

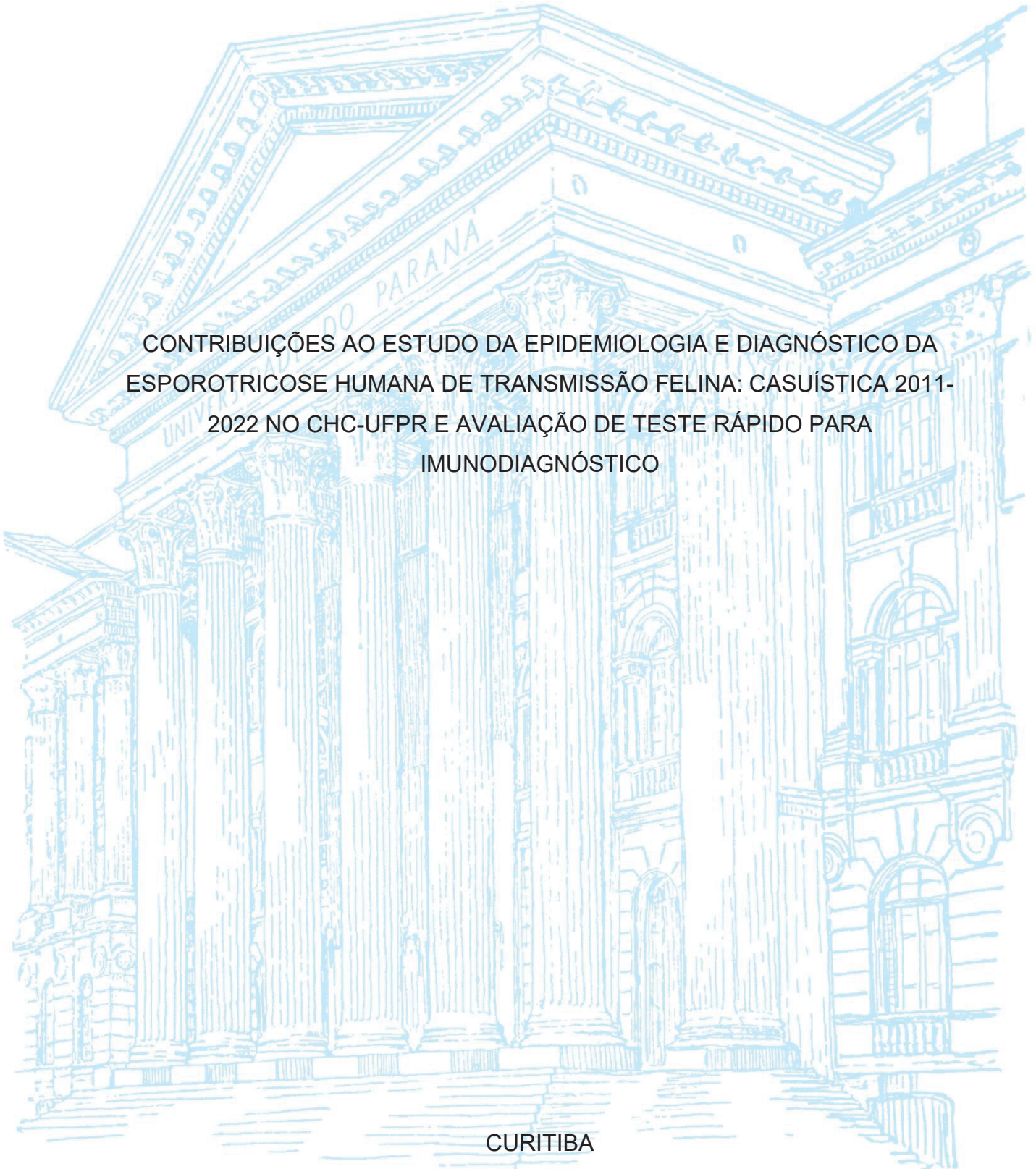
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

REGIELLY CAROLINE RAIMUNDO COGNIALLI

CONTRIBUIÇÕES AO ESTUDO DA EPIDEMIOLOGIA E DIAGNÓSTICO DA
ESPOROTRICOSE HUMANA DE TRANSMISSÃO FELINA: CASUÍSTICA 2011-
2022 NO CHC-UFPR E AVALIAÇÃO DE TESTE RÁPIDO PARA
IMUNODIAGNÓSTICO

CURITIBA

2023



REGIELLY CAROLINE RAIMUNDO COGNIALLI

CONTRIBUIÇÕES AO ESTUDO DA EPIDEMIOLOGIA E DIAGNÓSTICO DA
ESPOROTRICOSE HUMANA DE TRANSMISSÃO FELINA: CASUÍSTICA 2011-
2022 NO CHC-UFPR E AVALIAÇÃO DE TESTE RÁPIDO PARA
IMUNODIAGNÓSTICO

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde, Setor de Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Medicina Interna e Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho

Coorientadora: Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss

CURITIBA

2023

C676 Cognialli, Regielly Caroline Raimundo

Contribuições ao estudo da epidemiologia e diagnóstico da esporotricose humana de transmissão felina: casuística 2011-2022 no CHC-UFPR e avaliação de teste rápido para imunodiagnóstico. [recurso eletrônico] / Regielly Caroline Raimundo Cognialli. – Curitiba, 2023.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho
Coorientadora: Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss

1. Esporotricose. 2. Zoonoses. 3. Micoses. 4. Estudos epidemiológicos. I. Telles Filho, Flávio de Queiroz. II. Weiss, Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA
JORDÃO CRB 9/991

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DOUTORADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTORA EM MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE

No dia onze de maio de dois mil e vinte e três às 09:00 horas, na sala AUDITÓRIO - SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - UFPR, R. PE CAMARGO, 280 - ALTO DA GLÓRIA - CURITIBA/PR - CEP: 80.060-240, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de tese da doutoranda **REGIELLY CAROLINE RAIMUNDO COGNIALLI**, intitulada: "**CONTRIBUIÇÕES AO ESTUDO DA EPIDEMIOLOGIA E DIAGNÓSTICO DA ESPOROTRICOSE HUMANA DE TRANSMISSÃO FELINA: CASUÍSTICA 2011-2022 NO CHC-UFPR E AVALIAÇÃO DE TESTE RÁPIDO PARA IMUNODIAGNÓSTICO.**", sob orientação do Prof. Dr. FLÁVIO DE QUEIROZ TELLES FILHO. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: FLÁVIO DE QUEIROZ TELLES FILHO (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), SOLENA ZIEMER KUSMA FIDALSKI (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), KATIA SHEYLLA MALTA PURIM (UNIVERSIDADE POSITIVO), LUIZA SOUZA RODRIGUES (INSTITUTO DE PESQUISA PELÉ PEQUENO PRÍNCIPE), MARISOL DOMINGUEZ MURO (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - HOSPITAL DE CLÍNICAS). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de doutora está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, FLÁVIO DE QUEIROZ TELLES FILHO, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

Curitiba, 11 de Maio de 2023.

Assinatura Eletrônica

15/05/2023 14:23:49.0

FLÁVIO DE QUEIROZ TELLES FILHO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

11/05/2023 15:17:56.0

SOLENA ZIEMER KUSMA FIDALSKI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

11/05/2023 16:37:38.0

KATIA SHEYLLA MALTA PURIM

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE POSITIVO)

Assinatura Eletrônica

15/05/2023 10:15:23.0

LUIZA SOUZA RODRIGUES

Avaliador Externo (INSTITUTO DE PESQUISA PELÉ PEQUENO PRÍNCIPE)

Assinatura Eletrônica

16/05/2023 11:50:38.0

MARISOL DOMINGUEZ MURO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - HOSPITAL DE CLÍNICAS)

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **REGIELLY CAROLINE RAIMUNDO COGNIALLI** intitulada: "**CONTRIBUIÇÕES AO ESTUDO DA EPIDEMIOLOGIA E DIAGNÓSTICO DA ESPOROTRICOSE HUMANA DE TRANSMISSÃO FELINA: CASUÍSTICA 2011-2022 NO CHC-UFPR E AVALIAÇÃO DE TESTE RÁPIDO PARA IMUNODIAGNÓSTICO.**", sob orientação do Prof. Dr. FLÁVIO DE QUEIROZ TELLES FILHO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 11 de Maio de 2023.

Assinatura Eletrônica

15/05/2023 14:23:49.0

FLÁVIO DE QUEIROZ TELLES FILHO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

11/05/2023 15:17:56.0

SOLENA ZIEMER KUSMA FIDALSKI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

11/05/2023 16:37:38.0

KATIA SHEYLLA MALTA PURIM

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE POSITIVO)

Assinatura Eletrônica

15/05/2023 10:15:23.0

LUIZA SOUZA RODRIGUES

Avaliador Externo (INSTITUTO DE PESQUISA PELÉ PEQUENO PRÍNCIPE)

Assinatura Eletrônica

16/05/2023 11:50:38.0

MARISOL DOMINGUEZ MURO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - HOSPITAL DE CLÍNICAS)

AGRADECIMENTOS

À minha família, meus pais, Regina e Régis, por terem investido na minha educação, sempre terem me apoiado e incentivado a alcançar meus objetivos, sem o amor de vocês eu não teria chegado até aqui.

À minha irmã Regiane e meu cunhado Cláudio por todo carinho e apoio.

Ao meu orientador prof. Dr. Flávio, por ser uma inspiração como profissional e ser humano. Foi um privilégio e uma honra ter sido orientada por alguém que admiro tanto.

À minha coorientadora profa. Dra. Izabella por ter aceitado o desafio de participar da pesquisa e sempre ser tão solícita.

Ao Diego Cáceres que contribuiu tanto para a elaboração e publicação dos artigos.

À IMMY pela parceria e doação dos kits diagnósticos.

À Adriana e Lili pela paciência. por terem me ensinado tanto, incentivado, apoiado e contribuído tanto durante essa jornada.

Aos meus melhores amigos, Jéssica, Lorena, Giuliano e Micheli, por sempre estarem ao meu lado me apoiando e bebendo comigo.

Fernanda e Francelise amigas do doutorado para a vida.

À banca examinadora pelo aceite do convite, é um privilégio tê-los avaliando o trabalho.

À todos os participantes que aceitaram participar do trabalho, colaborando com o desenvolvimento da ciência.

RESUMO

Esporotricose é a micose de implantação mais prevalente no mundo. A Esporotricose de Transmissão Felina (ETF) causada por *Sporothrix brasiliensis* emergiu como uma importante zoonose no Brasil e países limítrofes. Descrevemos a evolução da ETF, calculamos a incidência da doença, mapeamos a distribuição geográfica dos casos observados em Curitiba, Paraná, Brasil. Além disso, avaliamos o desempenho de um teste por imunocromatografia de fluxo lateral (do inglês: *Lateral Flow Assay, LFA*) para a detecção de anticorpos anti-*Sporothrix* em soro humano. Para o estudo epidemiológico, foram revisados 216 prontuários médicos de pacientes com esporotricose atendidos no Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), Curitiba, Brasil, de 2011 a 2022. Para avaliação do teste para detecção de anticorpos (Anti-*Sporo* LFA) em soro humano, desenvolvido pela IMMY, foram analisadas 300 amostras de soro humano coletadas prospectivamente no HC-UFPR. A taxa de incidência de ETF aumentou de 0,3 casos por 100.000 pacientes ambulatoriais em 2011, para 21,4 em 2021, com a maior parte dos casos (58%; n=126) diagnosticados no período de 2019-2021. Anti-*Sporo* LFA mostrou sensibilidade global de 83% (intervalo de confiança [IC] 95% = 74%–90%) e especificidade global de 82% (IC 95% = 77%–86%). Desde o primeiro relato de ETF em Curitiba em 2011, a esporotricose teve um aumento significativo. Tendências no aumento da incidência indicam a transmissão contínua da doença. Ações no controle da transmissão são necessárias. O estudo é o primeiro a avaliar teste imunodiagnóstico por imunocromatografia de fluxo lateral para detecção de anticorpos anti-*Sporothrix* em soro humano. Os achados mostram que o IMMY's Anti-*Sporo* LFA é uma ferramenta promissora para o diagnóstico rápido da ETF.

Palavras-chave: Esporotricose, *Sporothrix brasiliensis*, Esporotricose de transmissão felina, zoonose, diagnóstico, micose de implantação.

ABSTRACT

Sporotrichosis is the most prevalent implantation mycoses in the world. Cat-transmitted sporotrichosis (CTS) caused by *Sporothrix brasiliensis* has emerged as an important zoonosis in Brazil and neighbouring countries. We described the evolution of CTS, calculated disease incidence, and mapped the geographic distribution of cases seen in Curitiba, Brazil. Furthermore, we evaluate the performance of a lateral flow assay (LFA) for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies in human sera. For the epidemiological study we reviewed medical records of 216 sporotrichosis cases attended at the Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná (HC-UFPR), Curitiba, Brazil, from 2011 to 2022. The LFA for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies (Anti-*Sporo* LFA) in human sera, developed by IMMY, was evaluated using 300 human sera collected prospectively at HC-UFPR. The incidence rate of CTS increased from 0.3 cases per 100,000 outpatient visit-years (OPVY) in 2011, to 21.4 cases per 100,000 OPVY in 2021, with most cases (58%, n=126) diagnosed during 2019–2021. The Anti-*Sporo* LFA showed a global sensitivity of 83% (95% confidence interval [CI] = 74%–90%), a global specificity of 82% (95% CI = 76%–87%), and accuracy of 82% (95% CI = 77%–86%). Since the first report of CTS in Curitiba in 2011, sporotrichosis has been increase significantly. Trends on incidence increasing indicate the continuous transmission of the disease. Actions to control transmission are needed. This study presents the results of the evaluation of the first lateral flow assay for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies in human sera. The findings here show evidence that IMMY's Anti-*Sporo* LFA is a promising tool for the rapid diagnosis of CTS.

Key-words: Sporotrichosis, *Sporothrix brasiliensis*, Cat-transmitted Sporotrichosis, zoonosis, diagnosis, implantation mycoses.

NOTA EXPLICATIVA À BANCA EXAMINADORA

A presente tese de doutorado adequou-se às regras de diagramação preconizadas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), a qual aceita que os artigos científicos publicados, submetidos ou formatados para publicação possam ser utilizados em substituição à escrita da tese em si. Elementos pré-textuais obrigatórios foram devidamente incorporados conforme indicado pelo documento oficial disponibilizado pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências de Saúde.

Cada artigo encontra-se alinhado às normas de seus periódicos, bem como tabelas, figuras e gráficos. Portanto, a numeração das páginas estão de acordo com o periódico, dessa forma, seguem paginação diferente da presente tese.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO	13
1.2 OBJETIVOS	17
1.2.1 Objetivo geral	17
1.2.2 Objetivos específicos.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 HISTÓRICO	18
2.2 EPIDEMIOLOGIA.....	18
2.3 AGENTE ETIOLÓGICO	21
2.4 TRANSMISSÃO	24
2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	25
2.6 DIAGNÓSTICO	28
2.6.1 Exame direto	29
2.6.2 Cultura.....	30
2.6.3 Biologia Molecular	31
2.6.4 Método proteômico.....	32
2.6.5 Imunodiagnóstico	33
2.7 TRATAMENTO.....	34
2.8 ABORDAGEM DE SAÚDE ÚNICA.....	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	36
3.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO	36
3.3 LOCAL DO ESTUDO	36
3.4 DESENHO DO ESTUDO	36
3.4.1 Levantamento epidemiológico da esporotricose	36
3.4.1.1 População do estudo	38
3.4.1.2 Critérios de inclusão	39
3.4.1.3 Critérios de exclusão	39
3.4.2 Coleta das amostras	39
3.4.3 Avaliação do teste sorológico	39
3.4.4 Reagentes	40
3.4.5 Processamento das amostras	41

3.4.6 Interpretação do teste.....	41
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
4 RESULTADOS.....	43
4.1 ARTIGO 1.....	43
4.2 ARTIGO 2.....	86
5 CONCLUSÕES.....	95
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
FONTES DE FINANCIAMENTO.....	97
REFERÊNCIAS.....	98
ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO DE PACIENTES COM MICOSE.....	105
ANEXO2 – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	108
ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO DE CONTROLE.....	111

1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose endêmica negligenciada, causada por espécies do gênero *Sporothrix*, fungos termodimórficos. Embora sua distribuição seja cosmopolita, é mais frequentemente encontrado nas regiões tropicais e subtropicais, sendo endêmico na América Latina, América Central e África (SILVA; VASCONCELOS; CARNEIRO; CESTARI, 2007; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). O primeiro caso de esporotricose foi publicado em 1898 por Benjamin Schenck, estudante de medicina da Universidade Johns Hopkins, Baltimore, Estados Unidos da América (EUA) (SCHENCK, 1898). Ao longo do tempo, tornou-se conhecida como “doença dos jardineiros”, por ser transmitida através de inoculação traumática do fungo na pele ou mucosas, a partir de diversos tipos de fragmentos de vegetais (GREMIAO; MIRANDA; REIS; RODRIGUES *et al.*, 2017; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). Entretanto, a partir do final da década de 1990, uma nova espécie de transmissão zoonótica, *Sporothrix brasiliensis*, emergiu como agente da esporotricose de transmissão felina (ETF), no município do Rio de Janeiro, causando uma importante epizootia, envolvendo gatos, cães e humanos (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). O surto de esporotricose zoonótica, continua em expansão, atingindo várias regiões do Brasil e também alguns países limítrofes na América do Sul (GUTIERREZ-GALHARDO; FREITAS; DO VALLE; ALMEIDA-PAES *et al.*, 2015; GREMIAO; MIRANDA; REIS; RODRIGUES *et al.*, 2017; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; POESTER; MATTEI; MADRID; PEREIRA *et al.*, 2018; BRANDOLT; MADRID; POESTER; SANCHOTENE *et al.*, 2018; ETCHECOPAZ; LANZA; TOSCANINI; DEVOTO *et al.*, 2019). Em Curitiba, o primeiro caso de esporotricose zoonótica foi atendido no ambulatório de Micoses do Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC-UFPR), em 2011. No Brasil, há mais de 6.000 casos humanos notificados de esporotricose de transmissão zoonótica, além de 8.000 casos felinos e 300 caninos (GREMIAO; MIRANDA; REIS; RODRIGUES *et al.*, 2017; BRANDOLT; MADRID; POESTER; SANCHOTENE *et al.*, 2018; POESTER; MATTEI; MADRID; PEREIRA *et al.*, 2018; FALCAO; PIRES;

ANDRADE; GONCALVES *et al.*, 2020; GREMIAO; OLIVEIRA; MONTEIRO DE MIRANDA; SARAIVA FREITAS *et al.*, 2020). *S. brasiliensis* apresenta-se mais virulento que outros agentes de esporotricose, tais como *S. schenkii* e *S. globosa*, sendo associado a diversas formas clínicas, frequentemente mais graves e que podem acometer hospedeiros hígidos e imunodeprimidos (SILVA; VASCONCELOS; CARNEIRO; CESTARI, 2007; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019; RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021; RODRIGUES; GONÇALVES; DE CARVALHO; BORBA-SANTOS *et al.*, 2022;). A esporotricose é um problema de saúde pública no Brasil, sendo considerada a micose de implantação mais comum e tendo sido descrita em 25 dos 27 estados do país, com maior incidência na região Sul e Sudeste (SANCHOTENE; MADRID; KLAFKE; BERGAMASHI *et al.*, 2015; BRANDOLT; MADRID; POESTER; SANCHOTENE *et al.*, 2018; POESTER; MATTEI; MADRID; PEREIRA *et al.*, 2018; RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020; MUNHOZ; POESTER; SEVERO; TRÁPAGA *et al.*, 2022).

As manifestações clínicas da esporotricose podem ser classificadas como cutânea e extra cutânea, sendo divididas em quatro formas clínicas: linfocutânea, cutânea fixa, cutânea disseminada e extra cutânea (QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019). Embora as formas linfocutâneas e cutâneas fixas sejam as manifestações clínicas mais frequentes, desde a epidemia de esporotricose de transmissão zoonótica, formas atípicas têm sido descritas, como formas oculares, meníngeas, imunorreativas e osteoarticulares (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). Levantamento realizado entre 1992 e 2015 no Brasil, mostrou 782 hospitalizações devido a esporotricose, com média de 8 dias de internamento e 65 óbitos, porém esses dados podem estar subnotificados, visto que, a esporotricose não é uma doença de notificação compulsória em todo país (FALCÃO; FILHO; CAMPOS; VALLE *et al.*, 2019).

Devido à diversidade de manifestações clínicas, deve-se realizar o diagnóstico diferencial da esporotricose com outras doenças, como por exemplo, leishmaniose, piodermite, cromomicose, micetoma, entre outros, dessa forma, o diagnóstico laboratorial é fundamental (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018). O método padrão de referência é o isolamento

do fungo em cultura a partir da amostra clínica, embora seja um método de baixo custo, requer tempo e profissional especializado, ademais a sensibilidade varia de acordo com diversos fatores, tais como: carga fúngica, contaminação com outros microorganismos, tipo de amostra, entre outros (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018). A imunocromatografia de fluxo lateral (do inglês: LFA – *Lateral Flow Assay*) é um método diagnóstico rápido, utilizado para detecção e quantificação, de fácil execução e interpretação, sendo amplamente utilizado em diversas áreas. Baseia-se na pesquisa de antígeno ou anticorpo a partir da migração da amostra em uma membrana porosa por capilaridade, utiliza-se um conjugado ligado a uma partícula colorida para revelar a reação antígeno-anticorpo (HUANG; FAN; RAJBANSHI; XU, 2015; BRISTOW; SEVERE; PAPE; JAVANBAKHT *et al.*, 2016; GWYN; MITCHELL; DEAN; MKOCHA *et al.*, 2016; KOCZULA; GALLOTTA, 2016).

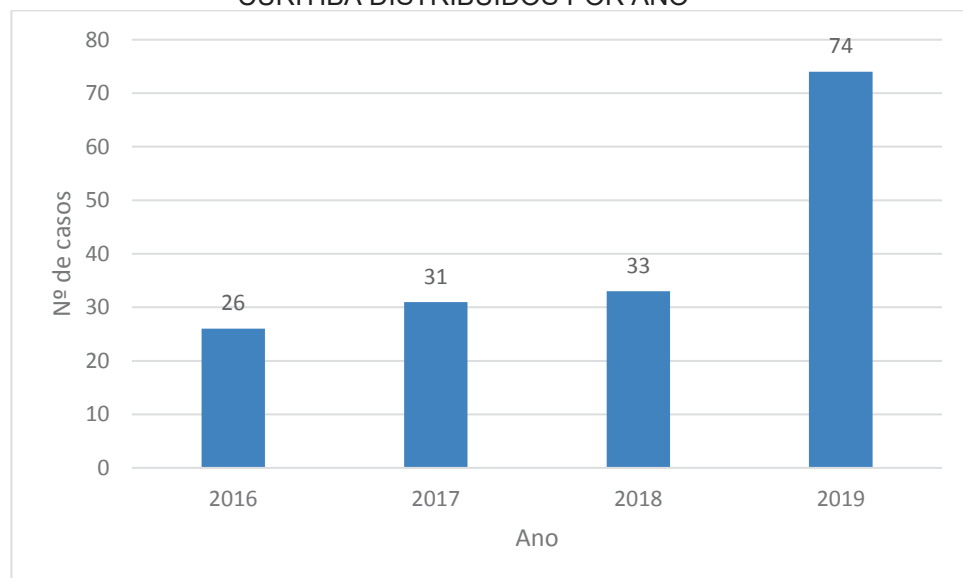
1.1 JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO

Atualmente, o Brasil enfrenta um grave surto zoonótico de ETF (QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019). A situação é agravada pela falta de programas de controle a nível nacional, desconhecimento da população e dos profissionais de saúde sobre a epidemia, dificuldades em realizar o manejo dos felinos doentes, falta de diagnóstico, dificuldade de acesso à medicação de forma gratuita, além da prevalência desconhecida da doença, visto que a esporotricose humana passou a ser incluída na Lista Nacional de doenças de notificação compulsória com a Portaria nº 264, de 17 de fevereiro de 2020, que posteriormente foi revogada (BRASIL, 2020; GREMIAO; OLIVEIRA; MONTEIRO DE MIRANDA; SARAIVA FREITAS *et al.*, 2020; SBMT, 2020). No estado do Rio de Janeiro a doença é considerada uma epidemia, com o maior número de casos descritos, seguido pelo Rio Grande do Sul, porém no Paraná os dados são escassos quanto a epidemiologia (BRANDOLT; MADRID; POESTER; SANCHOTENE *et al.*, 2018; POESTER; MATTEI; MADRID; PEREIRA *et al.*, 2018; MUNHOZ; POESTER; SEVERO; TRÁPAGA *et al.*, 2022). No Estado do Paraná, somente em 25 de março de 2022, com a Resolução SESA nº093/2022, a esporotricose humana e animal foi incluída entre as doenças de notificação compulsória em território estadual (SESA, 2022). Levantamento realizado

entre os anos de 1992 e 2015 demonstrou que neste período houveram 782 hospitalizações e 65 óbitos decorrentes de esporotricose no Brasil, com aumento importante em 2011 (FALCÃO; FILHO; CAMPOS; VALLE *et al.*, 2019).

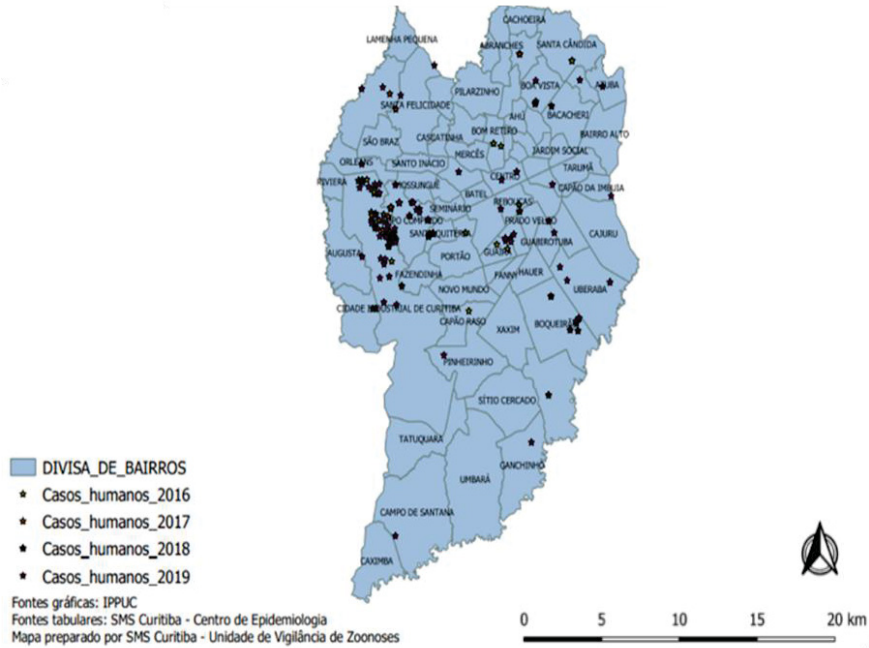
De acordo com a Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de Curitiba (dados não publicados) houve um aumento significativo de casos notificados de esporotricose humana entre 2016 e 2019 (GRÁFICO 1), além disso a grande maioria dos casos humanos e felinos inicialmente se concentravam entre os bairros Campo Comprido e Cidade Industrial de Curitiba, entretanto observou-se com o tempo o aumento da distribuição geográfica da doença conforme apresentado nas Figuras 1 e 2.

GRÁFICO 1: CASOS DE ESPOROTRICOSE HUMANA NOTIFICADOS PARA A SMS CURITIBA DISTRIBUÍDOS POR ANO



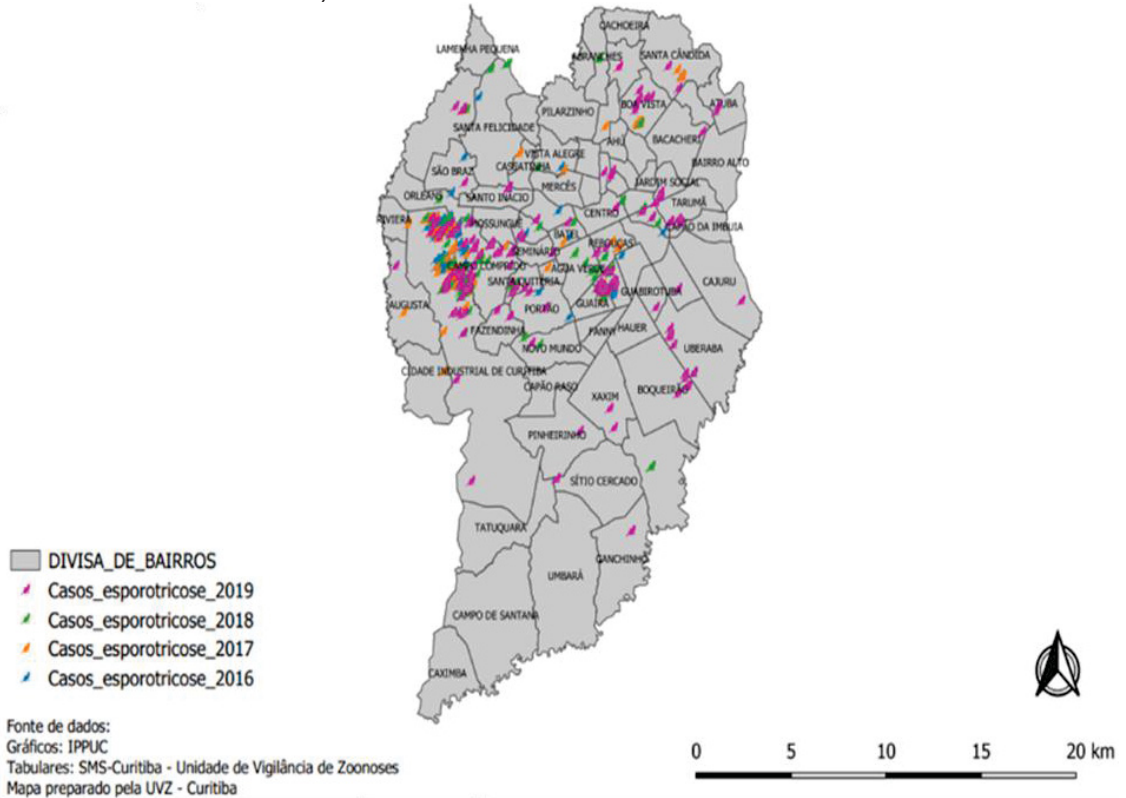
FONTE: Adaptado de dados não publicados pela SMS/Curitiba, 2020.

