



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO

**ESPOROTRICOSE HUMANA NA PARAÍBA: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA-  
EPIDEMIOLÓGICA, IDENTIFICAÇÃO GENÔMICA E SENSIBILIDADE DE  
ISOLADOS DO CLADO PATOGENICO *Sporothrix***

RECIFE

2022

FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO

**ESPOROTRICOSE HUMANA NA PARAÍBA: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA-  
EPIDEMIOLÓGICA, IDENTIFICAÇÃO GENÔMICA E SENSIBILIDADE DE  
ISOLADOS DO CLADO PATOGÊNICO *Sporothrix***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina Tropical.  
Área de concentração: Medicina Tropical

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vera Magalhães

Recife

2022

Catálogo na fonte:  
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

S586e Silva Neto, Francisco Bernardino da  
Esporotricose humana na paraíba: caracterização clínica-epidemiológica, identificação genômica e sensibilidade de isolados do clado patogênico *Sporothrix* / Francisco Bernardino da Silva Neto. - 2022. 167 p.

Orientador: Reginaldo Gonçalves de Lima Neto.  
Coorientadora: Vera Magalhães da Silveira.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Médicas. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Recife, 2022.  
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Esporotricose. 2. Sporothrix. 3. Zoonose. 4. Nordeste brasileiro. I. Lima Neto, Reginaldo Gonçalves de (Orientador). II. Silveira, Vera Magalhães da (Coorientadora). III. Título.

610 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2023-130)

FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO

**ESPOROTRICOSE HUMANA NA PARAÍBA: CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA-  
EPIDEMIOLÓGICA, IDENTIFICAÇÃO GENÔMICA E SENSIBILIDADE DE  
ISOLADOS DO CLADO PATOGÊNICO *Sporothrix***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Medicina Tropical.  
Área de concentração: Medicina Tropical.

Aprovado em: 31/08/2022.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup> Reginaldo Gonçalves de Lima Neto (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Heloísa Ramos Lacerda de Melo (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Felipe Queiroga Sarmiento Guerra (Examinador Externo)

Universidade Federal da Paraíba

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Joanne Elizabeth Ferraz da Costa (Examinadora Externa)

Universidade Federal da Paraíba

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Manoel Marques Evangelista Oliveira (Examinador Externo)

Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro

*Dedico,*

*À minha esposa, Shizue pelo amor e dedicação à nossa família.*

*Aos meus amados filhos Miguel, Gabriel e Helena que alegram e dão sentido à minha vida.*

*Aos meus pais que sempre apoiaram meus estudos.*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos pacientes que diante de um agravo novo e desconhecido confiaram no meu trabalho e aceitaram participar deste estudo.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto a quem serei sempre grato por ter me recebido como orientando e por todo apoio na construção deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Vera Magalhães por sua sabedoria e dedicação à ciência e por sua assertividade nas decisões tomadas, fundamental para que eu chegasse até aqui.

À Camila de Lima Gadelha, aluna e orientanda da Graduação em Medicina da UFPB, hoje médica, quem primeiro me apresentou a esporotricose.

À Dra. Neuza Oliveira, Micologista competente, dedicada e incentivadora cujo trabalho foi essencial na coleta dos exames micológicos.

Ao Prof. Dr. Felipe Queiroga Sarmiento Guerra grande incentivador e fundamental para chegarmos aos resultados deste trabalho.

A todos que fazem parte da estrutura laboratorial da UFPE envolvidos na execução dos exames micológicos e na análise genômica dos nossos isolados.

Aos médicos infectologistas do HULW e às docentes da disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias/UFPB pela compreensão e apoio mesmo quando mudamos rotinas para o melhor atendimento aos pacientes com esporotricose.

Aos médicos residentes em Infectologia pelo apoio na coleta dos dados e por terem sido incansáveis no atendimento aos pacientes.

Aos Professores da Pós-Graduação em Medicina Tropical, pelo conhecimento compartilhado.

À minha esposa, Shizue, meu amor para sempre.

“A ciência não é uma escolha. É uma necessidade.” (GLEISER, 2020, n. p.)

## RESUMO

A esporotricose é uma micose subcutânea, causada por fungos do clado patogênico *Sporothrix*, de curso subagudo ou crônico, distribuída em todo o mundo, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, e que no Brasil tem apresentado intensa expansão geográfica ao passo que a transmissão zoonótica se consolidou como a principal rota responsável por surtos nas áreas endêmicas. O trabalho tem como objetivo descrever as características sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas dos casos de esporotricose humana na Paraíba, Nordeste do Brasil, diagnosticados no período de janeiro à dezembro de 2018, identificar genotipicamente as espécies e determinar a sensibilidade *in vitro* aos principais antifúngicos disponíveis para o tratamento. Trata-se de um estudo prospectivo descritivo que incluiu 148 pacientes com esporotricose atendidos no ambulatório de referência em doenças infecciosas e parasitárias de um hospital universitário do nordeste brasileiro. A maioria dos pacientes era do sexo feminino (59,4%). A idade dos pacientes variou de 1 a 85 anos. Declararam renda *per capita* de até um salário-mínimo 46 (31,1%) pacientes, com 135 (91,2%) relatando algum grau de escolaridade. Eram procedentes da capital do estado, João Pessoa, 113 (76,3%) pacientes. Relataram contato no domicílio com gatos doentes 110 (74,3%) pacientes. Metade desses relataram um contato não traumático com o felino. Foi relatado o contato domiciliar com cães por quatro (2,7%) dos pacientes. A forma linfocutânea representou 69,6% dos pacientes, a cutânea fixa 23,6% e oito (5,4%) pacientes apresentaram comprometimento ocular. Manifestações de hipersensibilidade aconteceram apenas em 2,7% dos pacientes. Itraconazol foi prescrito para 90,5% dos pacientes. *Sporothrix brasiliensis* foi a espécie identificada em todos os 17 isolados submetidos à caracterização genética através do sequenciamento parcial do gene da calmodulina. Os testes de sensibilidade antifúngica demonstraram excelente eficácia *in vitro* do itraconazol e terbinafina, com apenas três isolados resistentes ao itraconazol e nenhum a terbinafina. A esporotricose humana na Paraíba apresenta-se com uma concentração dos casos na capital do estado, tem caráter zoonótico, pela transmissão felino-homem, afetando mais mulheres. Há um predomínio da forma linfocutânea, mas formas extra cutâneas como a ocular devem ser lembradas no contexto atual da esporotricose no estado, o qual se tornou endêmico. A identificação de *S. brasiliensis* em todos os isolados

avaliados pode justificar a transmissão não traumática da esporotricose em percentual semelhante à transmissão traumática por mordedura e/ou arranhadura. A excelente atividade antifúngica *in vitro* do itraconazol permite mantê-lo como primeira escolha no tratamento da esporotricose.

**Palavras-chave:** esporotricose; *Sporothrix*; zoonose; nordeste brasileiro.

.

## ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis, caused by fungi of the pathogenic clade *Sporothrix*, with a subacute or chronic course, distributed all over the world, especially in tropical and subtropical regions, and which in Brazil has shown intense geographic expansion while zoonotic transmission has spread, consolidated as the main route responsible for outbreaks in endemic areas. The objective of this work is to describe the sociodemographic, clinical and epidemiological characteristics of human sporotrichosis cases in Paraíba, Northeast Brazil, diagnosed from January to December 2018, genotypically identify the species and determine the *in vitro* sensitivity to the main antifungals available for the treatment. This is a descriptive prospective study that included 148 patients with sporotrichosis attended at the referral outpatient clinic for infectious and parasitic diseases of a university hospital in northeastern Brazil. Most patients were female (59.4%). The age of the patients ranged from 1 to 85 years. 46 (31.1%) patients declared a per capita income of up to one minimum wage, with 135 (91.2%) reporting some level of education. 113 (76.3%) patients came from the state capital, João Pessoa. One hundred and ten (74.3%) patients reported home contact with sick cats. Half of those reported non-traumatic contact with the feline. Home contact with dogs was reported by four (2.7%) patients. The lymphocutaneous form represented 69.6% of the patients, the fixed cutaneous form 23.6% and eight (5.4%) patients had ocular involvement. Manifestations of hypersensitivity occurred in only 2.7%. Itraconazole was prescribed to 90.5% of patients. *Sporothrix brasiliensis* was the species identified in all 17 isolates submitted to genetic characterization through partial sequencing of the calmodulin gene. Antifungal sensitivity tests demonstrated excellent *in vitro* efficacy of itraconazole and terbinafine, with only three isolates resistant to itraconazole and none to terbinafine. Human sporotrichosis in Paraíba presents a concentration of cases in the state capital, it has a zoonotic character, by feline-man transmission, affecting more women. There is a predominance of the lymphocutaneous form, but extracutaneous forms such as the ocular must be remembered in the current context of sporotrichosis in the state, which has become endemic. The identification of *S. brasiliensis* in all isolates evaluated may justify the non-traumatic transmission of sporotrichosis in a percentage similar to the traumatic transmission by biting and/or scratching. The excellent *in vitro* antifungal

activity of itraconazole allows it to remain the first choice in the treatment of sporotrichosis.

**Keywords:** sporotrichosis; *Sporothrix*; zoonosis; brazilian northeast.

## LISTA DE FIGURAS

### Artigo 1

- Figura 1 - Paciente imunocompetente com esporotricose ocular como síndrome oculoglandular de Parinaud transmitida por mordida de cão. Lesão ulcerada na pele do antebraço esquerdo no local da mordida (1A). Edema periorbitário à direita (1B). Lesão granulomatosa na pálpebra inferior do olho direito (1C). Fotomicrografia de *Sporothrix brasiliensis* isolado de secreção ocular e corado com lactofenol azul algodão (1D; ampliação 400x) ..... 53

### Artigo 1

- Figura 2 - Árvore filogenética mostrando a relação do isolado clínico 15PB com outras espécies de *Sporothrix* sp. O método estatístico de máxima verossimilhança, que expressa percentualmente a similaridade do isolado clínico com demais cepas, foi obtido através da análise de Bootstrap, replicada 1.000x, e mostrada nos ramos. Havia 214 posições no conjunto de dados final. A barra de escala indica substituições de nucleotídeos por sítio ..... 54

### Artigo 2

- Figura 1 - Lesões ulceradas na mão esquerda acompanhadas de (B) nódulos no antebraço esquerdo; (C) Lesão na conjuntiva tarsal e (D) na pálpebra superior do olho direito; (E) nódulos linfáticos dolorosos à esquerda e (F) linfadenopatia submandibular do mesmo lado; (G) olhos lacrimejantes e lesões nodulares no olho esquerdo; (H e I) lesão granulomatosa em pálpebra inferior do olho direito; (J) micromorfologia da colônia cultivada em ágar batata dextrose por 15 dias a 25°C mostrando filamentos miceliais septados, conidióforos delicados e conídios dispostos simpodialmente com arranjos florais (lactofenol azul de algodão 1.000x) ..... 64

### Artigo 3

- Figura 1 - (A) lesão ulcerada de bordos elevados sobre o punho esquerdo com comprometimento linfático ascendente (B e C) lesões nodulares em face com comprometimento linfático descendente (D) lesão ulcerada

extensa em região intercostal direita e nódulos ao longo da cadeia linfática da parede lateral do tronco (E) lesão nodular em pálpebra superior do olho esquerdo (F e G) lesão nodular única no 5º quirodáctilo direito e placa extensa eritematosa com nódulos compatível com eritema nodoso (H) micromorfologia da colônia cultivada em ágar batata dextrose por 15 dias a 25°C mostrando filamentos miceliais septados, conidióforos delicados e conídios dispostos simpodialmente com arranjos florais (lactofenol azul de algodão 1.000x) ..... 83

Artigo 3

Figura 2 - Árvore filogenética mostrando a relação de 17 isolados clínicos PB com outras espécies de *Sporothrix* sp. O método estatístico de máxima verossimilhança, que expressa percentualmente a similaridade dos isolados clínicos com as demais cepas, foi obtido através da análise de Bootstrap, replicada 1.000x, e mostrada nos ramos. Havia 269 posições no conjunto de dados final. A barra de escala indica substituições de nucleotídeos por sítio..... 84

## LISTA DE TABELAS

### Artigo 2

- Tabela 1 - Concentração inibitória mínima em  $\mu\text{g/mL}$  de três isolados de *Sporothrix brasiliensis* relacionado à esporotricose ocular, e identificado pelo sequenciamento parcial da calmodulina, contra drogas antifúngicas..... 65

### Artigo 3

- Tabela 1 - Dados sociodemográficos, clínicos e epidemiológicos de casos de esporotricose humana atendidos no Ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW/UFPB, Paraíba, Brasil. (2018)..... 80

### Artigo 3

- Tabela 2 - Valores de CIM em  $\mu\text{g/mL}$  de seis fármacos antifúngicos frente a 16 isolados clínicos de *S. brasiliensis* e 64 de *Sporothrix* sp de casos de esporotricose humana atendidos no Ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW/UFPB, Paraíba, Brasil. (2018) .... 82

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aids	Síndrome da imunodeficiência humana adquirida (Acquired Immunodeficiency Syndrome )
AMB	Anfotericina B
$\beta$ -tub	Beta-tubulina
CAL	Calmodulina
CCM	Centro de Ciências Médicas
CEP	Comitê de Ética em Pesquisas
CETO	Cetoconazol
CIM	Concentração inibitória mínima
ELISA	Ensaio imunoenzimático ( <i>Enzyme-linked Immunosorbent assay</i> )
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FLC	Fluconazol
HIV	Vírus da imunodeficiência humana ( <i>Human Immunodeficiency Virus</i> )
HULW	Hospital Universitário Lauro Wanderley
IPEC	Instituto de Pesquisas Clínicas Evandro Chagas
ITC	Itraconazol
ITS	Região de transcrição interna ( <i>Internal Transcribed Spacer</i> )
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PDA	Meio Agar Batata Dextrose ( <i>Potato Dextrose Agar</i> )
SSKI	Solução saturada de iodeto de potássio
TRB	Terbinafina
UFC	Unidades formadora de colônias
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VRC	Voriconazol

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
2.1	ASPECTOS HISTÓRICOS.....	21
2.2	EPIDEMIOLOGIA.....	22
2.3	O AGENTE ETIOLÓGICO.....	25
2.4	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	26
<b>2.4.1</b>	<b>Formas cutâneas.....</b>	<b>27</b>
2.4.1.1	Linfocutânea.....	27
2.4.1.2	Cutânea-fixa.....	28
2.4.1.2	Cutânea disseminada.....	28
<b>2.4.2</b>	<b>Formas extra cutâneas.....</b>	<b>29</b>
2.4.2.1	Esporotricose osteoarticular.....	29
2.4.2.2	Esporotricose pulmonar.....	29
2.4.2.3	Neuroesporotricose.....	30
2.4.2.4	Esporotricose ocular.....	30
<b>2.4.3</b>	<b>Reações de hipersensibilidade.....</b>	<b>31</b>
2.5	DIAGNÓSTICO.....	32
<b>2.5.1</b>	<b>Diagnóstico micológico.....</b>	<b>32</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Histopatológico.....</b>	<b>33</b>
<b>2.5.3</b>	<b>Intradermorreação.....</b>	<b>33</b>
<b>2.5.4</b>	<b>Testes sorológicos.....</b>	<b>34</b>
<b>2.5.5</b>	<b>Identificação molecular.....</b>	<b>34</b>
2.6	TRATAMENTO.....	35
<b>2.6.1</b>	<b>Solução saturada de iodeto de potássio.....</b>	<b>35</b>
<b>2.6.2</b>	<b>Itraconazol.....</b>	<b>36</b>
<b>2.6.3</b>	<b>Terbinafina.....</b>	<b>36</b>
<b>2.6.4</b>	<b>Anfotericina B.....</b>	<b>37</b>
2.7	RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS.....	37
2.8	ESPOROTRICOSE EM ANIMAIS.....	38
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>38</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	38

3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
4.1	DESENHO DO ESTUDO, LOCAL E PERÍODO.....	39
4.2	POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	40
<b>4.2.1</b>	<b>Critérios de inclusão.....</b>	<b>40</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Critérios de exclusão.....</b>	<b>40</b>
4.3	COLETA E PROCESSAMENTO DE DADOS.....	40
<b>4.3.1</b>	<b>Método de coleta.....</b>	<b>40</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Instrumento de coleta de dados.....</b>	<b>42</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Exame micológico.....</b>	<b>42</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Definição das espécies.....</b>	<b>43</b>
<b>4.3.5</b>	<b>Teste de susceptibilidade antifúngica.....</b>	<b>44</b>
4.4	DEFINIÇÃO DE TERMOS E CATEGORIZAÇÃO DE VARIÁVEIS.....	45
<b>4.4.1</b>	<b>Definição de termos.....</b>	<b>45</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Definição de variáveis.....</b>	<b>46</b>
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
5.1	ARTIGO 1 – ESPOROTRICOSE OCULAR TRANSMITIDA POR CÃO.....	51
5.2	ARTIGO 2 – ESPOROTRICOSE OCULAR: UMA SÉRIE DE 7 CASOS.....	56
5.3	ARTIGO 3 – ESPOROTRICOSE HUMANA EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO NORDESTE BRASILEIRO.....	70
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>89</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>90</b>
	<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....</b>	<b>101</b>
	<b>APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PARTICIPANTE MENOR DE IDADE.....</b>	<b>103</b>
	<b>APÊNDICE C – PEDIDO DE ISENÇÃO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA A EMENDA 1.....</b>	<b>105</b>

<b>APÊNDICE D – FICHA DE COLETA DE DADOS.....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXO A – VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO 1.....</b>	<b>109</b>
<b>ANEXO B – E-MAIL DE CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1.....</b>	<b>115</b>
<b>ANEXO C – VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO 2.....</b>	<b>116</b>
<b>ANEXO D – E-MAIL DE CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 2.....</b>	<b>131</b>
<b>ANEXO E – VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO 3.....</b>	<b>134</b>
<b>ANEXO F – PARECER CONSUBSTANCIADO.....</b>	<b>154</b>
<b>ANEXO G – PARECER CONSUBSTANCIADO EMENDA 1.....</b>	<b>158</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é a micose subcutânea mais frequente no mundo (OROFINO-COSTA; DE MACEDO; BERNARDES-ENGEMANN, 2015) mas a maior prevalência é observada em regiões tropicais e subtropicais, especialmente nas Américas e na Ásia (ALZUGUIR et al., 2020). Na América Latina, Brasil, México e Peru são áreas de alta incidência de esporotricose (BONIFAZ; TIRADO-SÁNCHEZ, 2017). Comumente associada a atividades de lazer ou trabalho como jardinagem e agricultura (REDIGUIERI et al., 2022), nas duas últimas décadas, a incidência da esporotricose zoonótica vem aumentando, particularmente no Brasil (GREMIÃO et al., 2017a).

A entrada do gato na cadeia de transmissão da esporotricose causando epizootias ou zoonose tem contribuído para a definição de novos paradigmas na transmissão da esporotricose atingindo níveis epidêmicos, tornando a doença um grave problema de saúde pública (RODRIGUES et al., 2020). No Brasil, a região metropolitana do Rio de Janeiro representa o epicentro da epidemia zoonótica da esporotricose (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016). O principal centro de referência para o tratamento da esporotricose no Rio de Janeiro, a Fundação Oswaldo Cruz, registrou aproximadamente 5.000 casos em humanos no período de 1998 a 2015 (D.F.S. Freitas, dados não publicados) e aproximadamente 5.113 casos felinos no período de 1998 a 2018 (S.A. Pereira, dados não publicados) (GREMIÃO et al., 2020). *Sporothrix brasiliensis* é a espécie relacionada à epidemia zoonótica no Rio de Janeiro (ALMEIDA-PAES et al., 2014) e nesta situação hiperendêmica, pacientes que são infectados por esta espécie apresentam um número significativo de reações de hipersensibilidade e de doença disseminada (SCHECHTMAN et al., 2022). Ao tempo que no Espírito Santo a transmissão clássica da esporotricose relacionada a atividades ocupacionais tenha uma alta prevalência (CAUS et al., 2019; DE ARAUJO et al., 2015), epidemias semelhantes a do Rio de Janeiro, com casos felinos e transmissão zoonótica, ocorrem também no Rio Grande do Sul e em São Paulo e mais recentemente na cidade de Belo Horizonte, entretanto com número de casos muito menor quando comparado ao Rio de Janeiro (GREMIÃO et al., 2017a; PAIVA et al., 2020).

Durante o período de 1998 a 2017, o Brasil experimentou uma expansão geográfica da esporotricose (GREMIÃO et al., 2020) e a região nordeste tornou-se a

nova fronteira desta micose com o registro de casos felinos e transmissão zoonótica nos estados de Alagoas, Pernambuco e Rio Grande do Norte alterando o perfil epidemiológico da esporotricose na região (DE OLIVEIRA BENTO et al., 2021; MARQUES-MELO et al., 2014; SILVA et al., 2021). Entre o período de 2015 a 2017, o Serviço de Micologia do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba (HULW/UFPB) constatou um aumento progressivo de casos de esporotricose humana (DA SILVA, 2017). Até então, a não obrigatoriedade de notificação dos casos, o que viria acontecer apenas com a Resolução CIB/SES-PB nº 80/18 de 07/08/2018 que tornou obrigatória a notificação de esporotricose humana cujos efeitos práticos ainda não se tornaram efetivos, levou a um total desconhecimento sobre as características clínicas e epidemiológicas da doença no estado da Paraíba.

Diante da expansão geografia da esporotricose para o nordeste do Brasil associada à transmissão zoonótica e a falta de dados consistentes referentes aos casos humanos no estado da Paraíba, é primordial conhecer as característica sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas desta micose, além de determinar quais as espécies envolvidas e seu perfil de sensibilidade antifúngica que irá subsidiar às autoridades locais de saúde na formulação de políticas públicas de prevenção e controle e na elaboração de orientações terapêuticas adequadas frente ao atual cenário da esporotricose na Paraíba.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A esporotricose, causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix schenckii lato sensu*, está atualmente distribuída em todo o mundo especialmente em zonas tropicais e subtropicais (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011) e é considerada a micose subcutânea mais frequente da América Latina, onde é endêmica (OROFINO-COSTA et al., 2017). É causada pela inoculação traumática de solo, plantas e matéria orgânica contaminada pelo fungo no subcutâneo, ou menos comumente pela inalação de esporos através do trato respiratório superior com possível subsequente disseminação hematogênica (GREMIÃO et al., 2017b; RAMOS-E-SILVA et al., 2007). Alternativamente a infecção pode acontecer por transmissão zoonótica, principalmente através de mordeduras ou arranhaduras de gatos infectados (GREMIÃO et al., 2017b).

Por décadas, a esporotricose felina no Brasil apareceu apenas como aglomerados esporádicos e autolimitados. No entanto, a atual epidemia felina por *S. brasiliensis* no Sul e Sudeste do Brasil e, mais recentemente a expansão para o Nordeste, criou uma emergência de saúde pública de importância internacional devido ao grande potencial de transmissão zoonótica da esporotricose (BRIZENO; SILVA; BASSOLI, 2020; RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016; SILVA et al., 2018).

A suspeita clínica e o isolamento e identificação dos fungos a partir de uma amostra são as chaves para o diagnóstico precoce da esporotricose (MAHAJAN, 2014; RUDRAMURTHY; CHAKRABARTI, 2017). Embora a micose exiba muitas vezes um quadro clínico dermatológico exuberante, costuma cursar sem gravidade e sem acometer outros órgãos além da pele, mucosa e subcutâneo (DE LIMA BARROS et al., 2010) entretanto, a transmissão zoonótica do fungo e sua significativa virulência em um contexto de situação hiperendêmica mudaram a abordagem da doença uma vez que manifestações atípicas e reações de hipersensibilidade são cada vez mais frequentes, constituindo um novo aspecto da esporotricose, que merece atenção da comunidade médica, bem como de outros profissionais de saúde (SCHECHTMAN et al., 2022).

A escolha do tratamento para a esporotricose depende essencialmente da forma clínica da doença, das características imunológicas do hospedeiro e das espécies de *Sporothrix* envolvidas (OROFINO-COSTA et al., 2017). Apesar da esporotricose

apenas excepcionalmente estar associada à mortalidade (MAHAJAN, 2014), precisa ser adequadamente tratada para diminuir a morbidade e seu custo social representado pelo absenteísmo ao trabalho, pelo sofrimento durante a doença ativa e pelo aspecto desagradável das lesões cicatriciais (DE LIMA BARROS et al., 2010).

