITS ON PHYLOGENIES: AN APPROACH USING THE BOOTSTRAP. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783–791, 31 jul. 1985. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>>.

FERNANDES, K. S. S. et al. Virulence of *Sporothrix schenckii* conidia and yeast cells, and their susceptibility to nitric oxide. **Immunology**, v. 101, n. 4, p. 563–569, dez. 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2567.2000.00125.x>>.

FIGUEIREDO, C. C. et al. The in vitro interaction of *Sporothrix schenckii* with human endothelial cells is modulated by cytokines and involves endothelial surface molecules. **Microbial Pathogenesis**, v. 36, n. 4, p. 177–188, abr. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401003002146>>.

FIGUEIREDO, C. C. et al. TGF- β 1 induces transendothelial migration of the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii* by a paracellular route involving extracellular matrix proteins. **Microbiology**, v. 153, n. 9, p. 2910–2921, 1 set. 2007. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.2006/005421-0>>.

FILLER, S. G.; SHEPPARD, D. C. Fungal Invasion of Normally Non-Phagocytic Host Cells. **PLoS Pathogens**, v. 2, n. 12, p. e129, 2006. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.0020129>>.

FREITAS, D. F. S. et al. Sporotrichosis: An Emerging Neglected Opportunistic Infection in HIV-Infected Patients in Rio de Janeiro, Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, p. e3110, 28 ago. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003110>>.

FREITAS, D. F. S. et al. Sporotrichosis in the Central Nervous System Caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 61, n. 4, p. 663–664, 15 ago. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/civ361>>.

FREITAS, D.; MIGLIANO, M.; NETO, L. Z. Sporotrichosis. Observation of spontaneous case in domestic cat (*Felis catus*). **Rev Fac Med Vet Univ Sao Paulo**, v. 5, p. 601–4, 1956.

GALHARDO, M. C. G. et al. *Sporothrix schenckii* meningitis in AIDS during immune reconstitution syndrome. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 81, n. 6, p. 696–699, 1 jun. 2010. Disponível em: <<https://jnnp.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jnnp.2009.173187>>.

GARFOOT, A. L. et al. O-Mannosylation of Proteins Enables Histoplasma Yeast Survival at Mammalian Body Temperatures. **mBio**, v. 9, n. 1, 7 mar. 2018. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.02121-17>>.

GARRISON, R. G.; BOYD, K. S.; MARIAT, F. Ultrastructural studies of the mycelium-

to yeast transformation of *Sporothrix schenckii*. **Journal of bacteriology**, v. 124, n. 2, p. 959–68, nov. 1975. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1184578>>.

GHOSH, A. et al. Physiological characters of *Sporothrix schenckii* isolates. **Mycoses**, v. 45, n. 11–12, p. 449–54, dez. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12472719>>.

GBIF Backbone Taxonomy. Checklist. Disponível em: <<https://doi.org/10.15468/39omei>>. Acesso em: 20 Dezembro 2021.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLOS Pathogens**, v. 13, n. 1, p. e1006077, 19 jan. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1006077>>.

GREMIÃO, I. D. F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 107–124, 29 mar. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s42770-020-00365-3>>.

GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in Fungal Taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 3, p. 454–500, jul. 1999. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.12.3.454>>.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. F. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. A new pathogenic fungus. **Journal of Experimental Medicine**, v. 5, n. 1, p. 77–89, 1 out. 1900. Disponível em: <<https://rupress.org/jem/article/5/1/77/19973/REFRACTORY-SUBCUTANEOUS-ABSCESSSES-CAUSED-BY>>.

HOOK, S. S.; MEANS, A. R. Ca²⁺/CaM-Dependent Kinases: From Activation to Function. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 41, n. 1, p. 471–505, abr. 2001. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.471>>.

ISHIZAKI, H. Mitochondrial DNA Analysis of *Sporothrix schenckii*. **Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi**, v. 44, n. 3, p. 155–157, 2003. Disponível em: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/jjmm1990/44/3/44_3_155/_article/-char/ja/>.

JESSICA, N. et al. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. **Medical Mycology**, v. 53, n. 8, p. 880–884, 1 nov. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1093/mmy/myv038>>.

KANO, R. et al. Molecular typing of *Sporothrix schenckii* isolates from cats in Malaysia. **Mycoses**, v. 58, n. 4, p. 220–224, abr. 2015. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/myc.12302>>.