FIGURA 1: DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS HUMANOS DE ESPOROTRICOSE POR ANO (2016-2019) E BAIRRO NA CIDADE DE CURITIBA.



LEGENDA: Expansão geográfica do número de casos de esporotricose humana de 2016 a 2019, com maior concentração de casos humanos na regional da Cidade Industrial de Curitiba.
FONTE: Adaptado de dados não publicados pela SMS/Curitiba, 2020.

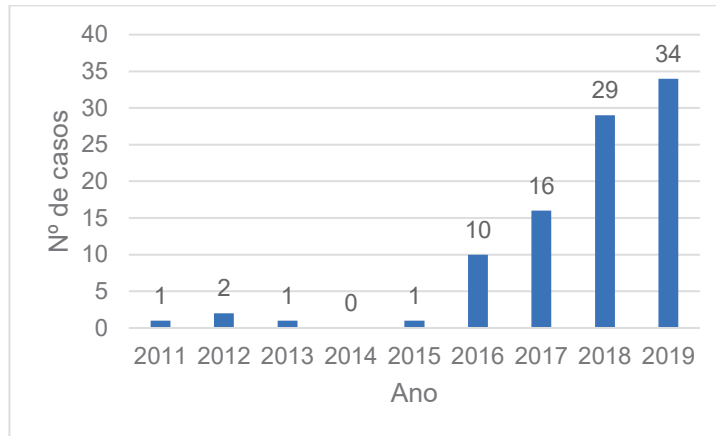
FIGURA 2: DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS FELINOS DE ESPOROTRICOSE POR ANO (2016-2019) E BAIRRO NA CIDADE DE CURITIBA.



LEGENDA: Expansão geográfica do número de casos de esporotricose felina de 2016 a 2019, com maior concentração de casos humanos na regional da Cidade Industrial de Curitiba.
FONTE: Adaptado de dados não publicados pela SMS/Curitiba, 2020.

Levantamento realizado dos casos de ETF atendidos no Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC/UFPR), entre os anos 2001 e 2019, mostrou que neste período foram atendidos 94 pacientes e foi possível observar aumento expressivo do número de casos a partir de 2016, conforme Gráfico 2 (VAZ, 2020).

GRÁFICO 2: CASOS DE ETF ATENDIDOS NO CHC/UFPR DISTRIBUÍDOS POR ANO.



FONTE: Vaz, 2020.

Devido ao grande número de casos da doença, muitas vezes o diagnóstico é baseado apenas nas características clínico-epidemiológicas, porém para comprovação da doença o método diagnóstico padrão de referência é a realização de cultura a partir de amostra de biópsia ou secreção da lesão, porém a cultura nem sempre está disponível, pois requer profissionais treinados e infraestrutura adequada, além de demandar tempo (HAY; DENNING; BONIFAZ; QUEIROZ-TELLES *et al.*, 2019). A partir do surto de ETF formas atípicas têm sido descritas com maior frequência, como formas imunoalérgicas, meningíticas e outros acometimentos extra cutâneos, portanto se faz necessário implantar testes rápidos e acurados que auxiliem o diagnóstico da doença (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; MIALSKI; DE ALMEIDA; DA SILVA; KONO *et al.*, 2018). Embora existam testes sorológicos validados para esporotricose, como método de aglutinação de partículas de látex e ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), eles não são comercializados no Brasil e são utilizados exclusivamente em centros de pesquisa.

Diante disso, é de suma importância validar e disponibilizar um método diagnóstico sorológico rápido, de fácil execução, com alta sensibilidade e especificidade para que não seja necessária a realização de procedimento invasivo

como biópsia de lesão, além de descrever o perfil epidemiológico da doença em pacientes atendidos em um hospital terciário de referência na capital do estado do Paraná.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Realizar levantamento epidemiológico de casos de esporotricose humana atendidos na última década no CHC-UFPR e avaliar a especificidade e sensibilidade de um teste sorológico rápido para a doença testado em amostras de pacientes da mesma instituição.

1.2.2 Objetivos específicos

- Realizar perfil clínico-epidemiológico de pacientes com esporotricose atendidos no CHC-UFPR no período de 2011 a 2022;
- Avaliar teste sorológico para imunodiagnóstico da esporotricose humana causada por *S. brasiliensis* em amostras de soro por imunocromatografia de fluxo lateral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

Em 1898, Schenck descreveu o primeiro caso de esporotricose na cidade de Baltimore, nos Estados Unidos da América (EUA), em um paciente de 36 anos com linfangite e nódulo ulcerado no dedo indicador direito (SCHENCK, 1898). Na cidade de Chicago (EUA), Hektoen e Perkins, em 1900, descreveram outro caso com as mesmas características e ao isolar o agente fúngico denominaram como *Sporothrix schenckii* (HEKTOEN; PERKINS, 1900).

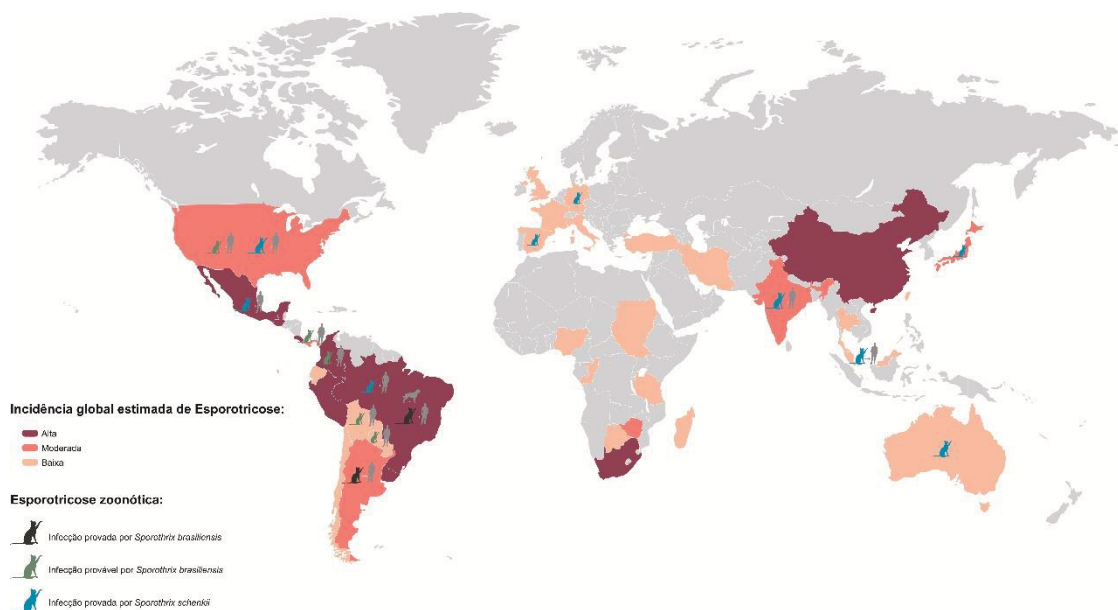
O primeiro relato no Brasil por Lutz e Splendore foi de infecção natural em ratos em 1907 (LUTZ; SPLENDORE, 1907). O primeiro caso humano foi descrito por Terra e Rabelo em 1912, na cidade do Rio de Janeiro, e desde então, novos casos foram descritos em outras regiões do país (GUTIERREZ-GALHARDO; FREITAS; DO VALLE; ALMEIDA-PAES *et al.*, 2015). Em 1955, foi descrito o primeiro caso no Brasil de transmissão zoonótica felina no estado de São Paulo (DE ALMEIDA; SAMPAIO, 1955). Entretanto, foi na década de 1990 que a esporotricose começou a se tornar uma endemia/epidemia no país (CHAKRABARTI; BONIFAZ; GUTIERREZ-GALHARDO; MOCHIZUKI *et al.*, 2015). Com o avanço das técnicas de biologia molecular, novas espécies passaram a ser descritas e em 2007 foi proposta a espécie *Sporothrix brasiliensis*, a qual está relacionada a ETF (MARIMON; CANO; GENE; SUTTON *et al.*, 2007).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Por não ser de notificação compulsória, a estimativa de prevalência da esporotricose é de 0,1 a 0,5% (CHAKRABARTI; BONIFAZ; GUTIERREZ-GALHARDO; MOCHIZUKI *et al.*, 2015). A taxa de incidência global estimada é de mais de 40.000 casos por ano, principalmente em regiões endêmicas (BONGOMIN; GAGO; OLADELE; DENNING, 2017). A doença já foi descrita em diversos continentes como América, África, Europa, Ásia e Austrália (FIGURA 3) (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011; CHAKRABARTI; BONIFAZ; GUTIERREZ-GALHARDO; MOCHIZUKI *et al.*, 2015). Na França, no início do século XX, a doença era relativamente comum e durante o último século surtos da doença foram relatados no

mundo (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). O maior surto descrito ocorreu entre 1941 e 1944 na África do Sul, envolvendo cerca de 3.300 trabalhadores de uma mina de ouro, possivelmente infectados por *S. schenckii*, presente na madeiras utilizadas como vigas de sustentação (HELM; BERMAN, 1947; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017).

FIGURA 3: DISTRIBUIÇÃO GLOBAL E INCIDÊNCIA RELATIVA DA ESPOROTRICOSE.



LEGENDA: Incidência global estimada de esporotricose. Os países com maior incidência da doença estão representados em cores mais intensas. Países onde foram relatados casos de esporotricose zoonótica estão representados com figura de gato, com cor correspondente à espécie envolvida e critério de diagnóstico utilizado. Na figura está representado com seta os casos de transmissão zoonótica da esporotricose para humanos ou caninos.

FONTE: O Autor (2022).

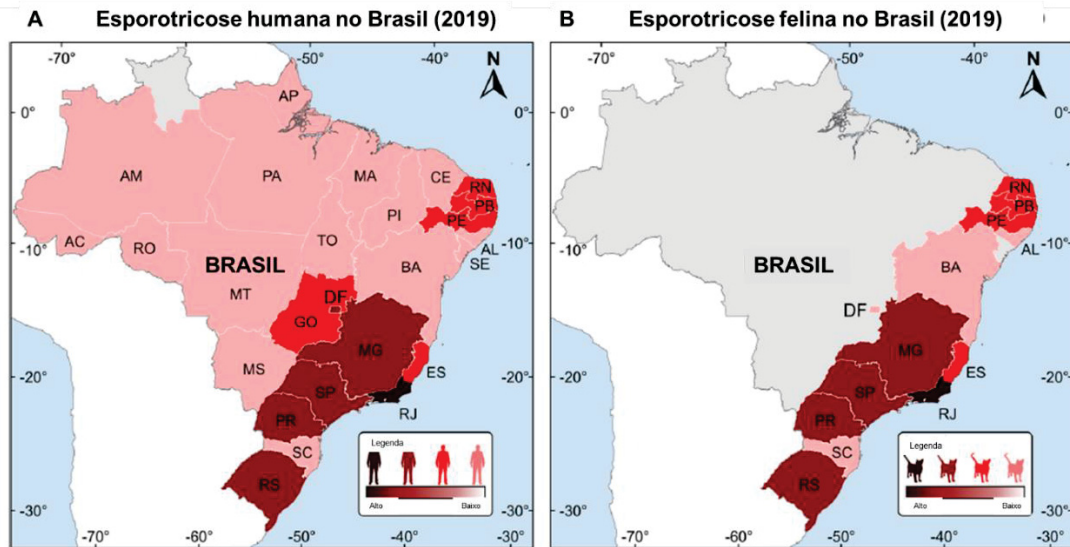
Na década de 1980, diversos casos foram relatados na região do vale do Mississippi, nos EUA, envolvendo trabalhadores ligados a reflorestamento (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). Ainda nos EUA, foi descrito um pequeno surto entre 1992 e 1993 envolvendo feno contaminado em uma casa abandonada (DOOLEY; BOSTIC; BECKIUS, 1997). Na Austrália um pequeno surto foi relatado envolvendo 11 pessoas em que a fonte de contaminação também foi o feno (FEENEY; ARTHUR; WHITTLE; ALTMAN *et al.*, 2007). Foi identificado na Guatemala, uma região endêmica para a doença no distrito de Ayarza, em um período de três anos foram relatados 53 casos envolvendo

pescadores, sendo que em 45,3% dos casos as lesões surgiram após o manuseio dos peixes (MAYORGA; CACERES; TORIELLO; GUTIERREZ *et al.*, 1978; CHAKRABARTI; BONIFAZ; GUTIERREZ-GALHARDO; MOCHIZUKI *et al.*, 2015;).

Algumas regiões são reconhecidas como endêmicas, como a província de Jilin na China, na qual tem ocorrido um grande aumento no número de casos da doença, tendo sido relatados 226 casos entre os anos de 1987-2004 e 2968 casos registrados entre 2010 -2018 (SONG; LI; ZHONG; LIU *et al.*, 2013; YAO; SONG; ZHOU; CUI *et al.*, 2019). Outra região é Abancay, no Peru, considerada hiperendêmica, tendo sido descritos 1.527 casos entre 1985 e 2011 (RAMIREZ SOTO, 2015).

No Brasil, em 1997, foram descritos no Rio de Janeiro os primeiros casos de ETF no estado e no país (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). Desde então, o número de casos no Rio de Janeiro aumentou de 759 entre 1998 e 2004 para mais de 4.000 em 2014, sendo considerada até hoje uma área hiperendêmica. Devido ao potencial de transmissão zoonótico e enzoótico de *S. brasiliensis*, atualmente o Brasil enfrenta o maior surto já registrado de esporotricose, tendo expandido geograficamente para outros 25 dos 27 estados que compõe o país (FIGURA 4) (FREITAS; DO VALLE; ALMEIDA-PAES *et al.*, 2015; GREMIAO; MIRANDA; REIS; RODRIGUES *et al.*, 2017; GUTIERREZ-GALHARDO; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; BRANDOLT; MADRID; POESTER; SANCHOTENE *et al.*, 2018; POESTER; MATTEI; MADRID; PEREIRA *et al.*, 2018; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

FIGURA 4: EXPANSÃO DOS CASOS DE ESPOROTRICOSE HUMANA (A) E FELINA (B).



LEGENDA: A - Mapa do Brasil com a incidência de casos humanos de esporotricose por estado (2019), sendo que colorações mais intensas indicam maior número de casos da doença. B - Mapa do Brasil com a incidência de casos felinos de esporotricose por estado (2019), sendo que colorações mais intensas indicam maior número de casos da doença.

FONTE: Adaptado de (RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020).

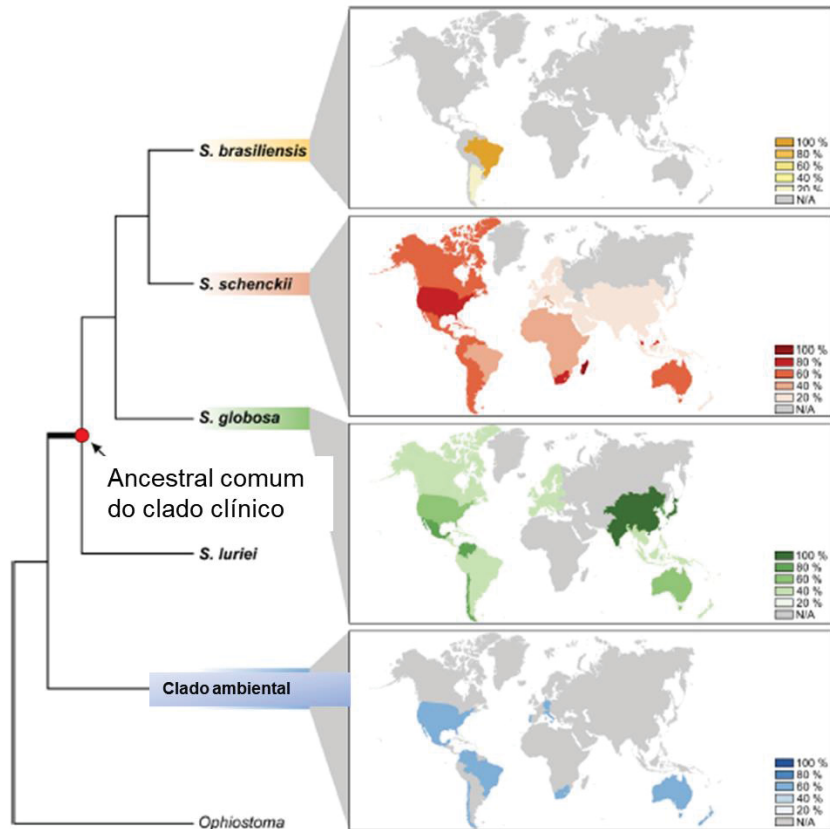
A ETF também já foi descrita em outros países como EUA, México, Panamá, Argentina, Índia e Malásia, porém seus agentes são outras espécies do gênero *Sporothrix* (CHAKRABARTI; BONIFAZ; GUTIERREZ-GALHARDO; MOCHIZUKI *et al.*, 2015; RIOS; SUAREZ; MORENO; VALLEE *et al.*, 2018; RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020). A transmissão zoonótica por *S. brasiliensis* ocorria exclusivamente no Brasil, entretanto, recentemente foram reportados casos provados na Argentina e Paraguai, além de casos prováveis na Bolívia e Chile (DUARTE; MANUEL; ACOSTA; RAÚL *et al.*, 2017; ETCHECOPAZ; LANZA; TOSCANINI; DEVOTO *et al.*, 2019; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020). Recentemente foram descritos casos de ETF por *S. brasiliensis* no Reino Unido (RACHMAN; LIGAJ; CHINTHAPALLI; SERAFINO WANI, 2022; BARNACLE; CHOW; BORMAN; WYLLIE *et al.*, 2023).

2.3 AGENTE ETIOLÓGICO

Em 1999, *S. schenkii* foi classificado na divisão *Ascomycota*, classe *Pyrenomycetes*, ordem *Ophistomatales*, família *Ophistomataceae* (GUARRO; GENEJ; STCHIGEL, 1999). Por mais de um século, acreditava-se que a única espécie patogênica era o *S. schenkii*, porém a partir de estudos baseados em características

moleculares e fenotípicas foi proposto a denominação do complexo *S. schenckii*, composto por diversas espécies, sendo as de relevância clínica associadas a esporotricose humana: *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis*, *S. mexicana*, *S. globosa*, *S. luriei*, *S. pallida* e *S. chilensis* (ZHOU; RODRIGUES; FENG; DE HOOG, 2013; GUTIERREZ-GALHARDO; FREITAS; DO VALLE; ALMEIDA-PAES *et al.*, 2015; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). Todavia, recentemente foi proposto utilizar o termo “clado clínico” ou “clado patogênico” para se referir ao *S. brasiliensis*, *S. schenckii sensu stricto*, *S. globosa* e *S. luriei*, para as demais espécies o termo “clado ambiental”, uma vez que raramente causam infecções em mamíferos (RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; COGNIALLI; LUSTOSA *et al.*, 2022). No Brasil, até o momento, as espécies identificadas relacionadas a esporotricose humana são: *S. schenckii sensu stricto*, *S. brasiliensis* e *S. globosa* (DE OLIVEIRA; DE ALMEIDA-PAES; DE MEDEIROS MUNIZ; DE LIMA BARROS *et al.*, 2010; GUTIERREZ-GALHARDO; FREITAS; DO VALLE; ALMEIDA-PAES *et al.*, 2015).

Nos casos endêmicos da doença os principais agentes classicamente envolvidos são *S. schenckii sensu stricto* e *S. globosa*, os quais são transmitidos por via sapronótica, entretanto nas últimas décadas surgiu uma nova espécie no estado do Rio de Janeiro, *S. brasiliensis*, o qual está relacionado com a epidemia de ETF (RODRIGUES; DE MELO TEIXEIRA; DE HOOG; SCHUBACH *et al.*, 2013; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019). Embora as espécies do clado clínico estejam geograficamente distribuídas no mundo (FIGURA 5), em geral há uma espécie predominante, como por exemplo *S. globosa* na Ásia (99,3%), *S. brasiliensis* na região sul/sudeste da América do Sul (88,0%), *S. schenckii* na Austrália, África do Sul, América Central e América do Norte (89,0 a 94,0%) (RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020).

FIGURA 5: DISTRIBUIÇÃO GLOBAL DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE *Sporothrix*.

LEGENDA: Distribuição global das principais espécies de *Sporothrix* representados com diferentes cores e intensidades de acordo com sua incidência. Amarelo: *Sporothrix brasiliensis*, Alaranjado: *Sporothrix schenckii*; Verde: *Sporothrix globosa*; Azul: espécies do clado ambiental,
 FONTE: Adaptado de (RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020).

Sporothrix spp. é um fungo termodimórfico, podendo apresentar-se na forma filamentosa ou leveduriforme de acordo com a temperatura (QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). O fungo no ambiente ou quando cultivado em 25-30°C desenvolve-se na fase filamentosa, com colônia inicialmente branca a creme, corinácea e com superfície sulcada. Alguns isolados permanecem com coloração creme, enquanto outros produzem coloração castanho escuro (LACAZ; PORTO; MARTINS; HEINS-VACCARI *et al.*, 2002; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Na análise microscópica dessa fase, observam-se hifas hialinas delgadas (1 a 2 μm), septadas, ramificadas e com conídios hialinos, unicelulares, com formato globoso a ovoide, localizados no ápice do conidióforo e dispostos em formato de “margarida” (LACAZ; PORTO; MARTINS; HEINS-VACCARI *et al.*, 2002; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011).

O fungo torna-se leveduriforme no hospedeiro ou quando cultivado em cultura à 35-37°C. Na macromorfologia observam-se colônias com aspecto cremoso e coloração de branco a bege (LACAZ; PORTO; MARTINS; HEINS-VACCARI *et al.*, 2002; BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011). Na análise microscópica é possível visualizar células leveduriformes com formato redondo ou oval, com diâmetro variando de 2 a 6 µm, podendo ser alongados com formato de naveta (BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011).

2.4 TRANSMISSÃO

Reconhece-se duas vias de transmissão da esporotricose, sendo elas: via sapronótica e zoonótica. A primeira, ocorre por inoculação traumática do fungo na sua forma filamentosa, presente na matéria orgânica do solo ou em subprodutos de origem vegetal (transmissão sapronótica), causada principalmente por *S. schenckii* e *S. globosa* (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; MORA-MONTES, 2018). Na via de transmissão zoonótica, o gato doméstico (*Felis catus*) doente transmite o agente *S. brasiliensis*, para humanos, cães ou outros felinos, por traumas diversos (arranhadura/mordedura), ou ainda, por contato com secreções cutâneo-mucosas ou respiratórias (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; BASTOS; COGNIALLI; FARIAS; MONTI *et al.*, 2022). Gatos doentes possuem grande quantidade de leveduras infectantes em suas lesões, sendo que essas, podem ser transmitidas diretamente na fase leveduriforme, ao contrário dos demais fungos termodimórficos que são transmitidos apenas pela fase filamentosa (PEREIRA; GREMIAO; KITADA; BOECHAT *et al.*, 2014; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020). A esporotricose sapronótica é considerada uma enfermidade ocupacional por acometer trabalhadores rurais, jardineiros e indivíduos que trabalham com produtos de origem vegetal. Na esporotricose zoonótica há maior risco ocupacional em profissionais que manipulam os animais doentes, como médicos veterinários e auxiliares, assim como tutores e acumuladores de gatos, funcionários de centros de controle de zoonose, “*pet houses*”, entre outros (RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020).

2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A esporotricose possui um grande espectro de manifestações clínicas, sendo dividida em cutânea e extra cutânea, apresentando-se em quatro diferentes formas clínicas: linfocutânea (LC), cutânea fixa (CF), cutânea disseminada e extra cutânea (FIGURA 6) (QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). O tempo de incubação para manifestação da doença é variável, podendo levar dias ou meses após a exposição, e a gravidade da manifestação clínica varia de acordo com a espécie envolvida e características imunes do paciente (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

A forma LC é a manifestação mais comum, representando cerca de 80% dos casos, sendo caracterizada inicialmente por nódulo papulonodular no local onde o fungo foi introduzido, posteriormente a lesão pode se tornar ulcerada e formar uma pústula (cancro de inoculação), e após algumas semanas ocorre a formação de novos nódulos seguindo o sistema linfático regional (FIGURA 6-B) (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAC; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018).

FIGURA 8: MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA ESPOROTRICOSE HUMANA



LEGENDA: A – forma cutânea fixa com lesão ulcerada em dorso de mão e lesões satélites; B- forma linfocutânea com linfangite ascendente; C – forma cutânea disseminada em paciente imunodeprimido; D – forma ocular com conjuntivite granulomatosa.

FONTE: Pacientes do Ambulatório de Micoses do CHC/UFPR.

A forma CF consiste em uma única lesão, sem acometimento linfático, que em alguns casos pode ser tornar ulcerada, representa de 20 a 30% de todos os casos (FIGURA 6-A) (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018). Nas formas cutâneas ainda podem ser observadas apresentações imunorreativas, como eritema nodoso, eritema multiforme, artrite reativa e Síndrome Sweet's (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018).

As formas cutânea disseminada e extra cutânea são mais raras e severas, ocorrendo em menos de 10% dos casos, quase exclusivamente em pacientes

imunossuprimidos (BONIFAZ; TIRADO-SÁNCHEZ, 2017; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020; GARCIA; BOND; BARRY; STEEN *et al.*, 2021). A forma cutânea disseminada é uma forma incomum, caracterizada por múltiplas lesões cutâneas sem acometimento extra cutâneo, correspondendo de 1 a 5% dos casos, acometendo principalmente pacientes imunodeprimidos com HIV/SIDA e pacientes com fatores que causam imunossupressão, como *diabetes mellitus* descontrolada, etilismo crônico, uso de corticosteroides, neoplasias hematológicas, transplantados, e raramente observada em pacientes imunocompetentes (FIGURA 6-C) (BONIFAZ; TIRADO-SÁNCHEZ, 2017; BONIFAZ; TIRADO-SÁNCHEZ; PAREDES-SOLÍS; CEPEDA-VALDÉS *et al.*, 2018; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019; GARCIA; BOND; BARRY; STEEN *et al.*, 2021; QUEIROZ-TELLES; COGNIALLI; SALVADOR; MOREIRA *et al.*, 2022).

A forma extra cutânea ou também chamada de forma disseminada, acomete órgãos ou sistemas, como olhos (FIGURA 6-D), fígado, rins, sistema nervoso central, entre outros (QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019). A esporotricose ocular pode ocorrer a partir do contato de secreções do gato doente com a conjuntiva, sendo principalmente caracterizada por conjuntivite aguda ou crônica, síndrome de Parinaud e dacriocistite (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

A partir do surto de ETF formas atípicas têm sido cada vez mais descritas, como caso de meningite crônica e hidrocefalia causada por *S. brasiliensis* em paciente imunocompetente (MIALSKI; DE ALMEIDA; DA SILVA; KONO *et al.*, 2018). Casos de esporotricose ocular em regiões hiperendêmicas com transmissão zoonótica tem sido relatadas com maior frequência (FERREIRA; SODRE; COSTA; SETTA *et al.*, 2018; ARINELLI; ALEIXO; FREITAS; DO VALLE *et al.*, 2019; LACERDA FILHO; CAVALCANTE; DA SILVA; INACIO *et al.*, 2019). Reações de hipersensibilidade causada por resposta imune celular também podem ser observadas e são caracterizadas principalmente por eritema nodoso e multiforme, artralgia, mialgia e artrite (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

A intensidade das manifestações clínicas varia de acordo com diversos fatores, tais como: quantidade de inóculo, resposta imune do hospedeiro, forma de transmissão e a espécie envolvida, visto que *S. brasiliensis* é a espécie mais virulenta podendo invadir tecidos, formar biofilme e produzir maior quantidade de melanina que

parece estar associada à resistência a fagocitose (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; RODRIGUES; DELLA TERRA; GREMIÃO; PEREIRA *et al.*, 2020; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021; RODRIGUES; GONÇALVES; DE CARVALHO; BORBA-SANTOS *et al.*, 2022).

Nos felinos a doença é agressiva, com alta carga fúngica, e há um espectro de manifestações clínicas, podendo causar lesão única ou quadros disseminados e fatais (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016). Assim como em humanos, o período de incubação para manifestação clínica é variável, podendo levar dias ou meses após a exposição (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020). As apresentações clínicas em felinos podem ser classificadas em três formas: cutânea com presença de úlceras, linfocutânea e a forma disseminada, sendo que na última, frequentemente são observados nos casos mais severos e com falha de tratamento lesões na cavidade nasal e trato respiratório superior (FIGURA 7) (DUANGKAEW; YURAYART; LIMSIVILAI; CHEN *et al.*, 2019; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

FIGURA 7: FORMA DISSEMINADA DA ESPOROTRICOSE EM FELINO.



FONTE: Foto gentilmente cedida pelo Dr. Marconi Rodrigues de Farias - PUC/PR.

2.6 DIAGNÓSTICO

Existem diferentes métodos para diagnóstico de esporotricose, porém o método padrão de referência é o isolamento do agente etiológico *Sporothrix* spp. em cultura, a partir do material clínico, como biópsia, abscesso, secreção de lesão, líquido

sinovial, entre outros (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017).

2.6.1 Exame direto

A visualização de leveduras de *Sporothrix* spp. a partir do material clínico, utilizando hidróxido de potássio 10-40% (KOH), em humanos é difícil, principalmente devido à baixa carga fúngica e o tamanho das células leveduriformes de 2-6 µm de diâmetro, sendo positivo em apenas 1-2% dos casos (ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). O uso de técnicas de coloração como Giemsa, Gram e Grocott-Gomori pode aumentar a sensibilidade do exame (FIGURA 8 – A) (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018). Em felinos, devido à alta carga fúngica, é possível observar facilmente a presença de células leveduriformes chegando a 87% de sensibilidade, conforme observado na Figura 8-B (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

No exame anatomopatológico a sensibilidade varia de acordo com a coloração empregada, de 18 a 40%, podendo ser utilizadas para visualização das células leveduriformes as colorações Hematoxilina-Eosina (HE), PAS (*Periodic acid-reactive Schiff*) e Grocott-Gomori (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; LV; WU; WANG; ZHANG *et al.*, 2019). Técnica de imunofluorescência direta utilizando calcofluor têm demonstrado sensibilidade superior (74%) quando comparado com as colorações convencionais (LV; WU; WANG; ZHANG *et al.*, 2019). Em 43% dos casos, é possível observar a presença de corpos asteroides, também chamado de fenômeno de Splendore-Hoeppli, o qual consiste em material amorfo eosinofílico em torno do fungo, porém este fenômeno pode aparecer em outras doenças granulomatosas, não sendo exclusivo da esporotricose (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018).