## 2.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

A esporotricose é uma micose subcutânea negligenciada que foi descrita pela primeira vez por Benjamin Schenck nos Estados Unidos em 1898 (LOPES-BEZERRA et al., 2018). O segundo caso foi descrito em 1900 por Hektoen e Perkins no mesmo país, quando deram ao agente etiológico da esporotricose a denominação de *Sporothrix schenckii* (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011).

O primeiro caso de esporotricose na Europa foi descrito em 1903 (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006) sendo atualmente raramente relatada com apenas alguns casos autóctones e importados associados à transmissão clássica registrados nas últimas décadas (BACHMEYER et al., 2006; BARILE et al., 2009; VENTIN et al., 1987). Importante destacar a existência de um nicho de “alta endemicidade” no sul da Itália, área com características ecológicas e climáticas que podem favorecer a transmissão da doença (BARILE et al., 2009).

Coube a Lutz e Splendore em 1907, a primeira observação em humanos e ratos no Brasil das formas linfocutâneas e extra cutâneas da esporotricose e, no ano seguinte, demonstraram a presença de corpos asteróides nos tecidos, úteis para o diagnóstico histopatológico desta micose (OROFINO-COSTA et al., 2017).

Terra e Rabelo em 1912 descreveram o primeiro caso de esporotricose no Rio de Janeiro e, desde então, casos isolados foram relatados em diferentes regiões do país (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015). Na década de 1950, foram descritos casos esporádicos de transmissão zoonótica no Brasil (RODRIGUES et al., 2020) e em 1998, a primeira epidemia de esporotricose em humanos, como resultado de transmissão zoonótica, é identificada no Rio de Janeiro (BARROS et al., 2008), onde fica o epicentro do surto de longa duração da esporotricose transmitida por gatos (DE ARAUJO et al., 2015). No entanto, a esporotricose tem se expandido rapidamente em direção ao nordeste do Brasil, no período entre os anos de 2015 e 2019 (RODRIGUES et al., 2020).

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA

A esporotricose ganhou importância nos últimos anos devido a sua prevalência mundial, pelo reconhecimento de múltiplas espécies dentro das espécies originalmente descritas e em virtude de sua ecologia, distribuição e epidemiologia distintas em todo o mundo, com incidência variando amplamente entre os países (CHAKRABARTI et al., 2014; RODRIGUES et al., 2020).

A esporotricose ocorre em todo o mundo mas as espécies patogênicas de *Sporothrix* não estão distribuídas uniformemente, com vários estudos mostrando uma relação entre distribuição geográfica e diferentes espécies (LOPES-BEZERRA et al., 2018).

Uma vez que a esporotricose não é uma doença de notificação compulsória em todas os locais de ocorrência, sua exata prevalência não é conhecida mas já foi relatada nos Estados Unidos (BENEDICT; JACKSON, 2020), América do Sul (Brasil, Colômbia, Peru e mais recentemente na Argentina) (ETCHECOPAZ et al., 2021; GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015; PORRAS; RUBIO; SA, 2010; SOTO, 2015), Ásia (China, Índia e Japão) (LV et al., 2022; VERMA et al., 2012; WATANABE et al., 2016) e na Austrália (MCGUINNESS et al., 2016), com raros casos descritos na Europa (CHAKRABARTI et al., 2014).

Classicamente a transmissão da doença está associada às atividades de manipulação de plantas e do solo, seja por motivos ocupacionais ou de lazer. Apesar da transmissão zoonótica da esporotricose já ser conhecida, a importância do gato neste contexto foi verificada, pela primeira vez, quando um surto envolvendo cinco pessoas expostas a um gato doente foi relatado (OROFINO-COSTA et al., 2017). A doença de pele que há muito era considerada uma doença ocupacional benigna dos horticultores, de fato se tornou um problema urbano de caráter peridomiciliar (LOPES-BEZERRA et al., 2018).

Inicialmente, também no Brasil, a ocorrência desta micose subcutânea estava associada às áreas rurais, mas nas últimas duas décadas tem se observado uma mudança no perfil epidemiológico da infecção, a qual tem sido mais frequente no ambiente urbano, sendo atualmente uma doença de notificação compulsória em algumas unidades da federação (BIMBI; BRZEZIŃSKI, 2017; MICHELON et al., 2019).

As áreas urbanas das regiões endêmicas do Brasil, são caracterizadas por ausência de saneamento básico, moradias precárias e pouco ou nenhum acesso aos serviços de saúde (COSTA et al., 2019).

Desde o final dos anos de 1990, a esporotricose na região metropolitana do Rio de Janeiro, tornou-se um fenômeno zoonótico endêmico/epidêmico urbano com transmissão de gatos infectados para humanos (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015). Mulheres de meia-idade de baixo nível socioeconômico que se envolvem em atividades domésticas são frequentemente infectadas devido à sua exposição ao cuidar de animais doentes em casa (BARROS et al., 2008).

O número de casos vem aumentando continuamente desde o início da epidemia, ultrapassando 5.000 casos registrados no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (IPEC), uma unidade de referência no Rio de Janeiro. Devido ao status hiperendêmico e ao grave problema de saúde pública gerado pela esporotricose no Rio de Janeiro, a doença passou a ser de notificação compulsória no estado desde julho de 2013 (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015).

A disseminação da esporotricose no Rio de Janeiro pode ser explicada pelos seguintes fatores: o potencial de transmissão zoonótica de gatos para humanos; o comportamento natural do felino de circular no bairro, muitas vezes se envolvendo em brigas com outros animais; a proliferação de gatos em praças e terrenos desocupados, formando inúmeras colônias sem qualquer controle sanitário; a falta de infraestrutura para seu tratamento; e o destino inadequado dado aos animais mortos por seus tutores (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015).

Neste contexto de hiperendemia zoonótica observada no Rio de Janeiro, pacientes que são infectados com *S. brasiliensis* apresentam maior número de reações de hipersensibilidade e de doença disseminada, sugerindo uma maior virulência dessa espécie (SCHECHTMAN et al., 2022).

Casos de esporotricose também têm sido relatados nos estados de São Paulo, Espírito Santo e Rio Grande do Sul, com destaque para as cidades de Pelotas e Rio Grande que concentram casos humanos relacionados à transmissão zoonótica (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015).

Em São Paulo, os primeiros casos suspeitos de esporotricose felina surgiram em março de 2011 na região de Itaquera, área urbana com alta densidade populacional com posterior expansão entre os felinos para áreas mais negligenciadas, que têm

acesso limitado a serviços de saneamento e saúde pública. *Sporothrix brasiliensis* foi a espécie identificada e uma análise de haplótipos baseada na sequência de EF1- $\alpha$  sugere que o haplótipo predominante entre os felinos em São Paulo é o mesmo observado no Rio de Janeiro o que pode indicar que a doença está se espalhando a partir desse estado (MONTENEGRO et al., 2014).

Estudo retrospectivo recentemente publicado por Bittencourt *et al.*, (2022) (BITTENCOURT et al., 2022) com 260 casos de esporotricose humana diagnosticados entre 2010 e 2018 observou um incremento de 700% no número de casos humanos no triênio 2016–2018 em comparação com o triênio 2013–2015. A identificação molecular mostrou que a maioria dos isolados testados eram de *Sporothrix brasiliensis* e o principal risco para adquirir esporotricose foi o contato com gatos, relatado por 250 (96,5%) pacientes.

A esporotricose humana é descrita no Rio Grande do Sul desde 1958, com relato de 311 casos em 30 anos (1958-1989) na região central do estado, sendo de 10,3 a média de diagnósticos por ano, com a maioria dos casos associados a atividades rurais e outros tipos de ocupação diferentemente do que ocorre na região sul do estado onde, no período de outubro de 2012 a outubro de 2017, foram diagnosticados 100 casos de esporotricose humana com predomínio absoluto de transmissão zoonótica (BRANDOLT et al., 2019).

Ao contrário do que é observado em São Paulo e no Rio Grande do Sul, no Espírito Santo a esporotricose humana parece ser adquirida predominantemente através de atividades ocupacionais, com maior incidência em homens que exercem atividades no campo em constante contato com as plantas e o solo (CAUS et al., 2019). *Sporothrix schenckii* s. str. foi a espécie identificada nos isolados de pacientes com esporotricose no Espírito Santo, espécie esta que está intimamente associada com o padrão clássico da transmissão da doença no Brasil (DE ARAUJO et al., 2015).

No mapa da esporotricose no Brasil, o Nordeste brasileiro pouco contribuía em número de casos, representado muitas vezes por esporádicas publicações de relatos de caso em felinos, na Paraíba (NUNES et al., 2011), no Rio Grande do Norte (FILGUEIRA, 2009), em Pernambuco (ARAUJO; LEAL, 2016) e, no estado de Alagoas, estabelecendo transmissão zoonótica (MARQUES-MELO et al., 2014). Nos últimos anos, a descrição de surto de esporotricose felina em Pernambuco (SILVA et al., 2018) e de série de casos em humanos no Rio Grande do Norte (DE OLIVEIRA

BENTO et al., 2021) e em Pernambuco (SILVA et al., 2021) revela o estabelecimento definitivo da esporotricose na região.

### 2.3 O AGENTE ETIOLÓGICO

O fungo do gênero *Sporothrix* da ordem Ophiostomatales compreende um grupo de espécies termodimórficas que no ambiente ou quando cultivado em laboratório a 25-30°C, apresenta-se na forma filamentosa e na fase parasitária ou quando cultivadas em meios de cultura apropriados a 35-37°C, aparece como células de levedura ovais em forma de charuto. São encontrados em habitats ricos em matéria orgânica e em regiões de clima quente e úmido. Possui nichos ecológicos específicos dentro de áreas endêmicas, e cresce no solo em uma faixa de temperatura entre 22°C e 27°C, pH entre 3,5 e 9,4, e 90% de umidade (ARRILLAGA-MONCRIEFF, 2009; OLIVEIRA et al., 2011; RAMÍREZ-SOTO et al., 2018; RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016).

Macroscopicamente, as colônias filamentosas de *S. schenckii* são inicialmente brancas e gradualmente se tornam marrom a preto e quando cultivadas a 37°C apresentam coloração bege amarelada com aspecto cremoso. Quanto ao padrão de assimilação de carboidratos, é capaz de consumir adonitol, celobiose, frutose, galactose, glicose, glicerol, maltose, manose, sorbitol, sacarose, trealose e xilose, enquanto que nenhuma espécie do *Sporothrix* pode assimilar inositol, lactose e dulcitol (GHOSH et al., 2002).

As características diagnósticas do gênero são as seguintes: são organismos unicelulares, possuem conídios hialinos que são dispostos simpodialmente em grupos organizados de dentículos semelhante a um buquê nas extremidades dos conidióforos. Devido as características morfológicas convergentes dentro do complexo *Sporothrix* e a sobreposição entre outros gêneros da ordem Ophiostomatales, o reconhecimento de espécies é notoriamente difícil usando apenas dados morfológicos (RODRIGUES et al., 2016).

Com base em uma combinação de fatores fenotípicos e genéticos Marimon et al. (2007) sugeriram que *S. schenckii* não deve ser considerado a única espécie que causa a esporotricose identificando três novas espécies, *S.globosa* de distribuição

mundial, *S. brasiliensis* e *S. mexicana* restritas ao Brasil e México respectivamente. *Sporothrix schenckii* var. *lurieii* foi promovido a uma nova espécie, *S. luriei* e *S. albicans*, *S. pallida* e *S. nivea* por revelaram uma semelhança significativa por outras análises filogenéticas baseadas em rDNA e na região da  $\beta$ -tubulina foram denominados como uma única espécie, *S. pallida* (OLIVEIRA et al., 2011). Atualmente, as espécies de *Sporothrix* que são clinicamente relevantes incluem *S. schenckii* (*sensu stricto*), *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. luriei*, *S. mexicana* e *S. pallida* (RAMÍREZ-SOTO et al., 2018). *Sporothrix chilensis* é uma espécie de *Sporothrix* isolada de um paciente com onicomicose no Chile (RODRIGUES et al., 2016) e recentemente foi identificado em pacientes com esporotricose em Pernambuco indicando que essa micose pode ser causada pelo *S. chilensis* no Brasil (VALERIANO et al., 2020a). *Sporothrix schenckii* s. str. e *S. globosa* são patógenos cosmopolitas que geralmente seguem a via clássica de transmissão da doença por inoculação traumática de detritos vegetais contaminados afetando trabalhadores rurais e jardineiros e por isso conhecida no passado como “doença do jardineiro” ou “doença da roseira”. No outro extremo, o *S. brasiliensis*, a espécie de maior virulência, está associado a infecções de animais e transmissão zoonótica através de arranhões profundos e mordidas de gatos infectados (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016). Enquanto no Brasil a esporotricose é uma zoonose provocada pelo *S. brasiliensis*, na China, é uma sapronose provocada principalmente pelo *S. globosa* (LV et al., 2022).

## 2.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A esporotricose é uma doença multifacetada que pode mimetizar outras dermatoses (SCHECHTMAN et al., 2022) e pode se manifestar de diferentes maneiras, as quais variam de acordo com a integridade do sistema imunológico do hospedeiro, do inóculo fúngico, da profundidade e local do inóculo, das características biológicas e virulência do fungo (CORDEIRO et al., 2011) As manifestações clínicas podem ser divididas em cutâneas e extra cutâneas da seguinte forma respectivamente, linfocutânea, cutânea fixa e cutânea disseminada como formas cutâneas e extra cutâneas a esporotricose ocular, pulmonar, neurológica e

osteoarticular (SILVA et al., 2021). Como em outras doenças infecciosas alguns pacientes podem desenvolver reações de hipersensibilidade devido a uma resposta imune exacerbada ao fungo como o eritema nodoso, o eritema multiforme, a síndrome de Sweet e artrite reativa. Formas disseminadas com disseminação hematogênica e comprometimento sistêmico podem ocorrer principalmente em pacientes imunossuprimidos como infectados pelo HIV, alcoolistas crônicos, usuários de drogas ilícitas e pacientes em tratamento com imunossupressores (OROFINO-COSTA et al., 2017).

### **2.4.1 Formas cutâneas**

#### **2.4.1.1 Linfocutânea**

A forma linfocutânea é a apresentação clínica mais comum representando 70 a 80% das formas cutâneas de apresentação da esporotricose (MAHAJAN, 2014). Apresenta como característica um quadro clínico denominado linfangite nodular ascendente, quando a partir do ponto de inoculação do patógeno ocorre a formação de lesão primária, geralmente 2 a 3 semanas após a inoculação e, dependendo da evolução da doença, ocorre ascendência de lesões ao longo dos vasos linfáticos de aspecto papular, nódulos ou placas eritematosas com superfície lisa ou verrucosa, podendo amolecer e ulcerar drenando material seropurulento. São principalmente assintomáticos, podem coçar ou tornar-se dolorosos e têm curso clínico semelhante ao das lesões primárias (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015; MAHAJAN, 2014; RAMOS-E-SILVA et al., 2007).

Afeta principalmente as mãos e antebraços em adultos, enquanto em crianças, a face é um sítio anatômico comum, respondendo por mais de 92% dos casos pediátricos. Adenopatia regional leve pode ocorrer, e os sintomas sistêmicos, quando presentes, são geralmente leves. A doença bilateral é rara e, quando ocorre, sugere múltiplos focos de inoculação (SCHECHTMAN et al., 2022).

#### 2.4.1.2 Cutânea-fixa

A forma cutânea-fixa ou localizada da esporotricose tem essa denominação devido a sua apresentação, a qual se caracteriza por não haver ascendência das lesões a partir do ponto de inoculação do fungo, ficando esta lesão restrita, podendo apresentar-se ulcerosa, gomosa, supurativa, ou verrucosa. Ocorre menos comumente e afeta principalmente a face, o pescoço, o tronco e pernas, sendo a face o local preferido (MAHAJAN, 2014; SCHECHTMAN et al., 2022). Pode ou não vir acompanhada de lesões satélites. Estas apresentações tendem a ser crônicas e geralmente não curam espontaneamente. As lesões também podem assemelhar-se a ceratoacantoma, celulite facial, pioderma gangrenoso, prurigo nodular, lúpus vulgar, sarcoma de tecidos moles e carcinoma basocelular (SCHECHTMAN et al., 2022; ZHANG et al., 2011).

#### 2.4.1.3 Cutânea disseminada

Alguns autores consideram dividir as formas disseminadas em esporotricose cutânea disseminada e esporotricose disseminada sistêmica quando ossos e articulações, pulmões e o sistema nervoso central podem ser acometidos. Ambas estão relacionadas à inoculação, ingestão ou inalação do fungo e quase sempre estão associadas a algum tipo de imunossupressão apesar de já haver descrição na literatura de formas cutâneo disseminadas em pacientes imunocompetentes sem comprometimento sistêmico (OROFINO-COSTA et al., 2017; SCHECHTMAN et al., 2022; VALERIANO et al., 2020b).

No paciente imunossuprimido as lesões cutâneas mostram-se heterogêneas e pleomórficas associadas a comprometimento sistêmico, diferentemente do que ocorre em alguns pacientes que descrevem múltiplos traumas e apresentam várias lesões cutâneas disseminadas e de aparência pleomórfica, sem comprometimento sistêmico, todas surgindo ao mesmo tempo (OROFINO-COSTA et al., 2017).

## 2.4.2 Formas extra cutâneas

O acometimento extra cutâneo na esporotricose pode estar relacionada a vários tecidos e órgãos como os ossos e articulações, envolvidos por trauma direto, por contiguidade de uma lesão cutânea ou por disseminação hematogênica, os pulmões que podem ser atingidos por disseminação hematogênica ou por inalação de propágulos infecciosos de *Sporothrix* sp levando ao surgimento de sintomas respiratórios como tosse, dispnéia e hemoptóicos, o sistema nervoso central com desenvolvimento de meningite e o acometimento de mucosas principalmente a ocular podendo causar lesão nos anexos oculares ou nas estruturas profundas do globo ocular, causando endoftalmite. (OROFINO-COSTA et al., 2017; RAMÍREZ-SOTO; TIRADO-SÁNCHEZ; BONIFAZ, 2021; RAMOS-E-SILVA et al., 2007).

### 2.4.2.1 Esporotricose osteoarticular

Lesões osteoarticulares causadas pela esporotricose são raras representando de 3 a 4% dos casos e particularmente acomete pacientes imunossuprimidos como alcoolistas crônicos e diabéticos podendo também acometer pacientes imunocompetentes. As manifestações iniciais são tenossinovite, monoartrite com derrame articular e limitação dos movimentos, bursite e formação de cisto sinovial. As mãos, punhos, cotovelos, tornozelos e joelhos são os locais mais frequentemente afetados. O diagnóstico rápido é primordial para evitar complicações como artrite séptica, sepse e o óbito (RAMOS-E-SILVA et al., 2007; SENDRASOA et al., 2021).

### 2.4.2.2 Esporotricose pulmonar

Tipicamente afeta homens entre 30 e 60 anos de idade com comorbidades preexistentes. Esporotricose pulmonar primária é uma condição que ocorre após a inalação de conídios presente no meio ambiente e que se desenvolvem no tecido

pulmonar. O quadro clínico é semelhante ao da tuberculose pulmonar. O último estágio da doença mostra fibrose pulmonar avançada com cavitações e disfunção pulmonar severa (ALVES et al., 2020; RAMOS-E-SILVA et al., 2007).

#### 2.4.2.3 Neuroesporotricose

A infecção do sistema nervoso central pelo *Sporothrix* é um evento raro e majoritariamente está associada a infecção pelo HIV e já foi descrita durante a síndrome de reconstituição imune após a introdução da terapia antirretroviral. Caracteristicamente, o exame do líquido cerebrospinal mostra pleiocitose com predomínio de linfócitos, hipoglicorraquia e hipoproteiorraquia (GALHARDO et al., 2010; RAMOS-E-SILVA et al., 2007).

#### 2.4.2.4 Esporotricose ocular

Clinicamente, a esporotricose ocular pode se apresentar como uma infecção intraocular ou como uma infecção dos anexos do olho quando acomete pálpebras, conjuntiva e o sistema lacrimal. (AIDAR et al., 2021; RAMÍREZ-SOTO; TIRADO-SÁNCHEZ; BONIFAZ, 2021) Na conjuntivite granulomatosa, observam-se nódulos amarelados e de superfície lisa e brilhante agrupados envolvendo a conjuntiva tarsal e/ou bulbar associados a hiperemia conjuntival e/ou exsudato purulento (YAMAGATA et al., 2017). Inicialmente as elevações nodulares causadas pela conjuntivite granulomatosa envolvendo a conjuntiva tarsal e/ou bulbar podem ser confundidos com hordéolo ou calázio, atrasando o diagnóstico e a instituição de terapêutica adequada (GAMEIRO FILHO et al., 2020; YAMAGATA et al., 2017).

Quando a conjuntivite granulomatosa está acompanhada de adenomegalia pré-auricular e submandibular ipsilateral, fica caracterizada a síndrome oculoglabdular de Parinaud, (DE ABREU RIBEIRO; BISOL; ANA MENEZES, 2010) que embora classicamente esteja associada à infecção pela *Bartonella henselae* (GALINDO-

BOCERO et al., 2017), em áreas endêmicas de esporotricose, pode facilitar o diagnóstico de esporotricose ocular (LIBORIO NETO et al., 2021).

Outras formas de acometimento dos anexos oculares são a esporotricose palpebral e a dacriocistite, infecção do sistema lacrimal devido à esporotricose (RAMÍREZ-SOTO; TIRADO-SÁNCHEZ; BONIFAZ, 2021).

A infecção intraocular é extremamente rara, com apenas relatos de casos isolados na literatura. Pode se apresentar como endoftalmite, uveíte granulomatosa, esclerite, retinite, coroidite ou iridociclite e é decorrente da disseminação hematogênica do *Sporothrix* ou por inoculação traumática no olho. Esse tipo de acometimento é usualmente associado a condições de imunossupressão como a infecção pelo HIV (GAMEIRO FILHO et al., 2020).

#### **2.4.3 Reações de hipersensibilidade**

Além da infecção em mucosas, as reações de hipersensibilidade como o eritema nodoso, o eritema multiforme, a síndrome de Sweet e a artrite reativa são manifestações incomuns da esporotricose (DE LIMA et al., 2020). Pacientes infectados pelo *S. brasiliensis* têm maior chance de desenvolver essas reações de hipersensibilidade (SCHECHTMAN et al., 2022). O contato próximo com gatos com esporotricose no ambiente doméstico provavelmente leva à exposição repetida ao fungo; isto permite reinfecções subclínicas e hipersensibilização do hospedeiro humano, levando ao aparecimento das reações de hipersensibilidade (DE LIMA et al., 2020).

A síndrome de Sweet apresenta placas eritematosas ou nódulos e, na histopatologia um denso infiltrado sem vasculite leucocitoclástica e em uma série de 379 pacientes com esporotricose a incidência da síndrome de Sweet foi de 2,9%. O eritema multiforme é uma doença vesicobolhosa com manifestações variáveis que afetam predominantemente a pele. O eritema nodoso é caracterizado pelo aparecimento súbito de nódulos eritematosos na região anterior dos membros inferiores, acompanhada de febre, artralgia e mialgia (SCHECHTMAN et al., 2022).

Artrite reativa pode também ocorrer como uma reação de hipersensibilidade, usualmente poliarticular e migratória, frequentemente desaparecendo com o tratamento específico da esporotricose (OROFINO-COSTA et al., 2017).

## 2.5 DIAGNÓSTICO

### 2.5.1 Diagnóstico micológico

O diagnóstico micológico da esporotricose está baseado na observação macro e microscópica de estruturas do *Sporothrix* sp mediante o isolamento do fungo em meio PDA a 25°C, num período de incubação de 3 a 5 dias (VALERIANO, 2017). A observação do material coletado de paciente com suspeita de esporotricose ao exame direto não apresenta a confiabilidade diagnóstica presente no cultivo do fungo em meio de cultura e posterior observação de suas estruturas macro e micromorfológicas, devido à escassez, de células leveduriformes presentes na amostra (MAHAJAN, 2014).