KAUFFMAN, C. A. et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Sporotrichosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 10, p. 1255–1265, 15 nov. 2007. Disponível em: <<https://academic.oup.com/cid/article/45/10/1255/277232>>.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions

through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111–120, jun. 1980. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF01731581>>.

KONG, X. et al. Relationships among genotypes, virulence and clinical forms of *Sporothrix schenckii* infection. **European Society of Clinical Infectious Diseases**, v. 12, n. 11, p. 1077–1081, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01519.x>>.

KOVARIK, C. L.; NEYRA, E.; BUSTAMANTE, B. Evaluation of cats as the source of endemic sporotrichosis in Peru. **Medical Mycology**, v. 46, n. 1, p. 53–56, jan. 2008. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/13693780701567481>>.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870–1874, 1 jul. 2016. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mbe/article/33/7/1870/2579089>>.

LECCA, L. O. et al. Associated factors and spatial patterns of the epidemic sporotrichosis in a high density human populated area: A cross-sectional study from 2016 to 2018. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 176, p. 104939, mar. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587719307597>>.

LIMA, O. C. et al. Adhesion of the human pathogen *Sporothrix schenckii* to several extracellular matrix proteins. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 5, p. 651–657, maio 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X1999000500020&lng=en&tlng=en>.

LIMA, O. C. et al. Involvement of Fungal Cell Wall Components in Adhesion of *Sporothrix schenckii* to Human Fibronectin. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 11, p. 6874–6880, nov. 2001. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.69.11.6874-6880.2001>>.

LIMA, O. C. et al. Immunofluorescence and flow cytometry analysis of fibronectin and laminin binding to *Sporothrix schenckii* yeast cells and conidia. **Microbial Pathogenesis**, v. 37, n. 3, p. 131–140, set. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401004000774>>.

LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, n. 2, p. 293–308, jun. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652006000200009&lng=en&tlng=en>.

LÓPEZ-ROMERO, E. et al. *Sporothrix schenckii* complex and sporotrichosis, an emerging health problem. **Future Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 85–102, jan. 2011. Disponível em: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.10.157>>.

LUTZ, A.; SPLENDRE, A. On a mycosis observed in men and mice: contribution to the knowledge of the so-called sporotrichosis. **Revista Médica de São Paulo**, v. 21, p. 443–50, 1907.

MATOS, M. F. A. et al. Identification by MALDI-TOF MS of *Sporothrix brasiliensis* Isolated from a Subconjunctival Infiltrative Lesion in an Immunocompetent Patient. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 22, 21 dez. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-2607/8/1/22>>.

MACÊDO-SALES, P. 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. 1, p. 19, 18 dez. 2018. Disponível em: <<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1340-4>>.

MADRID, H. et al. *Sporothrix globosa*, a pathogenic fungus with widespread geographical distribution. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 26, n. 3, p. 218–222, set. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1130140609000102>>.

MADRID, I. M. et al. Role of melanin in the pathogenesis of cutaneous sporotrichosis. **Microbes and Infection**, v. 12, n. 2, p. 162–165, fev. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1286457909002378>>.

MAKRI, N. et al. First case report of cutaneous sporotrichosis (*Sporothrix* species) in a cat in the UK. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 6, n. 1, p. 205511692090600, 14 jan. 2020. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2055116920906001>>.

MARIAT, F. Adaptation De Ceratocystis A La Vie Parasitaire chez L'animal — Etude De L'aquisition D'un Pouvoir Pathogene Comparable A Celui De sporo thrix schenckii. **Medical Mycology**, v. 9, n. 3, p. 191–205, jan. 1971. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/00362177185190421>>.

MARIMON, R. et al. Molecular Phylogeny of *Sporothrix schenckii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 9, p. 3251–3256, set. 2006. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00081-06>>.

MARIMON, R. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New Sporothrix Species of Clinical Interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 10, p. 3198–3206, out. 2007. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00808-07>>.

MARIMON, R. et al. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. **Medical Mycology**, v. 46, n. 6, p. 621–625, jan. 2008. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/13693780801992837>>.