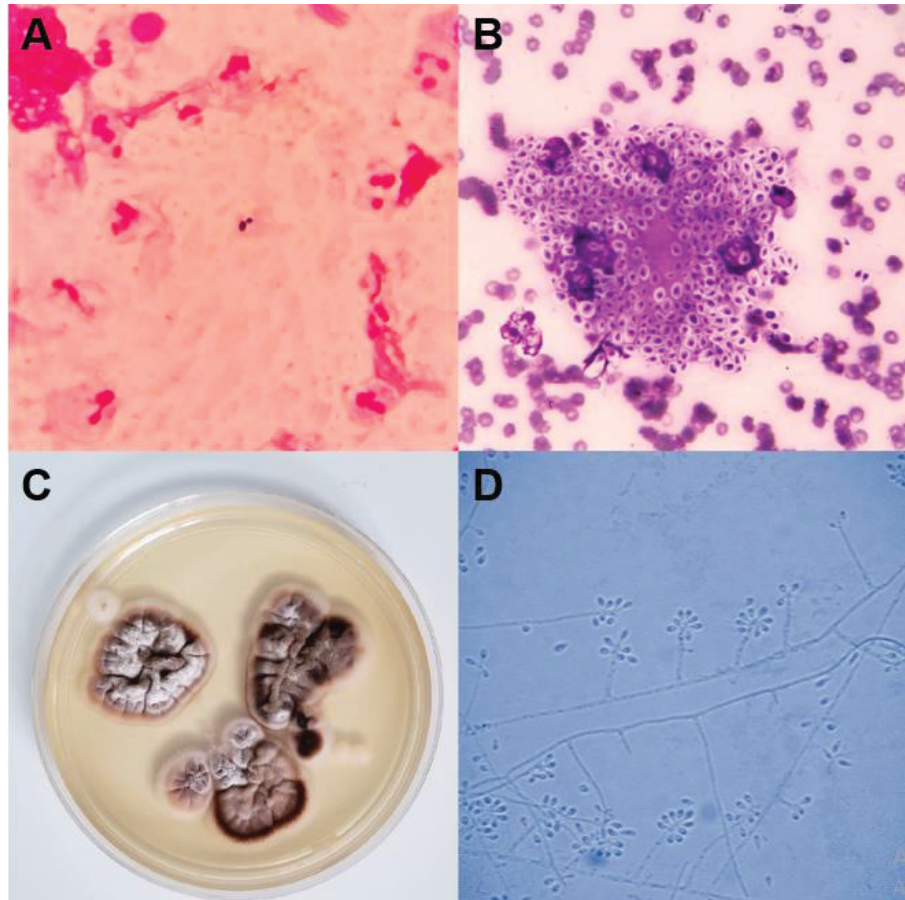
2.6.2 Cultura

É o método padrão de referência para o diagnóstico da esporotricose, sendo considerado simples e de baixo custo (QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). O material clínico é semeado em meios como Ágar Sabouraud, Ágar Mycosel e Ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) e mantido a temperatura de 25-30°C (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). O tempo de crescimento do fungo em cultura varia de acordo com a carga fúngica, espécie e tipo de material, variando entre 5 a 8 dias para início de crescimento fúngico (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). Como *Sporothrix* spp. é um fungo termodimórfico espera-se desenvolvimento de colônia filamentosa, conforme observado na Figura 8-C.

A partir da colônia, é realizada análise micromorfológica utilizando técnica de microcultivo, para avaliação da conidiogênese característica de *Sporothrix* spp. com hifas delgadas e conídios dispostos simpodialmente em forma de “margarida” (FIGURA 8 - D) (ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018).

É possível realizar teste de reversão a fim de comprovar o termodimorfismo do fungo, semeando em Ágar BHI a 37°C, no qual a cultura se tornará leveduriforme com aspecto cremoso (ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

FIGURA 8: DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DA ESPOROTRICOSE



LEGENDA: A – exame micológico direto com coloração de Gram de secreção de humano, mostrando levedura única com brotamento (aumento 1000x); exame micológico direto com coloração de Giemsa de lesão de felino, mostrando inúmeras células leveduriformes (aumento de 1000x); C – macromorfologia em ágar Sabouraud de *Sporothrix* em fase filamentosa; D – micromorfologia de *Sporothrix* com conidiogênese característica em “forma de margarida” (aumento 400x)
 FONTE: O Autor (2023).

Provas fenotípicas podem ser realizadas para identificação de espécie, como avaliação da cor e formato dos conídios em Ágar Farinha de Milho, avaliação de diâmetro de cultura e morfologia em Ágar Batata, além da assimilação de fontes de carboidrato, entretanto existem limitações, como semelhanças morfológicas (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017).

2.6.3 Biologia Molecular

Técnicas de biologia molecular são fundamentais para a identificação das espécies de *Sporothrix* spp. (QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). O sequenciamento de DNA por PCR (Reação em Cadeia da

Polimerase) das regiões ITS (*Internal Transcript Spacer*) em geral são suficientes para identificação das espécies, porém para uma melhor resolução taxonômica, outros genes podem ser sequenciados como β -tubulina, calmodulina e fator de alongação 1 α (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). Outras técnicas como PCR-RFPL (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*), PCR espécie-específico e PCR em tempo real também têm sido utilizadas, e possuem como vantagem o menor custo e maior facilidade de execução do que o sequenciamento (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2015; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ZHANG; LI; LI; GONG *et al.*, 2019). Embora técnicas de biologia molecular possuam sensibilidade e especificidade superior a 90%, essas técnicas necessitam de laboratório com maior infraestrutura, equipamentos mais sofisticados, profissionais habilitados, e além disso, há poucos estudos de validação em micologia clínica (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

2.6.4 Método proteômico

A ferramenta MALDI-TOF/MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry*) é amplamente utilizada nos laboratórios de microbiologia clínica para a identificação de gênero e espécie de diversos microorganismos. O princípio da técnica baseia-se na ionização e vaporização de proteínas para a geração de espectros, permitindo através da análise proteômica, identificação rápida, fácil e acurada de bactérias e fungos (PATEL, 2015; HOU; KOSTRZEWA, 2018; CHIANG-NI; TENG, 2019; WELKER; VAN BELKUM; GIRARD; CHARRIER *et al.*, 2019). Para identificação das espécies de *Sporothrix* o MALDI-TOF/MS ainda não é utilizado como rotina, devido à dificuldade de obtenção de espectros, porém alguns estudos têm demonstrado o potencial dessa ferramenta e têm desenvolvido protocolos para que seja implantado na rotina laboratorial (OLIVEIRA; SANTOS; SAMPAIO; ROMEO *et al.*, 2015; MATOS; MOREIRA; BARCZEWSKI; MATOS *et al.*, 2019; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). Atualmente os bancos de dados comerciais dispõe apenas de espectros de *S. schenckii sensu stricto*.

2.6.5 Imunodiagnóstico

Diversas técnicas de diagnóstico sorológico para esporotricose já foram propostas, como intradermoreação, aglutinação, imunoprecipitação, imunoeletroforese e imunodifusão, com sensibilidade oscilando de acordo com a metodologia, entre 7,6% com imunodifusão até 96% em aglutinação em tubo (BLUMER; KAUFMAN; KAPLAN; MCLAUGHLIN *et al.*, 1973; CASSERONE; CONTI-DIAZ; ZANETTA; PENA DE PEREIRA, 1983; DE ALBORNOZ; VILLANUEVA; DE TORRES, 1984; OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ARENAS; SANCHEZ-CARDENAS; RAMIREZ-HOBAK; RUIZ ARRIAGA *et al.*, 2018). Em virtude disso, técnicas com maior sensibilidade como ELISA e *Western Blot* começaram a ser estudadas (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). A partir do uso do antígeno da parede celular da fase leveduriforme de *S. schenckii* - SsCBF (*Sporothrix schenckii* Con A-Binding Fraction) - foi desenvolvido um teste de ELISA e avaliado com 96 soros de pacientes com esporotricose, sendo que 67% dos pacientes apresentavam a forma linfocutânea. Nesse teste foi observada sensibilidade de 90% (BERNARDES-ENGEMANN; OROFINO-COSTA; MIGUENS; PENHA *et al.*, 2005). Antígeno da fase micelial de *S. schenckii* também foi utilizado no desenvolvimento de teste sorológico por ELISA indireto, no qual avaliaram 90 amostras de soro de pacientes com esporotricose de diferentes formas clínicas, 72 soros de pacientes com outras micoses e leishmaniose, além de 76 soros de voluntários, tendo sido observado sensibilidade de 97% e especificidade de 89% (ALMEIDA-PAES; PIMENTA; PIZZINI; MONTEIRO *et al.*, 2007). Embora os estudos utilizando a técnica de ELISA tenham sido promissores e tenham demonstrado alta sensibilidade e especificidade, eles não são comercializados, tendo seu uso exclusivo para pesquisa (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020). Além disso, essa técnica é trabalhosa, sendo necessário profissional treinado e infraestrutura adequada para sua realização, portanto, não sendo viável sua implantação em todos os laboratórios clínicos.

O único teste de imunodiagnóstico comercializado para esporotricose é aglutinação com partículas de látex para detecção de anticorpos (IMMY®, Immuno-Myecology, IMMY, Oklahoma, EUA), sendo que os demais métodos permanecem

experimentais (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020) Esse teste foi desenvolvido para diagnóstico de infecções por *S. schenckii* e possui alta especificidade (100%), porém a sensibilidade varia de acordo com a forma clínica, sendo 100% para formas disseminadas, 86% osteoarticular, 73% pulmonar e 56% cutânea (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

2.7 TRATAMENTO

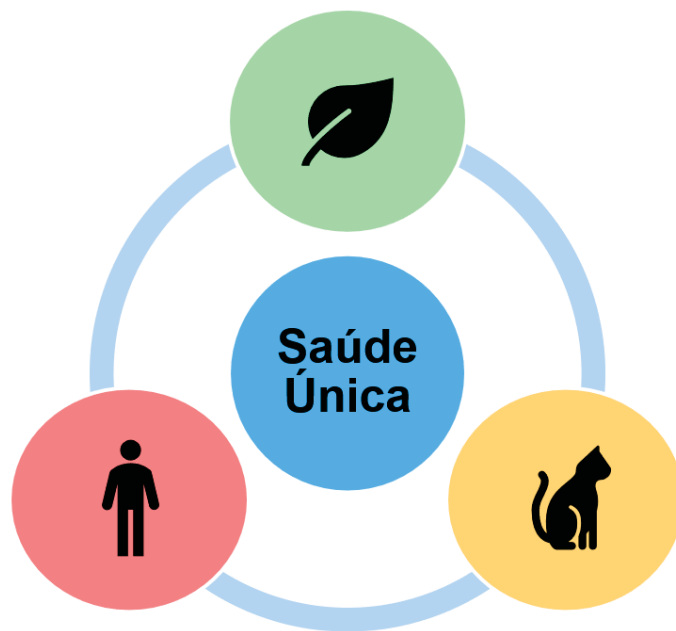
A droga de escolha para o tratamento da esporotricose é o itraconazol 200-400 mg/dia via oral, devido sua eficácia, segurança e posologia (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; ROSSOW; CHINDAMPORN, 2021). Para as formas clínicas cutânea fixa e linfocutânea deve-se administrar a dose de 200 mg por dia pelo período de 2 a 4 semanas após o desaparecimento das lesões, totalizando tempo de tratamento de 2 a 12 meses (QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020; POESTER; BASSO; STEVENS; MUNHOZ *et al.*, 2022). O itraconazol é hepatotóxico, teratogênico e embriotóxico, portanto não deve ser administrado em pacientes com hepatopatias e em gestantes (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017). Pacientes intolerantes ao itraconazol ou refratários ao tratamento recomenda-se utilizar terbinafina oral 500 mg duas vezes ao dia ou fluconazol 400-800 mg uma vez ao dia, na ausência desses, 40-50 gotas de iodeto de potássio três vezes ao dia para as formas CF e LF, porém o mesmo não é bem tolerado e pode causar alteração tireoidiana (QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020). Para outras formas clínicas pode-se utilizar terapia combinada de itraconazol e terbinafina, e em casos mais severos a anfotericina B desoxicolato ou preferencialmente lipossomal 3-5 mg/Kg/dia (OROFINO-COSTA; MACEDO; RODRIGUES; BERNARDES-ENGEMANN, 2017; QUEIROZ-TELLES; FAHAL; FALCI; CACERES *et al.*, 2017).

2.8 ABORDAGEM DE SAÚDE ÚNICA

A única forma efetiva de controle da ETF é a abordagem de Saúde Única (do inglês: *One Health*), com esforços interdisciplinares incluindo epidemiologistas,

médicos, veterinários, microbiologistas, autoridades políticas e de vigilância, coordenados entre saúde humana, animal e ambiental (FIGURA 9) (ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020, RODRIGUES; GONÇALVES; CARVALHO; BORBA-SANTOS *et al.*, 2022). Devido à complexidade e transmissão epizoonótica da ETF é fundamental o conhecimento da epidemiologia para evitar a expansão da doença.

FIGURA 9: ILUSTRAÇÃO DE ABORDAGEM EM SAÚDE ÚNICA NA ETF COM INTEGRAÇÃO DA SAÚDE HUMANA, ANIMAL E AMBIENTAL.



FONTE: O Autor (2023).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, sob registro CAAE nº 12379819.4.0000.0096.

3.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O perfil epidemiológico foi um estudo retrospectivo observacional transversal descritivo de dados de prontuários e a avaliação do teste sorológico foi um estudo prospectivo experimental.

3.3 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC/UFPR), o qual foi fundado em junho de 1961 e é o maior hospital público do Estado do Paraná. O CHC/UFPR conta com ambulatório especializado em Micoses e Laboratório de Micologia, os quais são referência no estado. Toda parte experimental para validação do teste diagnóstico foi realizada na Unidade Laboratório de Análises Clínicas (ULAC) do CHC/UFPR no Laboratório de Micologia.

3.4 DESENHO DO ESTUDO

3.4.1 Levantamento epidemiológico da esporotricose

Para realização do perfil epidemiológico, foi encaminhado ao setor de arquivos médicos e estatísticos (SAME) do CHC/UFPR um formulário para pedido de prontuários de pacientes diagnosticados com esporotricose (CID B42) de janeiro de 2011 a maio de 2022. Foram incluídos pacientes de todas as faixas etárias e manifestações clínicas da doença. Foram coletados os seguintes dados: sexo, idade, ocupação, bairro que reside, manifestação clínica, diagnóstico e forma de

transmissão. Para organização dos dados, foram criadas planilhas no *software Microsoft Excel* 2019. Foram considerados como exposição ocupacional profissões que tenham contato com materiais orgânicos em decomposição, como por exemplo, jardineiros, floriculturistas, agricultores, além de profissionais que trabalhem com animais, como médico veterinários, estudantes de veterinária e em *Petshops*. Foram incluídos na análise apenas os pacientes com diagnóstico provado ou provável de esporotricose de acordo com o Quadro 1.

QUADRO 1. EVIDÊNCIAS PARA O DIAGNÓSTICO DA ESPOROTRICOSE HUMANA.

Níveis de evidência	Epidemiologia	Clínica	Laboratório
Possível	História prévia de trauma com plantas ou subprodutos vegetais, solo ou gatos (doentes ou não).	Lesões sugestivas	Ausente
Provável	História prévia de trauma com plantas ou subprodutos vegetais, solo ou gatos (doentes ou não).	Lesões sugestivas	A - Exame micológico direto e/ou histopatológico com elementos fúngicos sugestivos de <i>Sporothrix</i> spp.* B – Nos casos de esporotricose de transmissão felina, dados laboratoriais comprovando o diagnóstico no animal transmissor**
Provada	História prévia de trauma com plantas ou subprodutos vegetais, solo ou gatos (doentes ou não).	Lesões sugestivas	Cultura com desenvolvimento de <i>Sporothrix</i> spp.
Descartada	História prévia de trauma com plantas ou subprodutos vegetais, solo ou gatos (doentes ou não).	Lesões sugestivas	Cultura negativa*** para <i>Sporothrix</i> spp. e/ou diagnóstico microbiológico e/ou histopatológico comprovado de outra doença

NOTA: *Presença de células leveduriformes arredondadas, ovaladas, alongadas ou em forma de “charuto ou navete”. Presença de corpos asteroides.

**Exame citopatológico ou histológico com grande quantidade de elementos fúngicos sugestivos de esporotricose com ou sem cultura positiva.

***Cultura negativa isoladamente não descarta o diagnóstico (pode haver contaminação por fungos não patogênicos e bactérias e limitação de sensibilidade do método).

FONTE: Adaptado BRASIL, 2022 e (QUEIROZ-TELLES; BONIFAZ; COGNIALLI; LUSTOSA *et al.*, 2022).

Todos os casos provados com desenvolvimento de *Sporothrix* spp. em cultura, com isolado viável, foram submetidos a identificação molecular. A extração de DNA

foi realizada utilizando MasterPure™ Yeast DNA Purification Kit (Lucigen, Middleton, USA). A amplificação do gene calmodulina (CAL) foi realizada utilizando os *primers* CL1 (5'GAR TWC AAG GAG GCC TTC TC 3') e CL2A (5'TTT TTG CAT CAT GAG TTG GAC-3'). Os amplicons foram sequenciados com BigDye Terminator cycle sequencing kit v. 3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). As sequências foram analisadas visualmente utilizando Bioedit software e comparadas ao GenBank Blast (NCBI). A análise filogenética foi conduzida pelo alinhamento com isolados de referência utilizando a interface online MAFFT e a árvore filogenética construída com 1,000 bootstrap réplicas no software Mega v.7.

O mapeamento da distribuição dos casos de esporotricose foi realizado utilizando coordenadas geográficas (longitude e latitude) no software Qgis, os quais foram obtidos a partir do Código de Endereçamento Postal (CEP) de residência dos pacientes com esporotricose. As fontes gráficas vetorial foram obtidas a partir do Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano de Curitiba (IPPUC), Instituto Ambiental do Paraná (IAP) e Coordenação da Região Metropolitana de Curitiba (COMEC).

3.4.1.1 População do estudo

Foram coletados soros de pacientes com esporotricose atendidos no ambulatório de Infectologia Geral e no ambulatório de Micoses que aceitaram participar do estudo mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1) ou termo de assentimento livre e esclarecido (TALE) (Anexo 2). Para o grupo com outras micoses, após a confirmação laboratorial do diagnóstico, os pacientes foram convidados a participar do trabalho a partir da assinatura do TCLE (Anexo 1), nos casos em que já havia amostras de soro na ULAC não foi necessário realizar nova punção venosa. Voluntários assintomáticos para o grupo controle foram convidados a participar do estudo mediante assinatura do TCLE (Anexo 3) desde que não apresentassem nenhum tipo de lesão e não tivessem contato com felinos.

O levantamento epidemiológico foi realizado a partir de dados de pacientes diagnosticados com esporotricose (CID B42) atendidos no CHC/UFPR no período de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2022.

3.4.1.2 Critérios de inclusão

- Grupo com esporotricose: pacientes com diagnóstico provado ou provável de esporotricose com tempo de tratamento inferior a 30 dias;
- Grupo de pacientes com outras micoses: com confirmação laboratorial, por exame micológico direto, cultura e/ou diagnóstico sorológico; exame anatomopatológico;
- Grupo controle de voluntários assintomáticos.

3.4.1.3 Critérios de exclusão

- Recusa em participar do estudo e assinar TCLE;
- Grupo de pacientes com esporotricose com diagnóstico possível;
- Início do tratamento de esporotricose superior a 30 dias;
- Pacientes com suspeita de outras micoses, sem confirmação laboratorial;
- Voluntário que seja tutor de felino com lesões.

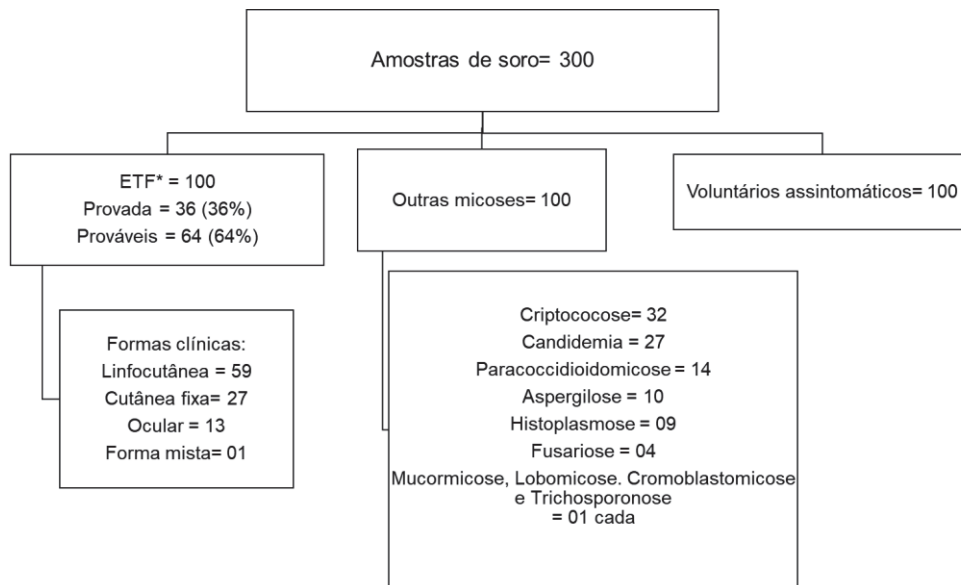
3.4.2 Coleta das amostras

Os participantes do estudo foram submetidos a uma coleta de sangue por punção venosa em tubo à vácuo com ativador de coágulo. O tubo foi centrifugado por 15 minutos a 2.000g. Nos casos em que tenha sido realizada coleta para outros exames de rotina na ULAC, não foi necessária nova punção, pois foi utilizada a mesma amostra. O soro foi aliquotado em microtubos tipo eppendorff de 1,5mL, e quando a amostra não foi processada imediatamente foi congelada em freezer com temperatura entre -20°C a -80°C.

3.4.3 Avaliação do teste sorológico

Para avaliação do teste diagnóstico foram coletadas 300 amostras de soro e divididos três grupos: 100 soros de pacientes com esporotricose provada (n=37) ou provável (n=63) classificados de acordo com o quadro 1; 100 soros de pacientes com outras micoses sistêmicas, oportunistas, subcutâneas ou implantação confirmados laboratorialmente; 100 soros controle de voluntários assintomáticos (FIGURA 10).

FIGURA 10: DESENHO DO EXPERIMENTO



LEGENDA: ETF – Esporotricose de transmissão felina
 FONTE: O Autor (2022).

A empresa norte americana IMMY® (Immuno-Mycology, IMMY, Oklahoma, EUA) comercializa mundialmente diversos testes diagnósticos para micoses e desenvolveu um teste para detecção de anticorpos anti-*Sporothrix* por imunocromatografia de fluxo lateral (Anti-*Sporothrix* LFA) para diagnóstico de esporotricose utilizando cepas de *S. schenckii* (ATCC # 58251) e *S. brasiliensis* (ATCC MYA-4824). O teste utiliza membrana de nitrocelulose para o teste imunocromatográfico, mistura de conjugado de ouro coloidal com proteínas G e L e na linha teste antígeno purificado com concavalina de *S. schenckii* e *S. brasiliensis* obtido a partir de filtrado de cultura. Para a linha controle foi utilizado anti-IgM/IgG humano de cabra.

3.4.4 Reagentes

Os kits para avaliação de teste rápido para diagnóstico por imunocromatografia (do inglês: *Lateral Flow Assay* – LFA) de esporotricose foram desenvolvidos e cedidos pela empresa IMMY. Os kits foram importados e armazenados em temperatura ambiente. Eles são compostos por diluente de amostra para imunocromatografia; soro liofilizado de coelho imunizado com antígeno de *S. schenckii* (controle positivo); e os testes de imunocromatografia (FIGURA 10).

FIGURA 10: KIT Anti-Sporothrix LFA



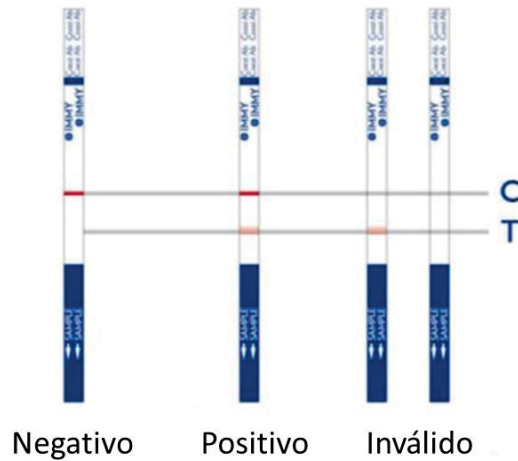
. FONTE: O Autor (2020).

3.4.5 Processamento das amostras

Foi realizada a diluição da amostra de soro 1:441 com diluente de amostra, após 100 μ L da diluição foi transferido para um microtubo ou placa de ELISA de fundo chato e inserido a tira de imunocromatografia com a seta para baixo. O controle positivo foi reconstituído com 1mL de água destilada estéril, pipetado 120 μ L do controle positivo sem diluir e inserido a tira de imunocromatografia com a seta para baixo. Para o controle negativo do teste utilizou-se 100 μ L do diluente de amostra e inserido a tira da imunocromatografia. Após 30 minutos de incubação em temperatura ambiente foi realizado a interpretação dos testes por dois observadores dentro do prazo de 10 minutos.

3.4.6 Interpretação do teste

Para interpretação do teste foi realizada interpretação visual, onde deve ser observado linha(s) de coloração rosa/vermelha. Para validação do teste, a linha controle (C) sempre deve ser visível, caso ela não esteja presente o teste é inválido. A visualização de duas linhas, controle (C) e teste (T), indica resultado positivo independente da intensidade da linha teste. A presença apenas da linha controle indica resultado negativo, conforme Figura 11.

FIGURA 11: INTERPRETAÇÃO DO TESTE Anti-*Sporothrix* LFA.

LEGENDA: A presença apenas da linha controle (c) indica resultado negativo; presença de duas linhas, sendo controle e teste, indica resultado positivo; ausência da linha controle invalida o teste
 FONTE: Adaptado da bula do kit *Sõna Coccidioides Ab LFA Test Kit*.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises foram realizadas utilizando o programa MedCalc. Para análise do perfil epidemiológico e demográfico dos pacientes com esporotricose foi realizada análise estatística descritiva. Para a análise do teste diagnóstico foi calculado sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo e calculados o valor de confiança 95%. As variáveis categóricas foram comparadas utilizando teste qui-quadrado com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 ARTIGO 1

Artigo submetido no periódico *Emerging Infectious Disease*
(fator de impacto 16.126; Qualis CAPES A1).

Cognialli RCR, Cáceres DH, Bastos FAGD, Cavassin FB, Lustosa BPR, Vicente VA, et al. Rising incidence of *Sporothrix brasiliensis* infections, 2011–2022, Curitiba, Brazil. *Emerg Infect Dis.* v. 19, n.7, jul, 2023.

Manuscrito: MS# EID-23-0155

Submetido em 04/02/2023.

Aceito em 08/03/2023.



Rising incidence of *Sporothrix brasiliensis* infections in Curitiba, Brazil: a decade of experience, 2011–2022

Journal:	<i>Emerging Infectious Diseases</i>
Manuscript ID	EID-23-0155.R1
Manuscript Type:	Research
Date Submitted by the Author:	03-Mar-2023
Complete List of Authors:	Cognialli, Regielly; Universidade Federal do Parana, Mycology Laboratory, Hospital de Clínicas Caceres, Diego; Corporacion para Investigaciones Biologicas, Medical and Experimental Mycology Group; Universidad CES, School of Medicine de Andrade Galliano Daros Bastos, Fernanda; Universidade Federal do Paraná, Clinical Medical ; Faculdades Pequeno Príncipe, Biomedical Science Cavassin, Francelise Lustosa, Bruno Vicente, Vania; Federal University of Paraná State, Department of Basic Pathology Breda, Giovanni Santos-Weiss, Izabella Queiroz-Telles, Flávio; Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Infectious Diseases; Federal University of Parana, Public Health
Keywords:	Sporotrichosis, <i>Sporothrix brasiliensis</i> , Cat-transmitted Sporotrichosis, zoonosis, mycosis
Abstract:	In Brazil, zoonotic outbreaks of sporotrichosis are increasing. We described the emergence of cat-transmitted sporotrichosis (CTS) caused by the emerging pathogen <i>Sporothrix brasiliensis</i> , calculated disease incidence, and mapped the geographic distribution of cases seen in Curitiba, Brazil. We reviewed medical records of 216 sporotrichosis cases diagnosed during 2011–2022. Proven sporotrichosis was established in 84 patients (39%), and probable sporotrichosis in 132 (61%). The incidence rate increased from 0.3 cases per 100,000 outpatient visit-years (OPVY) in 2011, to 21.4 cases per 100,000 OPVY in 2021, with most cases (58%, n=126) diagnosed during 2019–2021. The main clinical form of sporotrichosis was lymphocutaneous (63%), followed by localized cutaneous (24%), ocular (10%), multisite infections (3%) and cutaneous disseminated (<0.5%). Since the first report of CTS in Curitiba in 2011, sporotrichosis has increased substantially, indicating continuous disease transmission. Clinician and public awareness of CTS and efforts to prevent transmission are needed.



EMERGING INFECTIOUS DISEASES®

Author Checklist

First author and manuscript title: Regielly Cognialli; Rising incidence of Sporothrix brasiliensis infections in

- Upload a completed Author Checklist with each submission to EID.
- Note that EID follows the policies and recommendations of the [ICMJE](#).