Em meio de cultura, na sua forma filamentosa, apresenta-se como hifas hialinas, septadas e ramificadas com conídios unicelulares hialinos, que são pequenos, ovóides e geralmente ocorrem na porção apical dos conidióforos, e os conídios marrons, que são grandes e ovóides, com parede celular espessa, estando presentes ao longo de todo o comprimento das hifas (OLIVEIRA et al., 2011).

Apesar da metodologia já bastante consagrada, dados obtidos por Oliveira et al., 2011b sugerem que a identificação de espécies de *Sporothrix* sp usando apenas a morfologia dos conídios como parâmetro de classificação deve ser vista com restrições e que a aplicação de outros testes fenotípicos é obrigatória, uma vez que esses isolados podem não produzir algumas estruturas morfológicas ou modificá-las (MARIMON et al., 2007).

A avaliação do crescimento dos isolados em escalas de diferentes temperaturas e as provas de assimilação de carboidratos completam a identificação fenotípica das espécies de *Sporothrix* sp (MARIMON et al., 2007).

### 2.5.2 Histopatológico

Os achados dos exames histopatológicos na esporotricose não são característicos. Na maioria dos casos há formação de um granuloma supurativo e, em apenas alguns pacientes, um granuloma tuberculóide. Em geral observa-se microabscessos de neutrófilos, histiócitos e linfócitos. É nesta área onde podemos encontrar os “corpos asteróides” e algumas leveduras alongadas em forma de “charuto” (BONIFAZ; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, 2013).

O corpo asteróide (fenômeno Splendore-Hoeppli) é a formação *in vivo* de material intensamente eosinofílico ao redor de microorganismos ou substâncias biologicamente inertes. No corpo asteróide, a levedura basofílica é cercada por matéria eosinofílica irradiando para fora como os raios de uma roda. Corpos asteróides são mais frequentes em lesões de pacientes com esporotricose linfocutânea e frequentemente localizada na zona central de neutrófilos (ZHANG et al., 2011).

### 2.5.3 Intradermorreação

A importância diagnóstica do teste intradérmico para detectar a hipersensibilidade tardia usando esporotriquina permanece ambígua. Ele é negativo em casos graves de esporotricose e frequentemente positivo em pessoas saudáveis vivendo em áreas endêmicas (MAHAJAN, 2014) e por isso o teste é mais aplicável para o levantamento epidemiológico da esporotricose. No entanto, na ausência do antígeno padronizado, a interpretação dos resultados pode ser difícil (RUDRAMURTHY; CHAKRABARTI, 2017).

#### 2.5.4 Testes sorológicos

Outras ferramentas úteis para o diagnóstico da esporotricose são os testes sorológicos para determinar anticorpos específicos, entretanto alguns deles fornecem resultados falso-positivos ou reações cruzadas, especialmente em pacientes com histoplasmose (BONIFAZ; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, 2013), entretanto podem auxiliar no diagnóstico de formas disseminadas, em crianças e em pacientes imunossuprimidos (RUDRAMURTHY; CHAKRABARTI, 2017).

Diferentes técnicas de imunoeletroforese, aglutinação e imunodifusão usando fração antigênica bruta foram propostas para o sorodiagnóstico da esporotricose, mas a sensibilidade e especificidade foram baixas. Consequentemente, foram substituídos por testes mais sensíveis, como os imunoenzimáticos, principalmente o ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) e Western Blotting ambos com resultados mais rápidos (OROFINO-COSTA et al., 2017).

#### 2.5.5 Identificação molecular

O trabalho de Marimon *et al.*, (2007; 2008) utilizou como ferramenta molecular o sequenciamento parcial do gene da calmodulina (CAL), o qual tem ampla capacidade discriminatória entre as espécies do complexo *Sporothrix schenckii*. O trabalho de Rodrigues *et al.*, (2016) utilizou, além do gene CAL, os primers ITS e beta-tubulina ( $\beta$ -tub).

Os primers espécie-específico utilizados na identificação molecular podem ser aplicados na epidemiologia, no diagnóstico clínico e em estudos experimentais de esporotricose, facilitando a tomada de decisão quanto ao melhor tratamento a ser utilizado (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2015).

Uma grande variedade de técnicas moleculares de PCR (reação em cadeia da polimerase), foram investigados como possíveis alternativas para identificação de rotina de fungos como o PCR de DNA polimórfico amplificado aleatório, o PCR aninhado, o polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição de reação em cadeia da polimerase (PCR-RFLP), imunoensaio de PCR-enzima, PCR em tempo real

e tecnologia de “microarrays”, entretanto, ainda não foram incorporados à rotina diagnóstica da esporotricose (RODRIGUES; HOOG; DE CAMARGO, 2014).

## 2.6 TRATAMENTO

A escolha do tratamento para a esporotricose depende essencialmente da forma clínica, do “status” imunológico do hospedeiro e da espécie de *Sporothrix* envolvida (OROFINO-COSTA et al., 2017).

As opções terapêuticas para a esporotricose incluem medidas locais e medidas farmacológicas baseadas no uso de solução saturada de iodeto de potássio (SSK), azólicos, em especial o itraconazol (ITC), a terbinafina (TRB) e a anfotericina B (AMB) (KAUFFMAN et al., 2007). A possibilidade de resolução espontânea na esporotricose é extremamente rara e por isso a maioria dos pacientes necessita de tratamento (MAHAJAN, 2014) que de forma geral é prolongado durando de três a seis meses (OROFINO-COSTA et al., 2017).

Medidas locais como a termoterapia e a criocirurgia podem ser utilizadas principalmente para o tratamento de gestantes que não podem utilizar o tratamento farmacológico. A termoterapia é a opção terapêutica mais relatada neste grupo de pacientes com semanas de autoaplicação diária de calor nas lesões requerendo respeito aos horários de aplicação além de um certo cuidado para evitar queimaduras na pele. A criocirurgia é um método eficaz e seguro, quando aplicado por equipe bem treinada, sendo um recurso terapêutico útil para muitas doenças infecciosas da pele inclusive a esporotricose (FICHMAN et al., 2018).

### 2.6.1 Solução saturada de iodeto de potássio

Administrada por via oral, de baixo custo é a primeira escolha no tratamento das formas cutâneas, principalmente em um cenário em que o itraconazol não está disponível pelo alto custo. Seu mecanismo de ação contra o *Sporothrix* ainda não foi totalmente elucidado mas acredita-se que ele impeça a formação do granuloma através de mecanismos imunológicos e não imunológicos, expondo o fungo às

defesas do hospedeiro ou a outro fármaco utilizado em associação. Pode ser utilizado também para o tratamento das reações de hipersensibilidade como o eritema nodoso e a artrite reativa em virtude de seu efeito imunomodulador. Geralmente o tratamento se inicia com doses mais baixas aumentando diariamente até alcançar doses entre 1-2 g/dia em crianças e 2-4 g/dia em adultos. É contra-indicado para pacientes com disfunção tireoidiana, falência renal e alérgicos ao iodo. Os principais eventos adversos são o gosto metálico, náuseas e erupção acneiforme (MAHAJAN, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017).

### **2.6.2 Itraconazol**

O ITC é o principal azólico disponível para o tratamento da esporotricose, administrado por via oral, é fungistático e age impedindo a produção de ergosterol na parede celular do fungo. Está indicado para o tratamento da maioria das formas de apresentação da esporotricose, inclusive extra cutâneas e em imunossuprimidos, exceto nas formas disseminadas. A dose inicial prescrita deve ser de 100 mg/dia, sempre junto aos alimentos o que melhora a sua absorção, podendo chegar a dose mais altas de 400 mg/dia. O seu principal evento adverso são desordens gastrointestinais além de ser potencialmente hepatotóxico. Não pode ser prescrito para gestantes e lactantes além da grande possibilidade de interação medicamentosa com outros medicamentos e por isso especial atenção é necessária quando da prescrição de itraconazol para pacientes idosos (MAHAJAN, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017).

### **2.6.3 Terbinafina**

A TBF é uma alilamina fungicida que age na síntese do ergosterol da parede celular do fungo. Sua principal vantagem sobre o itraconazol é o fato de ter poucas interações medicamentosas. A dose recomendada é de 250 mg/dia por via oral, mas

pode ser aumentada para 500 mg/dia. Pode causar cefaléia, náusea, alterações do paladar e neutropania. É contraindicada para portadores de lúpus eritematoso sistêmico, só deve ser prescrito para o tratamento das formas cutâneas e não deve ser administrado para gestantes e lactantes (MAHAJAN, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017).

#### **2.6.4 Anfotericina B**

A AMB é um polieno que age ligando-se ao ergosterol alterando a permeabilidade da parede celular do fungo. É administrado apenas pela via parenteral devendo-se priorizar o uso das formulações lipídicas da AMB B em detrimento ao desoxicolato em virtude do potencial nefrotóxico dessa última formulação. Está indicada para o tratamento de formas graves inclusive em gestantes com dose acumulada de 1-3 g. Tão logo o paciente apresente melhora do quadro geral a substituição para o ITCI oral é recomendada (MAHAJAN, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017).

### **2.7 RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS**

A diferença nos perfis de sensibilidade aos antifúngicos pode estar relacionada à origem geográfica dos isolados e por isso estudos devem ser realizados para melhor compreensão da atividade de cada um dos medicamentos frente às cepas locais (STOPIGLIA et al., 2013).

Isolados de *Sporothrix* sp. resistentes ao ITC assim como casos refratários às outras terapias convencionais, já foram descritos tanto em humanos quanto em felinos. A emergência de falha no tratamento com ITC é um alerta e reflete um cenário sombrio para o controle da esporotricose. A verificação de que a terbinafina demonstra, em alguns estudos boa atividade *in vitro* contra o *S. brasiliensis* pode

minimizar as consequências deste cenário (BORBA-SANTOS et al., 2015a; WALLER et al., 2020, 2021).

## 2.8 ESPOROTRICOSE EM ANIMAIS

Os felinos são a principal espécie envolvida na transmissão zoonótica da esporotricose e nas áreas endêmicas do Brasil o descontrole sobre a população de gatos possibilita a transmissão zoonótica sustentada e a expansão desta doença para outras áreas antes não afetadas (GREMIÃO et al., 2020; ROSSOW et al., 2020).

A esporotricose nos cães tem pouco potencial zoonótico possivelmente devido a escassez de estruturas fúngicas nas suas lesões na maioria dos casos mas apesar disto casos de esporotricose canina devem ser adequadamente tratados visto que a proximidade do homem com o cão pode favorecer a transmissão da doença (MASCARENHAS et al., 2018).

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever as características clínico-epidemiológicas e sociodemográficas, as espécies do clado patogênico *Sporothrix schenckii* e seu perfil de sensibilidade *in vitro* aos antifúngicos dos casos de esporotricose humana atendidos no HULW/UFPB no período de janeiro a dezembro de 2018.

### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características clínico-epidemiológicas (forma clínica, reação de hipersensibilidade, localização da lesão, contato ocupacional e domiciliar com plantas e/ou solo e contato ocupacional e domiciliar com animais, forma

de contato com animais, animal de contato) dos casos de esporotricose humana.

- Descrever as características sociodemográficas (sexo, idade, escolaridade, local de residência, renda mensal familiar e ocupação) dos casos de esporotricose humana.
- Identificar as espécies do clado patogênico *Sporothrix* isoladas dos casos de esporotricose humana baseado no sequenciamento parcial do gene da calmodulina (CAL).
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) para cetoconazol (CETO), fluconazol (FLC), ITC, voriconazol (VRC), TBF e AMB das espécies do clado patogênico *Sporothrix* isoladas dos casos de esporotricose humana.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 DESENHO DO ESTUDO, LOCAL E PERÍODO

Trata-se de um estudo observacional, prospectivo, descritivo, envolvendo os pacientes com diagnóstico de esporotricose atendidos no ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias do HULW/UFPB, na cidade de João Pessoa, capital do estado da Paraíba, no período de janeiro a dezembro de 2018. Também foi realizada revisão do prontuário dos pacientes com diagnóstico de esporotricose ocular. Descreve-se ainda como estudo experimental de base laboratorial, realizado por meio de testes de identificação molecular e susceptibilidade microbiológica.

O ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias deste hospital universitário é referência para o diagnóstico e acompanhamento de pacientes com doenças infecciosas e parasitárias de todo o estado da Paraíba dispondo de equipe multiprofissional para assistência ambulatorial desses pacientes além de contar com o apoio das demais unidades do HULW/UFPB para a realização de exames complementares. Desde janeiro de 2018, o ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias implantou turno de atendimento específico para acolhimento, confirmação do diagnóstico e prescrição do tratamento de pacientes com esporotricose.

## 4.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Pacientes com suspeita de esporotricose, encaminhados ou demandados espontaneamente para o ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias do HULW/UFPB, no período de janeiro a dezembro de 2018.

### 4.2.1 Critérios de inclusão

Pacientes com diagnóstico clínico de esporotricose atendidos no ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias do HULW/UFPB e com cultura micológica com isolamento de *Sporothrix* sp.

### 4.2.2 Critérios de exclusão

Pacientes com diagnóstico de esporotricose e cultura micológica realizada em outro serviço.

## 4.3 COLETA E PROCESSAMENTO DE DADOS

### 4.3.1 Método de coleta

Pacientes com suspeita clínica de esporotricose e pacientes com diagnóstico clínico e com cultura micológica realizada no HULW/UFPB com isolamento de *Sporothrix* sp encaminhados ao ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias foram avaliados pelo pesquisador e convidados a participar do projeto, após orientações e esclarecimentos quanto aos objetivos, benefícios e riscos do estudo. Os pacientes, ou seus responsáveis quando menores de 18 anos, que concordaram em participar, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido ou termo de assentimento para participante menor de idade, respectivamente (Apêndices A e B).

Todos os pacientes foram examinados pelo pesquisador/infectologista, mesmo aqueles cujo diagnóstico micológico já havia sido estabelecido e que já haviam iniciado tratamento, para caracterização da forma clínica de apresentação da esporotricose. Os pacientes que ainda não tinham coletado a cultura micológica foram encaminhados para a coleta de material das lesões no Setor de Micologia do Laboratório de Análises Clínicas do HULW/UFPB ou para a urgência oftalmológica do HULW/UFPB quando tinham comprometimento ocular.

Todos os pacientes foram acompanhados pelo pesquisador, do diagnóstico até a alta, com o devido registro das consultas no prontuário e eventualmente tiveram suas lesões fotografadas quando autorizado. Mesmo não sendo um estudo intervencionista, foi oferecido ao paciente a prescrição do tratamento, ou a avaliação do tratamento já prescrito, baseado em Orofino-Costa *et al.*, (2015). Foi considerada a prescrição de SSIK para crianças, quando não podiam deglutir cápsulas de ITC. A prescrição de SSIK para adultos foi realizada na impossibilidade do uso de ITC, quando da presença de interações medicamentosas ou outras contraindicações ao seu uso. Exames complementares como hemograma, função hepática e renal, lipidograma, proteína C reativa e sorologias para hepatites B e C e HIV, foram solicitados como parte do acompanhamento médico. Para a alta foi considerada a seguinte definição de cura clínica: lesão(ões) completamente cicatrizada(s), sem crostas, áreas infiltradas ou drenagem de secreção. No caso de envolvimento extra cutâneo, o desaparecimento de lesões pré-existentes nos sítios previamente acometidos.

Pacientes com envolvimento ocular foram referenciados para a urgência oftalmológica do HULW/UFPB para acompanhamento conjunto e receberam alta apenas quando da avaliação oftalmológica evidenciando resolução completa da lesão.

A coleta de dados foi realizada através da aplicação privativa, individual ou na presença do responsável, quando o participante era menor de idade, de um formulário contendo dados sociodemográficos e clínico-epidemiológicos. Revisão do prontuário dos pacientes com esporotricose ocular foi realizada para averiguação da dose inicial do tratamento e a necessidade de mudanças na dose ou do tratamento prescrito.

### 4.3.2 Instrumento de coleta de dados

Foi utilizada uma ficha de coleta de dados (Apêndice D) que contemplava as seguintes informações:

- a) Dados epidemiológicos e sociodemográficos do paciente;
- b) Informações quanto à forma clínica de apresentação e localização da(s) lesão(ões);
- c) Tratamento instituído.

### 4.3.3 Exame micológico

As amostras clínicas humanas como fragmentos, exsudatos ou escamas epidérmicas de lesões foram coletadas na urgência oftalmológica do HULW/UFPB, quando o paciente tinha comprometimento ocular, e/ou no serviço de micologia do HULW/UFPB, onde foram manipuladas para o diagnóstico laboratorial micológico através da realização de cultura.

As amostras clínicas foram semeadas (exsudato) ou inoculadas (fragmento de lesão e escamas epidérmicas) em pontos equidistantes, sob Agar Sabouraud Dextrose (ASD) adicionado de cloranfenicol (50mg/L) e mantidas à temperatura ambiente ( $TA = 28^{\circ}C \pm 2^{\circ}$ ) por até 7 dias. Após surgimento das colônias de aspecto sugestivo, normalmente de superfície enrugada, textura aveludada a membranosa e coloração branca ou acastanhada ou enegrecida, foram preparadas lâminas para observação de estruturas fúngicas do agente etiológico e quando necessário foi utilizada a técnica de microcultivo. A visualização de hifas septadas e hialinas e ramificações com conídios hialinos ou demáceos piriformes e denticulos no ápice em formato semelhantes ao das margaridas caracterizou micromorfologia compatível com *Sporothrix* sp. (RUDRAMURTHY; CHAKRABARTI, 2017).

#### 4.3.4 Definição das espécies

##### a) Identificação molecular

- Extração e quantificação de DNA

O protocolo de extração foi adaptado de Inácio *et al.*, (2016). Fragmentos de culturas com 7 dias de crescimento foram transferidos para tubos de extração de DNA contendo matriz de pérolas de vidro e 500µL do tampão de extração (CTAB 2%, NaCl 1.5 M, 100 mM de Tris-HCl, 20 mM de EDTA, polivinilpirrolidona 1%) previamente aquecido a 65°C. A amostra foi homogeneizada a 5.5 m/s por 30s em FastPrep® (BIO 101, Farmingdale, New York, USA) e incubada a 65 °C por 10 min. Em seguida, foi adicionado a cada tubo 650 µL de clorofórmio álcool-isoamilico (24:1) e o material centrifugado a 13000g por 10 min. Ao fim do processo, o sobrenadante foi transferido para tubos eppendorf, adicionando isopropanol gelado sendo a amostra mantida a -20°C por 30 min. Posteriormente, a amostra foi centrifugada (13000g por 10min), o sobrenadante desprezado e em seguida adicionado etanol a 70% aos tubos eppendorf contendo o DNA. Após essa etapa, os tubos foram centrifugados (13000g por 2 min), e mais uma vez desprezado o sobrenadante para secagem do DNA a 37°C em estufa. Ao final do processo, o DNA foi ressuspenso em 50 µl de água MiliQ autoclavada e mantido a 4°C até o momento das análises. O DNA foi quantificado através de eletroforese em gel de agarose a 1,5% em cuba contendo o tampão Tris-Acetato-EDTA (TAE) e submetidas a uma voltagem de 100 v por 20 min. Para isso, os produtos da extração foram montados em parafilme (5 µL do produto da extração, 2 µL GLB e 2 µL GelRed) utilizando o marcador Lambda DNA para quantificar o DNA extraído. Ao fim do processo, os produtos da extração foram lidos em transiluminador e fotografados.

- Sequenciamento parcial do gene calmodulina

A identificação molecular foi baseada na realização do sequenciamento das regiões genômicas da calmodulina (primers CL1- 5'-GA(AG)T(AT)CAAGGAGGCCTTCTC-3' e CL2A- 5'-TTTTTGCATCATGAGTTGGAC-3'). As reações de PCR foram realizadas em volumes finais de 12,5 µL contendo 7,45 µL de ddH<sub>2</sub>O, 1 µL de cada primer (5 pmol), 1,25 µL do tampão da PCR, 0,5 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0,25 µL de dNTP (10mM), 0,05 µL de Taq DNA polymerase 5 U (Invitrogen, Brasil) e 1 µL de DNA molde. As condições de PCR utilizadas consistiram das etapas de desnaturação inicial a 95°C por 10 min com 38 ciclos de desnaturação a 95°C por 1 min, anelamento a 55°C por 50 s, extensão a 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 10 min (MARIMON et al. 2007; OLIVEIRA et al., 2010).

Após a obtenção dos produtos da PCR, os fragmentos de DNA obtidos foram purificados utilizando o kit GenJET PCR Purification (Fermentas, UK) segundo recomendações do fabricante. O sequenciamento foi realizado na Plataforma de Sequenciamento LABCEN/CCB (UFPE) utilizando um sequenciador ABI 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems). As reações foram preparadas utilizando o kit BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems) segundo recomendações do fabricante. As sequências obtidas foram editadas pelo programa Sequencher 4.9 Genes Code Corporation para obtenção de arquivos fasta contendo as sequências consenso.

Os isolados foram identificados em nível de espécie através da busca por sequências similares depositadas no GenBank com auxílio da ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Essas análises forneceram dados suficientes para construção de um dendograma que mostrou o grau de similaridade entre os isolados de *Sporothrix* sp analisados (OLIVEIRA et al., 2011).

#### **4.3.5 Teste de susceptibilidade antifúngica**

- a) Sensibilidade antifúngica *in vitro*

Os testes de sensibilidade antifúngica *in vitro* frente aos agentes antifúngicos foram realizados no Laboratório de Diagnóstico em Doenças Tropicais da UFPE. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) seguiu o protocolo M38-A2 (CLSI, 2008). O meio de cultura utilizado foi o RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA) esterilizado em membranas de 0,22 µm (Millipore, Darmstadt, Alemanha), com L-glutamina, sem bicarbonato de sódio e pH 7,0±0,1 tamponado com ácido morfolino propano sulfônico (MOPS; 0,165 mol.L<sup>-1</sup>; Sigma-Aldrich).

Foram avaliadas fármacos utilizados para tratamento das diversas formas clínicas da esporotricose, dentre eles a AMB, ITC e TBF, além do FLC, CETO e VRC, em concentrações variando de 0,015 a 16 µg.mL<sup>-1</sup> para AMB, ITC e VRC e 0,125 a 64 µg.mL<sup>-1</sup> para TBF, FLC e CETO. As moléculas foram diluídas em Dimetil-Sulfóxido (DMSO). Os isolados de *Sporothrix* foram mantidos em BDA e incubados a 35°C durante sete dias. As suspensões dos isolados foram preparadas em solução salina (0,85g/L), e sua densidade foi ajustada de acordo com a escala 0.5 de MacFarland em 80% a 82% da transmitância utilizando um espectrofotômetro a 530nm. O volume do inóculo foi posteriormente diluído em RPMI 1640 para uma concentração de 2-5x10<sup>3</sup> céls.mL<sup>-1</sup>.

Para os testes de sensibilidade, foram utilizadas placas de microtitulação planas de 96 poços (TPP; Trasadingen, Suíça). O inóculo foi adicionado aos poços com os antifúngicos e as placas foram incubadas a 35°C, durante 48h; posteriormente foi procedida a leitura visual dos resultados para determinação da CIM frente aos antifúngicos testados, concomitantemente também foi realizada a leitura espectrofotométrica das microplacas em leitor de ELISA.

#### 4.4 DEFINIÇÃO DE TERMOS E CATEGORIZAÇÃO DE VARIÁVEIS

##### 4.4.1 Definição de termos

- a) Caso de esporotricose – Paciente apresentando lesão(ões) papulonodular(es) ou ulcerada(s) na pele ou comprometimento extra cutâneo com cultura micológica compatível com esporotricose.

- b) Cultura micológica – Foi considerada positiva quando evidenciado hifas septadas e hialinas e ramificações com conídios hialinos ou demáceos piriformes e denticulos no ápice em formato semelhantes ao das margaridas.
- c) Formas clínicas da esporotricose:
- Cutânea fixa – lesão única, papulonodular, geralmente semelhante ao cancro de inoculação, que pode ulcerar, fistulizar e drenar material purulento, sem disseminação linfática regional.
  - Linfocutânea – lesão geralmente nodular, no ponto de inoculação do fungo na pele, e uma série de nódulos que progridem ao longo do trajeto linfático, para cima ou para baixo, dependendo da localização anatômica, que podem ulcerar, fistulizar e cicatrizar.
  - Cutânea disseminada – lesões de aparência polimórficas disseminadas na pele todas surgindo ao mesmo tempo e sem disseminação sistêmica.
  - Disseminada, visceral ou extra cutânea – quando houve envolvimento visceral ou mucoso, acompanhado ou não de acometimento cutâneo.