MARTINS, Louize Caroline Ferreira. DIAGNÓSTICO DA SITUAÇÃO DE ESPOROTRICOSE EM MUNICÍPIOS DE MINAS GERAIS. 2018. 80 f. Monografia (Especialização) - Residência em Medicina Veterinária em Saúde Pública com ênfase em Zoonoses e Controle Populacional de Cães e Gatos, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

MARIO, D. A. N. et al. Interference of melanin in the susceptibility profile of *Sporothrix* species to amphotericin B. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 33, n. 1, p. 21–25, jan. 2016. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1130140615000376>>.

MATRUHOT, L. Sur un nouveau groupe de champignons pathogènes, agents des sporotrichoses. **Comptes Rendus de L'Académie de Sciences**, v. 150, p. 543–5, 1910.

MEAD, H. L. et al. Differential Thermotolerance Adaptation between Species of *Coccidioides*. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 366, 14 dez. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/6/4/366>>.

MESA-ARANGO, A. C. et al. Phenotyping and Genotyping of *Sporothrix schenckii* Isolates According to Geographic Origin and Clinical Form of Sporotrichosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 8, p. 3004–3011, ago. 2002. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.40.8.3004-3011.2002>>.

MIALSKI, R. et al. Chronic Meningitis and Hydrocephalus due to *Sporothrix brasiliensis* in Immunocompetent Adults: A Challenging Entity. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 5, n. 5, 1 maio 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ofid/article/doi/10.1093/ofid/ofy081/4989858>>.

MIRANDA, L. H. M. et al. Feline sporotrichosis: Histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, n. 4, p. 425–432, jul. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147957113000210>>.

MOHAGHEGHPUR, N. et al. Synthetic Melanin Suppresses Production of Proinflammatory Cytokines. **Cellular Immunology**, v. 199, n. 1, p. 25–36, jan. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000887499991599X>>.

MONTENEGRO, H. et al. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, p. 269, 19 dez. 2014. Disponível em: <<http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-014-0269-5>>.

MOREIRA, S. M. et al. Implementation of an Animal Sporotrichosis Surveillance and Control Program, Southeastern Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 3, p. 949–952, mar. 2021. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/27/3/20-2863_article.htm>.

MORRIS-JONES, R. Sporotrichosis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 27, n. 6, p. 427–431, set. 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2230.2002.01087.x>>.

MORRIS-JONES, R. et al. Synthesis of Melanin-Like Pigments by *Sporothrix schenckii* In Vitro and during Mammalian Infection. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 7, p. 4026–4033, jul. 2003. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.71.7.4026-4033.2003>>.

MORRISON, A. S. et al. An environmental *Sporothrix* as a cause of corneal ulcer. **Medical Mycology Case Reports**, v. 2, p. 88–90, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211753913000183>>.

MUSVUUGWA, T. et al. Wounds on *Rapanea melanophloeos* provide habitat for a large

diversity of Ophiostomatales including four new species. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 109, n. 6, p. 877–894, 29 jun. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10482-016-0687-4>>.

NAKAMURA, Y. et al. *Sporothrix schenckii* isolated from a cat in Japan. **Mycoses**, v. 39, n. 3–4, p. 125–128, mar. 1996. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0507.1996.tb00114.x>>.

NASCIMENTO, R. C.; ALMEIDA, S. R. Humoral immune response against soluble and fractionate antigens in experimental sporotrichosis. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 241–247, fev. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1016/j.femsim.2004.08.004>>.

NEPOMUCENO ARAÚJO, M. J. C. L. et al. Case Report: Invasive Sinusitis due to *Sporothrix brasiliensis* in a Renal Transplant Recipient. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, n. 5, p. 1218–1221, 3 nov. 2021. Disponível em: <<https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/105/5/article-p1218.xml>>.

OLIVEIRA, D. C. et al. Antifungal Susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* Complex Identified in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 8, p. 3047–3049, 1 ago. 2011a. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00255-11>>.

OLIVEIRA, M. M. E. et al. Phenotypic and Molecular Identification of *Sporothrix* Isolates from an Epidemic Area of Sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia**, v. 172, n. 4, p. 257–267, 24 out. 2011b. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11046-011-9437-3>>.

OROFINO-COSTA, R. et al. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 92, n. 5, p. 606–620, out. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962017000500606&lng=en&tlng=en>.

PADHYE, A. A. et al. Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *Sporothrix schenckii* var. *luriei* in India. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 9, p. 2492–2494, set. 1992. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.30.9.2492-2494.1992>>.