Proprietary Considerations and Requirements	
<input checked="" type="checkbox"/>	Authors agree that if their manuscript is accepted for publication in <i>Emerging Infectious Diseases</i> , it will upon publication be in the public domain and can be used without liability for copyright infringement.
<input checked="" type="checkbox"/>	This manuscript (or one with substantially similar content written by the authors) has not been published previously.
<input type="checkbox"/>	This article was published on a preprint service and is available at this URL: <input type="text"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	Preprint Updates: Authors agree to update the archived preprint with their article's Digital Object Identifier (DOI), a link to the version of the article published in EID, and a complete citation upon publication in EID.
<input checked="" type="checkbox"/>	The corresponding author is the primary contact for reviewing the edited manuscript and galley proofs. Must provide full contact information (mailing address, email address, phone number) in the manuscript text.
<input checked="" type="checkbox"/>	Financial support for this content is clearly disclosed in the manuscript.
<input checked="" type="checkbox"/>	Any organization or person with a financial interest in the subject matter is disclosed in the manuscript.
<input checked="" type="checkbox"/>	Authors have disclosed any conflicts of interest related to this article. EID accepts the ICMJE Conflict of Interest form .
<input checked="" type="checkbox"/>	This research has been approved by appropriate human or animal subjects research review boards, which are named in the manuscript. Refer to ICMJE's recommendations for Protection of Research Participants .
<input checked="" type="checkbox"/>	DNA and amino acid sequences have been submitted to an open access sequence database, such as GenBank, and accession numbers are used to refer to the sequences.
<input checked="" type="checkbox"/>	Authors have included written permission from the publishers of any figures or tables previously published or adapted from published figures or tables.
<input checked="" type="checkbox"/>	Authors have included written permission from persons identifiable in photographs, case descriptions, or pedigrees.
<input checked="" type="checkbox"/>	Authors have included written permission from persons named in personal communications (oral or written) stating that they agree to be named and that the information cited is accurate.
Authorship and Acknowledgments	
<input checked="" type="checkbox"/>	All authors and contributors meet the ICMJE criteria for those roles , and all persons who made substantial contributions to this work but who did not fulfill the authorship criteria are named in the acknowledgments.
<input checked="" type="checkbox"/>	Provided Open Researcher and Contributor ID (ORCID) identifiers for submitting and corresponding authors. EID also encourages providing ORCIDs for all other authors.
<input checked="" type="checkbox"/>	Obtained written permission has been from all persons listed as authors of this manuscript.
<input checked="" type="checkbox"/>	Obtained written permission from all persons listed in the acknowledgments.
<input checked="" type="checkbox"/>	Provided a two-sentence biography for the first author, or for both authors if there are only two, in the manuscript text.
Consent for Editing	
<input checked="" type="checkbox"/>	All authors understand and agree that their manuscripts will be copyedited to conform to EID's style, word count limits, and requirements for formatting, references, figures, units of measure, and scientific nomenclature. Authors should consult the journal's Quick Guide to Article Information and Author Resource Center for guidance before submission.

Additional notes or statements:



Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
Unidade Laboratório de Análises Clínicas

Curitiba, February 04, 2023

Dear editors of **Emerging Infectious Disease**

We are submitting the manuscript entitled “**Rising incidence of *Sporothrix brasiliensis* infections in Curitiba, Brazil: a decade of experience, 2011–2022**”.

Sporotrichosis, the most prevalent implantation mycosis worldwide, is caused by fungi from the genus *Sporothrix*. Currently sporotrichosis has been referred as “cat disease”, in some Brazilian regions, due to its zoonotic transmission. We described the evolution of cat-transmitted sporotrichosis (CTS) caused by the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*, calculated disease incidence, and mapped the geographic distribution of cases seen in a Curitiba, Brazil, in the last decade. Trends on incidence increasing indicate the continuous transmission of the disease. Due to the zoonotic transmission of this disease, the One Health approach is necessary for the control of this public health problem.

The authors and contributors have fully aided towards information and materials for publication. Each read and approved the final manuscript and agreed to the order in which their names are listed. We state that this is an original article; neither the manuscript nor its contents have been previously published.

With kind regards,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Flávio Queiroz-Telles', written over a white rectangular box.

Professor Flávio Queiroz-Telles



Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
Unidade Laboratório de Análises Clínicas

Curitiba, February 23rd, 2023

Dear editor

Emerging Infectious Disease

EID MS # EID-23-0155 manuscript entitled “**Rising incidence of *Sporothrix brasiliensis* infections in Curitiba, Brazil: a decade of experience, 2011–2022**”.

Thank you for sending the comments from the referees and for inviting us to submit a revised version of our manuscript. Please find in this submission the revised version of our manuscript, which we hope will be found acceptable for publication in *Emerging Infectious Diseases*.

We have responded to each of the reviewer’s comments below.

Thank you for your attention and for handling our manuscript.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Flávio Queiroz-Telles'. The signature is written in a cursive style with a large, stylized 'F' and 'Q'.

Professor Flávio Queiroz-Telles

Reviewer: 1

Comments to the Author

It is very interesting work that provides a clear increase in sporotrichosis in southern Brazil, in the specific region of Curitiba. The work is well structured and done and can practically be accepted the way it is.

The only thing I would like for the authors is that the discussion should emphasize disseminated cases (cutaneous and/or visceral) that are different from those generated by multiple inoculation (especially by cats), since the former have factors very specific risk factors, you should add a couple of references.

R. Thank you for this comment. We have included the information related to the differences between cutaneous disseminated sporotrichosis and multiple inoculation (lines 288-292). We also included three additional references, references 36, 37, 38.

Reviewer: 2

Comments to the Author

the authors have succeeded in providing a very detailed overview of the development of the expanding cat-transmitted sporotrichosis outbreak in Brazil, specifically in the Curitiba region.

Minor comments: some input on the manuscript has been provided in written (manuscript pdf attached), specifically for typo's. The reference section is a mix-up of different styles.

R. Thank you. We reviewed and edited the manuscript based on your input.

Major comments: what is the added value of whole genome sequencing next to other typing methods (e.g., microsatellite typing, multi-locus sequence typing, or AFLP fingerprinting)? (see line 326-328).

R. We have improved the analysis based on your recommendations. The modifications we made include emphasizing markers used for the phylogenetic relationships, molecular elucidation of the epidemiological aspects, and the addition of studies that involved comparative genome analysis (lines 319-329). In addition, we added two more references related to *Sporothrix* whole genome sequences (references 47 and 48).

Furthermore, what ideas (or already made interventions) are there to dampen the cat-transmitted sporotrichosis outbreak?

R. Thank you for your comment. We added in the discussion a statement related to the One Health Approach and some future perspectives (lines 362-371).

EID Editorial Board Comments to the Authors:

Our reviewers note that this manuscript needs editing. We suggest consulting with a professional editor or colleague fluent in English to assist in crafting any revision you elect to submit so as to ensure that your thoughts are properly conveyed in English.

R. Thank you, we have had the revised manuscript reviewed by a native English speaker.

Figure 4 is named Figure 2 in its caption. Please correct as needed.

R. Thank you for this observation. We corrected the caption.

Resubmit figure 5 as separate JPEG, PDF, PPT or TIF file with 300 DPI at 5 inches wide.

R. Thank you. We resubmitted figure 5 with 300 DPI.

1 **Title Page**

2 MS Regielly C. R. Cognialli^{1,2}, MS Diego H. Cáceres^{3,4,5}, MS Fernanda de A. G. D.
3 Bastos², PhD Franceline B. Cavassin⁶, MS Bruno P. R. Lustosa⁷, PhD Vânia A.
4 Vicente⁷, MS Giovanni L. Breda¹, PhD Izabella Santos-Weiss⁸, PhD Flávio Queiroz-
5 Telles⁹ (corresponding author)

6 ¹ Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

7 ² Postgraduate Program in Internal Medicine and Health Science, Federal University of
8 Paraná, Curitiba, Brazil

9 ³Immuno-Mycologics (IMMY), Norman, Oklahoma, USA.

10 ⁴Center of Expertise in Mycology Radboudumc/CWZ, Nijmegen, The Netherlands.

11 ⁵Studies in Translational Microbiology and Emerging Diseases (MICROS) Research
12 Group, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogota,
13 Colombia.

14 ⁶Faculty of Medical Sciences, Faculdades Pequeno Príncipe (FPP), Curitiba, PR, Brazil

15 ⁷Basic Pathology Department, Microbiology, Parasitology and Pathology (PPGMPP) and
16 Bioprocess Engineering and Biotechnology (PPGEBB) Graduate Programs, Federal
17 University of Paraná, Curitiba, Brazil

18 ⁸ Department of Clinical Analysis, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

19 ⁹Department of Public Health, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná,
20 Curitiba, Brazil (corresponding author: 280 Padre Camargo, Curitiba, Paraná, Brazil; e-
21 mail: queiroz.telles@uol.com.br; +5541999721828)

22

23 **Article Summary Line**

24 Trends on incidence increasing indicate the continuous transmission of cat-transmitted
25 sporotrichosis in Brazil. Actions to control transmission are needed.

26 **Running Title**

27 Rising incidence of *S. brasiliensis* in Brazil

28

29 **Keywords**

30 Sporotrichosis, *Sporothrix brasiliensis*, Cat-transmitted Sporotrichosis, zoonosis,

31 mycoses

32

33 **Title**

34 Rising incidence of *Sporothrix brasiliensis* infections in Curitiba, Brazil: a decade of

35 experience, 2011–2022

36

37 **Authors**

38 Regielly C. R. Cognialli^{1,2}, Diego H. Cáceres^{3,4,5}, Fernanda de A. G. D. Bastos²,

39 Francelise B. Cavassin⁶, Bruno P. R. Lustosa⁷, Vânia A. Vicente⁷, Giovanni L. Breda¹,

40 Izabella Santos-Weiss⁸, Flávio Queiroz-Telles⁹

41

42 **Affiliations**

43 ¹ Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

44 ² Postgraduate Program in Internal Medicine and Health Science, Federal University of

45 Paraná, Curitiba, Brazil

46 ³Immuno-Mycologics (IMMY), Norman, Oklahoma, USA.

47 ⁴Center of Expertise in Mycology Radboudumc/CWZ, Nijmegen, The Netherlands.

48 ⁵Studies in Translational Microbiology and Emerging Diseases (MICROS) Research

49 Group, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogota,

50 Colombia.

51 ⁶Faculty of Medical Sciences, Faculdades Pequeno Príncipe (FPP), Curitiba, PR, Brazil

52 ⁷Basic Pathology Department, Microbiology, Parasitology and Pathology (PPGMPP) and

53 Bioprocess Engineering and Biotechnology (PPGEBB) Graduate Programs, Federal

54 University of Paraná, Curitiba, Brazil

55 ⁸ Department of Clinical Analysis, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

56 ⁹Department of Public Health, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná,

57 Curitiba, Brazil

58

59 **Abstract**

60 In Brazil, zoonotic outbreaks of sporotrichosis are increasing. We described the
61 emergence of cat-transmitted sporotrichosis (CTS) caused by the emerging pathogen
62 *Sporothrix brasiliensis*, calculated disease incidence, and mapped the geographic
63 distribution of cases seen in Curitiba, Brazil. We reviewed medical records of 216
64 sporotrichosis cases diagnosed during 2011–2022. Proven sporotrichosis was
65 established in 84 patients (39%), and probable sporotrichosis in 132 (61%). The
66 incidence rate increased from 0.3 cases per 100,000 outpatient visit-years (OPVY) in
67 2011, to 21.4 cases per 100,000 OPVY in 2021, with most cases (58%, n=126)
68 diagnosed during 2019–2021. The main clinical form of sporotrichosis was
69 lymphocutaneous (63%), followed by localized cutaneous (24%), ocular (10%),
70 multisite infections (3%) and cutaneous disseminated (<0.5%). Since the first report of
71 CTS in Curitiba in 2011, sporotrichosis has increased substantially, indicating
72 continuous disease transmission. Clinician and public awareness of CTS and efforts to
73 prevent transmission are needed.

74 **Text**

75 **Introduction**

76 Sporotrichosis, the most prevalent implantation mycosis worldwide, is caused by
77 fungi from the genus *Sporothrix* (1, 2, 3, 4). In some Brazilian regions sporotrichosis
78 has been referred as “cat disease” because of its zoonotic transmission. Since 1990, a
79 new *Sporothrix* species, *S. brasiliensis*, rapidly emerged as an agent of cat-transmitted
80 sporotrichosis (CTS) (5). Primarily identified in Rio de Janeiro, Brazil, and causing an
81 important epizootic disease involving cats, dogs, and humans (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12),
82 the highly virulent *S. brasiliensis*, is a major public health problem in Brazil (12). The
83 disease is emerging and geographically expanding across the Brazilian territory (7, 8, 9,
84 11). Originally, CTS was reported primarily in South and Southeast Brazilian states, but
85 by 2022, CTS was reported in 25 of the 26 Brazilian states, and in neighboring
86 countries, Argentina and Paraguay (Figure 1) (2, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 18). In 2022, in
87 the United Kingdom, a case of cutaneous CTS caused by *S. brasiliensis* was reported in
88 a veterinarian, who was infected by an imported cat with sporotrichosis (19, 20).

89 Rio de Janeiro state, Southeast region of Brazil, has the highest prevalence of
90 CTS, with more than 8,900 human cases reported since the beginning of the outbreak,
91 followed by Rio Grande do Sul (Brazil southern region) with 181 human cases (14, 15,
92 21). In Paraná state (Southern region of Brazil), public health officials and clinicians are
93 alarmed by the emergence of CTS, but epidemiologic and clinical data on this disease in
94 this jurisdiction are lacking because reporting is not mandatory (11, 22). Therefore, we
95 aimed to describe the characteristics of patients with sporotrichosis, based on a decade
96 of experience in a tertiary referral hospital, Hospital de Clínicas, Federal University of
97 Paraná (HC-UFPR), in Curitiba, Paraná’s largest city.

98

99 **Figure 1:** Burden of sporotrichosis in South America and distribution of cat-transmitted
100 sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*.

101

102 Legend: Dark color represents the countries with the highest incidence of sporotrichosis. Countries where
103 cases of cat-transmitted sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* have been reported are
104 represented with the cat icon. The figure shows the transmission from cats to humans and dogs.
105

106 **Methods**

107 *Study design and location:* A retrospective, descriptive study of human CTS was
108 performed in a single medical institution, HC-UFPR. Cases were identified from the
109 hospital database, using International Classification of Diseases, Tenth Revision, code
110 B42. This study analyzed data from January 2011 to May 2022 and includes all proven
111 and probable CTS cases.

112 *Case definition:* Following the Brazilian Ministry of Health case definition (23,
113 24, 25), a proven CTS case in a patient was defined as microbiological evidence of
114 sporotrichosis (positive culture or histopathology), presence of lesions or symptoms
115 compatible with sporotrichosis, and evidence of CTS transmission including scratches,
116 bites, contact with feline exudates or exposure to cat sneezing (Table 1) (23, 24, 25, 26).
117 A probable human CTS was defined in a patient as the presence of compatible clinical
118 manifestations, following traumatic injuries or close contact with cats with
119 sporotrichosis but without microbiological evidence of sporotrichosis (Table 1) (23, 24,
120 25). Those patients with possible CTS or where CTS was ruled out were excluded.

121 *Sporothrix isolates molecular typing:* All *Sporothrix* isolates obtained from
122 patients were identified at the species level by molecular identification. DNA extraction
123 from isolates was performed using MasterPure™ Yeast DNA Purification Kit (Lucigen,
124 MI, USA). Amplification of the calmodulin (*CAL*) locus region was performed using
125 the degenerate primers CL1 (5'GAR TWC AAG GAG GCC TTC TC 3') and CL2A
126 (5'TTT TTG CAT CAT GAG TTG GAC-3'). Amplicons were sequenced with BigDye
127 Terminator cycle sequencing kit v. 3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).
128 Sequences were visually inspected using BioEdit Sequence Alignment Editor v7.2.5.
129 Sequence alignment with reference strains deposited in the NCBI (National Center for

130 Biotechnology Information) databank was performed using the online MAFFT v.7
131 interface Maximum Likelihood method was used to build a phylogenetic tree using
132 Mega v.7.0.26 software with Tamura Nei method with 1,500 bootstrap to calculate
133 evolutionary distance (27).

134 *Data collection and statistical analysis:* Clinical, laboratory and epidemiological
135 data from cases were collected from the hospital clinical records and stored using a
136 standardized Microsoft Excel form. Descriptive statistics were calculated to describe the
137 characteristics of the cases. We also calculated the incidence rate per 100.000
138 outpatients visit-years (OPVY). Analyses were performed using Medcalc (version 19.0,
139 Ostend, Belgium). For mapping the distribution of CTS, cases residence coordinates
140 (longitude and latitude) were graphed using Qgis (version 3.28.3). The graphic sources
141 of the vector layer were obtained from the Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano
142 de Curitiba (IPPUC), Instituto Ambiental do Paraná (IAP) and Coordenação da Região
143 Metropolitana de Curitiba (COMEC). Kernel density maps were created to show
144 hotspot areas for sporotrichosis in Curitiba, for this analysis we established a search
145 radius of 750 meters.

146 *Ethics statement:* This study was approved by the local ethical committee under
147 the registration number 12379819.4.0000.0096.

148 **Results**

149 A total of 216 CTS cases were included in this analysis. Disease was more
150 frequent in female than male, with a sex ratio of 1.8:1 female-male. By age group, CTS
151 was more frequently observed in female patients, except in those aged 11–17 years
152 (Figure 2). Among CTS cases the median age was 40 years (interquartile range [IQR]:
153 22.5–56) (Table 2). Twenty-nine patients (13%) were aged <18 years. Overall, 11% of
154 patients had occupation-related risk factors, including nine veterinarians, five veterinary

155 students, three pet sitters, and two gardeners. The most frequent clinical form of
156 sporotrichosis was lymphocutaneous (n=136, 63%), followed by fixed cutaneous (n=53,
157 25%), ocular (n=21, 10%), mixed forms (n=5, 2%) and cutaneous disseminated (n=1,
158 <0.5%). It was observed that CTS cases had unusual clinical manifestations (Figure 3).

159 Overall, 84 (39%) patients had proven CTS, and 132 (61%) had probable CTS.
160 Among probable CTS cases, 18 patients were tested by microscopy and culture; all
161 tested negative. Among the in the 14 remaining probable CTS cases, laboratory testing
162 was not requested. The main causes for not testing included specimen unavailability of
163 for microbiology testing and antifungal treatment initiation. Among the proven CTS
164 cases, *Sporothrix* isolates were recovered from: 50 from lesion secretion, collected from
165 direct swabbing of lesion; 29 from skin biopsy; and 5 aspirate from abscesses. The
166 average time for a positive *Sporothrix* in culture varied by specimen type; for specimens
167 collected using the swab method, the average time for a positive culture was 6 days
168 (range: 3-17 days) versus 13 days (range: 4-30 days) for specimens collected by biopsy.
169 We observed a statistically significant difference on time for culture results, being faster
170 for the results from specimens collected by lesion swab ($p<0.0001$). Phylogenetic
171 analysis from calmodulin sequence gene of 38 *Sporothrix* isolates from human patients
172 revealed that *S. brasiliensis* was the only etiological agent (38/38) identified in the study
173 period (Figure 4).

174

175 **Figure 2:** Age-sex pyramid showing the distribution of sporotrichosis cases at Hospital
176 de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil. 2011-2021.

177

178

179 **Figure 3:** Illustration of unusual clinical manifestation of cat-transmitted sporotrichosis.

180

181 Legend: A – Fixed cutaneous manifestation in the thumb with osteoarticular involvement; B – Fixed
182 cutaneous manifestation in forearm with ulcer similar to primary cutaneous leishmaniasis; C –
183 Lymphocutaneous manifestation in the knee with a large ulceration, mimicking cutaneous leishmaniasis;
184 D – Ocular form with Parinaud ocular-glandular syndrome and dacryocystitis.; E – Erythema nodosum
185 resulting from immunoreactive sporotrichosis manifestation in the leg (same patient from figure D); F –
186 Cutaneous disseminated manifestation in immunocompromised patient.

187

188 **Figure 4.** Phylogenetic analysis of *Sporothrix* isolates: Analysis of clades based on
189 calmodulin genes.

190

191 **Legend:** Phylogenetic tree of the *Sporothrix* pathogenic clade based on calmodulin near-complete, genes
192 constructed with maximum likelihood implemented in MEGA 7.0.26. Bootstrap values >80 from 1500
193 resampled data sets is shown. GenBank accession numbers are shown on Supplementary Table 1.
194 Note: names on bold represent strains isolated in the study.

195

196

Peer Review

197 In 98% (n=212) of the cases, the infection was associated with zoonotic
198 transmission, in these cases the patient had direct or indirect contact with a cat
199 diagnosed with sporotrichosis. Only in four cases (2%) were the infections associated
200 with saprozoic exposure; these cases were sporadic cases, occurring in 2016, 2017,
201 2019 and 2021. The first substantial increase in the number of cases and incidence was
202 observed in 2016, with the number of cases increasing from 1 case in 2015 (0.3 cases
203 per 100,000 OPVY) to 12 cases in 2016 (3.5 cases per 100,000 OPVY) (Figure 5). After
204 2016, the trend has been an increase in the number of cases, with a doubling of the
205 number of cases and incidences in 2018 with 34 cases (8.3 cases per 100,000 OPVY),
206 and 2021 with 61 cases (21.4 cases per 100,000 OPVY) (Figure 5). In 2022, from
207 January to May, a total of 20 cases were identified in 142,873 outpatient visits,
208 representing for this period an incidence of 14 cases per 100.000 outpatient visits
209 (Figure 5).

210 **Figure 5.** Epidemiological curve and incidence rate of sporotrichosis: data from
211 Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil. 2011-2021.

212
213 CTS cases were reported in 15 of 399 municipalities of the state of Paraná
214 (Figure 6A and 6B). In the Metropolitan Region of Curitiba, cases were identified in 11
215 of 29 of the municipalities that comprise this region (Figure 6C). These cases
216 constituted 205 cases (95%) of the total of 216 cases identified in the state of Paraná. In
217 addition, for the Metropolitan region of Curitiba, city of Curitiba had most of the
218 identified cases, n=170 cases; 79% of all CTS cases in the state of Paraná (Figure 6D).
219 We also tracked the distribution of cases in the city of Curitiba by triennial periods as
220 follow: 2011-2013, 2014-2016, 2017-2019 and 2020 until May 2022. The first case of
221 CTS was identified in 2011 in Campina Grande do Sul, a municipality located in the

222 Metropolitan region of Curitiba. The first case of CTS in the city of Curitiba was
223 identified in 2012 in the Mercês neighborhood, located in the north-central region of
224 Curitiba (Figure 6E). Since 2016, cases spreading across the city of Curitiba have been
225 reported in 41 of 75 districts of Curitiba, with a predominance of cases in the northwest
226 region of the city and spreading throughout the city during the last triennial period
227 (Figure 6F, 6G and 6H).

228 Clusters of CTS cases were observed. These clusters involved members of the
229 same household. Since 2011, a total of 10 clusters were identified, involving a total of
230 21 cases. Furthermore, seven of these 10 CTS clusters (15 cases) happened since the
231 beginning of the COVID-19 pandemic.

232 Kernel density maps identified hotspot areas for sporotrichosis in the city of
233 Curitiba (Figure 7). The most critical hotspots were identified in the western region of
234 the city, mainly in the Cidade Industrial de Curitiba (CIC) neighborhood and in the city
235 center (north-central Curitiba). The CIC is an area of the city characterized by being
236 residential, mostly composed of houses. This neighborhood has an area of 44,588 km²
237 and a population of 172,909 inhabitants (density: 3.9 habitants/km²). CIC is also
238 characterized as a lower middle-income area of the city, with an average daily income
239 of USD \$4.7 (28). The second hotspot in the city of Curitiba, downtown Curitiba, is a
240 combination of commercial and residential areas, composed mostly of apartment
241 buildings. The center of Curitiba has an extension of 3,310 Km², being the most densely
242 populated (37,234 habitants. Density: 11,2 habitants/Km²). In the center of Curitiba, the
243 average daily income is USD \$20 (28). In addition, the Kernel density maps show other
244 medium density hotspots for CTS throughout the city of Curitiba, especially in the
245 South, Southeast and Northeast regions of Curitiba.

246

247 **Figure 6:** Mapping of human sporotrichosis cases treated at HC/UFPR in the last
248 decade (2011-2022 – until May) and evolution of spatial distribution of human CTS in
249 city of Curitiba (2011-2022).

250 **Legend:** A - Map of Brazil with all sporotrichosis human cases from HC/UFPR; B - Map of State of
251 Paraná with all sporotrichosis human cases from HC/UFPR; C - Map of Metropolitan Region of Curitiba
252 with all sporotrichosis human cases from HC/UFPR; D - Map of Curitiba with all sporotrichosis human
253 cases from HC/UFPR (2011-2022 – until May); E; F; G; H Distribution of new cases of human
254 sporotrichosis cases in the city of Curitiba in 2011-2013, 2014-2016, 2017-2019 and 2020-2022 (until
255 May), respectively. The red dots show CTS cases.

256 **Figure 7:** Heatmap of human sporotrichosis cases using Kernel Density Estimation in
257 Curitiba, Paraná, Brazil, between 2011-2022.

258
259 **Legend:** Hotspots interpretation; Dark red: high density of CTS cases. Red: medium density of CTS
260 cases. Light pink: low density of CTS cases. Kernel density map was created using a search radius of 750
261 meters.
262
263

264 **Discussion**

265 During the 10-year study period, a substantial increase in the incidence of
266 sporotrichosis occurred, suggesting uncontrolled spread in the city of Curitiba. Brazil is
267 currently facing the largest reported zoonotic outbreak of CTS (9, 11, 13, 29). CTS is a
268 public health issue that is exacerbated by insufficient public health activities such as
269 case surveillance, animal control, and diagnostic capacity, and by the lack of disease
270 awareness among health professionals and the general population (9, 13, 25, 30). Given
271 the need for epidemiological information on cat-transmitted sporotrichosis, this study
272 added relevant epidemiological information to better understand CTS in the state of
273 Paraná, Brazil.

274 We found a higher prevalence of CTS in females, especially in adult women
275 involved in domestic activities. This finding is similar to other previous reports and is
276 likely related to close contact with infected domestic cats (31, 32, 33, 34). In this study,
277 we observed a large proportion of pediatric CTS cases; with one of ten cases occurred in
278 patients aged <18 years., likely reflecting the close nature of interactions between
279 children and pets (domestic cats) (23). In addition, we found that more than 10% of

280 cases occurred in persons working in professional animal care disciplines (2, 11, 22).
281 Animal care professionals are at increased risk for CTS because of close contact with
282 infected animals and exposure to their contaminated body fluids. These professionals
283 should be aware that infection in humans can occur through direct contact with body
284 fluids from cats contaminated with *S. brasiliensis* yeast (26).

285 Regarding the clinical manifestations of sporotrichosis, the lymphocutaneous
286 and fixed cutaneous forms were the most frequent, consistent with findings in previous
287 literature (1, 22); however, since the sporotrichosis epidemic began, reports of unusual
288 clinical manifestations have been increasing (1, 6, 35). It is important to highlight that
289 cutaneous disseminated sporotrichosis is a rare manifestation that mostly occurring in
290 immunocompromised individuals, and it is different from cutaneous manifestations with
291 multiple inoculation caused by multiple traumatic implantations, as happens in CTS (36,
292 37, 38). We also highlight the high frequency of ocular sporotrichosis, which occurred
293 in 10% of the cases presented this clinical form. This clinical form occurs mainly
294 because of direct contact of the ocular mucosa with secretions from an infectious cat,
295 usually due to the expulsion of respiratory droplets during cat sneezing (26). Ocular
296 sporotrichosis is characterized by acute or chronic conjunctivitis, with Parinaud's ocular
297 syndrome and dacryocystitis (2, 12, 39, 40, 41, 42). We also observed that unusual
298 clinical manifestations of CTS increased from 2018 onwards, coinciding with the
299 epidemic increase in the number of cases of the disease. Based on this finding, the
300 current Brazilian guidelines recommend the use of personal protective equipment,
301 including glasses or face shield during contact with the sick cats (24).

302 Compared with other case series of sporotrichosis, proven cases of CTS in this
303 study composed slightly more than one third of the cases (39%) (22, 23). This may be a
304 result of using a case definition that is not solely based on culture and microscopy,

305 which are suboptimal assays for detecting sporotrichosis in humans. Culture of pus or
306 secretion from lesions could be a feasible alternative; this type of test shows good
307 performance and generates results in half the time compared with the testing specimens
308 obtained by biopsy. In addition, this type of sample is non-invasive, simple, and
309 inexpensive. In addition, HC/UFPR is a medical institute with extensive experience in
310 the diagnosis of sporotrichosis, which is why medical professionals have a high index of
311 suspicion for this disease, increasing the chance of early detection of cases in which
312 culture and microscopy are generally negative. Based on this experience, we highlight
313 the importance of the probable case classification, because based on HC/UFPR, the
314 definition of probable CTS allows rapid treatment initiation, resulting in a positive
315 impact on the quality of life of patient with sporotrichosis (23, 25).

316 Molecular typing identified a single species, *S. brasiliensis*, in all proven cases.
317 The isolates were related to the species that caused the CTS outbreak in the state of Rio
318 de Janeiro in the early 2000s and is primarily causing outbreaks throughout Brazil (5,
319 11, 13, 17, 43, 44, 45). These isolates were identified by phylogenetic analysis of the
320 near-complete calmodulin gene sequencing showing a high degree of similarity with
321 previously sequenced Rio de Janeiro isolates. In addition, other analyses such as
322 microsatellite typing, multi-locus sequence typing, Amplified Fragment Length
323 Polymorphic (AFLP) fingerprint can improve the understanding of the expansion of
324 cases in Paraná and the city of Curitiba (13, 46). Moreover, analysis of whole genome
325 sequencing is a relevant tool to elucidate the central question concerns the difference in
326 infectious potential between closely related species. Comparative genomic analysis
327 upon tissue invasion and transmission of pathogenic sibling species has been applied to
328 highlight genes involved in fungal adaptation to an animal-associated lifestyle (11, 47,
329 48).

330 An exponential increase in the incidence rate of sporotrichosis was observed,
331 from 0.3 OPVY in 2011 to 21.4 OPVY in 2021. This trend is similar to the data
332 reported recently in a review of burden of sporotrichosis in Brazil (9, 15, 22, 30, 31,
333 49). In Brazil, the largest number of CTS is concentrated in the Southwest and South of
334 the state of Brazil, including the states of Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, São Paulo,
335 Espírito Santo, and Minas Gerais; however, cases of CTS have been also described in
336 the Midwest Region, Federal District, and Northeast region, Pernambuco, and Rio
337 Grande do Norte states, clearly showing the spread of the disease throughout Brazil (22,
338 33, 50).

339 Most cases in this study occurred in the city of Curitiba. The first case at
340 HC/UFPR was identified in 2012 in the center-north region of the city, but in 2016 the
341 first significant increase in the number of cases was observed, a trend that continues.
342 After the World Health Organization (WHO) declared COVID-19 a pandemic in March
343 2020 and the lockdown started, a 37% increase in cases was observed; we also observed
344 an increase of CTS clusters. This increase may be related to a higher rate of pet
345 adoption aimed at reducing anxiety and depression due to lockdown (23). We also
346 identified two areas of the city that were identified as CTS hotspot, one area was
347 characterized by high population density, and the second by presenting social
348 inequalities. In addition, the Kernel density estimate shows areas for low and medium
349 CTS practically throughout the city of Curitiba, that the areas of medium densities are
350 located at the south, southeast and northeast areas of the city, areas were cases expanded
351 during the last triennial period (2020-2022).