#### 4.4.2 Definição de variáveis

- Variáveis sociodemográficas

Variáveis	Definição	Categorias
<b>Sexo</b>	Variável qualitativa definida pelo sexo biológico.	Masculino Feminino
<b>Idade</b>	Variável quantitativa contínua definida como a idade (em anos) auto-referida no momento da	< 18 anos ≥ 18 e < 65 anos ≥ 65 anos

	inclusão no estudo, categorizadas	
<b>Local de residência</b>	Variável qualitativa definida pelo município de origem.	João Pessoa Região Metropolitana de João Pessoa Interior
<b>Bairro</b>	Variável qualitativa definida pelo bairro do município de origem	
<b>Ocupação</b>	Profissão exercida ou atividade principal	Atividades Veterinárias Trabalhadores rurais Donas de casa Outros
<b>Nível de escolaridade</b>	Cumprimento de um determinado ciclo de estudos	Analfabeto Ensino básico Ensino superior
<b>Renda mensal familiar</b>	Quantidade, em salários-mínimos, recebida pela família mensalmente decorrente de trabalho assalariado ou aposentadoria ou outra fonte de renda	Nenhuma renda Até 1 salário-mínimo > 1 e ≤ 2 salários-mínimos > 2 e ≤ 3 salários-mínimos > 3 e ≤ 4 salários mínimos > 4 salários mínimos

- Variáveis quanto às características clínico-epidemiológicas

Variáveis	Definição	Categorias
-----------	-----------	------------

<b>Forma clínica da esporotricose</b>	Classificação clínica da esporotricose baseada no aspecto da lesão cutânea, no envolvimento linfático, de mucosas e de outros órgãos	Cutânea fixa Linfocutânea Cutânea disseminada Disseminada ou extra cutâneo
<b>Sítio(s) extra cutâneo(s)</b>	Acometimento extra cutâneo da esporotricose, como o acometimento de mucosa ou em outros órgãos internos	Nasal Ocular Osteoarticular Pulmonar SNC Outro
<b>Presença de reação de hipersensibilidade</b>	Presença de formas clínicas de hipersensibilidade	Eritema nodoso Eritema multiforme Artrite reativa Síndrome de Sweet
<b>Sítio anatômico da lesão</b>	Localização anatômica da(s) lesão(ões), descrita pelo pesquisador	Cabeça Tronco Membros superiores Membros inferiores
<b>Tratamento prescrito</b>	Medicamento prescrito ao paciente após diagnóstico clínico e/ou laboratorial	ITC SSIK AMB TRB
<b>Contato ocupacional com plantas ou solo</b>	Contato no ambiente de trabalho com plantas ou solo, relatado pelo próprio paciente	Sim Não
<b>Contato ocupacional com animais</b>	Contato no ambiente de trabalho com animais,	Sim Não

	relatado pelo próprio paciente	
<b>Com qual(is) animal(is) tem contato ocupacional</b>	Animal(is) com o(s) qual(is) tem contato no ambiente de trabalho	
<b>Contato domiciliar com plantas ou solo</b>	Contato intradomiciliar com plantas ou solo, relatado pelo próprio paciente	Sim Não
<b>Contato domiciliar com animais</b>	Contato intradomiciliar com animais, relatado pelo próprio paciente	Sim Não
<b>Com qual(is) animal(is) tem contato domiciliar</b>	Animal(is) com o(s) qual(is) tem contato no domicílio	

- Variáveis quanto à identificação molecular.

<b>Variável</b>	<b>Definição</b>	<b>Categorias</b>
<b>Definição da espécie do Complexo <i>Sporothrix</i></b>	Baseado na identificação genotípica pelo sequenciamento parcial do gene da CAL	<i>S. schenkii stricto senso</i> <i>S. brasiliensis</i> <i>S. luriei</i> <i>S. globosa</i> <i>S. mexicana</i> <i>S. pallida</i> <i>S. chilensis</i>

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de cada paciente foram revisados e transcritos para Microsoft Excel®. As análises descritivas foram realizadas com base nas frequências relativas e absolutas para as variáveis categóricas e a variável quantitativa foi descrita por média, mediana e desvio padrão.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ARTIGO 1 – ESPOROTRICOSE OCULAR TRANSMITIDA POR CÃO (Submetido à Revista Journal of Medical Mycology)

A Síndrome oculoglandular de Parinaud, caracterizada por uma conjuntivite granulomatosa com linfadenopatia adjacente, é uma doença ocular incomum causadas por diferentes patógenos, incluindo fungos do gênero *Sporothrix sp.* [1,2] A esporotricose é uma micose de implantação emergente em vários estados do Brasil, e sua transmissão a humanos está associada principalmente através de arranhões ou mordidas por gatos contaminados [3]. No entanto, a transmissão zoonótica por cães é rara. Aqui, relatamos esporotricose ocular em um jovem como síndrome oculoglandular de Parinaud causada por *Sporothrix brasiliensis* após mordedura de um cão contaminado.

O paciente era um homem, imunocompetente, de 25 anos natural da capital do estado da Paraíba, município de João Pessoa, que foi encaminhado em 19 de março de 2018, da Atenção Primária à Saúde para atendimento no ambulatório de infectologia de um hospital universitário público com história de mordida de cão no antebraço esquerdo há 03 meses. Setenta dias depois, o paciente apresentou nódulos no antebraço esquerdo (fig. 1A) com drenagem de secreção no local da mordedura, além do aparecimento de lesão ocular à direita (Fig. 1B e 1C). Ao exame, apresentava adenomegalia pré-auricular e submandibular direitas. Nódulo medial ao cotovelo esquerdo e lesão com drenagem de secreção purulenta no antebraço esquerdo. Na mesma data, foi avaliado no pronto-socorro oftalmológico, onde constatou-se por biomicroscopia hiperemia e presença de granulomas nas regiões inferior e superior da conjuntiva tarsal associada a secreção purulenta. Coletadas secreções da lesão do antebraço esquerdo e da lesão ocular para cultura para fungos e iniciado Itraconazol (ITZ) 200 mg/dia. As secreções foram semeadas em placas de ágar com sabouraud dextrose mais cloranfenicol, incubadas a 25°C, e os isoladas das secreções do antebraço e do olho foram obtidas após sete dias. As lâminas das culturas foram coradas com lactofenol azul de algodão e observadas ao microscópio de luz. O paciente retornou ao ambulatório de infectologia dez dias depois (29/03/18)

com resultado das culturas positivo para *Sporothrix sp.* (Fig. 1D), e o ITZ foi mantido. O isolado clínico foi cultivado em ágar batata dextrose (PDA; Oxoid, Hampshire, Reino Unido) e incubado a 25°C, para identificação por abordagem polifásica, que combinou caracterização morfológica e sequenciamento. O DNA foi extraído da fase micelial após sete dias das culturas cultivadas em PDA usando o kit de isolamento de DNA Promega (Wizard Genomic DNA Purification Kit) de acordo com as instruções do fabricante.

Os genes da Calmodulina foram amplificados por reação em cadeia da polimerase (PCR), conforme descrito por [4]. Em seguida, a análise BLAST foi realizada procurando sequências semelhantes depositadas no GenBank e o fungo foi identificado como *Sporothrix brasiliensis* e nomeado como 15PB. A relação filogenética entre nosso isolado foi avaliada por topologia de árvore com sequências de outras espécies de *Sporothrix sp.* depositadas no GenBank (AM116899; HQ426962; GU456632; AM747302; 47KP711816; JF970258; AM398396; KX590808). Nossa sequência foi depositada no banco de dados GenBank sob o número de acesso OP157197. O isolado clínico foi armazenado na coleção URM Cultura ISO 9001:2015 na Universidade Federal de Pernambuco. O teste de suscetibilidade antifúngica foi realizado por microdiluição em caldo de acordo com o protocolo CLSI M38-A2 [5] e mostrou que o agente etiológico em questão foi sensível à anfotericina B, itraconazol, cetoconazol e terbinafina, e altas concentrações inibitórias mínimas contra fluconazol e voriconazol. O paciente recebeu alta em boas condições clínicas.

No Brasil, a maioria dos pacientes diagnosticados com esporotricose teve contato prévio com gatos doentes por coçar ou morder. A transmissão por cães para humanos é rara por ser uma doença incomum neste animal doméstico, e por apresentar pequenas quantidades de células semelhantes a leveduras em tecidos ou secreções animais [6]. Casos de esporotricose em cães já foi relatada no Brasil, mas os profissionais de saúde e autoridades públicas ainda desconhecem sua importância para a cadeia de transmissão da esporotricose. Até onde sabemos, este é o primeiro caso relatado de síndrome oculoglandular de Parinaud associada à esporotricose transmitida por cão.



Figura 1 Paciente imunocompetente com esporotricose ocular como síndrome oculoglandular Parinaud transmitida por mordida de cão. Lesão ulcerada na pele do antebraço esquerdo no local da mordida (1A). Edema periorbitário à direita (1B). Lesão granulomatosa na pálpebra inferior do olho direito (1C). Fotomicografia de *Sporothrix brasiliensis* isolado de secreção ocular e corado com lactofenol azul algodão (1D; ampliação 400x).

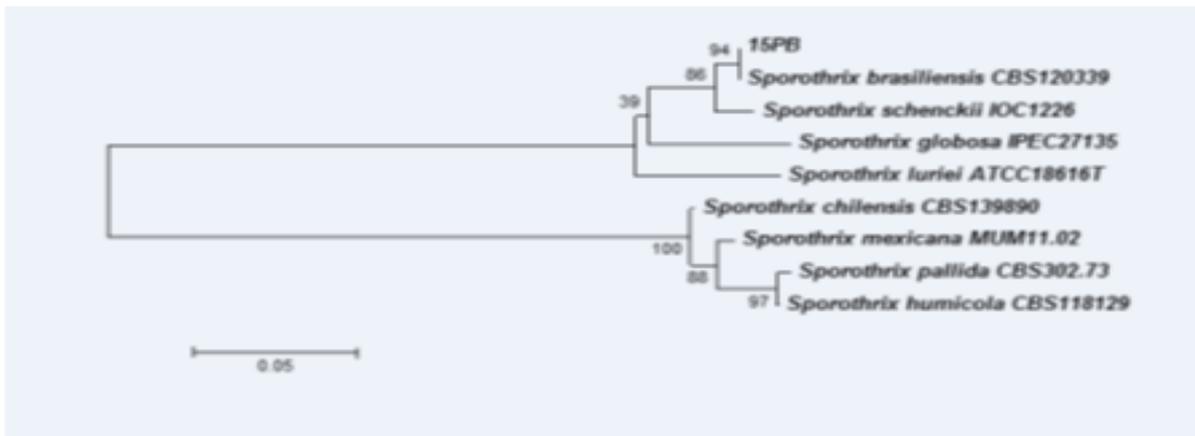


Figura 2: Árvore filogenética mostrando a relação do isolado clínico de 15PB com outras espécies de *Sporothrix sp.* O método estatístico de máxima verossimilhança, que expressa percentualmente a similaridade do isolado clínico com demais cepas, foi obtido através da análise de Bootstrap, replicada 1.000x, e mostrada nos ramos. Havia 214 posições no conjunto de dados final. A barra de escala indica substituições de nucleotídeos por sítio.

#### Financiamento

Esta pesquisa foi parcialmente financiada pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco FACEPE (outorga APQ-1061-4.01/21).

#### Declarações

#### Conflito de interesse

O autor declara que não tem conflito de interesse.

#### Declaração Ética

Este relato de caso foi escrito de acordo com a Declaração de Helsinque e o checklist instituído pela Mycopathologia para garantir os princípios éticos.

## Referências

- [1] Ramírez-Soto MC, Tirado-Sánchez A, Bonifaz A. Ocular sporotrichosis. *Journal of Fungi*. 2021;7(11):1–20. doi.org/10.3390/jof7110951.
- [2] Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, Da Silva AB, Inácio CP, de Lima-Neto RG, de Andrade MCL, Magalhães OMC, Dos Santos FAG, Neves RP. High-Virulence Cat-Transmitted Ocular Sporotrichosis. *Mycopathologia*. 2019;184(4):547-549. doi: 10.1007/s11046-019-00347-6.
- [3] Silva CE, Valeriano CA, Ferraz CE, Neves RP, Oliveira MM, Silva JC, Magalhães V, Lima-Neto RG. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Future Microbiol*. 2021;16:1371-1379. doi: 10.2217/fmb-2021-0142.
- [4] Oliveira MME, Maifrede SM, Ribeiro MA, Zancopé-Oliveira RM. Molecular identification of *Sporothrix* species involved in the first familial outbreak of sporotrichosis in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108:936-938.
- [5] CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi Second Edition, 2008. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute.
- [6] Boechat JS, Pereira SA, de Sá Machado AC, Viana PG, Almeida-Paes R, Zancopé-Oliveira RM, Gremião IDF, de Oliveira MME. Canine sporotrichosis: polyphasic taxonomy and antifungal susceptibility profiles of *Sporothrix* species in an endemic area in Brazil. *Braz J Microbiol*. 2021;52(1):135-143. doi:10.1007/s42770-020-00328-8.

## 5.2 ARTIGO 2 – ESPOROTRICOSE OCULAR: UMA SÉRIE DE 7 CASOS (Submetido à Revista The American Journal of Tropical Medicine & Hygiene)

### Introdução

A esporotricose é uma micose subaguda a crônica de humanos e animais, emergente em vários estados do Brasil, e sua transmissão para humanos associada principalmente a gatos contaminados através de arranhões ou mordidas.<sup>1</sup> O potencial zoonótico da esporotricose tem sido um problema de saúde pública com vários surtos ocorrendo no Brasil, e *Sporothrix brasiliensis* como o agente mais prevalente isolado de humanos e gatos.<sup>2,3,4</sup>

As apresentações clínicas da esporotricose podem ser divididas em cutâneas e extra cutâneas. A apresentação cutânea é a apresentação mais comum e tem três variantes: cutânea fixa, cutânea linfática e cutânea disseminada. As formas extracutâneas são incomuns e envolvem na maioria dos casos ossos e articulações causando periostite, osteólise e tenossinovite como extensão da doença cutânea. O envolvimento pulmonar pode ser agudo ou crônico.<sup>5</sup>

Casos de esporotricose ocular são raros, mas relatos têm sido relacionados às áreas hiperendêmicas desta infecção fúngica. No entanto, sua classificação depende de critérios anatômicos. É notável que a forma cutânea seja a forma mais frequente, mas a apresentação ocular tem sido cada vez mais diagnosticada em áreas epidêmicas.<sup>6,7</sup>

A primeira escolha para o tratamento da esporotricose cutânea é o itraconazol, e a terbinafina é uma alternativa segura e eficaz quando o itraconazol é contraindicado. Solução saturada de iodeto de potássio (SSKI) foi o primeiro tratamento para esporotricose através de sua ação imunológica, atuando na quebra de granulomas, quimiotaxia de neutrófilos, além da fagocitose e inibição do *Sporothrix*.<sup>8</sup>

Até o momento, não temos conhecimento sobre a epidemiologia, achados clínicos e desfechos da esporotricose ocular no nordeste do Brasil, a mais nova área epidêmica. Com isto, nós apresentamos uma série de sete casos de esporotricose ocular com envolvimento de anexos oculares sem trauma com tratamento antifúngico bem sucedido, acompanhados em um Hospital Universitário Público da Paraíba, Nordeste do Brasil.

## Métodos

### Local e desenho do estudo

Este foi um estudo observacional, prospectivo e descritivo baseado em consultas médicas e no acompanhamento de 148 pacientes encaminhados ao ambulatório de doenças infecciosas de um hospital público terciário de janeiro a dezembro de 2018 (12 meses). O estudo foi realizado em João Pessoa, capital do estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Este estudo recebeu aprovação ética da Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, sob o código CAAE 74157817.0.0000.8069.

### População do estudo

De 182 pacientes, a esporotricose foi confirmada por exames clínicos e microbiológicos em 148. Destes, sete apresentavam conjuntivite granulomatosa unilateral associada a secreção purulenta, e em três, linfadenopatia adjacente (pré-auricular e/ou submandibular) compatível com síndrome oculoglandular de Parinaud. Além disso, todos os pacientes tiveram contato com gatos doentes. Coletaram-se dados referentes à idade, sexo, apresentação clínica da esporotricose, distribuição das lesões, tratamento instituído e achados laboratoriais.

### Diagnóstico laboratorial micológico

Amostras biológicas foram coletadas das regiões afetadas por meio de swab de secreções. Foi realizada microscopia direta com hidróxido de potássio a 20% e coloração panóptica das secreções. As secreções oculares foram semeadas em placas de ágar Sabouraud dextrose e incubadas por 84 até 15 dias a 25-28 °C para obter o isolado clínico em cultura. As culturas de lâminas foram coradas com lactofenol azul de algodão e observado ao microscópio de luz.<sup>9</sup>

### Análises laboratoriais complementares

O teste de suscetibilidade antifúngica foi realizado por microdiluição em caldo de acordo com CLSI M38-A2,<sup>10</sup> e a identificação genômica foi alcançada por extração de DNA da fase micelial, como descrito anteriormente. O sequenciamento parcial do

gene da calmodulina foi realizado e a análise BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)) foi realizada procurando por sequências semelhantes depositadas no GenBank.<sup>1</sup>

## Resultados

Paciente 1 - Paciente de 15 anos, do sexo feminino, estudante, procedente da cidade de João Pessoa, capital do estado da Paraíba (PB), que procurou atendimento de saúde na emergência oftalmológica em 24/07/2018 com história de nodulação em pálpebra inferior e conjuntiva bulbar do olho direito há mais de 25 dias sem história de trauma, mas contato direto com gato doméstico. A biomicroscopia mostrou hordéolos externos e internos, com secreção e coleção inflamatória em conjuntiva bulbar. Foram prescritos colírios de cefalexina e ciprofloxacina. A paciente retornou em 26/07/2018 com a lesão apresentando aspecto granulomatoso. Um fragmento da conjuntiva bulbar foi coletado e enviadas para cultura com isolamento de *Sporothrix* sp. Foi iniciado Itraconazol (ITZ) 200 mg/dia no ambulatório de oftalmologia em 10/08/2018 e a paciente foi encaminhada ao ambulatório de doenças infecciosas para acompanhamento. Evoluiu com melhora da lesão ocular após três meses de tratamento, e recebeu alta sem intercorrências e resolução completa da lesão.

Paciente 2 - Paciente de 13 anos, do sexo masculino, estudante, procedente de João Pessoa-PB, que relatou história de contato com exsudato de ferimento de pele de gato, e posterior aparecimento de lesão no olho direito há 02 meses quando procurou atendimento na emergência oftalmológica. Foi realizada cultura de swab da lesão ocular em 14/08/2018, que foi positiva para *Sporothrix* sp. quando iniciou ITZ, 100 mg/dia. Posteriormente, foi encaminhado para o ambulatório de doenças infecciosas em 02/10/2018, e a dose de 100 mg/dia foi mantida após até a alta.

Paciente 3 - Paciente de 28 anos, do sexo feminino, dona de casa, procedente de Santa Rita-PB (região metropolitana de João Pessoa), foi atendida no ambulatório de infectologia em 04/12/2018 com histórico de contato com feridas de gato e posterior aparecimento de lesão na mão esquerda (Figura 1A) acompanhada de nódulos subcutâneos no antebraço esquerdo (Figura 1B), e seguidos pelo aparecimento de lesão na conjuntiva tarsal e bulbar do olho direito por cerca de 4 meses (Figuras 1C e 1D). Avaliada na emergência oftalmológica quando foram coletadas para cultura secreção da lesão na mão esquerda e olho direito, que revelou o crescimento de

*Sporothrix* sp. em ambos. Nesta ocasião, iniciou o tratamento com ITZ aos 200 mg/dia, que foi mantido até a alta.

Paciente 4 - Paciente de 24 anos, do sexo masculino, funcionário público admitido na enfermaria da clínica de doenças infecciosas em 18/04/18 com lesão ulcerada no antebraço esquerdo, que surgiu há um mês atrás após arranhão por um gato doméstico e nódulos dolorosos no trajeto linfático do mesmo lado (Figura 1E) associado a linfadenopatia submandibular e cervical esquerda (Figura 1F), lacrimejamento e lesões nodulares no olho esquerdo (Figura 1G). Apresentava ainda artralgia nos cotovelos, joelhos e tornozelos, além de dores no calcanhar. À biomicroscopia do olho esquerdo apresentava um nódulo na região do saco lacrimal, dolorosa à palpação e inflamação. Cultura de secreção ocular do olho esquerdo revelou crescimento de *Sporothrix* sp. Recebeu alta do internamento hospitalar com melhora clínica em 24/04/18 com ITZ 400 mg/dia, que foi reduzido para 200 mg/dia na primeira consulta no ambulatório de doenças infecciosas em 14/05/18. Em 21/07/18, ele recebeu alta do ambulatório após três meses de tratamento com ITZ e resolução completa da infecção fúngica.

Paciente 5 - Paciente de 8 anos de idade, do sexo feminino, estudante, procedente de João Pessoa-PB foi atendida na emergência oftalmológica em 19/07/18 com hiperemia e secreção em olho direito associada à adenomegalia pré-auricular que surgiu há cerca de 30 dias, sem associação com trauma. No entanto, a criança tinha histórico de contato direto com o gato da família. Biomicroscopia do olho direito revelou hiperemia e granulomas na região superior e inferior da conjuntiva tarsal. No atendimento médico, foi coletada cultura de secreção conjuntival do olho direito que isolou *Sporothrix* sp. Foi avaliada no ambulatório de doenças infecciosas em 08/07/18 quando foi iniciada solução saturada de iodeto de potássio (SSKI; 1 g/ml) em doses fracionadas crescentes de 8/8 h até atingir 3 g/dia. Evoluiu com queixas dispépticas ao tentar manter a dose em 3 g/dia, sendo então reduzida para 1,5 g/dia e depois aumentada para 2,25 g/dia com boa tolerabilidade. Após 03 meses de tratamento, teve alta em 20/11/18 com resolução completa das lesões.

Paciente 6 - Paciente de 50 anos, do sexo feminino, dona de casa, procedente de João Pessoa/PB que foi atendida na emergência oftalmológica em 01/11/18 com

queixa de ardência e lacrimejamento no olho direito por aproximadamente 90 dias. A paciente não relatou trauma, mas história de contato direto com um gato doméstico. O exame oftalmológico do olho direito mostrou hiperemia conjuntival e secreção em conjuntiva tarsal e granuloma em conjuntiva palpebral inferior. Cultura de raspagem da lesão em conjuntiva palpebral do olho direito de 05/11/18 foi positiva para *Sporothrix* sp. e em 08/11/18 foi prescrito ITZ 200 mg/dia. Completou 06 meses de tratamento em 08/05/19 com resolução completa da lesão ocular e recebeu alta do ambulatório de doenças infecciosas em 07/08/19.

Paciente 7 - Paciente de 27 anos, do sexo feminino, desempregada, procedente de João Pessoa-PB sem histórico de contato com animais ou trauma. Foi avaliada em 11/12/18 no ambulatório de doenças infecciosas com relato de lesão granulomatosa em olho direito associada a hiperemia conjuntival e linfonodomegalia pré-auricular e cervical por cerca de 60 dias, sem relação com trauma ou contato com animais (Figura H e I). Ao exame, apresentava lesão granulomatosa em conjuntiva palpebral inferior do olho direito associada a linfonodo aumentado em região pré-auricular direita. Nesta consulta médica, a paciente apresentou cultura de swab de lesão ocular de 06/12/18 positiva para *Sporothrix* sp. Foi iniciado ITZ 200 mg/dia. Apresentou melhora significativa da lesão ocular, e após 10 semanas a dose do ITZ foi reduzida para 100 mg/dia e mantida até completar 4 meses. Recebeu alta em 10/06/19 após avaliação oftalmológica que confirmou resolução completa da lesão ocular na biomicroscopia.