PAGE, C. G.; FROTHINGHAM, L.; PAIGE, J. B. *Sporothrix* and Epizootic Lymphangitis. **The Journal of medical research**, v. 23, n. 1, p. 137–150, ago. 1910. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19971963>>.

PAIVA, M. T. et al. Spatial association between sporotrichosis in cats and in human during a Brazilian epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 183, p. 105125, out. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587720304670>>.

PARK, H. et al. Role of the fungal Ras-protein kinase A pathway in governing epithelial cell interactions during oropharyngeal candidiasis. **Cellular Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 499–510, 13 dez. 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1462-5822.2004.00476.x>>.

PEREIRA, S. A. et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. **Veterinary Record**, v. 166, n. 10, p. 290–294, mar. 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1136/vr.166.10.290>>.

PEREIRA, S. A. et al. Sensitivity of cytopathological examination in the diagnosis of feline sporotrichosis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, n. 4, p. 220–223, 1 abr. 2011. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1016/j.jfms.2010.10.007>>.

QUINTELLA, L. P. et al. Histopathology of cutaneous sporotrichosis in Rio de Janeiro: a series of 119 consecutive cases. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 38, n. 1, p. 25–32, jan. 2011. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0560.2010.01626.x>>.

REES, R. K.; SWARTZBERG, J. E. Feline-transmitted sporotrichosis: A case study from California. **Dermatology online journal**, v. 17, n. 6, p. 2, 15 jun. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21696682>>.

ROBERT, V. A.; CASADEVALL, A. Vertebrate Endothermy Restricts Most Fungi as Potential Pathogens. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 200, n. 10, p. 1623–1626, 15 nov. 2009. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/644642>>.

RODRIGUES, A. M. et al. Phylogenetic Analysis Reveals a High Prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in Feline Sporotrichosis Outbreaks. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 6, p. e2281, 20 jun. 2013. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002281>>.

RODRIGUES, A. M. et al. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. **Emerging Microbes & Infections**, v. 3, n. 1, p. 1–10, 25 jan. 2014a. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1038/emi.2014.33>>.

RODRIGUES, A. M. et al. Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 219, 23 dez. 2014b. Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-14-219>>.

RODRIGUES, A. M. et al. *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. **Fungal Biology**, v. 120, n. 2, p. 246–264, fev. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878614615000884>>.

RODRIGUES, A. M. et al. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v. 185, n. 5, p. 813–842, 12 out. 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s11046-020-00425-0>>.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, S.; DE CAMARGO, Z. P. Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Medical Mycology**, v. 51, n. 4, p. 405–412, maio 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.3109/13693786.2012.719648>>.

RODRIGUES, A. M.; HOOG, G. S. De; CAMARGO, Z. P. De. Molecular Diagnosis of

Pathogenic *Sporothrix* Species. p. 1–22, 2015.

RODRIGUES, M. L.; NOSANCHUK, J. D. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 2, p. e0007964, 20 fev. 2020. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0007964>>.

RODRÍGUEZ-DEL VALLE, N.; RODRÍGUEZ-MEDINA, J. R. Calcium stimulates molecular and cellular events during the yeast-to-mycelium transition in *Sporothrix schenckii*. **Medical Mycology**, v. 31, n. 1, p. 43–53, jan. 1993. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/02681219380000051>>.

ROMERO-CABELLO, R. et al. Disseminated sporotrichosis. **Case Reports**, v. 2011, n. mar24 1, p. bcr1020103404–bcr1020103404, 25 mar. 2011. Disponível em: <<https://casereports.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bcr.10.2010.3404>>.

ROMERO-MARTINEZ, R. et al. Biosynthesis and Functions of Melanin in *Sporothrix schenckii*. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 6, p. 3696–3703, jun. 2000. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.68.6.3696-3703.2000>>.

ROSSOW, J. A. et al. A One Health Approach to Combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 247, 26 out. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/6/4/247>>.

ROZAS, J. et al. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 12, p. 3299–3302, 1 dez. 2017. Disponível em: <<http://academic.oup.com/mbe/article/34/12/3299/4161815>>.

RUDRAMURTHY, S. M. et al. Phenotypic and molecular characterisation of *Sporothrix globosa* of diverse origin from India. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 91–100, 30 mar. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s42770-020-00346-6>>.