352 This study is subject to limitations. The main one is the single center study
353 design, but this study covers a decade of experience and adds information based on
354 actual cases numbers rather than estimates. Since March 7, 2022, the State Department

355 of Health of Paraná (SESA/PR), through Resolution No. 093/2022, has released
356 guidelines for human and animal Sporotrichosis mandatory notification in the State.

357 This study shows that CTS is increasing in the state of Paraná, especially in the
358 city of Curitiba. Because of the zoonotic transmission of this disease, a One Health
359 approach is necessary for the control of this public health problem. The integration of
360 human, animal, and environmental health, through coordinated actions between
361 microbiologists, veterinarians, physicians, epidemiologists, and surveillance authorities,
362 can impact the control of this public health problem. These actions include the
363 restriction of tutored cats from going outside home and having contact with street cats,
364 free neutering of cats in regions where *Sporothrix brasiliensis* is endemic to prevent
365 expansion of feral cat populations, compulsory notification of CTS cases, increased
366 disease awareness among clinicians and the public, easy access for treatment in human
367 and animal cases, and cremation of cat remains (12, 37, 51). Furthermore, new
368 perspectives to control CTS outbreaks include access to accurate and rapid diagnostic
369 assays, the development of vaccines, specifically for cats, and access to antifungal
370 drugs, and the evaluation of novel treatment strategies, particularly for the treatment of
371 feline sporotrichosis.

372

373 **References**

- 374 1. Orofino-Costa R, Macedo PM, Rodrigues AM, Bernardes-Engemann AR.
375 Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical
376 therapeutics. An Bras Dermatol. 2017;92(5):606-20.
- 377 2. Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Rossow J, Chindamporn A. *Sporothrix* and
378 sporotrichosis. Encyclopedia of infection and immunity. 2021.
- 379 3. Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falci DR, Caceres DH, Chiller T, Pasqualotto AC.
380 Neglected endemic mycoses. Lancet Infect Dis. 2017;17(11):367-77.

- 381 4. Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, Mochizuki T, Li S. Global
382 epidemiology of sporotrichosis. *Med Mycol.* 2015;53(1):3-14.
- 383 5. Gremiao ID, Miranda LH, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic
384 epidemic of sporotrichosis: Cat to human transmission. *PLoS Pathog.*
385 2017;13(1):e1006077.
- 386 6. Schechtman RC, Falcão EMM, Carard M, García MSC, Mercado DS, Hay RJ.
387 Sporotrichosis: hyperendemic by zoonotic transmission, with atypical presentations,
388 hypersensitivity reactions and greater severity. *An Bras Dermatol.* 2022;97(1):1-13.
- 389 7. Barros MB, Schubach Ade O, do Valle AC, Gutierrez Galhardo MC, Conceicao-
390 Silva F, Schubach TM, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro,
391 Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis.* 2004;38(4):529-35.
- 392 8. Barros MBdL, Schubach TMP, Gutierrez Galhardo MC, Schubach AdO,
393 Monteiro PCF, Reis RS, et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro.
394 *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(6):777-9.
- 395 9. Gremiao IDF, Oliveira MME, Monteiro de Miranda LH, Saraiva Freitas DF,
396 Pereira SA. Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. *Emerg Infect Dis.*
397 2020;26(3):621-4.
- 398 10. Pereira SA, Gremiao ID, Kitada AA, Boechat JS, Viana PG, Schubach TM. The
399 epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de
400 Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014;47(3):392-3.
- 401 11. Rodrigues AM, Della Terra PP, Gremião ID, Pereira SA, Orofino-Costa R, de
402 Camargo ZP. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species.
403 2020;185(5):813-42.
- 404 12. Rossow JA, Queiroz-Telles F, Caceres DH, Beer KD, Jackson BR, Pereira JG, et
405 al. A One Health Approach to combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative review of

- 406 an emerging zoonotic fungal pathogen in South America. *J Fungi (Basel)*. 2020;6(4):1-
407 26.
- 408 13. Rodrigues AM, Gonçalves SS, de Carvalho JA, Borba-Santos LP, Rozental S,
409 Camargo ZP. Current progress on epidemiology, diagnosis, and treatment of
410 sporotrichosis and their future trends. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(8):1-32.
- 411 14. Brandolt TM, Madrid IM, Poester VR, Sanchotene KO, Basso RP, Klafke GB,
412 et al. Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012-2017. *Med*
413 *Mycol*. 2018;57(5):527-33.
- 414 15. Poester VR, Mattei AS, Madrid IM, Pereira JTB, Klafke GB, Sanchotene KO, et
415 al. Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic? *Zoonoses Public Health*.
416 2018;65(7):815-21.
- 417 16. Etchecopaz AN, Lanza N, Toscanini MA, Devoto TB, Pola SJ, Daneri GL, et al.
418 Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Argentina: Case report, molecular
419 identification and in vitro susceptibility pattern to antifungal drugs. *J Mycol Med*.
420 2019;30(1):100908.
- 421 17. Etchecopaz A, Toscanini MA, Gisbert A, Mas J, Scarpa M, Iovannitti CA, et al.
422 *Sporothrix brasiliensis*: A review of an emerging South American fungal pathogen, its
423 related disease, presentation and spread in Argentina. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(3):1-32.
- 424 18. Gutierrez-Galhardo MC, Freitas DFS, do Valle ACF, Almeida-Paes R, de
425 Oliveira MME, Zancopé-Oliveira RM. Epidemiological aspects of sporotrichosis
426 epidemic in Brazil. *Curr Fungal Infec Rep*. 2015;9(4):238-45.
- 427 19. Rachman R, Ligaj M, Chinthapalli S, Serafino Wani R. Zoonotic acquisition of
428 cutaneous *Sporothrix brasiliensis* infection in the UK. *BMJ Case Reports*.
429 2022;15(5):e248418.

- 430 20. Barnacle J, Chow Y, Borman A, Wyllie S, Dominguez V, Russel K, et al. The
431 first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis
432 outside South America. *Med Mycol Case Rep*; 2023;14-7.
- 433 21. Falcão EMM, Romão AR, Magalhães M, de Lima Filho JB, do Valle ACF,
434 Bastos FI, et al. A spatial analysis of the spread of hyperendemic sporotrichosis in the
435 State of Rio de Janeiro, Brazil. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(5);1-8.
- 436 22. Rabello VBS, Almeida MA, Bernardes-Engemann AR, Almeida-Paes R, de
437 Macedo PM, Zancopé-Oliveira RM. The historical burden of sporotrichosis in Brazil: a
438 systematic review of cases reported from 1907 to 2020. *Braz J Microbiol*.
439 2022;53(1):231-44.
- 440 23. Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Cognialli R, Lustosa BPR, Vicente VA, Ramírez-
441 Marín HA. Sporotrichosis in children: case series and narrative review. *Curr Fungal*
442 *Infec Rep*. 2022;33-46.
- 443 24. Ministry of Health. Brazil. Guide to Health Surveillance. 5 Ed. 2022.
- 444 25. Cognialli R, Bloss K, Weiss I, Caceres DH, Davis R, Queiroz-Telles F. A lateral
445 flow assay for the immunodiagnosis of human cat-transmitted sporotrichosis. *Mycoses*.
446 2022;65(10):926-34.
- 447 26. Bastos FAGD, Cognialli RCR, Farias M,R Monti FS, Wu K, Queiroz-Telles F.
448 Spread of *Sporothrix* spp. through respiratory droplets from infected cats: A potential
449 route of transmission. *Med Mycol*. 2022;60(11).
- 450 27. Kumar S , Stecher G , Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary
451 genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*. 33(7):1870–74.
- 452 28. Viezzer J, Moraes E, Biondi D, Martini A, Scarano F. Áreas verdes, população e
453 renda em Curitiba, PR, Brasil. *Rev Soc Bras Arb Urb*. 2022;17(2);37-49.

- 454 29. Queiroz-Telles F, Buccheri R, Benard G. Sporotrichosis in
455 immunocompromised hosts. *J Fungi (Basel)*. 2019;5(1):1-23.
- 456 30. Munhoz LS, Poester VR, Severo CB, Trápaga MR, Madrid IM, Benelli JL, et al.
457 Update of the epidemiology of the sporotrichosis epidemic in the state of Rio Grande do
458 Sul, Brazil. *Mycoses*. 2022;65(12):1112-8.
- 459 31. Alzuguir CLC, Pereira SA, Magalhães M, Almeida-Paes R, Freitas DFS,
460 Oliveira LFA, et al. Geo-epidemiology and socioeconomic aspects of human
461 sporotrichosis in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil, between
462 2007 and 2016. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2020;114(2):99-106.
- 463 32. Barros MB, de Almeida Paes R, Schubach AO. *Sporothrix schenckii* and
464 sporotrichosis. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(4):633-54.
- 465 33. Bento AO, Costa ASS, Lima SL, Alves MM, Melo ASA, Rodrigues AM, et al.
466 The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil
467 towards the Northeast region. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(8):e0009693.
- 468 34. Barros MB, Schubach AO, Schubach TM, Wanke B, Lambert-Passos SR. An
469 epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series
470 of cases. *Epidemiol Infect*. 2008;136(9):1192-6.
- 471 35. Mialski R, de Almeida JN, Jr., da Silva LH, Kono A, Pinheiro RL, Teixeira MJ,
472 et al. Chronic meningitis and hydrocephalus due to *Sporothrix brasiliensis* in
473 immunocompetent adults: a challenging entity. *Open Forum Infect Dis*.
474 2018;5(5):ofy081.
- 475 36. Bonifaz A, Tirado-Sánchez A. Cutaneous disseminated and extracutaneous
476 sporotrichosis: current status of a complex disease. *J Fungi*. 2017;3(6):1-13.
- 477 37. Orofino-Costa R, Freitas DFS, Bernardes-Engemann AR, Rodrigues AM, Talhari
478 C, Ferraz CE, et al. Human sporotrichosis: recommendations from the Brazilian Society

- 479 of Dermatology for the clinical, diagnostic and therapeutic management. An Bras
480 Dermatol. 2022;97(6):757-77.
- 481 38. Queiroz-Telles F, Cognialli R, Salvador GL, Moreira GA, Herkert PF, Hagen, F.
482 Cutaneous disseminated sporotrichosis in immunocompetent patient: Case report and
483 literature review. Med Mycol Case Rep. 2022;36:31-4.
- 484 39. Arinelli A, Aleixo A, Freitas DFS, do Valle ACF, Almeida-Paes R, Gutierrez-
485 Galhardo MC, et al. Ocular sporotrichosis: 26 cases with bulbar involvement in a
486 hyperendemic area of zoonotic transmission. Ocul Immunol Inflamm. 2019:1-8.
- 487 40. Ferreira TA, Sodre CT, Costa JM, Setta CRP, Ramos ESM. Primary
488 conjunctival sporotrichosis: An atypical presentation of the disease. JAAD Case
489 Rep.2018;4(5):497-9.
- 490 41. Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, Da Silva AB, Inacio CP, de Lima-Neto RG,
491 de Andrade MCL, et al. High-virulence cat-transmitted ocular sporotrichosis.
492 Mycopathol. 2019;184(4):547-9.
- 493 42. Aidar MN, Rebeschini BM, Mata C, Borges TC, Araújo M. The importance of
494 considering the possibility of ocular sporotrichosis in areas with high incidence rates of
495 sporotrichosis. Arq Bras Oftalmol. 2022;1-4.
- 496 43. Marimon R, Cano J, Gene J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix*
497 *brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical
498 interest. J Clin Microbiol. 2007;45(10):3198-206.
- 499 44. Della Terra PP, Rodrigues AM, Fernandes GF, Nishikaku AS, Burger E, de
500 Camargo ZP. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen
501 *Sporothrix brasiliensis*. PLoS Negl Trop Dis. 2017;11(8):e0005903.
- 502 45. Almeida-Paes R, de Oliveira MM, Freitas DF, do Valle AC, Zancopé-Oliveira
503 RM, Gutierrez-Galhardo MC. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix*

- 504 *brasiliensis* is associated with atypical clinical presentations. PLoS Negl Trop Dis.
505 2014;8(9):e3094.
- 506 46. Carvalho JA, Hagen F, Fisher MC, de Camargo ZP, Rodrigues AM. Genome-
507 wide mapping using new AFLP markers to explore intraspecific variation among
508 pathogenic *Sporothrix* species. PLoS Negl Trop Dis. 2020;14(7):1-26.
- 509 47. Teixeira MM, Almeida-Paes R, Bernardes-Engemann AR, Nicola AM, de
510 Macedo, PM, Valle ACF, et al. Single nucleotide polymorphisms and chromosomal
511 copy number variation may impact the *Sporothrix brasiliensis* antifungal susceptibility
512 and sporotrichosis clinical outcomes. Fung Gen Bio. 2022;163.
- 513 48. Huang M, Ma Z, Zhou X. Comparative genomic data provide new insight on the
514 evolution of pathogenicity in *Sporothrix* species. Front Microbiol. 2020;11:1-14.
- 515 49. Sanchotene KO, Madrid IM, Klafke GaB, Bergamashi M, Terra PPD, Rodrigues
516 AM, et al. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline
517 sporotrichosis. Mycoses. 2015;58:652-8.
- 518 50. Valeriano CAT, Ferraz CE, Oliveira MME, Inácio CP, de Oliveira EP, Lacerda
519 AM, et al. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix*
520 *brasiliensis* in a new endemic area: Case series in the northeast of Brazil. JAAD Case
521 Rep. 2020;6(10):988-92.
- 522 51. Andrade EHP, Bastos CV, Silva AVD, Moreira SM, Costa TGA, Salvato LA, et
523 al. Household outbreak of sporotrichosis: towards the One Health approach. Rev Soc
524 Bras Med Trop. 2022;55:1-4.
- 525
526
527

528

529 **Table 1** - Cat-transmitted sporotrichosis case definition.

Definition	Epidemiology	Clinical	Laboratory
Proven	History of trauma or contact with a cat with sporotrichosis	Lesions compatible with sporotrichosis	Positive culture and/or histopathology (microbiological evidence)
Probable	History of trauma or contact with a cat with sporotrichosis	Lesions compatible with sporotrichosis	Human: Negative culture and/or histopathology Sick cat: A – sporotrichosis diagnosed by culture and/or histopathology in a veterinarian laboratory B – Cat resident in a region with confirmed presence of cats with sporotrichosis (data verified by public health authorities).
Possible	History of trauma or contact with a cat with sporotrichosis	Lesions compatible with sporotrichosis	Absent
Non-CTS	History of trauma or contact with a cat with sporotrichosis	Lesions compatible with sporotrichosis	Negative culture and/or histopathology for <i>Sporothrix</i> spp. Definition of other case of disease (infectious or non-infectious)

530 Font: Adapted from – Guide to Health Surveillance, 5^a Ed. Ministry of Health, Brazil, 2022 (23, 24, 25).531 *Only negative culture for *Sporothrix* spp. does not rule the diagnosis (limitation of the culture)

532

533

534 **Table 2:** Sociodemographic characteristics of human sporotrichosis cases at Hospital de
 535 Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil. 2011-2021.

Characteristic	Category	Patients <i>n</i> (%)
Sex	Female	140 (65)
	Male	76 (35)
Age range (years)	≤10	17 (8)
	11-17	12 (6)
	18-30	45 (21)
	31-60	109 (50)
	>60	33 (15)
Occupation	Unemployed	42 (19)
	Student	42 (19)
	Retired	23 (11)
	Domestic	17 (8)
	Veterinarian or veterinary students	17 (8)
	Administrator	11 (5)
	Teacher	3 (1)
	Pet sitter	3 (1)
	Gardener	2 (1)
	Butcher	2 (1)
	Others	54 (26)

536

537

538 **Acknowledgements**

539 Lili Volochen Lopuch and Adriana de Fátima Gabriel for all support with
 540 collection and preparation samples. Regiane Cognialli Born for the map design. The
 541 authors also want to thank Jeremy A. W. Gold, MD, for reviewing of the manuscript.

542 **Sponsorships**

543 No external funding was received for this study.

544 **Biographical Sketch**

545 Regielly Cognialli is a mycologist at Hospital de Clínicas of Federal University
 546 of Paraná and PhD student at Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil. Her
 547 primary interest is in neglected endemic mycosis.

548 **Authors' contribution**

549 Regielly Cognialli: Conceptualization (lead); methodology (lead); writing–
 550 original Draft Preparation (lead). review and editing (lead). MSc Bastos: Writing–

551 review and editing (supporting). PhD Cavassin: Writing–review (supporting). MSc
552 Lustosa, and PhD Vicente; molecular biology (supporting). MD Breda: review and
553 editing (supporting). PhD Santos-Weiss: review and editing (supporting). PhD MD
554 Queiroz-Telles: Writing–review and editing (lead), supervision. All authors have read
555 and agreed to the published version of the manuscript. The authors declare no conflict
556 of interest.

557 **Address for correspondence**

558 Dr. Flávio Queiroz-Telles, Federal University of Paraná, 280 Padre Camargo,
559 Curitiba, Paraná, Brazil; E-mail: queiroz.telles@uol.com.br; Phone number:
560 +5541999721828.

561

562

563

564

565

566

567

568

569

570

571 **Supplementary material****Table S1**—Additional information about the reference strains and isolates analyzed from *Sporothrix* pathogenic clade and strains isolated from patients on Curitiba, PR.

Species	Strain reference	Geography	Source	GenBank accession CAL	Reference
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 120339 (T)	Brazil	Human sporotrichosis	AM116899	Marimon et al., 2006
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 132985	Brazil	Feline sporotrichosis	KC693830	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 132989	Brazil	Feline sporotrichosis	KC693846	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 132999	Brazil	Feline sporotrichosis	KC693871	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 133003	Brazil	Feline sporotrichosis	KC693875	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 132994	Brazil	Canine sporotrichosis	KC693864	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 133005	Brazil	Feline sporotrichosis	KC693878	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 133004	Brazil	Canine sporotrichosis	KC693876	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 132988	Brazil	Human sporotrichosis	KC693840	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 130106	Brazil	Human sporotrichosis	KP101422	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CBS 132991	Brazil	Human sporotrichosis	KP101428	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	FMR 8337	Brazil	Soil	AM116876	Marimon et al., 2006
<i>Separatrix brasiliensis</i>	CBS 132986	Brazil	Human sporotrichosis	KC693831	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5313	Brazil	Human sporotrichosis	ON397974	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5314	Brazil	Human sporotrichosis	ON397975	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5072	Brazil	Pediatric sporotrichosis	ON397976	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5315	Brazil	Human sporotrichosis	ON397977	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5316	Brazil	Human sporotrichosis	ON397978	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5317	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397979	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5292	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397980	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5318	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397982	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5083	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397983	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5319	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397984	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5320	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397985	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5293	PR, Brazil	Pediatric sporotrichosis	OM273723	Queiroz-Telles, 2022
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5294	PR, Brazil	Pediatric sporotrichosis	OM273724	Queiroz-Telles, 2022

<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5321	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397986	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5322	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397987	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5323	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397988	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5324	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397989	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5325	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397990	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5296	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397991	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5297	PR, Brazil	Pediatric sporotrichosis	OM273725	Queiroz-Telles, 2022
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5326	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397992	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5327	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397993	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5328	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397994	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5329	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397995	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5330	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397996	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5331	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397997	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5332	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397998	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5333	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON397999	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5334	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON398000	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5556	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON398001	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5298	PR, Brazil	Pediatric sporotrichosis	OM273727	Queiroz-Telles, 2022
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5335	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON398002	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5336	PR, Brazil	Pediatric sporotrichosis	OM273726	Queiroz-Telles, 2022
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5337	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON398003	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5338	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON398004	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5567	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON931613	This study
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5568	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON931614	This study

572

573

574

575

576

577

578

579

580

581

Table S1–Continuation

Species	strain reference	Geography	Source	GenBank accession CAL	Reference
<i>Sporothrix brasiliensis</i>	CMRP5569	PR, Brazil	Human sporotrichosis	ON931615	This study
<i>Sporothrix brunneoviolacea</i>	CBS 793.73	Germany	Soil	KP017106	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix brunneoviolacea</i>	CBS 101570	USA	Endophyte	KP017101	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 120340 (T)	Spain	Human sporotrichosis	KP101459	Marimon et al., 2006
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 132923	Brazil	Human sporotrichosis	JF811337	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 132924	Brazil	Human sporotrichosis	JF811338	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 130104	Spain	Human sporotrichosis	AM116905	Marimon et al., 2006
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 132922	Brazil	Human sporotrichosis	JF811336	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 132925	Brazil	Human sporotrichosis	KP101475	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 130116	Spain	Human sporotrichosis	AM116903	Marimon et al., 2006
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 140741	China	Human sporotrichosis	KY387689	Moussa et al., 2017
<i>Sporothrix globosa</i>	CBS 140743	China	Human sporotrichosis	KY387691	Moussa et al., 2017
<i>Sporothrix globosa</i>	KMU 4208	China	Plant	AM399002	Marimon et al., 2007
<i>Sporothrix luriei</i>	CBS 937.72 (T)	South Africa	Human sporotrichosis	AM747302	Marimon et al., 2007
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 359.36 (T)	USA	Human sporotrichosis	AM117437	Marimon et al., 2006
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 938.72	France	Human sporotrichosis	AM490340	Marimon et al., 2007
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 132968	Brazil	Human sporotrichosis	JX077123	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 132969	Brazil	Human sporotrichosis	JX077125	Rodrigues et al., 2013
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 130101	Peru	Human sporotrichosis	KP101390	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 130112	Peru	Human sporotrichosis	KP101391	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 211.61	South Africa	Not informed	KP101393	Zhang et al., 2015
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 132975	Brazil	Human sporotrichosis	JQ041905	Fernandes et al., 2013
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 132976	Japan	Human sporotrichosis	KF574464	Sasaki et al., 2014
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 132977	Mexico	Plant	KF574467	Sasaki et al., 2014
<i>Sporothrix schenckii</i>	CBS 132984	USA	Human sporotrichosis	KF574470	Sasaki et al., 2014
<i>Sporothrix schenckii</i>	Ss61	Brazil	Soil	KF561244	Sasaki et al., 2014

582

583

584

585 **References**

586

587 Marimon R, Gené J, Cano J, Trilles L, Santos Lazéra M, Guarro J. Molecular phylogeny
588 of *Sporothrix schenckii*. J Clin Microbiol. 2006;44(9):3251-6.

589 Rodrigues AM, Melo Teixeira M, de Hoog GS, Schubach TM, Pereira SA, Fernandes GF
590 et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline
591 sporotrichosis outbreaks. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(6):e2281.

592 Zhang Y, Hagen F, Stielow B, Rodrigues AM, Samerpitak K, Zhou X et al.
593 Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000
594 human and animal case reports. PLoS One. 2015;35(1):1-20.

595 Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Cognialli R, Lustosa BP, Vicente VA, Ramírez-Marín HA.
596 Sporotrichosis in Children: Case series and Narrative Review. Curr Fungal Infec Rep.
597 2022;8:1-4.

598 Moussa TAA, Kadasa NMS, Al Zahrani HS, Ahmed SA, Feng P, Gerrits van den Ende
599 AHG et al. Origin and distribution of *Sporothrix globosa* causing sapronoses in Asia. J
600 Med Microbiol. 2017;66(5):560-9.

601 Marimon R, Cano J, Gené J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*,
602 *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. J Clin
603 Microbiol. 2007;45(10):3198-206.

604 Fernandes GF, Santos PO, Rodrigues AM, Sasaki AA, Burger E, Camargo ZP.
605 Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different
606 *Sporothrix schenckii* sensu stricto isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis*
607 species. Virul. 2013;4(3):241-9.

608 Sasaki AA, Fernandes GF, Rodrigues AM, Lima FM, Marini MM, Feitosa LS et al.
609 Chromosomal polymorphism in the *Sporothrix schenckii* complex. PloS One. 2014;9(1):
610 e86819.

611

612

613

614

615

616

Peer Review

Burden of sporotrichosis:

- High
- Moderate
- Low

Cat-transmitted sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*:



Proven infection

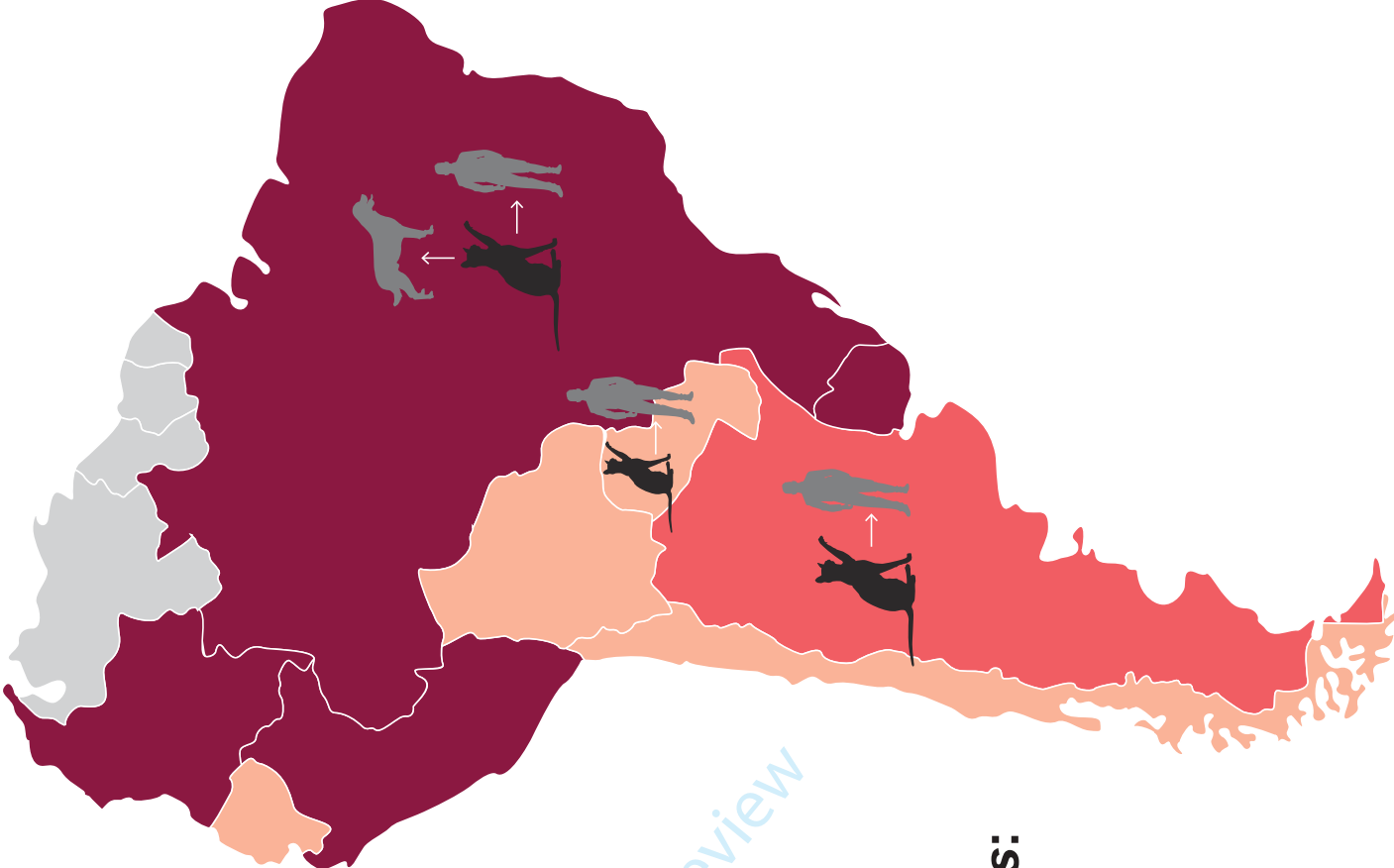
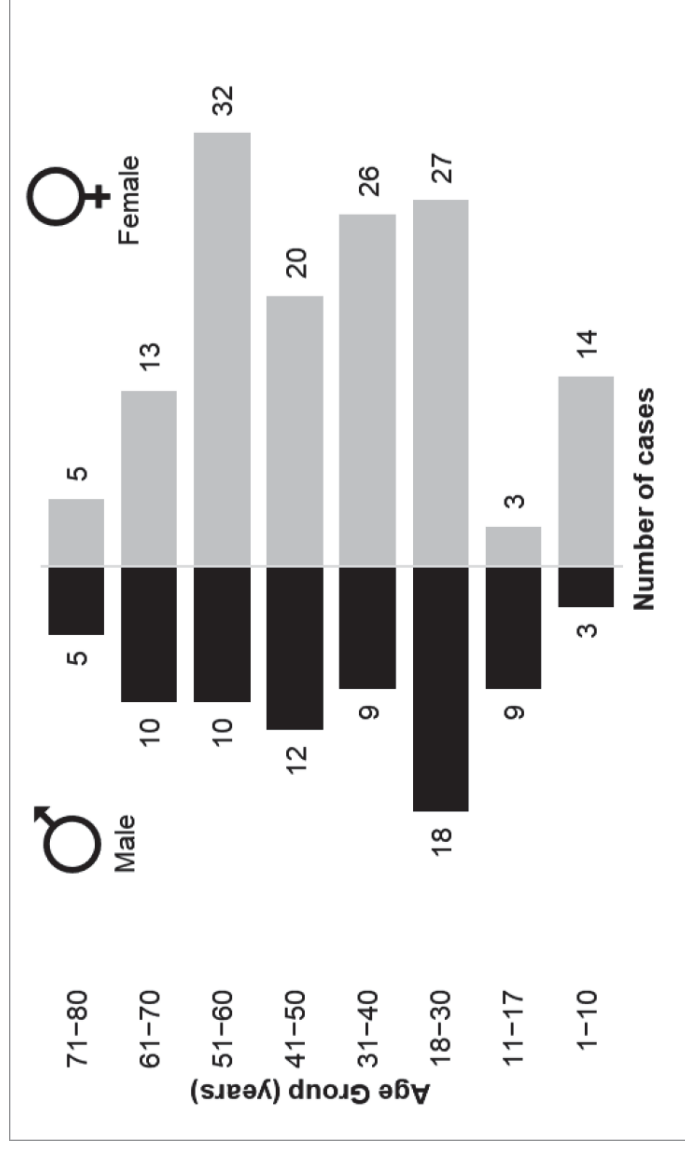
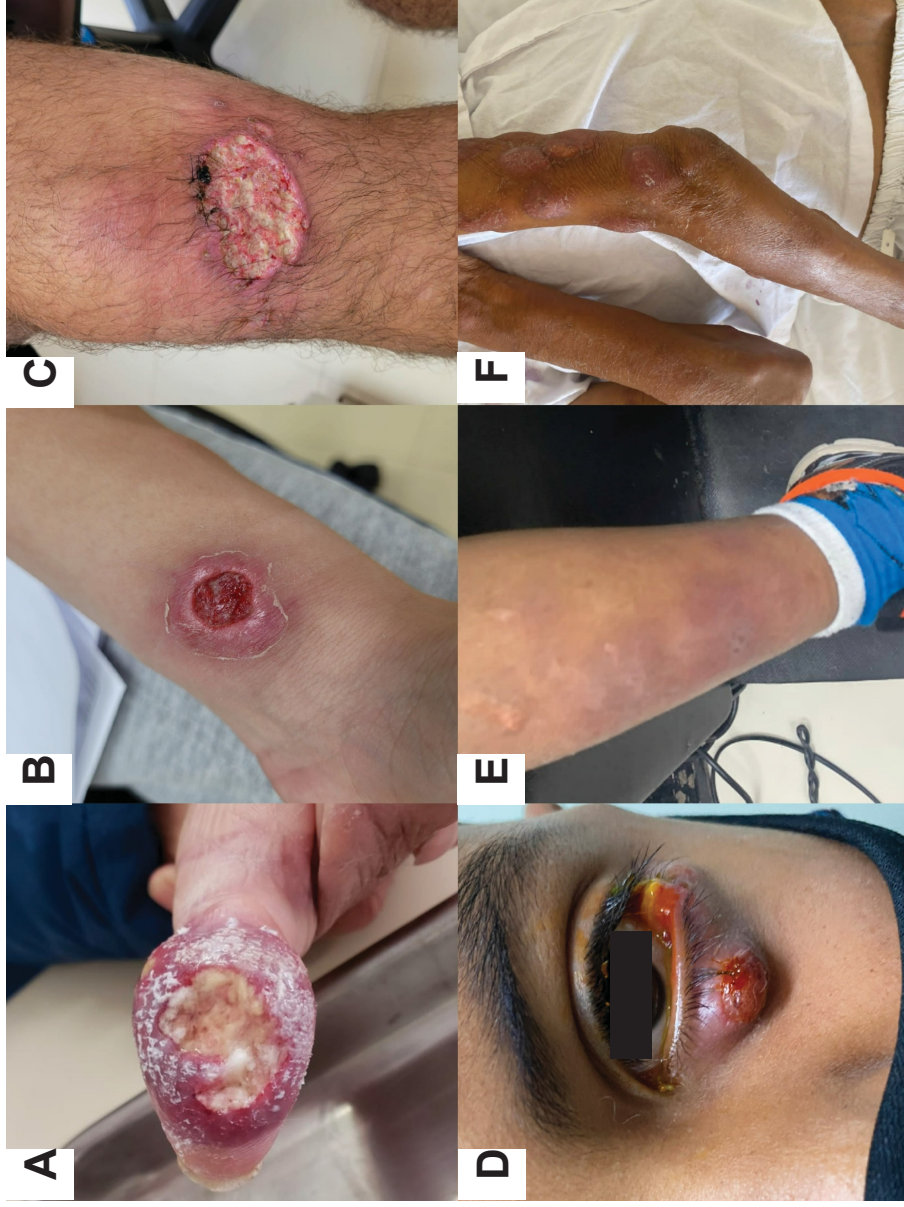