## **Discussão**

Descrevemos uma série de sete casos de esporotricose ocular com comprometimento de anexos, e em três destes casos, a presença da síndrome oculoglandular de Parinaud.<sup>12,13,14</sup> Importante ressaltar que nossa observação corrobora os dados da literatura com a esporotricose ocular predominando em pacientes do sexo feminino, com cinco pacientes do sexo feminino.<sup>15,16,17</sup> O acometimento nesta série de casos de pacientes com média de idade de 23,6 anos, reforça a importância da esporotricose ocular entre crianças e adultos jovens, mais expostos ao fungo devido ao maior contato “face a face” com o animal doente.<sup>6,18</sup>

A expansão geográfica da esporotricose zoonótica por *S. brasiliensis*, principalmente através do gato, vem acontecendo no Sul e Sudeste do Brasil nas

últimas décadas.<sup>19</sup> Atualmente, o deslocamento da epidemia para o Nordeste brasileiro,<sup>4,20</sup> tornou possível identificar casos de esporotricose extra cutânea considerados raros, como a esporotricose ocular.<sup>7,9</sup> Embora a transmissão zoonótica da esporotricose esteja relacionada à mordida e arranhadura por gatos infectados,<sup>3,21</sup> nenhum dos pacientes deste estudo tinha história prévia de trauma, favorecendo a hipótese de que pode ocorrer autoinoculação, pelo manuseio de lesões de pele em outras áreas do corpo. A presença da forma linfocutânea nos pacientes 3 e 4 pode favorecer a infecção ocular. Além disso, a identificação de *S. brasiliensis* nos casos com caracterização genômica enfatiza a possibilidade de inoculação não traumática do fungo.<sup>22</sup>

A esporotricose ocular pode se apresentar como uma infecção intraocular ou uma infecção dos anexos olho quando acomete pálpebras, conjuntiva e sistema lacrimal.<sup>7,23</sup> Na conjuntivite granulomatosa, observam-se nódulos amarelados e de superfície lisa e brilhante agrupados envolvendo a conjuntiva tarsal e/ou bulbar associados a hiperemia conjuntival e/ou exsudato purulento<sup>17</sup> encontrada em seis dos sete pacientes. Inicialmente, as lesões nodulares causadas pela conjuntivite granulomatosa pode ser confundida com hordéolo ou calázio, conforme apresentado pelo paciente 1, podendo atrasar o diagnóstico e a terapia apropriada.<sup>17,24</sup> Quando a conjuntivite granulomatosa é acompanhada de adenomegalia pré-auricular e submandibular ipsilateral, como observado nos pacientes 4, 5 e 7, fica caracterizada a síndrome oculoglandular de Parinaud.<sup>12</sup> Embora a síndrome oculoglandular de Parinaud seja classicamente associada à infecção por *Bartonella henselae*<sup>25</sup>, o diagnóstico de esporotricose ocular pode ser facilitado em áreas endêmicas de esporotricose.

A dacriocistite é uma infecção do sistema lacrimal infrequente devido a esporotricose.<sup>7</sup> Em um estudo retrospectivo recente de 120 casos de esporotricose ocular de 2007 a 2017, no estado do Rio de Janeiro, Brasil, a dacriocistite foi identificada em 7,5% dos 203 casos.<sup>18</sup> Pode apresentar outras manifestações clínicas, como conjuntivite e formas linfocutâneas<sup>24,26</sup> e evoluir com sequelas.<sup>27</sup> Apesar do paciente 4 ter apresentado lesão nodular em região do saco lacrimal, não evoluiu para quadro clássico de dacriocistite caracterizado por eritema, edema e uma área dolorosa de endurecimento que cobre o saco nasolacrimal logo abaixo do limite anatômico do ligamento cantal medial.<sup>26</sup>

As reações de hipersensibilidade na esporotricose estão associadas à transmissão zoonótica de *S. brasiliensis* e pode se manifestar como eritema nodoso, eritema multiforme, síndrome de Sweet e artrite reativa.<sup>2,28</sup> A artrite reativa geralmente desaparece com o tratamento específico para esporotricose, mas o uso de corticosteróides pode ser necessário nas outras reações de hipersensibilidade.<sup>18,28,29</sup> Observamos provável artrite reativa no paciente 4, que apresentava poliartralgia e entesites do calcâneo esquerdo, que logo desapareceram com o uso de Itraconazol.

O diagnóstico laboratorial da esporotricose inclui o exame direto, o exame histopatológico, a cultura micológica e a identificação molecular das espécies.<sup>30</sup> Como outras apresentações clínicas, na esporotricose ocular o padrão ouro para diagnóstico é a cultura de espécimes clínicos, como fragmentos de tecidos e secreções de lesões, das quais é possível observar conidióforos delicados e conídios com arranjo simpodial com aparência floral (Figura 1J). Embora os exames histopatológicos sejam utilizadas, a biópsia é um procedimento invasivo propenso a complicações, e os achados histopatológicos podem ser inespecíficos imitando outras condições granulomatosas.<sup>15,24,30,31</sup> Em nosso estudo, os pacientes 2, 3, 4, 5 e 7 foram submetidos à coleta de swab de secreção ou de lesão ocular, enquanto os pacientes 1 e 6 foram submetidos a coleta de fragmento de lesão da conjuntiva bulbar e tarsal, respectivamente, para realização de cultura e em todas foi identificado *Sporothrix* sp.

Apesar da identificação molecular das espécies de *Sporothrix* ter importantes implicações para a escolha da terapia antifúngica,<sup>32</sup> essa abordagem ganhou atenção especial na atual disseminação da esporotricose para a região Nordeste do Brasil.<sup>1,20,33</sup> No entanto, não é disponível na maioria dos hospitais.<sup>24</sup> A identificação molecular de *S. brasiliensis* em 3 de nossos pacientes (pacientes 1, 2 e 3) corrobora dados recentes da literatura que apontam esta espécie como principal causadora de esporotricose nos estados de Pernambuco e Rio Grande do Norte, vizinhos ao estado da Paraíba, local de residência de todos os pacientes desta série de casos.

Assim como a esporotricose cutânea, o tratamento da esporotricose ocular é realizado por via oral, e nas mesmas doses com ITZ, terbinafina ou com SSKI. ITZ é o tratamento de escolha em uma dose de 100 a 400 mg/dia, geralmente por 3 a 6 meses, apesar de seu alto custo.<sup>15,34</sup> SSKI mostra bons resultados, mas suas principais desvantagens são os efeitos adversos e baixa tolerabilidade.<sup>18,24</sup> Quando há envolvimento intraocular, anfotericina B administrada por via parenteral isolada ou

em combinação com agentes antifúngicos orais é o tratamento mais comumente usado<sup>7</sup> Em nossa série de casos, seis pacientes foram tratados com ITZ e apenas uma criança de 8 anos foi tratada com SSKI. Ao contrário do estudo de Ramírez-Soto<sup>35</sup>, quando 20 de 21 pacientes foram tratados com SSKI. Nossa paciente teve a dose de SSKI reduzida após o aparecimento de eventos adversos, o que não prejudicou o tratamento, e promoveu a cura clínica da lesão ocular. A dose de ITZ variou de 100 a 200 mg/dia e apenas um dos pacientes iniciou tratamento com 400 mg/dia, que foi reduzido para 200 mg/dia durante o acompanhamento ambulatorial.

Apesar do número limitado de pacientes, a cicatrização sem sequelas oculares em todos é bastante encorajador. Por outro lado, Arinelle e cols.<sup>18</sup> identificaram sequelas em 22,5% dos pacientes em uma série de 120 casos de esporotricose ocular.

Embora os testes de suscetibilidade antifúngica ainda sejam limitados, esse conhecimento torna-se cada vez mais necessários devido às cepas clínicas de *Sporothrix* que têm demonstrado a capacidade de desenvolver resistência aos antifúngicos convencionais.<sup>36</sup> As altas concentrações inibitórias contra FLZ e VRZ entre as três cepas geneticamente identificadas enfatiza a orientação de não as usar no tratamento da esporotricose. No entanto, a suscetibilidade a ITZ e TBF das mesmas cepas aponta à manutenção desses antifúngicos como agentes terapêuticos de primeira linha para o tratamento da esporotricose ocular, de acordo com a literatura.<sup>1,4</sup> Embora as cepas clínicas de *Sporothrix* tenham apresentado baixas concentrações inibitórias mínimas para CETO (Tabela 1), sua biodisponibilidade é menor do que a do ITZ. Além disso, destaca-se a detecção de resistência ao Amph B em uma dessas cepas. No entanto, o significado dessa resistência *in vitro* precisa ser melhor compreendido.

## **Conclusão**

A esporotricose é uma infecção fúngica de amplo espectro clínico que apresenta um comportamento de polimorfismo. Manifestações incomuns da doença podem ser um desafio na área médica assistencial. Portanto, este estudo recomenda que a esporotricose deve ser considerada como hipótese diagnóstica na conjuntivite granulomatosa. Embora geralmente não haja sequelas oculares a longo prazo se a

esporotricose ocular for tratada em tempo hábil, pode causar comodidades e requerer várias consultas médicas.



Figura 1. (A) lesões ulceradas na mão esquerda acompanhadas de (B) nódulos no antebraço esquerdo; (C) Lesão na conjuntiva tarsal e (D) na pálpebra superior do olho direito; (E) nódulos linfáticos dolorosos à esquerda e (F) linfadenopatia submandibular do mesmo lado; (G) olhos lacrimejantes e lesões nodulares no olho esquerdo; (H e I) lesão granulomatosa em pálpebra inferior do olho direito; (J) micromorfologia da colônia cultivada em ágar batata dextrose por 15 dias a 25°C mostrando filamentos miceliais septados, conidióforos delicados e conídios dispostos simpodialmente com arranjos florais (lactofenol azul de algodão 1.000x).

Tabela 1. Concentração inibitória mínima em µg/mL de três isolados de *Sporothrix brasiliensis* relacionado à esporotricose ocular, e identificado pelo sequenciamento parcial da calmodulina, contra drogas antifúngicas.

Caso (isolado)	Número de adesão no GenBank	Anfo B	ITZ	FLZ	VRZ	CTZ	TBF
Paciente 1	OP094679	4	1	≥ 64	4	0,125	0,125
Paciente 2	OP094680	0,5	0,06	32	2	0,125	0,125
Paciente 3	OP094681	0,06	0,25	≥ 64	4	0,25	0,125

Anfo B, anfotericina B; ITZ, itraconazol; FLZ, fluconazol; VRZ, voriconazol, CTZ, cetoconazol e TBF, terbinafina.

#### Referências

1. Silva CE, Valeriano CAT, Ferraz CE, Neves RP, Oliveira MME, Silva JCAL, Magalhães V, Lima-Neto RG, 2021. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Future Microbiol* 16: 1371–1379.
2. Almeida-Paes R, Oliveira MME, Freitas DFS, Valle ACF, Zancopé-Oliveira RM, Gutierrez-Galhardo MC, 2014. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* Is Associated with Atypical Clinical Presentations. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e3094.
3. Gremião ID, Miranda LH, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA, 2017. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. *PLoS Pathog* 13: 2–8.
4. Valeriano CAT, Ferraz CE, Oliveira MME, Inácio CP, Oliveira EP, Lacerda AM, Neves RP, Lima-Neto RG, 2020. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic area: Case series in the northeast of Brazil. *JAAD Case Rep* 6: 988–992.

5. Arenas R, Sánchez-Cardenas CD, Ramirez-Hobak L, Arriaga LFR, Memije MEV, 2018. Sporotrichosis: From KOH to molecular biology. *J Fungi* 4: 1–10.
6. Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Cognialli R, Lustosa BPR, Vicente VA, Ramírez-Marín. HA, 2022. Sporotrichosis in Children: Case series and Narrative Review. *Curr Fungal Infect Rep* 16: 33–46.
7. Ramírez-Soto MC, Tirado-Sánchez A, Bonifaz A, 2021. Ocular sporotrichosis. *J Fungi* 7: 1–20.
8. Lyra MR, Sokoloski V, de Macedo PM, Azevedo ACP, 2021. Sporotrichosis refractory to conventional treatment: therapeutic success with potassium iodide. *An Bras Dermatol* 96: 231–233.
9. Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, da Silva AB, Inácio CP, Lima-Neto RG, de Andrade M, Magalhães O, dos Santos F, Neves RP, 2019. High-Virulence Cat-Transmitted Ocular Sporotrichosis. *Mycopathologia* 184: 547–549
10. CLSI, 2008. CLSI, 2011. Reference Method For Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing Of Filamentous Fungi: Approved Standard - Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
11. LIMA IMF, Ferraz CE, Lima-Neto RG, Takano DM, 2020. Case Report: Sweet Syndrome in Patients with Sporotrichosis: A 10-Case Series. *Am J Trop Med Hyg.* 103: 2533-2538.
12. de Abreu Ribeiro AS, Bisol T, Menezes MS, 2010. Síndrome Oculoglandular de Parinaud causada por esporotricose. *Rev Bras Oftalmol* 69: 317–322.
13. Ferreira CP, Nery JA, de Almeida AC, Ferreira LC, Corte-Real S, Conceição-Silva F, 2014. Parinaud's oculoglandular syndrome associated with *Sporothrix schenckii*. *IDCases* 1: 38–39.
14. Madureira LS, Gatti RF, Prohmann CM, Sanmiguel J, de Almeida MTG, Mattar FRO, Antonio JR, 2018. Síndrome Oculoglandular de Parinaud Causada por *Sporothrix schenckii*. *Rev SPDV* 76: 429-433.

15. Ramírez-Oliveros JF, Schechtman RC, de Vries HJ, Lora L, Arinelli AC, Nery JAC, Freitas DFS, 18. Arinelli A, Aleixo A, Freitas D, do Valle A, Almeida-Paes R, Nobre Guimarães AL, Oliveira R, Gutierrez-Galhardo MC, Curi A, 2022. Ocular Manifestations of Sporotrichosis in a Hyperendemic Region in Brazil: Description of a Series of 120 Cases. *Ocul Immunol Inflamm* 1–9.
19. Poester VR, Mattei AS, Madrid IM, Pereira J, Klafke GB, Sanchotene KO, Brandolt TM, Xavier MO, 2018. Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic? *Zoonoses and public health* 65: 815–821.
20. de Oliveira Bento A, de Sena Costa AS, Lima SL, do Monte Alves M, de Azevedo Melo AS, Rodrigues AM, da Silva-Rocha WP, Milan EP, Chaves GM. 2021. The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. *PLoS Negl Trop Dis* 15: e0009693.
21. Paiva MT et al, 2020. Spatial association between sporotrichosis in cats and in human during a Brazilian epidemics. *Prev Vet Med* 183: 105125.
22. Schubach A et al, 2005. Primary conjunctival sporotrichosis: Two cases from a zoonotic epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. *Cornea* 24: 491–493.
23. Aidar MN, Rebeschini BM, Mata C, Borges TC, Araújo M, 2022. The importance of considering the possibility of ocular sporotrichosis in areas with high incidence rates of sporotrichosis. *Arq Bras Oftalmol* 86: 1–4.
24. Gameiro Filho AR, Estacia CT, Gameiro RR, de Mattos Fonseca Vieira L, Socci da Costa D, 2020. Ocular and cutaneous sporotrichosis. *Am J Ophthalmol Case Rep* 20: 100885.
25. Galindo-Bocero J, Sánchez-García S, Álvarez-Coronado M, Rozas-Reyes P, 2017. Síndrome oculoglandular de Parinaud: a propósito de un caso. *Arch Soc Esp Oftalmol* 92: 37–39, 2017.
26. Freitas DF, Lima IA, Curi CL, Jordão L, Zancopé-Oliveira RM, Valle AC, Galhardo MC, Curi AL, 2014. Acute dacryocystitis: Another clinical manifestation of sporotrichosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 109: 262–264.

27. de Macedo PM, Sztajnbok DC, Camargo ZP, Rodrigues AM, Lopes-Bezerra LM, Bernardes-Engemann AR, Orofino-Costa R, 2015. Dacryocystitis due to *Sporothrix brasiliensis*: A case report of a successful clinical and serological outcome with low-dose potassium iodide treatment and oculoplastic surgery. *Br J Dermatol* 172: 1116–1119.
28. Orofino-Costa R, Macedo PM, Rodrigues AM, Bernardes-Engemann AR, 2017. Sporotrichosis: An update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. *An Bras Dermatol* 92: 606–620.
29. Orofino-Costa R, Bóia MN, Magalhães GA, Damasco PS, Bernardes-Engemann AR, Benvenuto F, Silva IC, Lopes-Bezerra LM, 2010. Arthritis as a hypersensitivity reaction in a case of sporotrichosis transmitted by a sick cat: Clinical and serological follow up of 13 months. *Mycoses* 53: 81–83.
30. Zhang M, Li F, Li R, Gong J, Zhao F, 2019. Fast diagnosis of sporotrichosis caused by *sporothrix globosa*, *Sporothrix schenckii*, and *Sporothrix brasiliensis* based on multiplex real-time PCR. *PLoS Negl Trop Dis* 13: e0007219.
31. Zhang YQ, Xu XG, Zhang M, Jiang P, Zhou XY, Li ZZ, Zhang MF, 2011. Sporotrichosis: Clinical and histopathological manifestations. *Am J Dermatopathol* 33: 296–302.
32. Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP, 2015. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. *PLoS Negl Trop Dis* 9: e0004190.
33. Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP, 2016. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. *PLoS Pathog* 12: e1005638.
34. Liborio Neto AO, Caetano TR, Gervasio NHP, Carneiro RC, 2019. Conjunctival and bulbar sporotrichosis as Parinaud's oculoglandular syndrome acquired by blood inoculation. *GMS Ophthalmol Cases* 11:Doc02.
35. Ramírez-Soto MC, 2015. Sporotrichosis: The Story of an Endemic Region in Peru over 28 Years (1985 to 2012). *PLoS One*, 10(6):e0127924.

36. Waller SB, Dalla Lana DF, Quatrin PM, Ferreira MRA, Fuentefria AM, Mezzari A, 2021. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. *Braz J Microbiol* 52(1):73-80.

### 5.3 ARTIGO 3 – ESPOROTRICOSE HUMANA EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO NORDESTE BRASILEIRO

(Proposta de submissão para o periódico: Medical Mycology)

**Resumo** A esporotricose é uma micose subcutânea, causada por fungos do clado patogênico *Sporothrix* distribuída em todo o mundo, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, e que no Brasil tem apresentado intensa expansão geográfica ao passo que a transmissão zoonótica se consolidou como a principal rota responsável por surtos nas áreas endêmicas. O trabalho tem como objetivo descrever as características sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas dos casos de esporotricose humana na Paraíba, Nordeste do Brasil, diagnosticados no período de janeiro à dezembro de 2018, identificar genotipicamente as espécies e determinar a sensibilidade *in vitro* aos principais antifúngicos disponíveis para o tratamento. Trata-se de um estudo prospectivo descritivo que incluiu 148 pacientes com esporotricose acompanhados no ambulatório de referência em doenças infecciosas e parasitárias de um hospital universitário do nordeste brasileiro. A maioria dos pacientes era do sexo feminino (59,4%). A idade dos pacientes variou de 1 a 85 anos. Declararam renda familiar mensal de até um salário-mínimo 46 (31,1%) pacientes, com 135 (91,2%) relatando algum grau de escolaridade. Eram procedentes da capital do estado, João Pessoa, 113 (76,3%) pacientes. Relataram contato no domicílio com gatos doentes 110 (74,3%) pacientes. Metade desses relataram um contato não traumático com o felino. Foi relatado o contato domiciliar com cães por quatro (2,7%) dos pacientes. A forma linfocutânea representou 69,6% dos pacientes, a cutânea fixa 23,6% e oito (5,4%) pacientes apresentaram comprometimento ocular. Manifestações de hipersensibilidade aconteceram apenas em 2,7% dos pacientes. Itraconazol foi prescrito para 90,5% dos pacientes. *Sporothrix brasiliensis* foi a espécie identificada em todos os 17 isolados submetidos à caracterização genética através do sequenciamento parcial do gene da calmodulina. Os testes de sensibilidade antifúngica demonstraram excelente eficácia *in vitro* do itraconazol e terbinafina, com apenas três isolados resistentes ao itraconazol e nenhum a terbinafina. A esporotricose humana na Paraíba apresenta-se com uma concentração dos casos na capital do estado, tem caráter zoonótico, pela transmissão felino-homem, afetando mais mulheres. Há um predomínio da forma linfocutânea, mas formas extra cutâneas como a ocular devem ser lembradas no contexto atual da esporotricose no estado, o

qual se tornou endêmico. A identificação de *S. brasiliensis* em todos os isolados avaliados pode justificar a transmissão não traumática da esporotricose em percentual semelhante à transmissão traumática por mordedura e/ou arranhadura. A excelente atividade antifúngica *in vitro* do itraconazol permite mantê-lo como primeira escolha no tratamento da esporotricose.

**Palavras-chave:** Esporotricose. *Sporothrix*. Transmissão zoonótica. Nordeste brasileiro.

## Introdução

A esporotricose é a micose subcutânea mais frequente no mundo<sup>1</sup> mas a maior prevalência é observada em regiões tropicais e subtropicais, especialmente nas Américas e na Ásia<sup>2</sup>. Pode se manifestar pelo acometimento cutâneo (linfocutânea, fixa e cutâneo disseminada) e extracutâneo (ocular, pulmonar e osteoarticular) além das reações de hipersensibilidade e da doença disseminada com comprometimento sistêmico do paciente imunossuprimido<sup>3</sup>.

Ao longo da última década, a filogenia molecular revolucionou a taxonomia das espécies patogênicas do *Sporothrix*, alterando nossas percepções sobre epidemiologia, interação fungo-hospedeiro, virulência e suscetibilidade a drogas. *Sporothrix shenckii* (*sensu stricto*), *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei* compoem, então, o clado patogênico do gênero *Sporothrix*.<sup>4</sup>

Comumente associada a atividades de lazer ou trabalho como jardinagem e agricultura<sup>5</sup>, nas duas últimas décadas, a incidência da esporotricose zoonótica vem aumentando, particularmente no Brasil<sup>6</sup>. A entrada do gato na cadeia de transmissão da esporotricose causando epizootias ou zoonose tem contribuído para a definição de novos paradigmas na transmissão da esporotricose atingindo níveis epidêmicos, tornando a doença um grave problema de saúde pública<sup>7</sup>. No Brasil, a região metropolitana do Rio de Janeiro representa o epicentro da epidemia zoonótica da esporotricose<sup>4</sup>.

Durante o período de 1998 a 2017, o Brasil experimentou uma expansão geográfica da esporotricose<sup>8</sup> e a região nordeste tornou-se a nova fronteira desta micose com o registro de casos felinos e transmissão zoonótica nos estados de

Alagoas, Pernambuco e Rio Grande do Norte alterando o perfil epidemiológico da esporotricose na região<sup>9-11</sup>.

Diante da expansão geografia da esporotricose para o nordeste do Brasil, associada à transmissão zoonótica e a falta de dados consistentes referentes aos casos humanos no estado da Paraíba, é primordial conhecer as características sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas desta micose, além de determinar quais as espécies envolvidas e seu perfil de sensibilidade antifúngica que irá subsidiar às autoridades locais de saúde na formulação de políticas públicas de prevenção e controle e na elaboração de orientações terapêuticas adequadas frente ao atual cenário da esporotricose na Paraíba.

## **Materiais e Métodos**

### Local e Desenho do Estudo

Este foi um estudo prospectivo e descritivo baseado no atendimento médico de 148 pacientes com esporotricose encaminhados ao ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias de um hospital público terciário de janeiro a dezembro de 2018 (12 meses). Também foi realizada revisão do prontuário dos pacientes com diagnóstico de esporotricose ocular. O estudo foi realizado em João Pessoa, capital do estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Este estudo recebeu aprovação ética do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal da Paraíba, Brasil, sob o código CAAE 74157817.0.0000.8069.

### População do estudo

Dos 182 pacientes, a esporotricose foi confirmada por exame clínico e microbiológico em 148. Foram coletados dados referentes ao sexo, idade, procedência, ocupação, escolaridade, renda mensal familiar, contato com animais, forma clínica da esporotricose, distribuição das lesões, presença de reações de hipersensibilidade e tratamento instituído.

### Diagnóstico laboratorial micológico

Amostras biológicas foram retiradas das regiões afetadas por meio de swab de secreções. As secreções foram semeadas em placas de ágar Sabouraud dextrose e

incubadas por até 15 dias a 25-28°C para obtenção do isolado clínico em cultura. As culturas de lâminas foram coradas com lactofenol azul de algodão e observadas ao microscópio de luz<sup>12</sup> (Figura 1 H).