SANTOS, A. F. et al. Guia Prático para enfrentamento da Esporotricose Felina em Minas Gerais Practical. **V&Z Em Minas**, n. 137, p. 16–27, 2018. Disponível em: <<http://www.crmvmg.gov.br/arquivos/ascom/espоро.pdf>>.

SASAKI, A. A. et al. Chromosomal Polymorphism in the *Sporothrix schenckii* Complex. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e86819, 23 jan. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0086819>>.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2013. Resolução SES/MG nº 674, de 12 de julho de 2013. Redefine a relação de doenças e agravos de notificação compulsória no âmbito do Estado do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/4364979/4115670/ResolucaoSESN674DE12.07.2013.pdf>. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2016. Resolução SES/PE nº 390, de 14 de setembro de 2016. Redefine a relação de doenças e agravos de notificação compulsória no âmbito do Estado do Rio de Janeiro. Disponível em: https://www.cievspe.com/_files/ugd/3293a8_02b375ede52442ee92b773465b284a0a.pdf

. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2018. Resolução SES/MG nº 6.532, de 5 de dezembro de 2018. Adiciona Doenças e Eventos de Saúde Pública de Interesse Estadual à Lista Nacional de Doenças Com Notificação Obrigatória e dá Outras Providências. Disponível em: <http://vigilancia.saude.mg.gov.br/index.php/download/resolucao-no-6532-2018-acrescenta-doencas-agrivos-e-eventos-de-saude-publica-de-interesse-estadual-a-lista-nacional-de-doencas-de-notificacao-compulsoria/>. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2020. Resolução SES/SP nº 470, de 1 de dezembro de 2020. Institui, no Município de São Paulo, a notificação compulsória de Esporotricose. Disponível em: <https://www.sinesp.org.br/179-saiu-no-doc/11183-portaria-sms-g-n-470-2020-institui-no-municipio-de-sao-paulo-a-notificacao-compulsoria-de-esporotricose>. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2021. Resolução SES/DF nº 664, de 8 de julho de 2021. Estabelece a esporotricose como doença de notificação compulsória no Distrito Federal. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=417154>. Acessado em: 27 dezembro de 2021.

SCHENCK, B. R. On Refractory Subcutaneous Abscesses caused by a Fungus possibly related to the *Sporotricha*. **John Hopkins Hospital Bulletin**, v. 9, n. 93, p. 286–290, 1898. Disponível em: <http://ci.nii.ac.jp/naid/10020340577/en/>. Acesso em: 17 ago. 2021.

SCHUEFEN, S. et al. Clinical manifestation of an amelanotic *Sporothrix schenckii* complex isolate in a cat in Germany. **JMM Case Reports**, v. 2, n. 4, 1 ago. 2015. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmmcr/10.1099/jmmcr.0.000039>.

SCHOCH, C. L. et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241–6246, 17 abr. 2012. Disponível em: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1117018109>.

SCHUBACH, A. et al. Cat-transmitted Sporotrichosis, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 12, p. 1952–1954, dez. 2005. Disponível em: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/11/12/04-0891_article.htm.

SCHUBACH, T. M. P. et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). **Medical Mycology**, v. 39, n. 1, p. 147–149, jan. 2001. Disponível em: <https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/mmy.39.1.147.149>.

SCHUBACH, T. M. P. et al. Haematogenous spread of *Sporothrix schenckii* in cats with naturally acquired sporotrichosis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 44, n. 9, p. 395–398, set. 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1748-5827.2003.tb00174.x>.

SCHUBACH, T. M. P. et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224,

n. 10, p. 1623–1629, maio 2004. Disponível em: <<https://avmajournals.avma.org/doi/10.2460/javma.2004.224.1623>>.

SCHUBACH, T. M. P. et al. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998–2003). **Medical Mycology**, v. 44, n. 1, p. 87–92, jan. 2006. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article-lookup/doi/10.1080/13693780500148186>>.

SERRANO, S.; VALLE, N. R. Calcium uptake and efflux during the yeast to mycelium transition in *Sporothrix schenckii*. **Mycopathologia**, v. 112, n. 1, p. 1–9, out. 1990. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF01795170>>.

SILVA, M. B. T. da et al. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, n. 10, p. 1867–1880, out. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2012001000006&lng=pt&tlng=pt>.