Figure 2





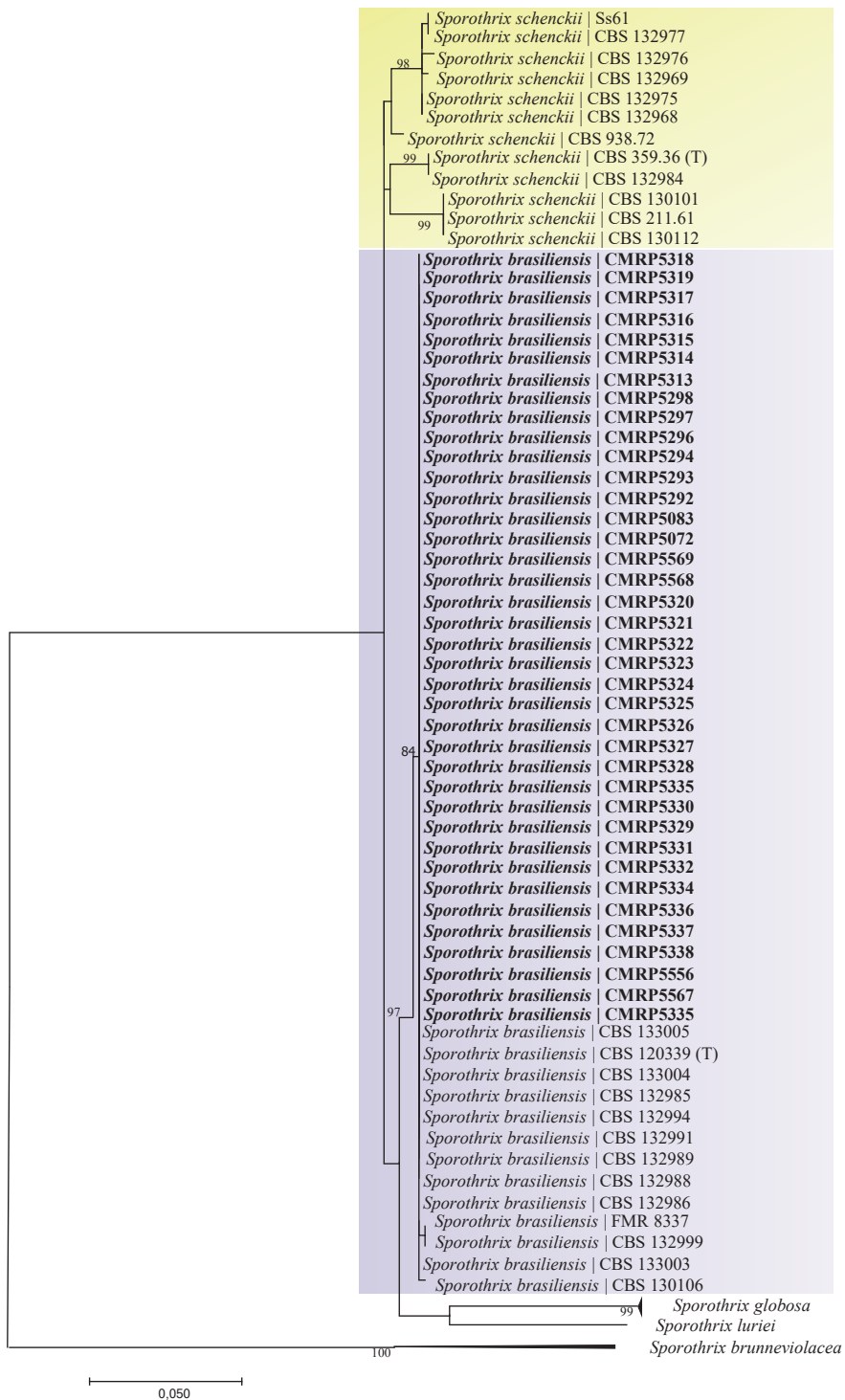


Figure 4. Phylogenetic tree of the *Sporothrix* pathogenic clade based on calmodulin near-complete, genes constructed with maximum likelihood implemented in MEGA 7.0.26. Bootstrap values > 80 from 1500 resampled data sets are shown. GenBank accession numbers are shown on Supplementary Table 1, *Sporothrix brunneviolacea* was taken as an outgroup. Notes: names in bold represent strains isolated in the study, Green square represent *Sporothrix schenckii* str. s. purple square represent *Sporothrix brasiliensis*.

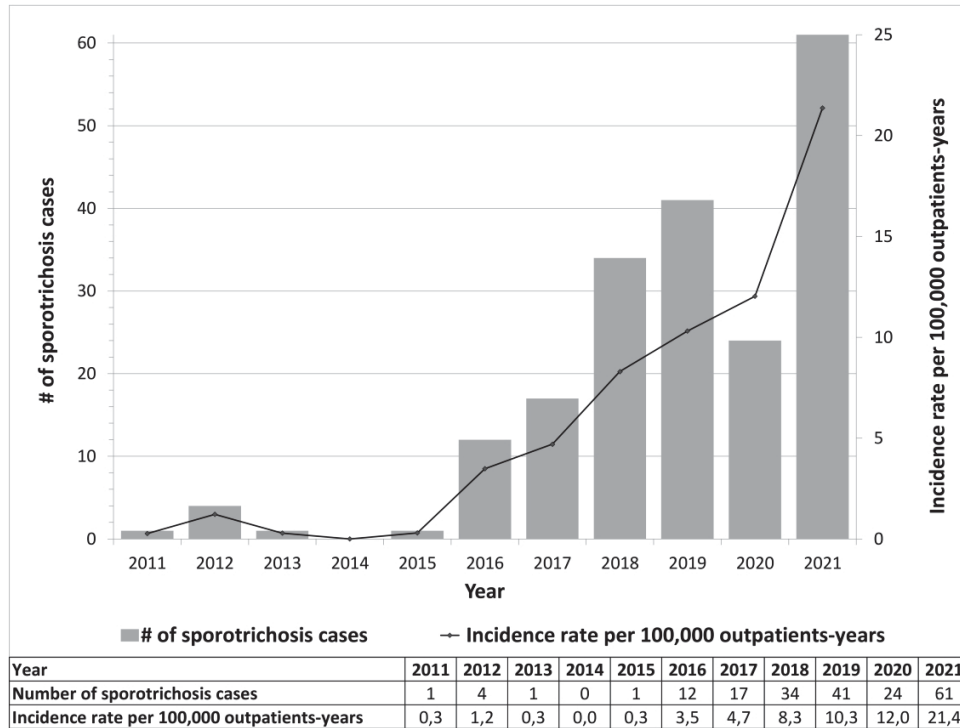
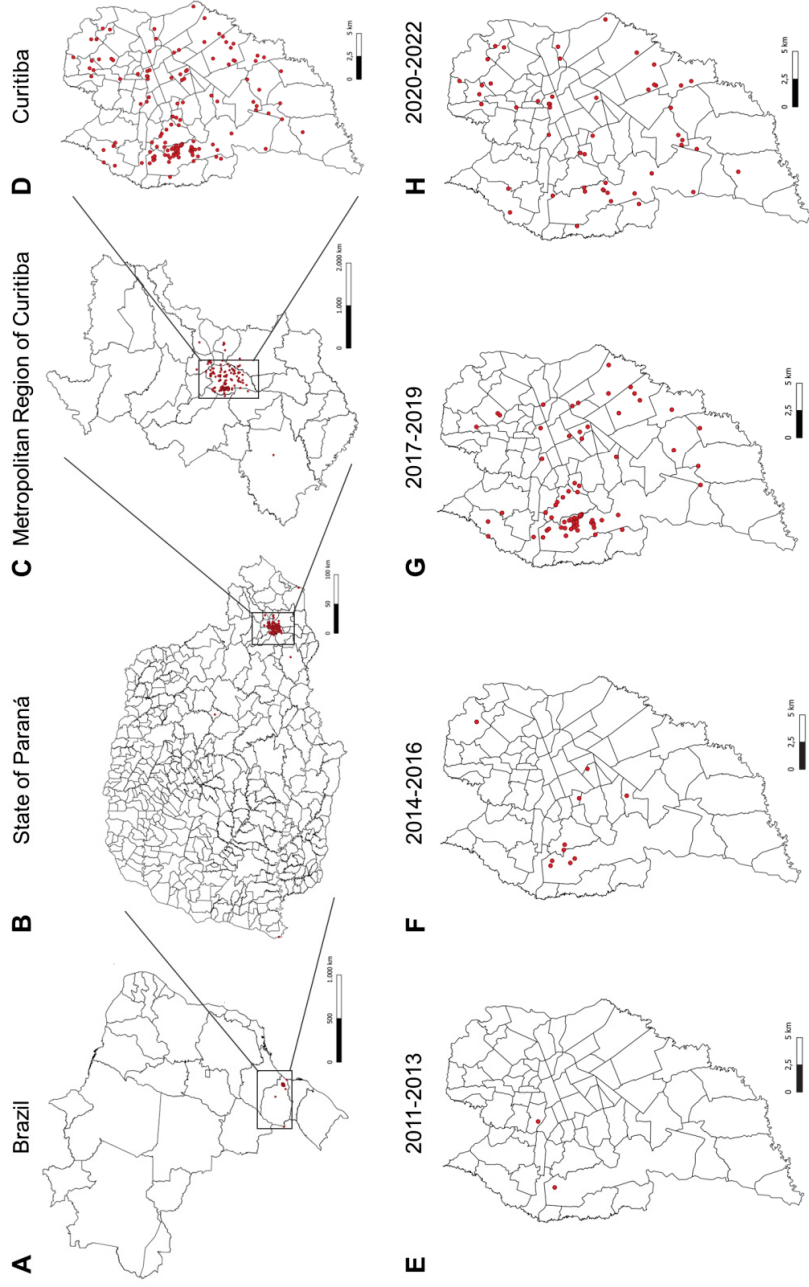
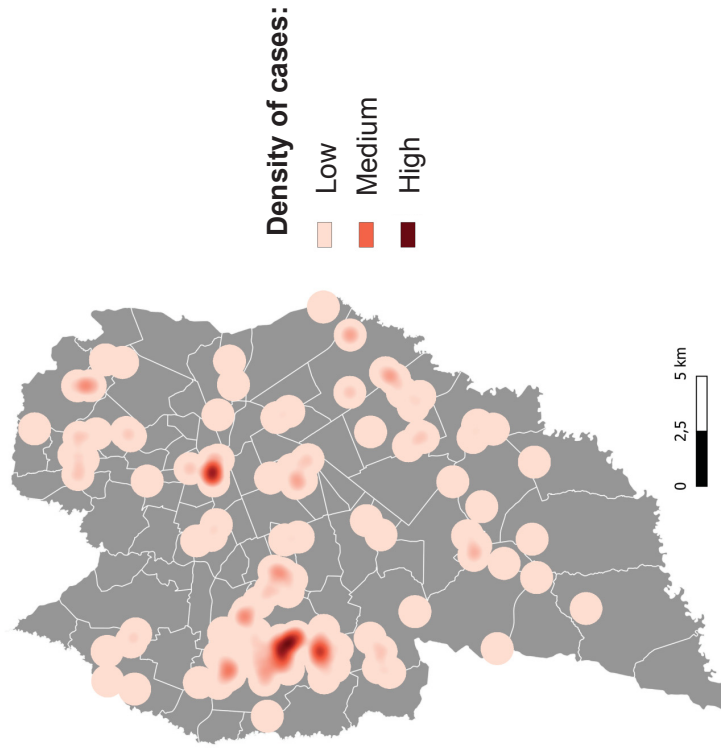


Figure 5. Epidemiological curve and incidence rate of sporotrichosis: data from Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil. 2011-2021.

366x273mm (300 x 300 DPI)





4.2 ARTIGO 2

Artigo publicado no periódico *Mycoses* (fator de impacto 4.931; Qualis CAPES A1).

COGNIALLI R, BLOSS K, WEISS I, CACERES DH, DAVIS R, QUEIROZ-TELLES F. A lateral flow assay for the immunodiagnosis of human cat-transmitted sporotrichosis. *Mycoses*. 2022 Oct;65(10):926-934. doi: 10.1111/myc.13516. Epub 2022 Aug 25. PMID: 35943444; PMCID: PMC9546384.

ORIGINAL ARTICLE

A lateral flow assay for the immunodiagnosis of human cat-transmitted sporotrichosis

Regielly Cognialli^{1,2}  | Konner Bloss³ | Izabella Weiss⁴ | Diego H. Caceres^{3,5,6}  |
Rachelle Davis³ | Flavio Queiroz-Telles^{4,7} 

¹Mycology Unit, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

²Postgraduate Program in Internal Medicine and Health Science, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

³Immuno-Mycologics (IMMY), Norman, Oklahoma, USA

⁴Department of Clinical Analysis, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

⁵Center of Expertise in Mycology Radboudumc/CWZ, Nijmegen, The Netherlands

⁶Studies in Translational Microbiology and Emerging Diseases (MICROS) Research Group, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogota, Colombia

⁷Department of Public Health, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

Correspondence

Flavio Queiroz-Telles, Department of Public Health, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil.

Email: queiroz.telles@uol.com.br

Abstract

Background: Cat-transmitted sporotrichosis (CTS) caused by *Sporothrix brasiliensis* has emerged as an important zoonosis in Brazil and neighbouring countries.

Objectives: Evaluate the performance of a lateral flow assay (LFA) for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies in human sera.

Methods: A LFA for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies (Anti-Sporo LFA) in human sera, developed by IMMY, was evaluated using 300 human sera collected prospectively at the Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná (HC-UFPR), in Curitiba, Brazil. These specimens included 100 sera from patients with CTS. CTS cases were classified as follows: 59 lymphocutaneous, 27 fixed cutaneous, 13 ocular, and one mixed form. One-hundred specimens from patients with other mycoses, including cryptococcosis ($n = 32$), candidemia ($n = 27$), paracoccidioidomycosis ($n = 14$), aspergillosis ($n = 10$), histoplasmosis ($n = 9$), fusariosis ($n = 4$), lobomycosis ($n = 1$), chromoblastomycosis ($n = 1$), mucormycosis ($n = 1$) and trichosporonosis ($n = 1$). And 100 specimens from apparently healthy volunteers (AHV).

Results: The Anti-Sporo LFA showed a global sensitivity of 83% (95% confidence interval [CI] = 74%–90%), a global specificity of 82% (95% CI = 76%–87%), and accuracy of 82% (95% CI = 77%–86%). By clinical form sensitivity was as follows: Mixed form 100%, ocular 92%, lymphocutaneous 83% and fixed cutaneous 78%. False-positive results were observed in 11 specimens from people with other mycoses and 26 specimens from AHV.

Conclusion and discussion: This study presents the results of the evaluation of the first lateral flow assay for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies in human sera. The findings here show evidence that IMMY's Anti-Sporo LFA is a promising tool for the rapid diagnosis of CTS.

KEYWORDS

antibody, Cat-Transmitted Sporotrichosis, immunodiagnosis, lateral flow assay, mycosis, *Sporothrix brasiliensis*, sporotrichosis

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2022 IMMY. *Mycoses* published by Wiley-VCH GmbH.

1 | INTRODUCTION

Sporotrichosis is a neglected implantation mycosis caused by *Sporothrix* spp. This is a disease with global distribution, but it is more frequently reported in tropical and subtropical regions around the world.^{1–5} Sporotrichosis has an estimated global annual incidence rate of more than 40,000 cases per year, mainly located in endemic areas, but the data are limited due to the lack of mandatory reporting of this disease in most of the affected countries.⁶

Since the late 1990s, an outbreak of cat-transmitted sporotrichosis (CTS) emerged initially in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Then, in 2007, a new species, *S. brasiliensis*, was identified using molecular analysis.^{1,7–9} This species has the capacity of zoonotic transmission and emerged as an agent of cat-transmitted sporotrichosis (CTS).^{1,7,8} In the last two decades, *S. brasiliensis* has spread, causing CTS outbreaks across the Brazilian territory and in recent years, sporadic cases in Argentina, and Paraguay.^{2,5,8,10–16}

A sick domestic cat (*Felis catus*) transmits the yeast form of *S. brasiliensis* to other cats, humans, and dogs. Infection occurs by traumatic implantation largely from scratching and biting, and in some cases, by cutaneous or mucosal implantation by contact with skin exudates and respiratory secretions from sick cats.^{1,2} *Sporothrix brasiliensis* is more virulent than other species of the *Sporothrix* genus, and the fixed lymphocutaneous and cutaneous forms are the most frequent clinical forms. However, CTS epidemic atypical clinical forms have been described as ocular, antigen hyperreactivity, osteoarticular, meningitis and other extracutaneous infections, adding challenges to the diagnosis of this disease.^{1–3,5,7,17–19}

Due to the broad clinical spectrum of this disease, the differential diagnosis of sporotrichosis with other infectious and non-infectious diseases must be carried out, including tegumentary leishmaniasis, tuberculosis, pyoderma, cat scratch disease, chromoblastomycosis, phaeohyphomycosis and mycetoma.⁵ Due to the low specificity of the clinical manifestation, the use of specific laboratory assays is key.^{1,20}

To control the zoonotic spread of this disease, the implementation of the One Health approach is needed. This approach integrates human, animal and environmental professionals such as microbiologists, veterinarians, physicians, epidemiologists and surveillance officers.^{8,16,21} One of the key aspects of human and animal patients with zoonotic sporotrichosis is its early detection.^{16,22} In addition, due to the increase of CTS with atypical manifestations, it is necessary to implement rapid and accurate testing.^{1,2,16,18}

The standard method for the diagnosis of sporotrichosis is the isolation of the fungus by culture, but this method is time-consuming, requires well-trained professionals, and has variable sensitivity.^{1,20,23,24} Direct examination and histopathological study have low sensitivity; less than 30%.^{8,20} Intradermal reactivity using sporotrichin is not commercially available and its use is limited to some few highly specialised medical centres.^{20,23} For the immune diagnosis of sporotrichosis, there is a commercially available latex agglutination system for antibody (Ab) detection, but its analytical performance varies according to the clinical form, ranging from 100% sensitivity for the diagnosis of disseminated forms, to 56% for the diagnosis of

cutaneous disease.^{8,20} Some in-house enzyme immunoassays (EIA) have been developed, showing high sensitivity and specificity, but these assays are limited to just a few laboratories.^{8,23,24}

CTS caused by *Sporothrix brasiliensis* is an emerging health problem in Brazil and a threat to bordering countries.^{1,7,8} The aim of this study was to evaluate the performance of a lateral flow assay (LFA) for the rapid detection of anti-*Sporothrix* antibodies in human sera.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study design

A prospective cross-sectional study was done. Sera specimens were collected between November 2018 and March 2021 at the mycology laboratory of the Hospital de Clínicas of Federal University of Paraná (HC-UFPR) in Curitiba, Brazil. Specimens were aliquoted and frozen at -20°C until testing. We included cases with proven and probable CTS, independently of gender, age and clinical form. Patients with more than 30 days of CTS treatment were excluded, and patients classified as possible CTS were also excluded. All study participants were enrolled in the study after accepting their participation by signing the informed consent.

CTS was defined following the guidelines of the Brazilian ministry of health (Appendix A).^{24,25} Mycological studies were done with those patients where access to specimens was possible. All CTS cases were treated and followed during their time at the HC-UFPR. Cases were not enrolled if they had been treated for CTS for 31 days or more.²⁵

2.2 | Specimens

A total of 300 human sera specimens were tested. Specimens were classified into the following three groups. Group #1: 100 sera from patients with proven ($n = 37$) or probable ($n = 63$) CTS. By CTS clinical form, we tested 59 patients with lymphocutaneous CTS, 27 patients with fixed cutaneous CTS, 13 patients with ocular CTS, and one patient with mixed form of CTS (osteoarticular and fixed cutaneous). Group #2: 100 sera from patients with other mycoses. This group includes 32 patients with cryptococcosis, 27 patients with candidemia, 14 patients with paracoccidioidomycosis, 10 patients with aspergillosis, nine patients with histoplasmosis, four patients with fusariosis, one patient with lobomycosis, one patient with chromoblastomycosis, one patient with mucormycosis and one patient with *trichosporonosis*. Group #3 corresponded to 100 sera from apparently healthy volunteers (AHV) without contact with sick cats or any lesions (Figure 1).

2.3 | Lateral flow assay for detection of anti-*Sporothrix* antibodies

A Lateral flow assay (LFA) for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies (Anti-Sporo LFA) was developed by IMMY (Norman, OK,

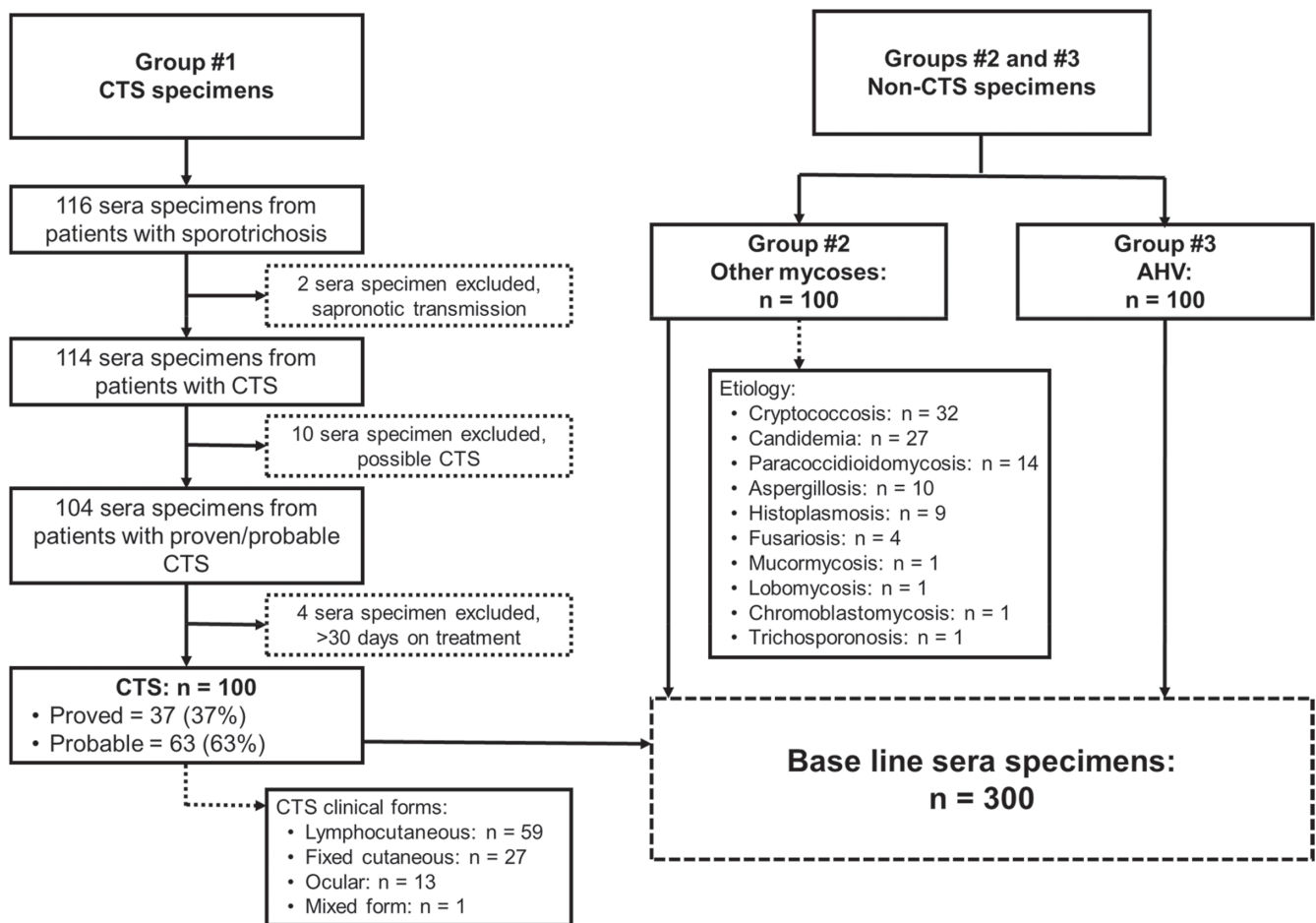


FIGURE 1 Flow chart of specimens analysed during the evaluation of the performance of the IMMY lateral flow assay for detection of anti-*Sporothrix* antibodies. Legend: (CTS) cat-transmitted sporotrichosis; (AHV) apparently healthy volunteers.

USA), and specimens were tested at the mycology laboratory of the HC-UFPR, in Curitiba, Brazil. The Anti-Sporo LFA is a nitrocellulose immunochromatographic assay for the detection of antibodies against *Sporothrix* in human serum. This LFA uses a gold conjugate mix of proteins G and L in the sample pad, and in the test line a purified *Sporothrix* antigen, obtained from culture filtrate from mycelial phase, composed of a 50:50 mix of *S. schenckii* (ATCC 58251, <https://www.atcc.org/products/58251>) and *S. brasiliensis* (ATCC-MYA 4824, <https://www.atcc.org/products/mya-4824>). The control line was a goat anti-human IgG/IgM.

2.4 | Specimen preparation and testing

First, sera specimens were diluted 1:441 using the kit specimen diluent. 100 µl of the diluted sera was then dispensed into a flat bottom tube/well, followed by the LFA strip. The assay was incubated at room temperature (15–25°C) for 30 min. After 30 min of incubation, the test was interpreted by a visual read. This read was performed by two operators within 10 min after the time of incubation. For results interpretation, the presence of no lines or a test line in the absence

of a control line was interpreted as invalid results. Positive results were interpreted as the presence of two lines, a test line and a control line. A negative result was interpreted as the presence of the control line alone (Figure 2).

2.5 | Statistical analysis

Calculation of the analytical performance of the test was done using 2×2 tables comparing the Anti-Sporo LFA against CTS diagnosis. Using this table, the tests sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive values, and their respective 95% confidence intervals (CI) were calculated.²⁶ Categorical variables were compared using a chi-square test with significance level of 5%. Analyses were conducted using MedCalc software.

2.6 | Ethics statements

This study was approved by the HC-UFPR Research Ethics Committee under registration CAAE 12379819.4.0000.0096.

3 | RESULTS

All CTS cases and patients from the control group came from the Curitiba metropolitan area, at the Parana state in Brazil. Among the group of patients with CTS, 116 subjects with sporotrichosis were identified. Of these, two were excluded due to sapronotic infection. Another 10 patients were excluded because CTS was classified as possible. Additionally, four individuals were excluded



FIGURE 2 Interpretation of Anti-Sporo LFA results. Left: A negative LFA, interpreted by only the presence of the control line. Right: A positive LFA, result is interpreted by the presence of two lines; the control line (top), and the test line (bottom).

because they were on antifungal treatment for more than 30 days (Figure 1). We observed a higher prevalence of CTS in women, 1.6:1 sex ratio (62 women and 38 men). In this study, we found 16% prevalence of childhood CTS. All proven CTS were confirmed by molecular identification of *S. brasiliensis*. In the group of 63 probable CTS, five patients were tested by microscopy and culture. All five patients tested negative with both tests. All patients with a diagnosis of CTS received systemic antifungal treatment with itraconazole, terbinafine or both medicines. All cases were cured by the end of treatment.