#### Análise laboratorial complementar

O teste de suscetibilidade antifúngica foi realizado por microdiluição em caldo de acordo com CLSI M38-A2<sup>13</sup>, e a identificação genômica foi alcançada por extração de DNA da fase micelial. Foi realizado o sequenciamento parcial do gene da calmodulina e a análise do BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)) foi realizada pela busca de sequências semelhantes depositadas no GenBank<sup>14</sup>.

### Resultados

Um total de 148 pacientes diagnosticados com esporotricose no período de janeiro a dezembro de 2018 foram incluídos no presente estudo sendo 88 (59,4%) do sexo feminino, representando a maioria dos casos. O paciente mais novo tinha 01 ano de idade, enquanto o mais velho tinha 85 anos com idade média de 41,33 ± 19,1 anos, mediana de 42 anos e moda de 44 anos de idade.

A maioria dos pacientes residiam em João Pessoa com um total de 113 pacientes (76,3%). Os pacientes tinham diferentes ocupações mas donas de casa representaram 11,5% dos pacientes enquanto trabalhadores rurais apenas 1,3% dos pacientes. A maioria dos pacientes, 106 (71,6%) tinha algum grau de educação básica e 46 (31%) declararam receber até um salário-mínimo de renda mensal familiar.

Dos 148 pacientes, 110 (74,4%) relataram contato prévio com gatos doentes com a metade destes relatando contato traumático por arranhadura e/ou mordedura. Contato com cães foi observado em quatro (2,7%) pacientes mas apenas um (0,67%) relatou mordedura.

Em relação as formas clínicas da esporotricose, 103 (69,6%) apresentaram a forma linfocutânea (Figuras 1A, 1B, 1C e 1D), e 35 (23,6%) a forma cutânea fixa (Figura 1F) e oito (5,4%) apresentaram comprometimento ocular (Figura 1 E). A maioria das lesões acometeram os membros superiores em 83 (56,1%), seguido pelo acometimento dos membros inferiores em 36 (24,3%) pacientes. Um paciente apresentou a forma cutâneo disseminada decorrente de múltiplos arranhões de um

gato e outro paciente, infectado pelo HIV, apresentou lesões disseminadas por todo o tegumento.

Foi observada reação de hipersensibilidade em quatro (2,7%) pacientes sendo um com a forma cutânea fixa apresentando eritema nodoso (Figura 1 G) e um paciente com esporotricose ocular que desenvolveu artrite reativa. Nos dois outros pacientes não foi possível identificar clinicamente a reação de hipersensibilidade

Cento e trinta e quatro pacientes (90,5%) foram tratados com itraconazol. Solução saturada de iodeto de potássio foi prescrita para 12 (8,1%) pacientes, sendo nove crianças. Uma paciente gestante foi apenas acompanhada e orientada a usar termoterapia local. Revisados os prontuários dos pacientes com diagnóstico de esporotricose ocular, verificou-se que a dose do itraconazol variou de 100 a 200 mg/dia e apenas um dos pacientes iniciou o tratamento com 400 mg/dia que logo foi reduzida para 200 mg/dia durante o acompanhamento ambulatorial e uma paciente que usou solução saturada de iodeto de potássio teve a medicação ajustada devido à apresentação de queixas dispépticas durante o tratamento.

A tabela 1 resume as características sociodemográficas, clínicas e epidemiológicas dos pacientes avaliados.

Dos 148 isolados encaminhados para a realização de teste de sensibilidade através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), foi possível realizá-lo em 80 (54,05%) (Tabela 2) além da caracterização genética através do sequenciamento parcial do gene da calmodulina em 17 (11,5%) isolados. (Figura 2) Os testes de sensibilidade antifúngica demonstraram excelente eficácia *in vitro* do itraconazol e terbinafina, com apenas três isolados resistentes ao itraconazol e nenhum a terbinafina e a única espécie identificada foi o *S. brasiliensis*.

## **Discussão**

A esporotricose humana tem sido estudada em diversos países devido a sua distribuição cosmopolita, com destaque para o países da América Latina como o Brasil, Peru e México<sup>15,16</sup>. Em algumas partes do Brasil estima-se que a esporotricose seja responsável por 0,5% de todas as dermatoses<sup>17</sup>. Os estudos concentram-se no estado do Rio de Janeiro onde observou-se um aumento no número de casos de

esporotricose de forma constante tornando-se um problema de saúde pública<sup>18,19</sup>. Outros estados das regiões sul e sudeste do Brasil como São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul também relatam casos de esporotricose felina e humana<sup>20-23</sup>. Recentemente, algumas publicações têm apontado para a expansão desta epidemia aos estados da região Nordeste do Brasil como Pernambuco, Rio Grande do Norte e Alagoas<sup>9-11</sup>.

Neste cenário de expansão geográfica da esporotricose para o nordeste brasileiro devido sobretudo à transmissão zoonótica<sup>11,24</sup>, apresentamos uma série de 148 casos de esporotricose humana, todos com cultura micológica positiva para *Sporothrix sp.* considerada como o método padrão ouro para o diagnóstico definitivo da esporotricose<sup>25</sup>, em pacientes acompanhados em um hospital universitário da Paraíba, estado do Nordeste brasileiro.

A identificação genética de *S. brasiliensis* como vem ocorrendo em Pernambuco e no Rio Grande do Norte<sup>11,24</sup>, estados vizinhos a Paraíba, em 17 isolados clínicos de nossa amostra, apesar de representar apenas 11,5% dos nossos isolados, os demais identificados apenas como *Sporothrix sp.*, tem importância do ponto de vista epidemiológico em virtude do *S. brasiliensis*, anteriormente restrito às regiões sul e sudeste do Brasil<sup>7</sup>, passar a ser encontrado em áreas muito distantes do epicentro da epidemia. Além disso, o fato do *S. brasiliensis* ser uma espécie mais virulenta que o *Sporothrix sensu stricto*<sup>26</sup> parece favorecer a transmissão zoonótica do gato para o homem<sup>4</sup>, e a consequente expansão geográfica em nosso país continental<sup>11</sup>.

Assim como mostram outros estudos a relação entre gato doente e transmissão zoonótica<sup>2</sup>, em nosso trabalho verificamos que o contato com gatos doentes foi relatado por 74,4% dos paciente. É interessante a observação que metade destes pacientes, ou seja, 55 pacientes tenham negado algum contato traumático, como mordeduras e arranhaduras, com seus animais o que pode estar relacionado a maior transmissibilidade do *S. brasiliensis* até mesmo quando não há dano aparente na pele do homem<sup>20</sup>, ou tenham ocorrido lesões não percebidas, especialmente durante o manejo dos animais favorecendo, assim a infecção<sup>27</sup>.

A esporotricose em cães é uma doença pouco frequente e tem um potencial zoonótico mínimo, no entanto nos últimos anos, um número crescente de casos foi registrado no Brasil, especialmente no Rio de Janeiro<sup>28,29</sup>. Apesar disto observamos em nossa casuística quatro pacientes que relataram o contato com cães sendo um

deles vítima de uma mordida no antebraço esquerdo e desenvolvimento de esporotricose linfocutânea no membro superior esquerdo seguida do comprometimento ocular à direita com síndrome de Parinaud.

A mudança do perfil de aquisição ocupacional relacionada a manipulação do solo e de plantas<sup>19</sup> para a aquisição intra-domiciliar, também está relacionada à transmissão zoonótica, especialmente relacionada ao ato de cuidar dos gatos doentes, e a identificação do *S. brasiliensis*<sup>20</sup>. Apesar desta relação entre a ocorrência da esporotricose e a realização de atividades domésticas já ter sido bem estabelecida em outros trabalhos<sup>16,19</sup> em nosso estudo apenas 17 mulheres declararam ser donas de casa o que representou 21,2% das pacientes do sexo feminino avaliadas, talvez justificado pelo fato de algumas mulheres se sentirem envergonhadas em dizer que são donas de casa.

Diferentemente do que ocorre no Espírito Santo<sup>21,30</sup>, estado da região sudeste do Brasil, a identificação em nosso trabalho de apenas dois pacientes com ocupação relacionada à agricultura corrobora os dados da literatura que mostra o predomínio da transmissão zoonótica sobre à transmissão clássica da esporotricose no nordeste do Brasil, no Rio de Janeiro e em São Paulo<sup>10,11,20</sup>

Em relação à faixa etária de acometimento, corroborando outros dados da literatura<sup>2,27</sup> nosso trabalho mostra uma faixa de idade extremamente ampla entre os pacientes diagnosticados com esporotricose com predomínio entre pacientes adultos. Trabalho recente publicado por Queiroz-Telles *et al.*, (2022)<sup>31</sup> comparou duas séries de casos de esporotricose em pacientes pediátricos, no México e no Brasil, com 20 crianças no primeiro e 21 crianças no segundo e neste representou 12% do total de pacientes, muito próximo a frequência encontrada no nosso trabalho de 11,5% de pacientes menores de 18 anos.

A ocorrência da esporotricose varia com o gênero<sup>15</sup>. Em nosso estudo o predomínio de pacientes do sexo feminino corrobora com outras pesquisas realizadas no Brasil, em destaque no Rio de Janeiro, cujos pacientes são principalmente mulheres<sup>19,27,32,33</sup> e mais recentemente nos estados vizinhos, Pernambuco e Rio Grande do Norte<sup>10,11</sup>. Entretanto, se distingue do observado no Espírito Santo onde a maioria dos pacientes com esporotricose são homens<sup>21</sup>.

A distribuição espacial da esporotricose predominantemente na região metropolitana de João Pessoa reflete a tendência de urbanização da micose como

observado no Rio de Janeiro<sup>34</sup>. Além disto, maior frequência de pacientes de baixa renda e menores níveis de escolaridade, caracterizam o atual cenário da esporotricose humana na Paraíba como observado em áreas do estado de Rio de Janeiro, Pernambuco e Rio Grande do Norte<sup>2,10,11,19</sup>, contudo, destaca-se que no presente estudo a amostra foi avaliada por conveniência, visto que não houve busca ativa dos pacientes, mas sim a procura destes pelo serviço público oferecido no HULW, atendendo uma demanda de pacientes com condições socioeconômicas mais precárias.

Corroborando com vários estudos já publicados<sup>20,27,35</sup>, em nosso trabalho a forma clínica mais frequente foi a linfocutânea e os membros superiores o principal sítio anatômico de comprometimento. A forma cutânea fixa representa entre 10 a 20% das formas clínicas de apresentação da esporotricose<sup>1</sup>. Em nossa série de casos, observamos uma frequência de 23,6% entre os 148 casos estudados, diferentemente do observado no Rio Grande do Norte com frequência de 39,9% entre 122 casos de esporotricose e no Rio Grande do Sul com 38,6% de 101 casos, neste último superando a forma linfocutânea<sup>11,36</sup>.

Foram observados em nosso trabalho apenas dois casos de lesões disseminadas. Um dos pacientes, do sexo feminino, foi arranhada por seu gato em várias partes do corpo onde surgiram várias lesões ao mesmo tempo, sem invasão sistêmica como observado em dois pacientes por Valeriano *et al.*, (2020)<sup>24</sup>. Outro paciente, do sexo masculino, infectado pelo HIV, em provável falha terapêutica aos antirretrovirais, apresentou lesões cutâneas heterogêneas e polimórficas com comprometimento sistêmico associado, como descrito por Tshisevhe *et al.*, (2021)<sup>37</sup> em paciente infectado pelo HIV. Desta forma foram classificados a primeira paciente como apresentando esporotricose cutâneo disseminada e o segundo, esporotricose disseminada. Importante lembrar que não existe consenso sobre essa divisão das formas disseminadas uma vez que o envolvimento de órgãos internos pode ocorrer na maioria dos casos<sup>38</sup>.

Esporotricose extra cutânea é rara e de difícil diagnóstico quando da ausência de lesões cutâneas. Muitas vezes desenvolve acometimento pulmonar, do sistema nervoso central, do sistema osteoarticular e ocular<sup>38,39</sup>. Esporotricose ocular consequente à infecção pelo *Sporothrix* é relatada em áreas hiperendêmicas e apesar de poder ocorrer por inoculação traumática do fungo no olho, muitos casos acontecem

sem a identificação de fatores predisponentes<sup>39</sup> Em recente publicação Arinelle *et al.*, (2022)<sup>40</sup> relataram 120 casos de esporotricose ocular no período de 2007 à 2017 no Rio de Janeiro. Em Pernambuco, Lacerda Filho *et al.*, (2019)<sup>12</sup> relataram um caso de esporotricose ocular transmitida por gato assim como no Rio Grande do Norte por Oliveira Bento *et al.*, (2021)<sup>11</sup>. Em um período de apenas um ano observamos em nossa pesquisa oito casos de esporotricose ocular com conjuntivite granulomatosa. Em nenhum deles foi identificado trauma direto no olho acometido, em três deles o comprometimento ocular aconteceu como síndrome de Parinaud e em um dos pacientes a transmissão se deu após a mordedura de um cão em seu antebraço.

A infecção pelo *S. brasiliensis* está também associada ao surgimento de maior número de reações de hipersensibilidade como o eritema nodoso, o eritema multiforme e a síndrome de Sweet<sup>38</sup>. Em nosso trabalho apenas quatro (2,7%) pacientes apresentaram reação de hipersensibilidade em um deles pudemos identificar o eritema nodoso e em outro artrite reativa. Nos demais não foi possível estabelecer o diagnóstico da reação de hipersensibilidade. Esse percentual é inferior ao observado em outros trabalhos<sup>11,14</sup> e pode dever-se ao fato dos pacientes que além da esporotricose apresentavam a reação de hipersensibilidade procuraram atendimento no ambulatório da dermatologia ao invés do ambulatório de doenças infecciosas e parasitárias.

Mesmo que os testes de sensibilidade aos antifúngicos estejam, ainda, limitados, esse conhecimento se torna cada vez mais necessário visto que as espécies do complexo *Sporothrix* mostraram capacidade de desenvolver resistência aos antifúngicos convencionais, sendo o *S. brasiliensis*, a espécie fúngica com alta capacidade de adquirir mecanismo mutacional ou de resistência<sup>41</sup>.

A despeito do alto custo, nesta série de casos os pacientes foram majoritariamente tratados com Itraconazol por via oral em conformidade com os trabalhos publicados recentemente<sup>20,11,10</sup>. Não foi prescrito terbinafina para nenhum dos pacientes enquanto anfotericina B desoxicolato foi prescrito apenas para o paciente infectado pelo HIV que apresentava doença disseminada mas tão logo recebeu alta a terapêutica foi trocada para itraconazol. A solução saturada de iodeto de potássio foi utilizada para 12 pacientes, dentre eles nove crianças em virtude da facilidade de administração da solução em gotas e nos demais pela ocorrência de contraindicações ao uso do itraconazol.

De 2005 a 2010, cerca de 1.000 pacientes foram diagnosticados com esporotricose no IPEC–Fiocruz, incluindo 12 gestantes<sup>42</sup> e em virtude dos efeitos que podem causar no feto o tratamento da esporotricose em gestantes é um grande desafio sendo possível o uso de Anfotericina B nos casos graves<sup>43</sup>. Uma única paciente de nossa série de caso estava grávida e optou-se por mantê-la sem tratamento medicamentoso e com orientação de realizar termoterapia, uma das opções para esta situação, resultando na alta da paciente sem a necessidade de tratamento medicamentoso após o parto.

Quanto ao tratamento o uso de Itraconazol na maioria dos pacientes está de acordo com os dados da literatura<sup>3,44</sup> assim como a alta dos pacientes acompanhados com resolução completa das lesões, independentemente da medicação prescrita<sup>19,32</sup>.

Os testes de sensibilidade antifúngica dos 80 isolados avaliados, demonstraram excelente eficácia *in vitro* do itraconazol e terbinafina. Apesar de três isolados terem sido resistentes ao itraconazol este antifúngico continua mantendo excelente atividade antifúngica *in vitro* o que permite mantê-lo como primeira escolha para o tratamento da esporotricose. O fato de não ter sido detectada nenhuma resistência *in vitro* terbinafina, reforça o já observado por Waller *et al.*, (2021) fazendo da terbinafina uma alternativa terapêutica em um cenário de emergência de resistência ao Itraconazol<sup>44</sup>.

## **Conclusão**

A esporotricose humana na Paraíba apresenta-se com uma concentração dos casos na capital do estado, tem caráter zoonótico, pela transmissão felino-homem, afetando mais mulheres. Há um predomínio da forma linfocutânea, mas formas extra cutâneas como a ocular devem ser lembradas no contexto atual da esporotricose no estado, o qual se tornou endêmico. A identificação de *S. brasiliensis* em todos os isolados avaliados pode justificar a transmissão não traumática da esporotricose em percentual semelhante à transmissão traumática por mordedura e/ou arranhadura. A excelente atividade antifúngica *in vitro* do itraconazol permite mantê-lo como primeira escolha no tratamento da esporotricose. Em adição, a organização dos serviços para a correta identificação do paciente com esporotricose, a descentralização do diagnóstico micológico, a acessibilidade ao tratamento prescrito e a elaboração de

medidas eficazes para o controle da população felina associado a medidas ambientais para evitar a contaminação do solo são primordiais para controlar a expansão desta micose.

Tabela 1 Dados sociodemográficos, clínicos e epidemiológicos de casos de esporotricose humana atendidos no Ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW/UFPB, Paraíba, Brasil. (2018)

	Pacientes (n)	%
<b>Sexo</b>		
- Feminino	88	59,4
- Masculino	60	40,6
<b>Faixa etária</b>		
- < 18 anos	17	11,5
- 18-65 anos	114	77,0
- > 65 anos	17	11,5
<b>Procedência</b>		
- João Pessoa	113	76,3
- Área metropolitana	31	21,0
- Interior do estado	4	2,7
<b>Ocupação</b>		
- Atividades veterinárias	1	0,7
- Donas de casa	17	11,5
- Trabalhador rural	2	1,3
- Outras	110	74,3
- Desempregado	12	8,1
- Não se aplica/Ignorado	6	4,1
<b>Escolaridade</b>		
- Analfabeto	11	7,4

- Educação básica	106	71,6
- Ensino superior	31	21,0
<b>Renda Mensal Familiar*</b>		
- Até 1	46	31,0
- > 1 até 2	39	26,4
- > 2 até 3	32	21,6
- > 3 até 4	13	8,8
- > 4	14	9,5
- Não declarou	4	2,7
<b>Contato com gatos doentes</b>		
- Contato traumático por arranhadura e/ou mordedura	55	37,2
- Contato não traumático	55	37,2
<b>Forma clínica</b>		
- Cutânea Fixa	35	23,6
- Linfocutânea	103	69,6
- Cutânea disseminada	1	0,7
- Extracutânea	8	5,4
- Disseminada	1	0,7
<b>Sítio anatômico da lesão</b>		
- Cabeça	9	6,1
- Membros superiores	83	56,1
- Membros inferiores	36	24,3
- Tronco	10	6,7
- Olho	8	5,4
- 2 ou mais sítios anatômicos	2	1,4

**Presença de reação de hipersensibilidade**

- Sim	4	2,7
- Não	144	97,3

**Tratamento prescrito**

- Itraconazol	134	90,5
- Solução saturada de iodeto de potássio	12	8,1
- Anfotericina B desoxicolato	1	0,7
- Expectante	1	0,7

\*Em salários-mínimos brasileiro vigente em 2018

Tabela 2 Valores de CIM em µg/mL de seis fármacos antifúngicos frente a 16 isolados clínicos de *S. brasiliensis* e 64 de *Sporothrix spp* de casos de esporotricose humana atendidos no Ambulatório de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW/UFPB, Paraíba, Brasil. (2018)

		Drogas antifúngicas					
		AMB	CETO	FLC	ITC	TBF	VRC
Isolados (n)		CIM	CIM	CIM	CIM	CIM	CIM
<i>S. brasiliensis</i> (16)	Variação	0,015-4	0,06-4	32-64	0,03-4	0,125-0,125	0,5-16
	MG	0,25	0,25	47,25	0,36	0,125	2,48
<i>Sporothrix spp.</i> (64)	Variação	0,007-8	0,06-8	8-64	0,031-16	0,125-0,125	0,25-16
	MG	0,13	0,33	52,66	0,42	0,125	2,35

AMB: Anfotericina B; CETO: Cetoconazol; FLC: Fluconazol; ITC: Itraconazol; TBF: Terbinafina; VRC: Voriconazol; CIM: Concentração inibitória mínima; MG: Média geométrica.

Obs.: a levedura *Candida parapsilosis* ATCC 22019 foi utilizada em todos os testes de sensibilidade antifúngica como linhagem de referência, e as CIM foram de acordo com o protocolo M27-S4 publicado pelo CLSI.



Figura 1. (A) lesão ulcerada de bordos elevados sobre o punho esquerdo com comprometimento linfático ascendente (B e C) lesões nodulares em face com comprometimento linfático descendente (D) lesão ulcerada extensa em região intercostal direita e nódulos ao longo da cadeia linfática da parede lateral do tronco (E) lesão nodular em pálpebra superior do olho esquerdo (F e G) lesão nodular única no 5<sup>o</sup> quirodáctilo direito e placa extensa eritematosa com nódulos compatível com eritema nodoso (H) micromorfologia da colônia cultivada em ágar batata dextrose por 15 dias a 25°C mostrando filamentos miceliais septados, conidióforos delicados e conídios dispostos simpodialmente com arranjos florais (lactofenol azul de algodão 1.000x)

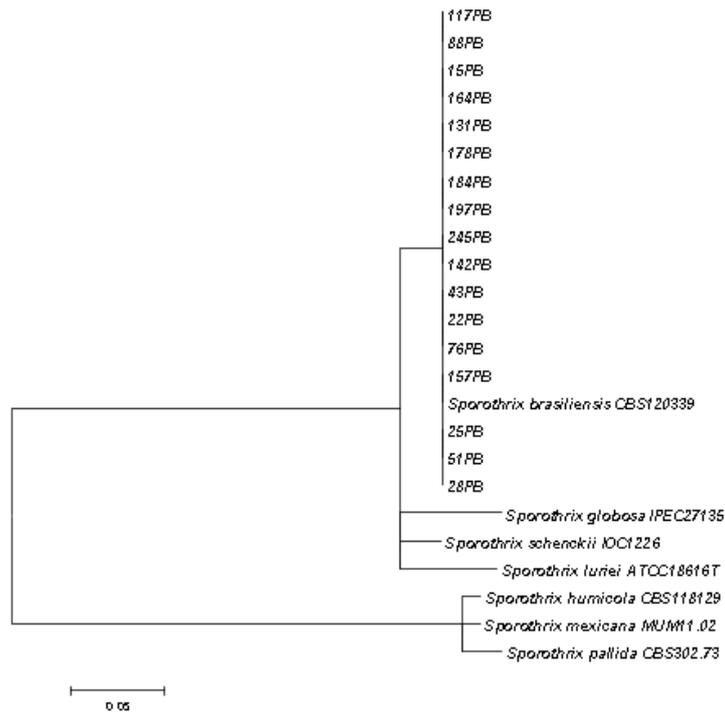


Figura 2 Árvore filogenética mostrando a relação de 17 isolados clínicos PB com outras espécies de *Sporothrix* sp. O método estatístico de máxima verossimilhança, que expressa percentualmente a similaridade dos isolados clínicos com as demais cepas, foi obtido através da análise de Bootstrap, replicada 1.000x, e mostrada nos ramos. Havia 269 posições no conjunto de dados final. A barra de escala indica substituições de nucleotídeos por sítio.