SONG, Y. et al. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 27, n. 3, p. 313–318, mar. 2013. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1468-3083.2011.04389.x>>.

SPANAMBERG, A. et al. *Sporothrix brasiliensis* on cats with skin ulcers in Southern Brazil. **Medical Mycology**, v. 59, n. 3, p. 301–304, 4 mar. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/mmy/article/59/3/301/5908081>>.

SUZUKI, R. et al. Studies in Phylogeny, Development of Rapid Identification Methods, Antifungal Susceptibility, and Growth Rates of Clinical Strains of *Sporothrix schenckii* Complex in Japan. **Medical Mycology Journal**, v. 57, n. 3, p. E47–E57, 2016. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/mmj/57/3/57_16-00005/_article-char/ja/>.

TAERUM, S. J. et al. Large Shift in Symbiont Assemblage in the Invasive Red Turpentine Beetle. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, p. e78126, 18 out. 2013. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0078126>>.

TAYLOR, J. J. A comparison of some Ceratocystis species with *Sporothrix schenckii*. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 42, n. 3–4, p. 233–240, dez. 1970. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF02051951>>.

TEIXEIRA, P. A. C. et al. Cell surface expression of adhesins for fibronectin correlates with virulence in *Sporothrix schenckii*. **Microbiology**, v. 155, n. 11, p. 3730–3738, 1 nov. 2009. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.029439-0>>.

TSHISEVHE, V. et al. Disseminated sporotrichosis in a person with human immunodeficiency virus disease. **Access Microbiology**, v. 3, n. 9, 21 set. 2021. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/acmi/10.1099/acmi.0.000262>>.

VALERIANO, C. A. T. et al. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis

caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic area: Case series in the northeast of Brazil. **JAAD Case Reports**, v. 6, n. 10, p. 988–992, out. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352512620305610>>.

VALLE-AVILES, L. et al. Functional, genetic and bioinformatic characterization of a calcium/calmodulin kinase gene in *Sporothrix schenckii*. **BMC Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 107, 29 dez. 2007. Disponível em: <<https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-7-107>>.

VILLABONA-ARENAS, C. J.; HANAGE, W. P.; TULLY, D. C. Phylogenetic interpretation during outbreaks requires caution. **Nature Microbiology**, v. 5, n. 7, p. 876–877, 19 jul. 2020. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41564-020-0738-5>>.

YEGNESWARAN, P. P. et al. Zoonotic sporotrichosis of lymphocutaneous type in a man acquired from a domesticated feline source: report of a first case in southern Karnataka, India. **International Journal of Dermatology**, v. 48, n. 11, p. 1198–1200, nov. 2009. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-4632.2008.04049.x>>.

YU, X. et al. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates of clinical origin in Northeast China. **Mycopathologia**, v. 176, n. 1–2, p. 67–74, 16 ago. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11046-013-9668-6>>.

ZHANG, Y. et al. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000 human and animal case reports. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 35, n. 1, p. 1–20, 23 dez. 2015. Disponível em: <<http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=0031-5850&volume=35&issue=1&spage=1>>.

ZHOU, X. et al. Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Fungal Diversity**, 31 jan. 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s13225-013-0220-2>>.

9 ANEXO



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
 Cadastro nº AED6C29

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: AED6C29
 Usuário: Maria Isabel de Azevedo
 CPF/CNPJ: 008.524.010-94
 Objeto do Acesso: Patrimônio Genético
 Finalidade do Acesso: Pesquisa

Espécie

Sporothrix brasiliensis

Título da Atividade: Estudo fenotípico, molecular e caracterização epidemiológica de isolados de *Sporothrix* spp. provenientes de animais do estado de Minas Gerais

Equipe

Maria Isabel de Azevedo	Universidade Federal de Minas Gerais
Kelly Moura Keller	Universidade Federal de Minas Gerais
Lauranne Alves Salvato	Universidade Federal de Minas Gerais
Danielle Ferreira de Magalhães Soares	Universidade Federal de Minas Gerais
Salene Angelini Colombo	Universidade Federal de Minas Gerais
Millena Nunes Fonseca	Universidade Federal de Minas Gerais
Camila Stefanie Fonseca de Oliveira	Universidade Federal de Minas Gerais

Data do Cadastro: 27/08/2020 17:56:34
 Situação do Cadastro: Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 17:58 de 27/08/2020.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**