Using the Anti-Sporo LFA, we observed a global sensitivity of 83% (95% CI = 74%–90%), a specificity of 82% (95% CI = 76%–87%), positive predictive value of 69% (95% CI = 62%–75%), negative predictive value of 90% (95% CI = 85%–93%) and an accuracy of 82% (95% CI = 77–86%) (Table 1).

The Anti-Sporo LFA correctly classified 83 out of the 100 CTS cases as positive. We observed 86% sensitivity in proven CTS and 81% sensitivity in probable CTS ($p = 0.477$). In the true positives results, $n = 83$ sera, 32 were classified as proven CTS (39%) and 51 probable CTS (61%). In this group of specimens, 49 were from lymphocutaneous CTS, 21 were fixed cutaneous CTS, 12 were ocular CTS and 1 mixed CTS. Performance of the sensitivity of the Anti-Sporo LFA by clinical forms was lymphocutaneous 83% (95% CI = 71%–92%), fixed cutaneous 78% (95% CI = 58%–91%), ocular 92% (95% CI = 64%–99%) and mixed form 100% (95% CI = 3%–100%) (Table 2). False-negative results were observed in 17 CTS specimens, 14 female patients (82%) and three male patients (18%). These patients presented a mean age of 51 years (range: 10–80 years old). CTS was defined as proven in 5 patients (29%), and probable in 12 patients (71%). By clinical form, false-negative results were observed in 6 patients with fixed cutaneous CTS, 10 patients with lymphocutaneous CTS, and one patient with ocular CTS (Table 3). We observed that the sensitivity in children was 88%, and in adults, it was 84%. These were higher in comparison with the group of patients older than 60 years, 75% sensitivity, but these differences were not statically significant ($p = 0.610$) (Table 4). We observed statistically significant differences ($p = <0.001$) in the sensitivity of the

		CTS diagnosis	
		+	-
LFA	+	83	37
	-	17	163
		% (95% CI)	
Sensitivity		83 (74–90)	
Specificity		82 (76–87)	
Accuracy		82 (77–86)	
Positive predictive value		69 (62–75)	
Negative predictive value		90 (86–93)	

TABLE 1 Analytical performance of the IMMY anti-*Sporothrix* antibodies LFA

Abbreviations: -, Negative; +, Positive; 95% CI, 95% confidence interval; CTS, Cat-transmitted sporotrichosis; LFA, Lateral flow assay.

Anti-Sporo LFA when disease onset was more than 21 days (91%), in comparison with patients with early disease, less than 21 days (31%) (Table 4).

False-positive results were found in 37 out of the 200 (18%) non-CTS specimens. Among these false-positive results, 11 were from the group of patients with other mycoses (Group #2). We observed that the false positives were cross-reactions with specimens from patients with histoplasmosis (2 out of 10, 20% cross-reactivity), candidemia (4 out of 27, 15% cross-reactivity), paracoccidioidomycosis (2 out of 14, 14% cross-reactivity), cryptococcosis (2 out of 32, 6% cross-reactivity) and trichosporonosis (1 out of 1, 100% cross-reactivity) (Tables 5,6). The other 26 false-positive results were observed in specimens from AHV (Group #3). All AHV declared not having comorbidities, contact with sick cats suspected of CTS, or having any previous presentation

of symptoms suggestive of sporotrichosis. These subjects were individuals with ages ranging from 14 to 65 years old and were students or healthcare workers. All were residents in the endemic region for CTS. LFA bands in the test zone observed in Group #3 were less intense than bands observed from specimens in Groups #1 and #2.

4 | DISCUSSION

This report describes the development and evaluation of the performance of the first lateral flow assay for the detection of anti-*Sporothrix* antibodies. IMMY's *Sporothrix* antibody detection LFA is a rapid and accurate tool for addressing the diagnosis of sporotrichosis in humans. In addition, this LFA showed good performance for the diagnosis of atypical manifestations of CTS.

In this study, we identified individuals with a broad spectrum of clinical presentation, highlighting from this study the high prevalence of individuals with ocular CTS (13%). Ocular forms may occur due to contact with secretions of sick felines in the conjunctiva, demonstrating that zoonotic transmission has altered the observed profile of clinical manifestations.^{8,27-29} We observed high sensitivity (92%) for the diagnosis of ocular CTS using the Anti-Sporo LFA. The only ocular CTS false-negative result was observed in a patient with early presentation of the disease (10 days since onset of symptoms).

TABLE 2 Analytical performance of the IMMY anti-*Sporothrix* antibodies LFA: analysis by clinical form

Clinical form	Sensitivity (95% CI)	Accuracy (95% CI)
Lymphocutaneous (n = 59)	83 (71–92)	82 (77–86)
Fixed cutaneous (n = 27)	78 (58–91)	81 (75–86)
Ocular (n = 13)	92 (64–99)	82 (76–87)
Mixed form (n = 1)	100 (3–100)	82 (76–87)

Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; n, Number.

TABLE 3 Characteristics of 17 patients with false-negative results using the IMMY anti-*Sporothrix* antibodies LFA

	CTS classification	Clinical form	Additional Comments
1	Probable	Fixed cutaneous	♀ 54 YO. DO: one month. WCo. Ulcerated lesion on right hand
2	Proven	Fixed cutaneous	♀ 70 YO. DO: 15 days. WCo. Ulcerated lesion on the back of right hand. <i>S. brasiliensis</i> isolated from hand tissue
3	Probable	Fixed cutaneous	♂ 54 YO. DO: 20 days. Hypertension and gastritis. Ulcerated lesion on the right hand
4	Probable	Fixed cutaneous	♀ 56 YO. DO: one month. WCo. Ulcerated lesion on left hand
5	Probable	Fixed cutaneous	♀ 40 YO. DO: 10 days. WCo, veterinary. Papular lesion on right hand
6	Proven	Fixed cutaneous	♀ 56 YO. DO: 14 days. HIV+. Ulcerated lesion on right hand. <i>S. brasiliensis</i> isolated from hand exudate
7	Probable	Lymphocutaneous	♀ 27 YO. DO: three months. WCo, veterinary. Lymphangitis
8	Proven	Lymphocutaneous	♀ 36 YO. DO: one month. WCo. Lymphangitis, <i>S. brasiliensis</i> isolated from finger tissue
9	Probable	Lymphocutaneous	♀ 51 YO. DO: two months. WCo. Lymphangitis
10	Probable	Lymphocutaneous	♂ 14 YO. DO: 20 days. WCo. Lymphangitis
11	Proven	Lymphocutaneous	♀ 10 YO. DO: two months. WCo. <i>S. brasiliensis</i> isolated from hand exudate and lymphangitis
12	Probable	Lymphocutaneous	♀ 60 YO. DO: 21 days. WCo. Nodules on upper and lower limbs
13	Probable	Lymphocutaneous	♀ 21 YO. DO: 15 days. WCo, veterinary student. Nodules on left forearm
14	Proven	Lymphocutaneous	♂ 80 YO. DO: two months. <i>S. brasiliensis</i> isolated from arm tissue
15	Probable	Lymphocutaneous	♀ 65 YO. DO: one month. WCo. Nodules on upper and lower limbs and lymphangitis
16	Probable	Lymphocutaneous	♀ 47 YO. DO: 21 days. WCo. Ulcerated lesion on nose and lymphangitis
17	Probable	Ocular	♀ 23 YO. DO: 10 days. WCo. Granulomatous conjunctivitis

Note: CTS based Brazilian ministry of health case definitions^{24,25}

Abbreviations: -, Negative; ♀, Female; ♂, Male; DO, disease onset; WCo, Without comorbidities; YO, Years old.

TABLE 4 Sensitivity of the IMMY anti-*Sporothrix* antibodies LFA: analysis by group of age and disease onset

	Sensitivity (95% CI)	<i>p</i>
Age		
<18 years old (<i>n</i> = 16)	88 (62–98)	0.610
19–59 years old (<i>n</i> = 68)	84 (73–92)	
>60 years old (<i>n</i> = 16)	75 (48–93)	
Disease onset		
<21 days (<i>n</i> = 13)	31 (9–61)	<0.001
>21 days (<i>n</i> = 87)	91 (83–96)	

Note: *p* < 0.001 statistically significant differences.

Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; *n*, Number.

TABLE 5 Summary of cross-reactivity using the anti-*Sporothrix* detection antibody LFA

Specimen classification	False positives % (number)
Group 2	
Histoplasmosis	20 (2/10)
Candidemia	15 (4/27)
Paracoccidioidomycosis	14 (2/14)
Cryptococcosis	6 (2/32)
<i>Trichosporonosis</i>	100 (1/1)
Aspergillosis	0 (0/10)
Fusariosis	0 (0/4)
Lobomycosis	0 (0/1)
Chromoblastomycosis	0 (0/1)
Mucormycosis	0 (0/1)
Overall cross-reactivity	11 (11/100)
Group 3	
Apparently healthy volunteers	26 (26/100)

Factors that can also affect sensitivity of antibody detection assays include host baseline conditions, such as patient's immunological status, age, the time of disease onset, the clinical form of the disease, fungal burden and exposure to antifungal treatment.^{5,27,30–33} We found a statistically significant correlation between assay sensitivity and time of disease onset; being higher sensitivity in patients with more than 21 days of symptoms. Experimental studies in mice have demonstrated that detection of IgG antibodies appears after 14 days of infection, and in humans, it has already been observed that this can be longer than 21 days.^{27,32} Ageing could be the factor that affects assay sensitivity.^{24,31,34} In this study, we observed a lower frequency of false negatives in children (12%) compared with adults (18%), but this was not statistically significant. To increase the chance of detecting cases, it is recommended to evaluate acute and convalescent specimens. This recommendation is based on the evaluation of seroconversion, which could add important evidence for the diagnosis of the disease.³⁵ Since several factors influence the performance of Ab

detection assays, results must be carefully analysed and compared with the clinical and epidemiological data.

Among the CTS false-negative results, ten were lymphocutaneous CTS, six were fixed cutaneous CTS, and one was an ocular form. It is known that antibody circulation and immunoglobulin type could vary based on the clinical manifestation of the disease. In fixed cutaneous and lymphocutaneous forms, low concentrations of IgM and IgA have been reported.^{5,27,30} Therefore, negative results cannot exclude the presence of CTS.³¹ In addition, we observed two false-negative results in patients with comorbidities. As previously reported, it is well known that the immune status of the host can affect the production of antibodies, affecting the performance of antibody detection assays.¹⁷

The Anti-Sporo antibody LFA presented a global specificity of 82%. In the group of specimens from patients with other mycosis, we observed 11% cross-reactions, this type of cross-reaction with other fungal infections has been previously reported using other antibody detection assays.^{31,32,36,37} Studies using an EIA anti-*Sporothrix* detection assay reported false-positive results with several fungi, including species of the genus *Histoplasma*, *Candida*, *Paracoccidioides* and *Cryptococcus*.^{32,37,38} Due to antigenic similarities of cell wall structures of some fungi, serological cross-reactivity can occur, mainly due to glycosylated compounds.^{37,39,40} On the contrary, it is important to consider that the clinical and epidemiology of these infections are distinct. Correlation of patient risk factors could reduce the impact of false-positive results.

We found in the group of apparently healthy volunteers (Group 3), a major number of false-positive reactions (26%). None of these volunteers had epidemiological or clinical criteria for sporotrichosis. Additionally, most of these volunteers were healthcare workers residing in the endemic region for sporotrichosis. These characteristics would increase the risk of exposure to *Sporothrix* and other fungal pathogens able to produce cross-reactions.^{8,19,24} Based on these findings, it is recommended to perform this test only in people who are symptomatic, or with a strong epidemiological link to CTS. In addition, future investigations focusing on product improvement are needed. These studies could be focused on the optimisation of antigen used for antibody detection, and the implementation of a LFA reader.

Study limitations are mainly related to lack of information of immune status of other infectious diseases from all patients and volunteers. Further studies are needed to know the performance of this assay when infections are caused by species of *Sporothrix* other than *S. brasiliensis*. In this study, specimens from cats and other species susceptible to develop sporotrichosis were not evaluated. In addition, it is necessary to evaluate this prototype in other sporotrichosis endemic regions.

There are some other assays for the detection of antibodies against *Sporothrix*. These assays are mainly based on EIA, latex agglutination, tube agglutination, complement fixation and indirect fluorescence. The main limitation of these assays is the limited commercial availability of kits.^{34,37,41} Currently, there is one kit available on the market for the detection of Ab; this kit uses a latex agglutination system (IMMY, Norman, USA). At the moment of writing this

TABLE 6 Characteristics of patients in Group #2 with false-positive results

	Diagnosis	Comments
1	Histoplasmosis	Immunodeficient. Positive histopathology, histoplasmosis
2	Histoplasmosis	Positive culture, <i>H. capsulatum</i>
3	Candidemia	<i>Candida albicans</i> BSI. ICU hospitalised
4	Candidemia	<i>Candida albicans</i> BSI. ICU hospitalised
5	Candidemia	<i>Candida albicans</i> BSI. ICU hospitalised
6	Candidemia	<i>Candida albicans</i> BSI. ICU hospitalised
7	Paracoccidioidomycosis	Positive direct examination and culture from cerebral abscess
8	Paracoccidioidomycosis	Positive culture from BAL
9	Cryptococcosis	Pulmonary cryptococcosis. HIV+ with positive <i>Cryptococcus</i> antigen in serum
10	Cryptococcosis	Immunodeficient with meningitis. Positive direct examination, culture and <i>Cryptococcus</i> antigen in CSF
11	<i>Trichosporonosis</i>	Immunodeficient (hematologic malignancy, and stem cell transplant). <i>Trichosporon asahii</i> BSI

Abbreviations: +, Positive; BAL, Bronchoalveolar lavage; BSI, Bloodstream infection; CSF, Cerebrospinal fluid; ICU, Intensive care unit.

report, one laboratory in Brazil, BIDIagnostics, offers an EIA-based assay for the detection of anti-*Sporothrix* Ab. Limitations of this assay are the need to ship specimens, and the lack of in vitro diagnostics certification in human specimens.

The findings in this study suggest that IMMY's *Sporothrix* antibody detection LFA prototype is a promising tool for the diagnosis of CTS in humans. In addition, some major advantages of LFA technology are simplicity, rapid turn-around for results, low cost, high accuracy, does not require complex laboratory infrastructure and personal training, and reagents could be transported and stored at room temperature. This test can improve the clinical suspicion of CTS, reducing time of therapy initiation and impacting the outbreak control.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

RC: Writing – original draft (lead); Conceptualisation (supporting); Investigation (lead); Methodology (supporting); Writing – review and editing (equal). KB: Methodology (lead); Conceptualisation (supporting); Writing – review and editing (equal). IW: Methodology (supporting); Writing – review and editing (equal). DHC: Writing – original draft (supporting); Conceptualisation (supporting); Investigation (supporting); Methodology (supporting); Writing – review and editing (equal). RD: Methodology (supporting); Conceptualisation (supporting); Writing – review and editing (equal). FQT: Conceptualisation (lead); Writing – original draft (supporting); Writing – review and editing (equal).

ACKNOWLEDGEMENTS

All patients were volunteers who participated in this study. The authors also would like to thank Lili Volochen Lopuch and Adriana de Fátima Gabriel for supporting specimen collection and testing. The authors also want to thank Brian Doherty for reviewing the manuscript.

FUNDING INFORMATION

This study was performed as part of a PhD program for the lead author (RC). Reagents were provided by IMMY (Norman, OK, USA). No external funding was received for this study.

CONFLICT OF INTEREST

Regielly Cognialli, Izabella Weiss and Flavio Queiroz-Telles declare no conflict of interest. Konner Bloss, Rachelle Davis and Diego H. Caceres are employees of IMMY. Reagents were provided by IMMY (Norman, OK, USA). No external funding was received for this study.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Regielly Cognialli  <https://orcid.org/0000-0002-3895-1982>

Diego H. Caceres  <https://orcid.org/0000-0001-8749-9809>

Flavio Queiroz-Telles  <https://orcid.org/0000-0001-7034-2418>

REFERENCES

- Orofino-Costa R, Macedo PM, Rodrigues AM, Bernardes-Engemann AR. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. *An Bras Dermatol*. 2017;92(5):606-620. doi:10.1590/abd1806-4841.2017279
- Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falcí DR, Caceres DH, Chiller T, Pasqualotto AC. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):e367-e377. doi:10.1016/s1473-3099(17)30306-7
- Silva MR, Vasconcelos C, Carneiro S, Cestari T. Sporotrichosis. *Clin Dermatol*. 2007;25(2):181-187. doi:10.1016/j.clindermatol.2006.05.006
- Queiroz-Telles F, Nucci M, Colombo AL, Tobón A, Restrepo A. Mycoses of implantation in Latin America: an overview of epidemiology, clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Med Mycol*. 2011;49(3):225-236. doi:10.3109/13693786.2010.539631
- Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Rossow J, Chindamporn A. Sporotrichosis and sporotrichosis. *Encyclopedia of Infection and Immunity*. 2022;2:376-396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818731-9.00046-X>
- Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and multi-national prevalence of fungal diseases-estimate precision. *J Fungi (Basel)*. 2017;3(4):57. doi:10.3390/jof3040057
- Rodrigues AM, Della Terra PP, Gremião ID, Pereira SA, Orofino-Costa R, de Camargo ZP. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. *Mycopathologia*. 2020;185(5):813-842. doi:10.1007/s11046-020-00425-0

8. Rossow JA, Queiroz-Telles F, Caceres DH, et al. A one health approach to combatting *Sporothrix brasiliensis*: narrative review of an emerging zoonotic fungal pathogen in South America. *J Fungi*. 2020;6(4):247.
9. Marimon R, Cano J, Gene J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol*. 2007;45(10):3198-3206. doi:10.1128/jcm.00808-07
10. Brandolt TM, Madrid IM, Poester VR, et al. Human sporotrichosis: a zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012–2017. *Med Mycol*. 2018;57(5):527-533. doi:10.1093/mmy/myy082
11. Etchecopaz AN, Lanza N, Toscanini MA, et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Argentina: case report, molecular identification and in vitro susceptibility pattern to antifungal drugs. *J Mycol Med*. 2019;30(1):100908. doi:10.1016/j.mycmed.2019.100908
12. Gutierrez-Galhardo MC, Freitas DFS, do Valle ACF, Almeida-Paes R, de Oliveira MME, Zancopé-Oliveira RM. Epidemiological aspects of sporotrichosis epidemic in Brazil. *Curr Fungal Infect Rep*. 2015;9(4):238-245. doi:10.1007/s12281-015-0237-y
13. Gremiao ID, Miranda LH, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. *PLoS Pathog*. 2017;13(1):e1006077. doi:10.1371/journal.ppat.1006077
14. Poester VR, Mattei AS, Madrid IM, et al. Sporotrichosis in southern Brazil, towards an epidemic? *Zoonoses Public Health*. 2018;65(7):815-821.
15. Duarte G, Manuel J, Acosta W, et al. Esporotricosis transmitida por gato doméstico. Reporte de un Caso familiar / sporotrichosis transmitted by domestic cat. A family case report. *Rev Nac (Itauguá)*. 2017;9(2):67-76.
16. Etchecopaz A, Toscanini MA, Gisbert A, et al. *Sporothrix Brasiliensis*: a review of an emerging south American fungal pathogen, its related disease, presentation and spread in Argentina. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(3):170. doi:10.3390/jof7030170
17. Queiroz-Telles F, Buccheri R, Benard G. Sporotrichosis in immunocompromised hosts. *J Fungi (Basel)*. 2019;5(1):8. doi:10.3390/jof5010008
18. Mialski R, de Almeida JN Jr, da Silva LH, et al. Chronic meningitis and hydrocephalus due to *Sporothrix brasiliensis* in immunocompetent adults: a challenging entity. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5(5):ofy081. doi:10.1093/ofid/ofy081
19. Schechtman RC, Falcão EMM, Carard M, García MSC, Mercado DS, Hay RJ. Sporotrichosis: hyperendemic by zoonotic transmission, with atypical presentations, hypersensitivity reactions and greater severity. *An Bras Dermatol*. 2022;97(1):1-13. doi:10.1016/j.abd.2021.07.003
20. Arenas R, Sanchez-Cardenas CD, Ramirez-Hobak L, Ruiz Arriaga LF, Vega Memije ME. Sporotrichosis: from KOH to molecular biology. *J Fungi (Basel)*. 2018;4(2):62. doi:10.3390/jof4020062
21. Gremiao IDF, Oliveira MME, Monteiro de Miranda LH, Saraiva Freitas DF, Pereira SA. Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(3):621-624. doi:10.3201/eid2603.190803
22. Hay R, Denning DW, Bonifaz A, et al. The diagnosis of fungal neglected tropical diseases (fungal NTDs) and the role of investigation and laboratory tests: an expert consensus report. *Trop Med Infect Dis*. 2019;4(4):122. doi:10.3390/tropicalmed4040122
23. Thompson GR 3rd, Le T, Chindamporn A, et al. Global guideline for the diagnosis and management of the endemic mycoses: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology. *Lancet Infect Dis*. 2021;21(12):e364-e374. doi:10.1016/s1473-3099(21)00191-2
24. Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Cognialli R, Lustosa BPR, Vicente VA, Ramirez-Marín HA. Sporotrichosis in children: case series and narrative review. *Curr Fungal Infect Rep*. 2022;16:33-46. doi:10.1007/s12281-022-00429-x
25. Brazil: Ministry of Health. Guide to health surveillance 2021.
26. Orozco-Vargas LC. Medicion en salud: diagnostico y evaluacion de resultados: un manual critico mas alla de lo basic. Universidad Industrial de Santander; 2010.
27. García Carnero LC, Lozoya Pérez NE, González Hernández SE, Martínez Álvarez JA. Immunity and treatment of sporotrichosis. *J Fungi (Basel)*. 2018;4(3):100. doi:10.3390/jof4030100
28. Arinelli A, Aleixo A, Freitas DFS, et al. Ocular sporotrichosis: 26 cases with bulbar involvement in a hyperendemic area of zoonotic transmission. *Ocul Immunol Inflamm*. 2019;14:1-8. doi:10.1080/09273948.2019.1624779
29. Ribeiro CR, Silva BP, Almeida Costa AA, et al. Ocular sporotrichosis. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2020;19:100865.
30. Almeida-Paes R, Pimenta MA, Monteiro PC, Nosanchuk JD, Zancopé-Oliveira RM. Immunoglobulins G, M, and A against *Sporothrix schenckii* exoantigens in patients with sporotrichosis before and during treatment with itraconazole. *Clin Vaccine Immunol*. 2007;14(9):1149-1157. doi:10.1128/cvi.00149-07
31. Richardson M, Page I. Role of serological tests in the diagnosis of Mold infections. *Curr Fungal Infect Rep*. 2018;12(3):127-136. doi:10.1007/s12281-018-0321-1
32. Oliveira LC, Almeida-Paes R, Pizzini CV, Gutierrez-Galhardo MC, Freitas DFS, Zancopé-Oliveira RM. Diagnostic performance of mycologic and serologic methods in a cohort of patients with suspected sporotrichosis. *Rev Iberoam Micol*. 2019;36(2):61-65. doi:10.1016/j.riam.2018.09.002
33. Tirado-Sánchez A, Bonifaz A. Sporotrichosis in children: an update. *Curr Fungal Infect Rep*. 2016;10(3):107-116. doi:10.1007/s12281-016-0259-0
34. Bernardes-Engemann AR, de Lima BM, Zeitune T, Russi DC, Orofino-Costa R, Lopes-Bezerra LM. Validation of a serodiagnostic test for sporotrichosis: a follow-up study of patients related to the Rio de Janeiro zoonotic outbreak. *Med Mycol*. 2015;53(1):28-33. doi:10.1093/mmy/myu058
35. Caceres DH, Chiller T, Lindsley MD. Immunodiagnostic assays for the investigation of fungal outbreaks. *Mycopathologia*. 2020;185(5):867-880. doi:10.1007/s11046-020-00452-x
36. Bahr NC, Panackal AA, Durkin MM, et al. Cryptococcal meningitis is a cause for cross-reactivity in cerebrospinal fluid assays for anti-histoplasma, anti-coccidioides and anti-blastomycosis antibodies. *Mycoses*. 2019;62(3):268-273. doi:10.1111/myc.12882
37. Almeida-Paes R, Pimenta MA, Pizzini CV, et al. Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. *Clin Vaccine Immunol*. 2007;14(3):244-249. doi:10.1128/cvi.00430-06
38. Assi M, Lakkis IE, Wheat LJ. Cross-reactivity in the histoplasma antigen enzyme immunoassay caused by sporotrichosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18(10):1781-1782. doi:10.1128/cvi.05017-11
39. Albuquerque PC, Cordero RJB, Fonseca FL, et al. A *Paracoccidioides brasiliensis* glycan shares serologic and functional properties with cryptococcal glucuronoxylomannan. *Fungal Genet Biol*. 2012;49(11):943-954. doi:10.1016/j.fgb.2012.09.002
40. Ishizaki H, Nakamura Y, Wheat RW. Serological cross-reactivity between *Sporothrix schenckii* and various unrelated fungi. *Mycopathologia*. 1981;73(2):65-68. doi:10.1007/bf00562591
41. Parreiras de Jesus AC, Grossi de Oliveira AL, Sernizon Guimarães N, et al. Serological tests using *Sporothrix* species antigens for the accurate diagnosis of sporotrichosis: a meta-analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;98(3):115131. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2020.115131

How to cite this article: Cognialli R, Bloss K, Weiss I, Caceres DH, Davis R, Queiroz-Telles F. A lateral flow assay for the immunodiagnosis of human cat-transmitted sporotrichosis. *Mycoses*. 2022;65:926-934. doi: [10.1111/myc.13516](https://doi.org/10.1111/myc.13516)

APPENDIX A

Criteria for definition of human sporotrichosis. Summary of the Brazilian ministry of health guidelines

Case definition	Epidemiological criteria	Clinical criteria	Laboratory criteria
Possible	History of trauma or contact with sick cats	Suggestive lesions	Absent
Probable	History of trauma or contact with sick cats	Suggestive lesions	Veterinarian diagnosis: A – Microbiologic proved diagnosis by the veterinarian or veterinarian laboratory B - Regional detection of feline cases from other sources: Zoonosis Control Centers, Mobile contacts to a reference centre, etc.
Proved	History of trauma or contact with sick cats	Suggestive lesions	Positive culture ^a and/or histopathology ^b
Discarded	History of trauma or contact with sick cats	Suggestive lesions	Microbiologic and/or histopathologic proved diagnosis of another disease. Negative culture for <i>Sporothrix</i> spp. ^c

Note: Font: Adapted from- Guide to Health Surveillance (BRAZIL, 2021) and QUEIROZ-TELLES et al., 2022.

^a Standard method.

^b Histopathology can be non-specific. The result must be analysed carefully and associated to clinical and epidemiology.

^c Only negative culture for *Sporothrix* spp. does not rule the diagnosis (limitation of the culture).

5 CONCLUSÕES

O levantamento epidemiológico de pacientes com esporotricose humana atendidos no CHC/UFPR na última década, permitiu uma melhor compreensão da doença no Estado do Paraná, mostrando que a doença continua em franca expansão e com aumento exponencial do número de casos. O estudo forneceu dados para a Secretaria de Saúde do Paraná, e dessa forma, contribuiu para a publicação da Resolução nº093/2022, a qual tornou a esporotricose humana e animal de notificação compulsória em território estadual. Além disso, foi prestado consultoria à Secretaria de Saúde para auxiliar na elaboração de Nota Técnica para implantação de ações de vigilância e controle da ETF no Estado do Paraná.

Os resultados do teste IMMY anti-*Sporothrix* LFA para detecção de anticorpos sugerem que o teste é promissor, sendo uma ferramenta útil no diagnóstico de ETF em amostras de soro humano, podendo ser utilizado para detecção qualitativa de anticorpos anti-*Sporothrix* spp. O teste IMMY anti-*Sporothrix* LFA, assim como outros testes rápidos, possuem diversos avanços, incluindo a simplicidade de execução do teste, resultados rápidos, baixo custo operacional e alta acurácia. Além disso, o teste não exige infraestrutura laboratorial complexa e equipe altamente treinada para execução, e os reagentes podem ser transportados e armazenados em temperatura ambiente. Dessa forma, o teste IMMY anti-*Sporothrix* LFA pode aumentar o nível de evidência de diagnóstico provável de ETF. O diagnóstico precoce de ETF reduz a morbimortalidade da doença, conseqüentemente o tempo de duração do tratamento e pode ter impacto no controle da doença.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A única forma efetiva de controle da esporotricose de transmissão felina é o conceito de Saúde Única, através da integração da saúde humana, animal e ambiental, através de ações coordenadas entre microbiologistas, médicos, veterinários, epidemiologistas e autoridades de vigilância, visto que somente assim é possível promover ações de controle da doença, através de educação, prevenção, detecção e tratamento dos casos humanos e animais (GREMIAO; OLIVEIRA; MONTEIRO DE MIRANDA; SARAIVA FREITAS *et al.*, 2020; ROSSOW; QUEIROZ-TELLES; CACERES; BEER *et al.*, 2020).