## Referências

1. Orofino-Costa R, de Macedo PM, Bernardes-Engemann AR. Hyperendemia of Sporotrichosis in the Brazilian Southeast: Learning From Clinics and Therapeutics. *Curr Fungal Infect Rep*. 2015;9(4):220–228. doi:10.1007/s12281-015-0235-0
2. Alzuguir CLC, Pereira SA, Magalhães MAFM, et al. Geo-epidemiology and socioeconomic aspects of human sporotrichosis in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil, between 2007 and 2016. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2020;114(2). doi:10.1093/trstmh/trz081
3. Orofino-Costa R, Rodrigues AM, de Macedo PM, 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
4. Rodrigues A, de Hoog GS, de Camargo ZP. Sporothrix Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. *PLOS Pathog*. 2016;12(7). doi:10.1371/journal.ppat.1005638
5. Redigueri BC, da Cruz Bahiense I, de Carvalho JA, et al. Clinical, Epidemiological, and Epizootic Features of Sporothrix brasiliensis in Espírito Santo, Brazil. *Ecohealth*. 2022;19(1):124–134. doi:10.1007/s10393-022-01578-8
6. Gremião I, Miranda L, Reis E, Rodrigues A, Pereira S. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLOS Pathog*. 2017;13(1):2–8. doi:10.1371/journal.ppat.1006077
7. Rodrigues A, Terra P, Isabella G, Pereira S, Orofino-Costa R, Camargo Z. The threat of emerging and re-emerging pathogenic Sporothrix species. *Mycopath*. 2020;0. doi:10.1007/s11046-020-00425-0
8. Gremião IDF, Marques M, Oliveira E, de Miranda LHM, Freitas DFS, Pereira SA. Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(3):621–624. doi:10.3201/eid2603.190803
9. Marques-Melo EH, Lessa DF da S, Nunes ACBT, et al. Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato do primeiro caso no estado de Alagoas. *Rev Baiana Saúde Pública*. 2014;38(2):490–498. doi:10.5327/z0100-0233-2014380200018
10. Silva CE, Valeriano CAT, Ferraz CE, et al. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Future Microbiol*. 2021;16(18):1371–1379. doi:10.2217/fmb-2021-0142
11. de Oliveira Bento A, de Sena Costa AS, Lima SL, et al. The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to sporothrix brasiliensis in Brazil towards the Northeast region. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(8):1–20. doi:10.1371/journal.pntd.0009693

12. Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, Da Silva AB, et al. High-Virulence Cat-Transmitted Ocular Sporotrichosis. *Mycopathologia*. 2019;184(4):547–549. doi:10.1007/s11046-019-00347-6
13. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. *CLSI*. 2008;28(14). [https://clsi.org/media/1461/m27a3\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1461/m27a3_sample.pdf)
14. De Lima ÍMF, Ferraz CE, De Lima-Neto RG, Takano DM. Case report: Sweet syndrome in patients with sporotrichosis: A 10-case series. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;103(6):2533–2538. doi:10.4269/ajtmh.20-0579
15. Oyarce JA, García C, Alave J, Bustamante B. Epidemiological clinical and laboratory characterization of sporotrichosis in patients of a tertiary care hospital in Lima. *Rev Chil Infectol*. 1991;33(3):315–321. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n3/art12.pdf>
16. Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, Mochizuki T, Li S. Global epidemiology of sporotrichosis. *Med Mycol*. 2014;53(1):3–14. doi:10.1093/mmy/myu062
17. Rodrigues A. Taxonomia polifásica e características proteômicas do complexo *Sporothrix schenckii*. Published online 2010.
18. Barros MB d. L, Schubach AO, Schubach TMP, Wanke B, Lambert-Passos SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: Epidemiological aspects of a series of cases. *Epidemiol Infect*. 2008;136(9):1192–1196. doi:10.1017/S0950268807009727
19. da Silva MBT, de Mattos Costa MM, da Silva Torres CC, et al. Esporotricose urbana: Epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2012;28(10):1867–1880. doi:10.1590/S0102-311X2012001000006
20. Bittencourt AA, Oyafuso LKM, Cavalin RF, et al. A neglected disease. Human sporotrichosis in a densely populated urban area in São Paulo, Brazil: clinical–epidemiological and therapeutic aspects. *Brazilian J Microbiol*. 2022;53(2):739–748. doi:10.1007/s42770-022-00713-5
21. Caus ALO, Zanotti RL, Faccini-Martínez ÁA, Paterlini GV, Falqueto A. Epidemiological and clinical aspects of sporotrichosis in Espírito Santo State, southeast Brazil: A study of three decades (1982–2012). *Am J Trop Med Hyg*. 2019;100(3):706–713. doi:10.4269/ajtmh.18-0667
22. Lecca LO, Paiva MT, de Oliveira CSF, et al. Associated factors and spatial patterns of the epidemic sporotrichosis in a high density human populated area: A cross-sectional study from 2016 to 2018. *Prev Vet Med*. 2020;176(November 2019):104939. doi:10.1016/j.prevetmed.2020.104939
23. Benvegnú AM, Dallazzem LND, Chemello RML, Beber AAC, Chemello D. Case series of sporotrichosis at a teaching hospital in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020;53:1–4. doi:10.1590/0037-8682-0509-2019
24. Valeriano CAT, Ferraz CE, Oliveira MME, et al. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic

- area: Case series in the northeast of Brazil. *JAAD Case Reports*. 2020;6(10):988–992. doi:10.1016/j.jdc.2020.07.047
25. Rudramurthy SM, Chakrabarti A. Sporotrichosis: Update on Diagnostic Techniques. *Curr Fungal Infect Rep*. 2017;11(3):134–140. doi:10.1007/s12281-017-0283-8
  26. Della Terra PP, Rodrigues AM, Fernandes GF, Nishikaku AS, Burger E, de Camargo ZP. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(8):1–23. doi:10.1371/journal.pntd.0005903
  27. Barros M, Schubach A, do Valle AC, et al. Cat-Transmitted Sporotrichosis Epidemic in Rio de Janeiro , Brazil : Description of a Series of Cases. *Clin Infect Dis*. 2004;38(15):529–535.
  28. Mascarenhas MB, Lopes NL, Pinto TG, et al. Canine sporotrichosis: Report of 15 advanced cases. *Pesqui Vet Bras*. 2018;38(3):477–481. doi:10.1590/1678-5150-PVB-4562
  29. Figueira KD. Esporotricose Na Espécie Canina : Relato De Um Caso Na Cidade De Mossoró , Rn. *Ciência Anim Bras*. 2009;10(2):673–677.
  30. de Araujo ML, Rodrigues AM, Fernandes GF, de Camargo ZP, de Hoog GS. Human sporotrichosis beyond the epidemic front reveals classical transmission types in Espírito Santo, Brazil. *Mycoses*. 2015;58(8):485–490. doi:10.1111/myc.12346
  31. Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Cognialli R, Lustosa BPR, Vicente VA, Ramírez-Marín HA. Sporotrichosis in Children: Case series and Narrative Review. *Curr Fungal Infect Rep*. 2022;16(2):33–46. doi:10.1007/s12281-022-00429-x
  32. De Lima Barros MB, Schubach TP, Coll JO, Gremião ID, Wanke B, Schubach A. Esporotricose: A evolução e os desafios de uma epidemia. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Heal*. 2010;27(6):455–460.
  33. Bonifaz A, Tirado-Sánchez A. Cutaneous Disseminated and Extracutaneous Sporotrichosis: Current Status of a Complex Disease. *J Fungi*. 2017;3(1). doi:10.3390/jof3010006
  34. 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
  35. Benvegnú AM, Dallazzem LND, Chemello RML, Beber AAC, Chemello D. Case series of sporotrichosis at a teaching hospital in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020;53:1–4. doi:10.1590/0037-8682-0509-2019
  36. Brandolt TM, Madrid IM, Poester VR, et al. Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in Southern Brazil, 2012–2017. *Med Mycol*. 2019;57(5):527–533. doi:10.1093/mmy/myy082
  37. Tshisevhe V, Skosana L, Motse K, Maphosa T, Mitton B. Disseminated

- sporotrichosis in a person with human immunodeficiency virus disease. *Access Microbiol.* 2021;3(9):1–5. doi:10.1099/acmi.0.000262
38. 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
  39. Ramírez-Soto MC, Tirado-Sánchez A, Bonifaz A. Ocular sporotrichosis. *J Fungi.* 2021;7(11):1–20. doi:10.3390/jof7110951
  40. Arinelli A, Aleixo ALQC, Freitas DFS, et al. Ocular Manifestations of Sporotrichosis in a Hyperendemic Region in Brazil: Description of a Series of 120 Cases. *Ocul Immunol Inflamm.* 2022;00(00):1–9. doi:10.1080/09273948.2022.2027465
  41. Waller SB, Dalla Lana DF, Quatrin PM, Ferreira MRA, Fuentefria AM, Mezzari A. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. *Brazilian J Microbiol.* Published online 2020.
  42. Ferreira CP, Do Valle ACF, Freitas DFS, Reis R, Galhardo MCG. Pregnancy during a sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Gynecol Obstet.* 2012;117(3):294–295. doi:10.1016/j.ijgo.2012.02.003
  43. Fichman V, Valle ACF do, de Macedo PM, et al. Cryosurgery for the treatment of cutaneous sporotrichosis in four pregnant women. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12(4):3–8. doi:10.1371/journal.pntd.0006434
  44. Borba-Santos LP, Rodrigues AM, Gagini TB, et al. Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafine. *Med Mycol.* 2015;53(2). doi:10.1093/mmy/myu056

## 6 CONCLUSÕES

Os dados apresentados confirmam que a Paraíba, assim como seus vizinhos, Pernambuco e Rio Grande do Norte, vive um surto de esporotricose de transmissão zoonótica que se concentra em sua capital, João Pessoa e cuja peça-chave são os felinos infectados. O caráter zoonótico da esporotricose como se apresenta no estado exige que as autoridades de saúde tomem medidas rápidas para evitar novas contaminações, a medida que o surto vem ocorrendo em populações de baixa renda, historicamente desprovidas do suporte governamental para a assistência à saúde.

Predominantemente a esporotricose vem acometendo mulheres com média de idade de 42,2 anos. Destaca-se a forma linfocutânea e o acometimento dos membros superiores

Chama atenção o registro de formas extra cutâneas como a esporotricose ocular e de algumas reações de hipersensibilidade sabidamente associado ao *S. brasiliensis*, espécie mais virulenta e associada à transmissão zoonótica, identificada nos isolados clínicos testados por meio do sequenciamento do gene da calmodulina

A verificação da alta eficácia *in vitro* do itraconazol e terbinafina permite aos profissionais de saúde e gestores locais um melhor planejamento para aquisição de medicamentos e a disponibilização dos mesmos para a população.

## REFERÊNCIAS

AIDAR, Mariana Nadais *et al.* The importance of considering the possibility of ocular sporotrichosis in areas with high incidence rates of sporotrichosis. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, [s. l.], v. 86, n. 5, p. 1–4, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/0004-2749.20230062>

ALMEIDA-PAES, Rodrigo *et al.* Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* Is Associated with Atypical Clinical Presentations. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 8, n. 9, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003094>

ALVES, M.D.M. *et al.* Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *sporothrix brasiliensis* in Northeast Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 14, n. 5, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008141>

ALZUGUIR, C.L.C. *et al.* Geo-epidemiology and socioeconomic aspects of human sporotrichosis in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil, between 2007 and 2016. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 114, n. 2, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/trstmh/trz081>

ARAUJO, Adjanna Karla Leite; LEAL, Carlos Adriano de Santana. Esporotricose felina no município de Bezerros, Agreste Pernambucano: Relato de caso. **Pubvet**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 816–820, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.22256/pubvet.v10n11.816-820>

ARRILLAGA-MONCRIEFF, I. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 15, p. 651–655, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02824.x>

BACHMEYER, C. *et al.* Fixed cutaneous sporotrichosis: An unusual diagnosis in West Europe [22]. **Clinical and Experimental Dermatology**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 479–481, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2006.02108.x>

BARILE, F. *et al.* Cutaneous sporotrichosis in the period 1978-1992 in the province of

Bari, Apulia, Southern Italy. **Mycoses**, [s. l.], v. 36, n. 5–6, p. 181–185, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1993.tb00747.x>

BARROS, M. B.d.L. *et al.* An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: Epidemiological aspects of a series of cases. **Epidemiology and Infection**, [s. l.], v. 136, n. 9, p. 1192–1196, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0950268807009727>

BARROS, Mônica; PAES, Rodrigo De Almeida; SCHUBACH, Armando Oliveira. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 633–654, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/CMR.00007-11>

BENEDICT, Kaitlin; JACKSON, Brendan R. Sporotrichosis cases in commercial insurance data, United States, 2012–2018. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 26, n. 11, p. 2783–2785, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2611.201693>

BIMBI, César; BRZEZIŃSKI, Piot. Cutaneous sporotrichosis as an occupational disease: Case report. **Our Dermatology Online**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 37–39, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.7241/ourd.20171.9>

BITTENCOURT, Amanda Azevedo *et al.* A neglected disease. Human sporotrichosis in a densely populated urban area in São Paulo, Brazil: clinical–epidemiological and therapeutic aspects. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 739–748, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00713-5>

BONIFAZ, Alexandro; TIRADO-SÁNCHEZ, Andrés. Cutaneous Disseminated and Extracutaneous Sporotrichosis: Current Status of a Complex Disease. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 3, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof3010006>

BONIFAZ, Alexandro; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, Denisse. Diagnosis and treatment of lymphocutaneous sporotrichosis: What are the options? **Current Fungal Infection Reports**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 252–259, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12281-013-0140-3>

BORBA-SANTOS, Luana Pereira *et al.* Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafine. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 178–188, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myu056>

BRANDOLT, Tchana Martinez *et al.* Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in Southern Brazil, 2012–2017. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 57, n. 5, p. 527–533, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myy082>

BRIZENO, Mayza Costa; SILVA, Eliete Cavalcanti da; BASSOLI, Ariene Cristina Dias Guimarães. O Problema De Saúde Pública Da Esporotricose Felina No Estado De Pernambuco, Brasil: Uma Revisão Narrativa / the Public Health Problem of Feline Sporotrichosis in the State of Pernambuco, Brazil: a Narrative Review. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 12, p. 93845–93855, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n12-011>

CAUS, Antonio L.O. *et al.* Epidemiological and clinical aspects of sporotrichosis in Espírito Santo State, southeast Brazil: A study of three decades (1982–2012). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 100, n. 3, p. 706–713, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0667>

CHAKRABARTI, Arunaloke *et al.* Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 3–14, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myu062>

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. **CLSI**, [s. l.], v. 28, n. 14, 2008. Disponível em: [https://clsi.org/media/1461/m27a3\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1461/m27a3_sample.pdf)

COSTA, M. C. *et al.* Social, environmental and microbiologic aspects of endemic mycoses in Brazil. **New Microbes and New Infections**, [s. l.], v. 29, p. 100496, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.11.004>

DA SILVA, Maria. Efeito inibitório, in vitro, do iodeto de potássio e da miltefosina frente a cepas do complexo *sporothrix schenckii* em biofilme nas formas filamentosa e leveduriforme. [s. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

DE ABREU RIBEIRO, Alexandre Sampaio; BISOL, Tiago; ANA MENEZES, Marcela Sant. Síndrome oculoglandular de Parinaud causada por esporotricose. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, [s. l.], v. 69, n. 5, p. 317–322, 2010. Disponível em:

<https://doi.org/10.1590/S0034-72802010000500008>

DE ARAUJO, Mariceli L. *et al.* Human sporotrichosis beyond the epidemic front reveals classical transmission types in Espírito Santo, Brazil. **Mycoses**, [s. l.], v. 58, n. 8, p. 485–490, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.12346>

DE LIMA, Ísis Maria Firmino *et al.* Case report: Sweet syndrome in patients with sporotrichosis: A 10-case series. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 103, n. 6, p. 2533–2538, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0579>

DE LIMA BARROS, Monica Bastos *et al.* Esporotricose: A evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 455–460, 2010.

DE OLIVEIRA BENTO, Aurélio *et al.* The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to sporothrix brasiliensis in brazil towards the Northeast region. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 15, n. 8, p. 1–20, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009693>

ETCHECOPAZ, Alejandro *et al.* Sporothrix brasiliensis: A review of an emerging south american fungal pathogen, its related disease, presentation and spread in Argentina. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 1–33, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7030170>

FICHMAN, Vivian *et al.* Cryosurgery for the treatment of cutaneous sporotrichosis in four pregnant women. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 3–8, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006434>

FILGUEIRA, Kilder Dantas. **Esporotricose Na Espécie Canina : Relato De Um Caso Na Cidade De Mossoró , Rn.** [S. l.: s. n.], 2009.

GALHARDO, Maria Clara Gutierrez *et al.* Sporothrix schenckii meningitis in AIDS during immune reconstitution syndrome. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, [s. l.], v. 81, n. 6, p. 696–699, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.173187>

GALINDO-BOCERO, J. *et al.* Síndrome oculoglandular de Parinaud: a propósito de un caso. **Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología**, [s. l.], v. 92, n. 1, p. 37–39, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.oftal.2016.02.003>

GAMEIRO FILHO, Aluisio Rosa *et al.* Ocular and cutaneous sporotrichosis. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, [s. l.], v. 20, n. August, p. 100885, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2020.100885>

GHOSH, A. *et al.* Physiological characters of *Sporothrix schenckii* isolates. **Mycoses**, [s. l.], v. 45, n. 11–12, p. 449–454, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2002.00783.x>

GLEISER, Marcelo. Ciência não é uma escolha. É uma necessidade. [Entrevista cedida a] Cristiane Bomfim. Agência Einstein, São Paulo, 22/08/2020. Disponível em: <https://www.uol.com.br/vivabem/noticias/redacao/2020/08/22/marcelogleiser-ciencia-nao-e-uma-escolha-e-uma-necessidade.htm?next=0001H843U11N>. Acesso em: 19 ago. 2022.

GREMIÃO, Isabella *et al.* Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 2–8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006077>

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira *et al.* Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 621–624, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2603.190803>

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira *et al.* Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 13, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006077>

GUTIERREZ-GALHARDO, Maria Clara *et al.* Epidemiological Aspects of Sporotrichosis Epidemic in Brazil. **Current Fungal Infection Reports**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 238–245, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12281-015-0237-y>

KAUFFMAN, Carol A. *et al.* Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 45, n. 10, p. 1255–1265, 2007. Disponível em:

<https://doi.org/10.1086/522765>

LIBORIO NETO, Adail Orrith *et al.* Conjunctival and bulbar sporotrichosis as Parinaud's oculoglandular syndrome acquired by blood inoculation. **GMS ophthalmology cases**, [s. l.], v. 11, p. Doc02, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3205/oc000175>

LOPES-BEZERRA, Leila M. *et al.* **Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents.** [S. l.: s. n.], 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myx103>

LOPES-BEZERRA, Leila M; SCHUBACH, Armando; COSTA, Rosane O. Sporothrix schenckii and Sporotrichosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s. l.], v. 78, n. 2, p. 293–308, 2006.

LV, Sha *et al.* Clinical Epidemiology of Sporotrichosis in Jilin Province, China (1990–2019): A Series of 4969 Cases. **Infection and Drug Resistance**, [s. l.], v. 15, n. April, p. 1753–1765, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IDR.S354380>

MAHAJAN, Vikram K. Sporotrichosis: An overview and therapeutic options. **Dermatology Research and Practice**, [s. l.], v. 2014, p. 1–10, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/272376>

MARIMON, Rita *et al.* Sporothrix brasiliensis, S. globosa, and S. mexicana, three new Sporothrix species of clinical interest. **Journal of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 45, n. 10, p. 3198–3206, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.00808-07>

MARQUES-MELO, Evelynne Hildegard *et al.* Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato do primeiro caso no estado de Alagoas. **Revista Baiana Saúde Pública**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 490–498, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5327/z0100-0233-2014380200018>

MASCARENHAS, Mariana B. *et al.* Canine sporotrichosis: Report of 15 advanced cases. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 477–481, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4562>

MCGUINNESS, Sarah L *et al.* Epidemiological investigation of an outbreak of cutaneous sporotrichosis ., **BMC Infectious Diseases**, [s. l.], v. 16, n. 16, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1338-0>

MICHELON, Laura *et al.* Dados epidemiológicos da esporotricose felina na região Sul Do Rio Grande do Sul: uma abordagem em saúde pública. **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 4874–4890, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv2n6-001>

MONTENEGRO, Hildebrando *et al.* Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: An emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC Veterinary Research**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–10, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0269-5>

NUNES, Geyanna Dolores Lopes *et al.* Esporotricose felina no município de Itaporanga, estado da Paraíba, Brasil: relato de um caso. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 157–161, 2011.

OLIVEIRA, Manoel *et al.* Phenotypic and Molecular Identification of *Sporothrix* Isolates from an Epidemic Area of Sporotrichosis in Brazil. [s. l.], p. 257–267, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11046-011-9437-3>

OROFINO-COSTA, Rosane *et al.* Sporotrichosis: An update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.2017279>

OROFINO-COSTA, Rosane; DE MACEDO, Priscila Marques; BERNARDES-ENGEMANN, Andréa Reis. Hyperendemia of Sporotrichosis in the Brazilian Southeast: Learning From Clinics and Therapeutics. **Current Fungal Infection Reports**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 220–228, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12281-015-0235-0>

PAIVA, Marcelo Teixeira *et al.* Spatial association between sporotrichosis in cats and in human during a Brazilian epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, [s. l.], v. 183, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105125>

PORRAS, Luisa; RUBIO, Gustavo; SA, Guillermo. Esporotricosis : prevalencia, perfil clínico y epidemiológico en un centro de referencia en Colombia. **Revista Iberoamericana de Micología** [S. l.: s. n.], 2010.

RAMÍREZ-SOTO, Max *et al.* Ecological Determinants of Sporotrichosis Etiological Agents. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 4, p. 1–11, 2018. Disponible em: <https://doi.org/10.3390/jof4030095>

RAMÍREZ-SOTO, Max Carlos; TIRADO-SÁNCHEZ, Andrés; BONIFAZ, Alexandro. Ocular sporotrichosis. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 7, n. 11, p. 1–20, 2021. Disponible em: <https://doi.org/10.3390/jof7110951>

RAMOS-E-SILVA, Marcia *et al.* Sporotrichosis. *Clinics in Dermatology*, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 181–187, 2007. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2006.05.006>.

REDIGUIERI, Bruno Carneiro *et al.* Clinical, Epidemiological, and Epizootic Features of *Sporothrix brasiliensis* in Espírito Santo, Brazil. **EcoHealth**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 124–134, 2022. Disponible em: <https://doi.org/10.1007/s10393-022-01578-8>.

RODRIGUES, Anderson *et al.* The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopath**, [s. l.], v. 0, 2020. Disponible em: <https://doi.org/10.1007/s11046-020-00425-0>.

RODRIGUES, Anderson; DE HOOG, G. Sybren; DE CAMARGO, Zoilo Pires. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 12, n. 7, 2016. Disponible em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005638>.

RODRIGUES, Anderson; HOOG, G Sybren de; DE CAMARGO, Zoilo Pires. Genotyping species of the *Sporothrix schenckii* complex by PCR-RFLP of calmodulin. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [s. l.], v. 1, p. 4–8, 2014. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.01.004>.

RODRIGUES, Anderson Messias *et al.* *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. **Fungal Biology**, [s. l.], v. 120, n. 2, p. 246–264, 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.05.006>.

RODRIGUES, Anderson Messias; DE HOOG, G. Sybren; DE CAMARGO, Zoilo Pires. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 9, n. 12, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004190>.

ROSSOW, John A. *et al.* **A one health approach to combatting sporothrix brasiliensis: Narrative review of an emerging zoonotic fungal pathogen in south america.** [S. l.]: MDPI AG, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof6040247>.

RUDRAMURTHY, Shivaprakash M.; CHAKRABARTI, Arunaloke. Sporotrichosis: Update on Diagnostic Techniques. **Current Fungal Infection Reports**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 134–140, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12281-017-0283-8>.

SCHECHTMAN, Regina Casz *et al.* Sporotrichosis: hyperendemic by zoonotic transmission, with atypical presentations, hypersensitivity reactions and greater severity. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 97, n. 1, p. 1–13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.07.003>.

SENDRASOA, Fandresena Arilala *et al.* Osteoarticular sporotrichosis in an immunocompetent patient. **Medical Mycology Case Reports**, [s. l.], v. 32, n. March, p. 50–52, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2021.03.007>.

SILVA, Cybelle E. *et al.* Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. **Future Microbiology**, [s. l.], v. 16, n. 18, p. 1371–1379, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0142>.

SILVA, Grasiene M. *et al.* Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 38, n. 9, p. 1767–1771, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5027>.

SOTO, Max Carlos Ramírez. Sporotrichosis: The story of an endemic region in Peru over 28 years (1985 to 2012). **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 6, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127924>.

STOPIGLIA, Cheila *et al.* Antifungal susceptibilities and identification of species of the *Sporothrix schenckii* complex isolated in Brazil. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 56–64, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13693786.2013.818726>.

VALERIANO, Carlos. **Identificação Polifásica e Perfil de Sensibilidade de Isolados de Sporothrix Sp. Estocados na Coleção de Cultura URM**. 66 f. 2017. [s. l.], 2017.