Como perspectivas futuras para o teste anti-*Sporothrix* LFA pretende-se otimizar o antígeno utilizado no teste, a fim de aumentar a sensibilidade e especificidade. Além disso, implementar a leitura do teste com a utilização de *CubeReader* para padronização da interpretação e redução da subjetividade interobservador. E por fim, realizar estudo multicêntrico para validação do teste para uso clínico-laboratorial.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Os kits para diagnóstico sorológico de esporotricose foram cedidos pela empresa IMMY, e demais materiais de consumo foram financiados com recursos próprios dos pesquisadores.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-PAES, R.; PIMENTA, M. A.; PIZZINI, C. V.; MONTEIRO, P. C. *et al.* Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. **Clin Vaccine Immunol**, 14, n. 3, p. 244-249, Mar 2007.
- ARENAS, R.; SANCHEZ-CARDENAS, C. D.; RAMIREZ-HOBAK, L.; RUIZ ARRIAGA, L. F. *et al.* Sporotrichosis: From KOH to Molecular Biology. **J Fungi (Basel)**, 4, n. 2, Mai 2018.
- ARINELLI, A.; ALEIXO, A.; FREITAS, D. F. S.; DO VALLE, A. C. F. *et al.* Ocular Sporotrichosis: 26 Cases with Bulbar Involvement in a Hyperendemic Area of Zoonotic Transmission. **Ocul Immunol Inflamm**, p. 1-8, Ago 14 2019.
- BARNACLE, J.; CHOW, Y.; BORMAN, A.; WYLLIE, S. *et al.* The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America. **Med Mycol Case Rep**, 39 2023.
- BARROS, M. B.; DE ALMEIDA PAES, R.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clin Microbiol Rev**, 24, n. 4, p. 633-654, Out 2011.
- BERNARDES-ENGEMANN, A.; OROFINO-COSTA, R.; MIGUENS, B.; PENHA, C. *et al.* Development of an enzyme-liked immunosorbent assay for the serodiagnosis of several clinical forms of sporotrichosis. **Med Mycol**, 43, p. 487-493, 10/01 2005.
- BLUMER, S.O.; KAUFMAN, L.; KAPLAN, W.; MCLAUGHLIN, D.W. *et al.* Comparative evaluation of five serological methods for the diagnosis of sporotrichosis. **Appl Microbiol**, 26, n. 1, 1973.
- BONGOMIN, F.; GAGO, S.; OLADELE, R. O.; DENNING, D. W. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. **J Fungi (Basel)**, 3, n. 4, Out 18 2017.
- BONIFAZ, A.; TIRADO-SÁNCHEZ, A. Cutaneous Disseminated and Extracutaneous Sporotrichosis: Current Status of a Complex Disease. **J Fungi (Basel)**, 3, n. 1, Fev 10 2017.
- BONIFAZ, A.; TIRADO-SÁNCHEZ, A.; PAREDES-SOLÍS, V.; CEPEDA-VALDÉS, R. *et al.* Cutaneous disseminated sporotrichosis: clinical experience of 24 cases. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, 32, n. 2, p. e77-e79, Fev 2018.
- BRANDOLT, T. M.; MADRID, I. M.; POESTER, V. R.; SANCHOTENE, K. O. *et al.* Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012–2017. **Med Mycol**, 57, n. 5, p. 527-533, 2018.
- BRANDOLT, T. M.; MADRID, I. M.; POESTER, V. R.; SANCHOTENE, K. O. *et al.* Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012-2017. **Med Mycol**, Set 2018.

BRASIL. PORTARIA Nº 264, DE 17 DE FEVEREIRO DE 2020.

BRISTOW, C. C.; SEVERE, L.; PAPE, J. W.; JAVANBAKHT, M. *et al.* Dual rapid lateral flow immunoassay fingerstick wholeblood testing for syphilis and HIV infections is acceptable and accurate, Port-au-Prince, Haiti. **BMC Infect Dis**, 16, p. 302, Jun 18 2016.

CASSERONE, S.; CONTI-DIAZ, I. A.; ZANETTA, E.; PENA DE PEREIRA, M. E. [Serology of cutaneous sporotrichosis]. **Sabouraudia**, 21, n. 4, p. 317-321, Dez 1983.

CHAKRABARTI, A.; BONIFAZ, A.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; MOCHIZUKI, T. *et al.* Global epidemiology of sporotrichosis. **Med Mycol**, 53, n. 1, p. 3-14, Jan 2015.

DE ALBORNOZ, M. B.; VILLANUEVA, E.; DE TORRES, E. D. Application of immunoprecipitation techniques to the diagnosis of cutaneous and extracutaneous forms of sporotrichosis. **Mycopathol**, 85, n. 3, p. 177-183, Abr 15 1984.

DE ALMEIDA, F.; SAMPAIO, S. A.; S, L. C.; C, F. J. [Statistical data on sporotrichosis; analysis of 344 cases]. **An Bras Derm Sifilogr**, 30, n. 1, p. 9-12, Mar 1955.

DE ANDRADE GALLIANO DAROS BASTOS, F.; RAIMUNDO COGNIALLI, R. C.; RODRIGUES DE FARIAS, M.; DOS SANTOS MONTI, F. *et al.* Spread of *Sporothrix* spp. through respiratory droplets from infected cats: A potential route of transmission. **Med Mycol**, 60, n. 11, Nov 12 2022.

DE OLIVEIRA, M. M.; DE ALMEIDA-PAES, R.; DE MEDEIROS MUNIZ, M.; DE LIMA BARROS, M. B. *et al.* Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio De Janeiro, Brazil: case report. **Mycopathol**, 169, n. 5, p. 359-363, Mai 2010.

DOOLEY, D. P.; BOSTIC, P. S.; BECKIUS, M. L. Spook house sporotrichosis. A point-source outbreak of sporotrichosis associated with hay bale props in a Halloween haunted-house. **Arch Intern Med**, 157, n. 16, p. 1885-1887, Set 8 1997.

DUANGKAEW, L.; YURAYART, C.; LIMSIVILAI, O.; CHEN, C. *et al.* Cutaneous sporotrichosis in a stray cat from Thailand. *In: Med Mycol Case Rep*. Netherlands, 2019. v. 23, p. 46-49.

DUARTE, G.; MANUEL, J.; ACOSTA, W.; RAÚL, V. *et al.* Esporotricosis transmitida por gato doméstico. Reporte de un caso familiar / Sporotrichosis transmitted by domestic cat. A family case report. **Rev. Nac. (Itauguá)**, 9, n. 2, p. 67-76, 2017.

ETCHECOPAZ, A. N.; LANZA, N.; TOSCANINI, M. A.; DEVOTO, T. B. *et al.* Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Argentina: Case report, molecular identification and in vitro susceptibility pattern to antifungal drugs. **J Mycol Med**, p. 100908, Out 15 2019.

FALCAO, E. M. M.; PIRES, M. C. S.; ANDRADE, H. B.; GONCALVES, M. L. C. *et al.* Zoonotic sporotrichosis with greater severity in Rio de Janeiro, Brazil: 118

hospitalizations and 11 deaths in the last 2 decades in a reference institution. **Med Mycol**, 58, n. 1, p. 141-143, Jan 2020.

FALCÃO, E. M. M.; FILHO, J. B. D. L.; CAMPOS, D. P.; VALLE, A. C. F. D. *et al.* Hospitalizações e óbitos relacionados à esporotricose no Brasil (1992-2015). **Cad. Saúde Pública**, 35, n. 4, 2019.

FEENEY, K. T.; ARTHUR, I. H.; WHITTLE, A. J.; ALTMAN, S. A. *et al.* Outbreak of sporotrichosis, Western Australia. **Emerg Infect Dis**, 13, n. 8, p. 1228-1231, Ago 2007.

FERREIRA, T. A.; SODRE, C. T.; COSTA, J. M.; SETTA, C. R. P. *et al.* Primary conjunctival sporotrichosis: An atypical presentation of the disease. *In: JAAD Case Rep*. United States, v. 4, p. 497-499, 2018.

GARCIA, B. M.; BOND, A. R.; BARRY, A. K.; STEEN, A. J. *et al.* Disseminated-cutaneous sporotrichosis in an immunocompetent adult. *In: JAAD Case Rep*, v. 11, p. 102-104, 2021.

GREMIAO, I. D.; MIRANDA, L. H.; REIS, E. G.; RODRIGUES, A. M. *et al.* Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathog**, 13, n. 1, p. e1006077, Jan 2017.

GREMIAO, I. D. F.; OLIVEIRA, M. M. E.; MONTEIRO DE MIRANDA, L. H.; SARAIVA FREITAS, D. F. *et al.* Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerg Infect Dis**, 26, n. 3, p. 621-624, Mar 2020.

GUARRO, J.; GENEJ; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clin Microbiol Rev**, 12, n. 3, p. 454-500, Jul 1999.

GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; FREITAS, D. F. S.; DO VALLE, A. C. F.; ALMEIDA-PAES, R. *et al.* Epidemiological Aspects of Sporotrichosis Epidemic in Brazil. **Cur Fungal Infect Rep**, 9, n. 4, p. 238-245, Dez 2015.

GWYN, S.; MITCHELL, A.; DEAN, D.; MKOCHA, H. *et al.* Lateral flow-based antibody testing for *Chlamydia trachomatis*. **J Immunol Methods**, 435, p. 27-31, Ago 2016.

HAY, R.; DENNING, D. W.; BONIFAZ, A.; QUEIROZ-TELLES, F. *et al.* The Diagnosis of Fungal Neglected Tropical Diseases (Fungal NTDs) and the Role of Investigation and Laboratory Tests: An Expert Consensus Report. **Trop Med Infect Dis**, 4, n. 4, Set 2019.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*: a new pathogenic fungus. **J Exp Med**, 5, p. 77-89, 1900.

HELM, M.; BERMAN, C. The clinical, therapeutic and epidemiological features of the sporotrichosis infection on the mines. *In: Proceedings of the Transvaal Mine Medical Officers' Association. Sporotrichosis Infection on Mines of the Witwatersrand. Johannesburg: The Transvaal Chamber of Mines.*, p. 59-67, 1947.

HOU, T. Y.; CHIANG-NI, C.; TENG, S. H. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. **J Food Drug Anal**, 27, n. 2, p. 404-414, Abr 2019.

HUANG, H. R.; FAN, L. C.; RAJBANSHI, B.; XU, J. F. Evaluation of a new cryptococcal antigen lateral flow immunoassay in serum, cerebrospinal fluid and urine for the diagnosis of cryptococcosis: a meta-analysis and systematic review. **PLoS One**, 10, n. 5, p. e0127117, 2015.

KOCZULA, K. M.; GALLOTTA, A. Lateral flow assays. **Essays Biochem**, 60, n. 1, p. 111-120, Jun 2016.

KOSTRZEWA, M. Application of the MALDI Biotyper to clinical microbiology: progress and potential. **Expert Rev Proteomics**, 15, n. 3, p. 193-202, Mar 2018.

LACAZ, C. D. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M. *et al.* **Tratado de Micologia Médica Lacaz**. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LACERDA FILHO, A. M.; CAVALCANTE, C. M.; DA SILVA, A. B.; INACIO, C. P. *et al.* High-Virulence Cat-Transmitted Ocular Sporotrichosis. **Mycopathol**, 184, n. 4, p. 547-549, Ago 2019.

LUTZ, A; SPLENDORE, A. Sobre uma mycose observada em homens e ratos. **Rev Med S Paulo**, 21, p. 433-450, 1907.

LV, S.; WU, H. F.; WANG, B.; ZHANG, M. R. *et al.* Sensitivities of periodic acid-Schiff staining, Grocott's silver staining and calcofluor white staining in the diagnosis of human sporotrichosis. **Int J Clin Exp Pathol**, 12, n. 9, p. 3459-3464, 2019.

MARIMON, R.; CANO, J.; GENE, J.; SUTTON, D. A. *et al.* *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **J Clin Microbiol**, 45, n. 10, p. 3198-3206, Out 2007.

MATOS, A.; MOREIRA, L.; BARCZEWSKI, B. F.; MATOS, L. *et al.* Identification by MALDI-TOF MS of *Sporothrix brasiliensis* Isolated from a Subconjunctival Infiltrative Lesion in an Immunocompetent Patient. **Microor**, 8, n. 1, Dez 2019.

MAYORGA, R.; CACERES, A.; TORIELLO, C.; GUTIERREZ, G. *et al.* [An endemic area of sporotrichosis in Guatemala]. **Sabouraudia**, 16, n. 3, p. 185-198, Set 1978.

MIALSKI, R.; DE ALMEIDA, J. N., JR.; DA SILVA, L. H.; KONO, A. *et al.* Chronic Meningitis and Hydrocephalus due to *Sporothrix brasiliensis* in Immunocompetent Adults: A Challenging Entity. **Open Forum Infect Dis**, 5, n. 5, Mai 2018.

MORA-MONTES, H. M. Special Issue "*Sporothrix* and Sporotrichosis". **J Fungi (Basel)**, 4, n. 4, Out 2018.

MUNHOZ, L. S.; POESTER, V. R.; SEVERO, C. B.; TRÁPAGA, M. R. *et al.* Update of the Epidemiology of the Sporotrichosis Epidemic in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Mycoses**, 65, n. 12, p. 1112-1118, Dez 2022.

OLIVEIRA, M. M.; SANTOS, C.; SAMPAIO, P.; ROMEO, O. *et al.* Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. **Res Microbiol**, 166, n. 2, p. 102-110, Fev-Mar 2015.

OROFINO-COSTA, R.; MACEDO, P. M.; RODRIGUES, A. M.; BERNARDES-ENGEMANN, A. R. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **An Bras Dermatol**, 92, n. 5, p. 606-620, Set-Out 2017.

PATEL, R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. **Clin Chem**, 61, n. 1, p. 100-111, Jan 2015.

PEREIRA, S. A.; GREMIAO, I. D.; KITADA, A. A.; BOECHAT, J. S. *et al.* The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 47, n. 3, p. 392-393, Mai-Jun 2014.

POESTER, V. R.; MATTEI, A. S.; MADRID, I. M.; PEREIRA, J. T. B. *et al.* Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic? **Zoo Public Health**, 65, n. 7, p. 815-821, Nov 2018.

POESTER, V.R.; BASSO, R.P.; STEVENS, D.A.; MUNHOZ, L.S. *et al.* Treatment of human sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **J Fungi (Basel)**, 8, n.1, 2022.

QUEIROZ-TELLES, F.; BONIFAZ, A.; COGNIALLI, R.; LUSTOSA, B. P. R. *et al.* Sporotrichosis in Children: Case series and Narrative Review. **Curr Fungal Infec Rep**, 2022.

QUEIROZ-TELLES, F.; BONIFAZ, A.; ROSSOW, J.; CHINDAMPORN, A. *Sporothrix* and Sporotrichosis. Encyclopedia of Infection and Immunity. 2021.

QUEIROZ-TELLES, F.; BUCCHERI, R.; BENARD, G. Sporotrichosis In Immunocompromised Hosts. **J Fungi (Basel)**, 5, n. 1, Jan 2019.

QUEIROZ-TELLES, F.; COGNIALLI, R. C.; SALVADOR, G. L.; MOREIRA, G. A. *et al.* Cutaneous disseminated sporotrichosis in immunocompetent patient: Case report and literature review. *In: Med Mycol Case Rep.*, v. 36, p. 31-34, 2022.

QUEIROZ-TELLES, F.; FAHAL, A. H.; FALCI, D. R.; CACERES, D. H. *et al.* Neglected endemic mycoses. **Lancet Infect Dis**, 17, n. 11, Nov 2017.

RACHMAN, R.; LIGAJ, M.; CHINTHAPALLI, S.; SERAFINO WANI, R. Zoonotic acquisition of cutaneous *Sporothrix brasiliensis* infection in the UK. **BMJ Case Rep**, 15, n. 5, 2022.

RAMIREZ SOTO, M. C. Sporotrichosis: The Story of an Endemic Region in Peru over 28 Years (1985 to 2012). **PLoS One**, 10, n. 6, 2015.

RIOS, M. E.; SUAREZ, J. M.; MORENO, J.; VALLEE, J. *et al.* Zoonotic Sporotrichosis Related to Cat Contact: First Case Report from Panama in Central America. **Cureus**, 10, n. 7, Jul 1 2018.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. **PLoS Negl Trop Dis**, 9, n. 12, Dez 2015.

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 Pathog**, 12, n. 7, Jul 2016.

RODRIGUES, A. M.; DE MELO TEIXEIRA, M.; DE HOOG, G. S.; SCHUBACH, T. M. *et al.* Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. **PLoS Negl Trop Dis**, 7, n. 6, 2013.

RODRIGUES, A. M.; DELLA TERRA, P. P.; GREMIÃO, I. D.; PEREIRA, S. A. *et al.* The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathol**, Out 2020.

RODRIGUES, A. M.; GONÇALVES, S. S.; DE CARVALHO, J. A.; BORBA-SANTOS, L. P. *et al.* Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. **J Fungi (Basel)**, 8, n. 8, Jul 2022.

ROSSOW, J. A.; QUEIROZ-TELLES, F.; CACERES, D. H.; BEER, K. D. *et al.* A One Health Approach to Combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America. **J Fungi**, 6, n. 4, p. 247, 2020.

SANCHOTENE, K. O.; MADRID, I. M.; KLAFKE, G. A. B.; BERGAMASHI, M. *et al.* *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. **Mycoses**, 58, p. 652-658, 2015.

SBMT. **Esporotricose: número de casos deve aumentar e há risco de surto no País, alerta infectologista.** 2020. Disponível em: <https://www.sbmt.org.br/portal/sporotrichosis-number-of-cases-should-increase-and-there-is-risk-of-an-outbreak-in-the-country-warns-infectologist/>. Acesso em: 02/17.

SCHENCK, B. On refractory subcutaneous abscess caused by a fungus possibly related to the Sporotricha. **Bull Johns Hopkins Hosp**, p. 286-290, 1898.

SESA. Secretaria de Saúde. Governo do Paraná. Resolução SESA nº093/2022. Define a Esporotricose Humana e Animal como doenças de interesse estadual e de notificação compulsória nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território estadual. 2022.

SILVA, M. R.; VASCONCELOS, C.; CARNEIRO, S.; CESTARI, T. Sporotrichosis. **Clin Dermatol**, 25, n. 2, p. 181-187, 2007.

SONG, Y.; LI, S. S.; ZHONG, S. X.; LIU, Y. Y. *et al.* Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, 27, n. 3, p. 313-318, Mar 2013.

VAZ, V. S. D. O. **Análise clínica e epidemiológica dos casos de esporotricose de transmissão felina atendidos no Complexo Hospital de Clínicas - UFPR.** 2020. 21 f. -, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

WELKER, M.; VAN BELKUM, A.; GIRARD, V.; CHARRIER, J. P. *et al.* An update on the routine application of MALDI-TOF MS in clinical microbiology. **Expert Rev Proteomics**, 16, n. 8, p. 695-710, Ago 2019.

YAO, L.; SONG, Y.; ZHOU, J. F.; CUI, Y. *et al.* Epidemiological and clinical comparisons of paediatric and adult sporotrichosis in Jilin Province, China. **Mycoses**, Dez 2019.

ZHANG, M.; LI, F.; LI, R.; GONG, J. *et al.* Fast diagnosis of sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa*, *Sporothrix schenckii*, and *Sporothrix brasiliensis* based on multiplex real-time PCR. **PLoS Negl Trop Dis**, 13, n. 2, Fev 2019.

ZHOU, X.; RODRIGUES, A. M.; FENG, P.; DE HOOG, G. S. Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. **Fungal Diver**, Jan 2013.

ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO DE PACIENTES COM MICOSE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Regielly Caroline Raimundo Cognialli, aluna de pós-graduação da Universidade Federal do Paraná, juntamente com o Prof. Dr. Flávio de Queiroz-Telles Filho (médico infectologista do Complexo Hospital de Clínicas e pesquisador responsável pelo trabalho), a Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss (professora de micologia da Universidade Federal do Paraná) convidamos o(a) Senhor(a) a participar do estudo intitulado *“Avaliação da Sensibilidade e Especificidade de um Método Sorológico no diagnóstico da Esporotricose e realização de um Levantamento Epidemiológico da doença”*, que se justifica em validar um meio de diagnóstico rápido e preciso da doença bem como levantar dados e realizar a comparação sobre evolução da doença e as manifestações clínicas em diferentes pacientes.

- O objetivo dessa pesquisa é analisar os aspectos epidemiológicos e diagnósticos dos pacientes com Esporotricose atendidos no CHC- UFPR no período de 2000-2024 e avaliar a possibilidade do uso de um teste rápido para o diagnóstico da doença para que a mesma seja diagnosticada e tratada o mais rápido possível.
- Caso o(a) Sr(a) participe da pesquisa, sua amostra será condicionada no grupo Teste, sendo positivo para Esporotricose ou outras micoses sistêmicas. O material, quando disponível, poderá ser resgatado dos exames de rotina solicitados pelo médico. Caso contrário será necessária à coleta de sangue a qual será realizada no Setor de Coleta de Materiais Biológicos situada na Rua Padre Camargo, 290 Alto da Glória – Curitiba, Pr.
- Não existe nenhum risco grave relacionado a participação, o máximo é que o(a) Senhor(a) experimente algum desconforto, relacionado à coleta de sangue e/ou ocorra quebra do sigilo de sua identidade, porém os pesquisadores tomaram providências para evitar esse risco.
- Os benefícios esperados com essa pesquisa é a validação de uma forma de diagnóstico rápido da doença bem como uma forma alternativa de acompanhamento do tratamento.
- O pesquisador responsável por este estudo, Prof. Dr. Flávio de Queiroz-Telles Filho, poderá ser localizado na Rua General Carneiro nº181 no SAM 1 as terças-feiras no período das 08:00 às 10:00hrs ou ainda pelo e-mail

queiroz.telles@uol.com.br; a pesquisadora a Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss poderá ser contatada pelo email izabellars@gmail.com; e a pesquisadora Msc. Regielly Caroline Raimundo Cognialli poderá ser contatada pelo e-mail regielly.cognialli@gmail.com; rua Padre Camargo, nº 280 - Alto da Glória, Curitiba, setor de micologia; ou pelo telefone 41 3360-7834, no horário comercial (07:00hrs – 14:00hrs) para esclarecer eventuais dúvidas que o(a) senhor(a) possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

- Se o(a) Senhor(a) tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, poderá contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/HC/UPFR pelo Telefone 3360-1041 das 08:00 horas as 14:00 horas de segunda a sexta-feira. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.
- A sua participação neste estudo é voluntária e se o(a) senhor(a) não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado.
- As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas como o médico Infectologista Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho, pela Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss ou ainda pela Msc. Regielly Caroline Raimundo Cognialli, farmacêutica-bioquímica do CHC-UFPR. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a sua identidade seja preservada e mantida sua confidencialidade.
- A amostra biológica obtida será utilizada unicamente para essa pesquisa e será descartada ao término do estudo, dentro de 4 anos.
- As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e o(a) senhor(a) não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação.
- Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, _____, li esse
Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo

Nome completo, legível do Participante e/ou Responsável Legal

Assinatura do Participante e/ou Responsável Legal

Nome completo do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

Assinatura do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

(SOMENTE PARA O RESPONSÁVEL DO PROJETO)

Declaro que obtive, de forma apropriada e voluntária, o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante ou seu representante legal para a participação neste estudo.

Nome completo do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

Assinatura do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

Curitiba, ____ de _____ de 202_.

ANEXO2 – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: *“Avaliação da Sensibilidade e Especificidade de um Método Sorológico no diagnóstico da Esporotricose e realização de um Levantamento Epidemiológico da doença”*

Investigador: Flávio de Queiroz-Telles Filho

Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss

Regielly Caroline Raimundo Cognialli

Local da Pesquisa: Unidade de Laboratórios e Análises Clínicas do Complexo Hospital de Clínicas – Setor de Micologia

Endereço: Rua Padre Camargo, 280, Alto da Glória – Curitiba, Paraná

O que significa assentimento?

O assentimento significa que você concorda em fazer parte de um grupo de adolescentes, da sua faixa de idade, para participar de uma pesquisa. Serão respeitados seus direitos e você receberá todas as informações por mais simples que possam parecer. Pode ser que este documento denominado TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO contenha palavras que você não entenda. Por favor, peça ao responsável pela pesquisa ou à equipe do estudo para explicar qualquer palavra ou informação que você não entenda claramente.

Informação ao Participante:

Pesquisa é o conjunto de atividades que têm por finalidade a descoberta de novos conhecimentos no domínio científico. Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa, com o objetivo de analisar o perfil característico da esporotricose em pacientes do CHC-UFPR no período de 2000-2024 e avaliar a possibilidade do uso de um teste rápido para o diagnóstico da doença para que a mesma seja diagnosticada e tratada o mais rápido possível. A pesquisa é importante uma vez que será feita a validação de uma forma de diagnóstico rápido da doença bem como uma forma alternativa de acompanhamento do tratamento. Ela será composta por duas fases: a primeira fase é constituída pela análise de prontuários dos quais serão coletadas informações como faixa etária dos pacientes acometidos, gênero, o tipo de manifestação clínica, o método de diagnóstico utilizado, a ocupação profissional, o tratamento utilizado, o período de tratamento, forma de contágio e outras que sejam

julgadas relevantes ao decorrer do estudo. A segunda fase é a de avaliar um novo método de diagnosticar a esporotricose e ver o quanto ele é confiável para confirmação da doença no paciente, o qual funciona do modo que irá pesquisar se no sangue do paciente está presente o fungo, caso esteja presente ele irá se “grudar” com partículas de látex e ficará visível sendo um resultado positivo. Caso o fungo não esteja presente no sangue, não irá formar “bolinhas” sendo então um exame negativo. O teste de imunocromatografia será uma maneira rápida de diagnóstico, uma vez que o padrão ouro para o mesmo é a cultura de biópsia ou aspirado da secreção das lesões. Como a esporotricose pode ser facilmente confundida com outras doenças, com o teste rápido poderá ser feito o diagnóstico na fase inicial da doença descartando ou confirmando a hipótese de esporotricose, adiantando o tratamento tendo uma recuperação rápida e fácil. Não existe nenhum risco grave relacionado a participação, o máximo é que você experimente algum desconforto, relacionado à coleta de sangue e/ou ocorra quebra do sigilo de sua identidade, porém os pesquisadores tomaram providências para evitar esse risco. Caso você aceite participar, será realizada uma coleta de sangue que leva menos de 5 minutos sendo necessária apenas uma coleta. A sua participação é voluntária. Caso você opte por não participar não terá nenhum prejuízo no seu atendimento e/ou tratamento.

O pesquisador responsável por este estudo, Prof. Dr. Flávio de Queiroz-Telles Filho, poderá ser localizado na Rua General Carneiro nº181 no SAM 1 as terças-feiras no período das 08:00 às 10:00hrs ou ainda pelo email queiroz.telles@uol.com.br; a pesquisadora a Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss poderá ser contatada pelo email izabellars@gmail.com; e a pesquisadora Msc. Regielly Caroline Raimundo Cognialli poderá ser contatada pelo email regielly.cognialli@gmail.com; rua Padre Camargo, nº 280 - Alto da Glória, Curitiba, setor de micologia; ou pelo telefone 41 3360-7834, no horário comercial (07:00hrs – 14:00hrs) para esclarecer eventuais dúvidas que o(a) senhor(a) possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, poderá contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/HC/UPFR pelo Telefone 3360-1041 das 08:00 horas as 14:00 horas de segunda a sexta-feira. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

DECLARAÇÃO DE ASSENTIMENTO DO PARTICIPANTE:

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que posso interromper a minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito.

Eu entendi a informação apresentada neste TERMO DE ASSENTIMENTO. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu receberei uma via original assinada, rubricada e datada deste Documento de ASSENTIMENTO INFORMADO.

Nome por extenso, legível do Participante menor de idade

Assinatura do Participante menor de idade

Nome por extenso do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

Assinatura do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

Curitiba ____ de _____ de 20____.

ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO DE CONTROLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Regielly Caroline Raimundo Cognialli, aluna de pós-graduação da Universidade Federal do Paraná, juntamente com o Prof. Dr. Flávio de Queiroz-Telles Filho (médico infectologista do Complexo Hospital de Clínicas e pesquisador responsável pelo trabalho), a Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss (professora de micologia da Universidade Federal do Paraná) convidamos o(a) Senhor(a) a participar do estudo intitulado *“Avaliação da Sensibilidade e Especificidade de um Método Sorológico no diagnóstico da Esporotricose e realização de um Levantamento Epidemiológico da doença”*, que se justifica em validar um meio de diagnóstico rápido e preciso da doença bem como levantar dados e realizar a comparação sobre evolução da doença e as manifestações clínicas em diferentes pacientes.

- O objetivo dessa pesquisa é analisar os aspectos epidemiológicos e diagnósticos dos pacientes com Esporotricose atendidos no CHC- UFPR no período de 2000-2024 e avaliar a possibilidade do uso de um teste rápido para o diagnóstico da doença para que a mesma seja diagnosticada e tratada o mais rápido possível.
- Caso o(a) Sr(a) participe da pesquisa, sua amostra será condicionada ao grupo Controle, ou seja, veremos se o teste dará negativo uma vez que sua condição é não portador de Esporotricose ou outras micoses sistêmicas. Para isso será necessária à coleta de sangue a qual será realizada no Setor de Coleta de Materiais Biológicos situada na Rua Padre Camargo, 290 Alto da Glória – Curitiba, Pr .
- Não existe nenhum risco grave relacionado a participação, o máximo é que o(a) Senhor(a) experimente algum desconforto, relacionado à coleta de sangue e/ou ocorra quebra do sigilo de sua identidade, porém os pesquisadores tomaram providências para evitar esse risco.
- Os benefícios esperados com essa pesquisa é a validação de uma forma de diagnóstico rápido da doença bem como uma forma alternativa de acompanhamento do tratamento.
- O pesquisador responsável por este estudo, Prof. Dr. Flávio de Queiroz-Telles Filho, poderá ser localizado na Rua General Carneiro nº181 no SAM 1 as

terças-feiras no período das 08:00 às 10:00hrs ou ainda pelo e-mail queiroz.telles@uol.com.br; a pesquisadora a Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss poderá ser contatada pelo email izabellars@gmail.com; e a pesquisadora Msc. Regielly Caroline Raimundo Cognialli poderá ser contatada pelo e-mail regielly.cognialli@gmail.com; rua Padre Camargo, nº 280 - Alto da Glória, Curitiba, setor de micologia; ou pelo telefone 41 3360-7834, no horário comercial (07:00hrs – 14:00hrs) para esclarecer eventuais dúvidas que o(a) senhor(a) possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

- Se o(a) Senhor(a) tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, poderá contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – CEP/HC/UPFR pelo Telefone 3360-1041 das 08:00 horas as 14:00 horas de segunda a sexta-feira. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.
- A sua participação neste estudo é voluntária e se o(a) senhor(a) não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado.
- As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas como o médico Infectologista Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho, pela Profa. Dra. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss ou ainda pela Msc. Regielly Caroline Raimundo Cognialli, farmacêutica-bioquímica do CHC-UFPR. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a sua identidade seja preservada e mantida sua confidencialidade.
- A amostra biológica obtida será utilizada unicamente para essa pesquisa e será descartada ao término do estudo, dentro de 4 anos.
- As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e o(a) senhor(a) não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação.
- Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu,

_____ li esse
 Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual
 concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu
 entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem
 justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo

 Nome completo, legível do Participante e/ou Responsável Legal

 Assinatura do Participante e/ou Responsável Legal

 Nome completo do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

 Assinatura do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

(SOMENTE PARA O RESPONSÁVEL DO PROJETO)

Declaro que obtive, de forma apropriada e voluntária, o Consentimento Livre e Esclarecido
 deste participante ou seu representante legal para a participação neste estudo.

 Nome completo do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

 Assinatura do Pesquisador e/ou quem aplicou o TCLE

Curitiba, ____ de _____ de 202_.