VALERIANO, Carlos Alberto Tiburcio *et al.* Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic area: Case series in the northeast of Brazil. **JAAD Case Reports**, [s. l.], v. 6, n. 10, p. 988–992, 2020a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdc.2020.07.047>.

VALERIANO, Carlos Alberto Tiburcio *et al.* Is *Sporothrix chilensis* circulating outside Chile? **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 1–11, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008151>.

VENTIN, Manuel *et al.* A significant geographical area for the study of the epidemiological and ecological aspect of mediterranean sporotrichosis. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 99, n. 1, p. 41–43, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00436679>.

VERMA, Santwana *et al.* Sporotrichosis in sub-himalayan india. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. 1–5, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001673>.

WALLER, Stefanie Bressan *et al.* **Antifungal resistance on Sporothrix species: an overview**. [S. l.]: Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00307-z>.

WALLER, Stefanie Bressan *et al.* Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], 2020.

WATANABE, Mana *et al.* A case of sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Japan. **Annals of Dermatology**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 251–252, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5021/ad.2016.28.2.251>.

YAMAGATA, João Paulo M. *et al.* Ocular sporotrichosis: A frequently misdiagnosed cause of granulomatous conjunctivitis in epidemic areas. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, [s. l.], v. 8, p. 35–38, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2017.09.005>.

ZHANG, Ya Qin *et al.* Sporotrichosis: Clinical and histopathological manifestations. **American Journal of Dermatopathology**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 296–302, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/DAD.0b013e3181f5b622>.

## **APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre Esporotricose no Hospital Universitário Lauro Wanderley e está sendo desenvolvida por Camila de Lima Gadelha, do Curso de Medicina da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Prof. Francisco Bernardino da Silva Neto. O objetivo do estudo é descrever as características clínicas e sociodemográficas dos casos de esporotricose atendidos nos Serviços de Dermatologia e Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, no período janeiro a dezembro de 2018, e desta forma alertar os profissionais da existência desta micose em nosso meio, possibilitando assim o diagnóstico precoce, e conseqüentemente, o tratamento adequado aos pacientes acometidos.

Solicitamos a sua colaboração para permitir seu exame físico e responder ao questionário padronizado ter acesso ao seu prontuário, como também sua autorização para eventualmente fotografar sua(s) lesão(ões) e para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo absoluto. Informamos que essa pesquisa todos os dados coletados serão manejados e analisados confidencialmente, e os resultados serão apresentados de forma agregada não permitindo a identificação individual dos participantes, trata-se de um estudo sem intervenções clínicas e sem alterações/influências na rotina/tratamento do participante de pesquisa. O projeto será previamente submetido à Plataforma Brasil e avaliado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal da Paraíba (CEP-CCM).

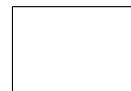
Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição (se for o caso). Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

---

Assinatura do(a) pesquisador(a) responsável

Considerando, que fui informado(a) dos objetivos e da relevância do estudo proposto, de como será minha participação, dos procedimentos e riscos decorrentes deste estudo, declaro o meu consentimento em participar da pesquisa, como também concordo que os dados obtidos na investigação sejam utilizados para fins científicos (divulgação em eventos e publicações). Estou ciente que receberei uma via desse documento.

João Pessoa, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_



Impressão dactiloscópica

---

Assinatura do participante ou responsável legal

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o pesquisador Francisco Bernardino. Telefone: (83) 988330703 ou para o Comitê de Ética do Centro de Ciências Médicas - Endereço: Centro de Ciências Médicas, 3º andar, sala 14. Cidade Universitária. Bairro: Castelo Branco – João Pessoa - PB. CEP: 58051-900. E-mail: [comitedeetica@ccm.ufpb.br](mailto:comitedeetica@ccm.ufpb.br) Campus I – Fone: (83) 32167619.

## **APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA PARTICIPANTE MENOR DE IDADE**

Prezado(a) Participante,

Esta pesquisa é sobre Esporotricose no Hospital Universitário Lauro Wanderley e está sendo desenvolvida por Camila de Lima Gadelha, do Curso de Medicina da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Prof. Francisco Bernardino da Silva Neto. O objetivo do estudo é descrever as características clínicas e sociodemográficas dos casos de esporotricose atendidos nos Serviços de Dermatologia e Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, no período de janeiro a dezembro de 2018, e desta forma alertar os profissionais da existência desta micose em nosso meio, possibilitando assim o diagnóstico precoce, e conseqüentemente, o tratamento adequado aos pacientes acometidos.

Solicitamos a sua colaboração para permitir seu exame físico, responder ao formulário padronizado e ter acesso ao seu prontuário, como também sua autorização para eventualmente fotografar sua(s) lesão(ões) e apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo absoluto. Informamos que essa pesquisa todos os dados coletados serão manejados e analisados confidencialmente, e os resultados serão apresentados de forma agregada não permitindo a identificação individual dos participantes, trata-se de um estudo sem intervenções clínicas e sem alterações/influências na rotina/tratamento do participante de pesquisa. O projeto será previamente submetido à Plataforma Brasil e avaliado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal da Paraíba (CEP-CCM).

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição (se for o caso). Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

---

Assinatura do(a) pesquisador(a) responsável

Eu aceito participar da pesquisa, que tem o objetivo estudar o perfil que a esporotricose se apresenta no ambiente e na sociedade. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir sem que nada me aconteça. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus pais e/ou

responsáveis. Li e concordo em participar como voluntário da pesquisa descrita acima. Estou ciente que meu pai e/ou responsável receberá uma via deste documento.



João Pessoa, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Impressão dactiloscópica

---

Assinatura do participante (menor de idade)

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o pesquisador Francisco Bernardino. Telefone: (83) 993020701 ou para o Comitê de Ética do Centro de Ciências Médicas - Endereço: Centro de Ciências Médicas, 3º andar, sala 14. Cidade Universitária. Bairro: Castelo Branco – João Pessoa - PB. CEP: 58051-900. E-mail: [comitedeetica@ccm.ufpb.br](mailto:comitedeetica@ccm.ufpb.br) Campus I – Fone: (83) 32167619

**APÊNDICE C – PEDIDO DE ISENÇÃO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE  
E ESCLARECIDO PARA A EMENDA 1**

**Nome do Projeto de Pesquisa: “Esporotricose em pacientes atendidos no  
Hospital Universitário Lauro Wanderley no ano de 2018”  
Instituição: Hospital Universitário Lauro Wanderley**

Sr.(a) Coordenador(a),

Solicitamos ao Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências Médicas da Universidade Federal da Paraíba, a isenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) desta emenda ao projeto de pesquisa encaminhada para vossa apreciação.

A emenda ao projeto de pesquisa intitulado “Esporotricose em pacientes atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley no ano de 2018” é um estudo descritivo, transversal e de caráter experimental que utilizará cepas de fungos do gênero *Sporothrix spp* isoladas de pacientes atendidos no HULW por ocasião do diagnóstico da doença esporotricose como parte do procedimento médico e que, portanto, dispensa a coleta de informação direta com o paciente.

As razões para solicitação de isenção do TCLE são enumeradas abaixo:

1. Não vai interferir no cuidado recebido pelo paciente pois os mesmos já foram diagnosticados e receberam o devido tratamento;
2. Não vai haver riscos físicos e/ou biológicos para o paciente uma vez que o estudo apesar de experimental, vai utilizar amostras já coletadas e que foram necessárias para o devido diagnóstico do paciente;
3. A confidencialidade da identificação pessoal dos pacientes é garantida pelo pesquisador principal e pelas técnicas de levantamento e guarda dos dados;
4. As informações serão destinadas exclusivamente para a pesquisa;
5. As amostras (cepas de *Sporothrix spp*) que serão utilizadas são oriundas dos pacientes incluídos no Projeto de Pesquisa intitulado “Esporotricose em pacientes atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley no ano de 2018” já aprovado pelo CEP/CCM/UFPB sob CAAE 74157817.0.0000.8069, no qual já consta TCLE.

Por esses motivos e como o uso e destinação dos dados coletados durante este projeto de pesquisa estão descritos no mesmo, solicitamos a dispensa do referido documento.

Atenciosamente,

Francisco Bernardino da Silva Neto

**APÊNDICE D – FICHA DE COLETA DE DADOS****Nº PRONTUÁRIO:** \_\_\_\_\_**1. Forma clínica da doença:**

Cutâneo-localizada ( )

Linfocutânea ( )

Disseminada ( )

Ignorada ( )

**2. Localização da lesão:****Membros superiores ( )**

Mão ( )

Antebraço ( )

Braço ( )

**Membros inferiores ( )**

Pés ( )

Perna ( )

Coxa ( )

**Tronco ( )****Cabeça ( )****Ignorada( )****3. Tratamento prescrito:**

Itraconazol ( )

Iodeto de potássio ( )

Terbinafina ( )

Anfotericina B ( )

Ignorado ( )

**4. Sexo:**

Masculino ( )

Feminino ( )

**5. Faixa etária:**

Idade (em anos) \_\_\_\_\_

**6. Ocupação profissional:**

Empregado de empresa pública ( )

Empregado de empresa privada ( )

Dona de casa ( )

Estudante ( )

Aposentado ( )

Atividade veterinária ( )  
Trabalhador rural ( )  
Autônomo ( )  
Desempregado ( )  
Ignorado ( )  
Não se aplica ( )

**A atividade envolve o contato com plantas, solo ou animais?**

Plantas Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( ) Não se aplica ( )  
Animais Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( ) Não se aplica ( )

**Qual animal?** \_\_\_\_\_

**7. Escolaridade:**

Analfabeto ( )  
Nível fundamental ( )  
Nível médio ( )  
Nível superior ( )  
Não se aplica ( )  
Ignorado ( )

**8. Renda mensal:**

Nenhuma renda ( )  
Até 1 salário mínimo ( )  
> 1 e ≤ 2 salários mínimos ( )  
> 2 e ≤ 3 salários mínimos ( )  
> 3 e ≤ 4 salários mínimos ( )  
> 4 salários mínimos ( )  
Ignorada ( )

**9. Procedência:**

João Pessoa ( )  
Região metropolitana ( ) Qual cidade? \_\_\_\_\_  
Interior ( ) Qual cidade? \_\_\_\_\_  
Ignorada ( )

**Bairro de João Pessoa?** \_\_\_\_\_

**Ignorado ( )**

**10. Contato com animal doméstico:**

Sim ( )  
Não ( )

Ignorado ( )

**Qual?**

Gato ( )

Cão ( )

Outro(s)? \_\_\_\_\_

**11. Contato domiciliar com plantas e/ou solo?**

Sim ( )

Não ( )

Ignorado ( )

**ANEXO A – VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO 1**

**Journal of Medical Mycology**  
**Dog-transmitted ocular sporotrichosis**

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Article Type:</b>	Letter to the Editor
<b>Keywords:</b>	Parinaud's oculoglandular syndrome, Sporothrix brasiliensis, Calmodulin sequencing.
<b>Corresponding Author:</b>	Reginaldo Gonçalves Lima-Neto, Ph.D. Universidade Federal de Pernambuco Recife, BRAZIL
<b>First Author:</b>	Francisco Bernardino Silva Neto, MD
<b>Order of Authors:</b>	Francisco Bernardino Silva Neto, MD
	Camila Lima Gadelha, MD
	Isaunir Verissimo Lopes, MD
	Mayara Bárbara Silva, Ph.D. in progress
	Bruna Rodrigues Sousa, Ph.D.
	Ana Carolina Bernardes Dulgheroff, Ph.D.
	Felipe Queiroga Sarmiento Guerra, Ph.D.
	Claudia Elise Ferraz, MD., Ph.D.
	Vera Magalhães, MD., Ph.D.
	Manoel Marques Evangelista Oliveira, Ph.D.
	Reginaldo Gonçalves Lima-Neto, Ph.D.

Dog-transmitted ocular sporotrichosis

Dear Editor,

Parinaud's oculoglandular syndrome, characterized by a unilateral granulomatous conjunctivitis with lymphadenopathy adjacent, is a uncommon eye disease caused by different pathogens, including fungi of the Sporothrix sp. genus [1,2]. Sporotrichosis is a mycosis of implantation emerging in several states of Brazil, and its transmission is mainly associated with contaminated cats to human through scratching or biting [3]. However, zoonotic transmission by dogs is rare. Herein, we

report ocular sporotrichosis in a young man as Parinaud's oculoglandular syndrome caused by *Sporothrix brasiliensis* after bite of contaminated dog.

The patient was a 25-year-old man born in the capital of the state of Paraíba, city of João Pessoa, who was referred on March, 19th, 2018, from primary health care to the infectious diseases outpatient clinic of a public university hospital with a history of dog bite on the left forearm 03 months ago. Seventy days after, the patient presented nodules on the left forearm (Fig. 1A) with drainage of purulent secretion at the bite site, in addition to the appearance of an eye lesion on the right (Fig. 1B and 1C). On examination, he had preauricular and right submandibular adenomegaly. Nodule medial to the left elbow and lesion with drainage of purulent secretion in the left forearm. On the same date, he was evaluated at the ophthalmological emergency department, where it was found on biomicroscopy hyperemia and the presence of granulomas in the lower and upper tarsal conjunctiva associated with purulent secretion. Secretions from the left forearm lesion and eye lesion were collected for fungal culture and itraconazole (ITZ) at 200 mg/day was started. Secretions were seeded on sabouraud dextrose agar plates plus cloramphenicol, incubated at 25 °C, and isolate cultures from forearm and eye secretions were obtained after seven days. Slide cultures were stained with lactophenol cotton blue, and observed under light microscope.

The patient returned to the infectious diseases outpatient clinic ten days (03/29/18) after with a positive culture result for *Sporothrix* sp. (Fig. 1D), and the ITZ was maintained. The clinical isolate was cultured on potato dextrose agar (PDA; Oxoid, Hampshire, UK) and incubated at 25 °C, for identification by a polyphasic approach, which combined morphological characterization and gene sequencing. DNA was extracted from mycelial phase after seven days old cultures grown on PDA using the Promega DNA isolation kit (Wizard Genomic DNA Purification Kit) according to the manufacturer's instructions. Calmodulin genes were amplified by polymerase chain reaction (PCR) as described by [4] Afterwards, BLAST analysis was carried out by searching for similar sequences deposited in GenBank and fungus was identified as *Sporothrix brasiliensis* and named as 15PB. The phylogenetic relationship among our isolate were evaluated from tree topologies with sequences from others species of *Sporothrix* sp. deposited in GenBank (AM116899; HQ426962; GU456632; AM747302;

KP711816; JF970258; AM398396; KX590808). Our sequence was deposited in the GenBank database under accession number OP157197. The clinical isolate was stored in URM Culture collection ISSO 9001:2015 at the Federal University of Pernambuco. Antifungal susceptibility testing was performed by broth microdilution according to CLSI M38-A2 protocol [5] and showed that the etiologic agent was sensitive to amphotericin B, itraconazole, ketoconazole, and terbinafine, and high minimum inhibitory concentrations against fluconazole and voriconazole. The patient was discharged in good clinical condition.

In Brazil, most patients diagnosed with sporotrichosis had previous contact with sick cats through scratching or biting. Transmission to humans from dogs is rare due to be an uncommon disease in this domestic animal, and present small amounts of the yeast-like cells in animal tissues or secretions [6]. Cases of sporotrichosis in dogs has been already reported in Brazil, but health professionals and public authorities are still unaware its importance to transmission chain of sporotrichosis. To the best our knowledge, this a first case reported of Parinaud's oculoglandular syndrome associated with sporotrichosis transmitted by dog.



Figure 1: Immunocompetent patient with ocular sporotrichosis as Parinaud's oculoglandular syndrome transmitted by bite of dog. Ulcerated skin lesion on the left forearm at the bite site (1A). Periorbital edema on the right side (1B). Granulomatous lesion on the lower eyelid on the right eye (1C). Photomicrograph of *Sporothrix brasiliensis* isolated from eye secretion and stained with lactophenol cotton blue (1D; magnification x400).

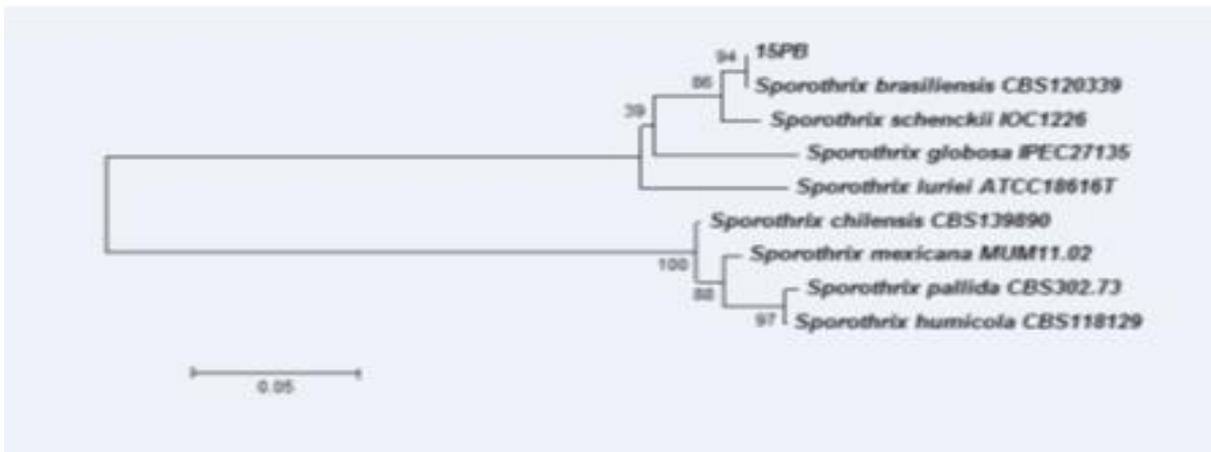


Figure 2: Neighbor-joining tree showing relatedness of 15PB isolate with other species of the *S. porothrix* sp. The percentage of replicate trees in which the associated taxon clustered in the bootstrap test (1,000 replicates) is shown next to the branches. All positions containing gaps and missing data were eliminated from the dataset (complete deletion option). There were 214 positions in the final dataset. Scale bar indicates nucleotide substitutions per site.

## Funding

This research was partially funded by the Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco FACEPE (grant APQ-1061-4.01/21).

## Declarations

## Conflicts of interest

The author declare that they have no conflict of interest

## Ethical Statement

This case report was written in accordance with the Declaration of Helsinki and the checklist instituted by Mycopathologia to guarantee the ethical principles.

## REFERENCES

- [1]Ramírez-Soto MC, Tirado-Sánchez A, Bonifaz A. Ocular sporotrichosis. *Journal of Fungi*. 2021;7(11):1–20. doi.org/10.3390/jof7110951.
- [2]Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, Da Silva AB, Inácio CP, de Lima-Neto RG, de Andrade MCL, Magalhães OMC, Dos Santos FAG, Neves RP. High-Virulence Cat-Transmitted Ocular Sporotrichosis. *Mycopathologia*. 2019;184(4):547-549. doi: 10.1007/s11046-019-00347-6.
- [3]Silva CE, Valeriano CA, Ferraz CE, Neves RP, Oliveira MM, Silva JC, Magalhães V, Lima-Neto RG. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Future Microbiol*. 2021;16:1371-1379. doi: 10.2217/fmb-2021-0142.
- [4]Oliveira MME, Maifrede SM, Ribeiro MA, Zancopé-Oliveira RM. Molecular identification of *Sporothrix* species involved in the first familial outbreak of sporotrichosis in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108:936-938.
- [5]CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi Second Edition, 2008. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute.
- [6]Boechat JS, Pereira SA, de Sá Machado AC, Viana PG, Almeida-Paes R, Zancopé-Oliveira RM, Gremião IDF, de Oliveira MME. Canine sporotrichosis: polyphasic taxonomy and antifungal susceptibility profiles of *Sporothrix* species in an endemic area in Brazil. *Braz J Microbiol*. 2021;52(1):135-143. doi: 10.1007/s42770-020-00328-8.

## ANEXO B – E-MAIL DE CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1

09/08/2022 11(43)

### Confirming submission to Journal of Medical Mycology

Journal de Mycologie Médicale <em@editorialmanager.com>

Sex, 05/08/2022 00:24

Para: Reginaldo Gonçalves Lima-Neto <goncalves\_reginaldo@hotmail.com>

\*This is an automated message.\*

Dog-transmitted ocular sporotrichosis

Dear Dr. Lima-Neto,

We have received the above referenced manuscript you submitted to Journal of Medical Mycology.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/mycmed/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,  
Journal of Medical Mycology

More information and support

%CUSTOM\_AUTHORSUPPORT%

FAQ: How can I reset a forgotten password?

[https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/28452/supporthub/publishing/](https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/).

For further assistance, please visit our customer service site:

<https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>.

Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

---

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/mycmed/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

## ANEXO C – VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO 2

### Ocular sporotrichosis: A-7 case series

Francisco Bernardino da Silva Neto<sup>1,2</sup>, Camila de Lima Gadelha<sup>3</sup>, Larissa Alves da Silva<sup>4</sup>, Natalia Diniz Nunes Pazos<sup>4</sup>, Alan Frazão da Silva<sup>5</sup>, Mayara Bárbara da Silva<sup>6</sup>, Bruna Rodrigues de Sousa<sup>6</sup>, Ana Carolina Bernardes Dulgheroff<sup>5</sup>, Felipe Queiroga Sarmiento Guerra<sup>4</sup>, Vera Magalhães<sup>7</sup>, Manoel Marques Evangelista Oliveira<sup>8</sup>, Reginaldo Gonçalves de Lima Neto<sup>6,7</sup>

1. Lauro Wanderley University Hospital, Federal University of Paraíba (UFPB), João Pessoa Brazil.
2. Department of Infectious, Parasitic and Inflammatory Diseases, Center for Medical Sciences, UFPB, João Pessoa, Brazil.
3. Undergraduated course in Medicine, Center for Medical Sciences, UFPB, João Pessoa, Brazil.
4. Post-Graduate Program in Bioactive Synthetic Natural products, UFPB, João Pessoa, Brazil.
5. Technical Health School, UFPB, João Pessoa, Brazil.
6. Post-Graduate Program in Fungal Biology, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil.
7. Department of Tropical Medicine, Center for Medical Sciences, UFPE, Recife, Brazil.
8. Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil.

Address Corresponding to: Prof. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto, Ph.D. Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Da engenharia S/N, 50740-600, Recife, Brazil. Phone: +55 081 2126 8580, Fax: +55 081 2126 8580. E-mail: [reginaldo.limant@ufpe.br](mailto:reginaldo.limant@ufpe.br)

Abstract: Ocular infections associated with sporotrichosis can present four clinical manifestations: granulomatous conjunctivitis, dacryocystitis, Parinaud oculoglandular syndrome, and bulbar conjunctivitis. Ocular sporotrichosis related to zoonotic transmission has the incidence significantly increased in endemic regions, and is a frequently misdiagnosed cause of granulomatous conjunctivitis. Therefore, we

present a series of seven cases of eye injury by the *Sporothrix* strains, including clinical forms, therapeutic approaches, and laboratory 33 procedures to alert health professionals that provide care to these patients.

**Keywords:** Fungal infection, Sporotrichosis, Atypical manifestation, *Sporothrix brasiliensis*.

## INTRODUCTION

Sporotrichosis is a subacute to chronic mycosis of humans and animals, emerging in several states of Brazil, and its transmission is mainly associated with contaminated cats to human through scratching or biting.<sup>1</sup> The zoonotic potential of sporotrichosis has been a major public health issue with several outbreaks occurring in Brazil, and *Sporothrix brasiliensis* as the most prevalent agent isolated from humans and cats.<sup>2,3,4</sup>

Clinical features of sporotrichosis can be divided in cutaneous and extracutaneous disease. Cutaneous presentation is the more common presentation and has three variants: fixed, superficial form and cutaneous lymphangitic. Extracutaneous forms are uncommon and they involve in the majority of cases bones and joints causing periostitis, osteolysis and tenosynovitis as an extension of the disease. Pulmonary involvement could be acute or chronic.<sup>5</sup>

Cases of ocular sporotrichosis are rare, but reports have been related to hyperendemic areas of this fungal infection. Nevertheless, its classification depends on anatomic criteria. It is noteworthy that the cutaneous form is the most frequent form, but ocular presentation has been increasingly diagnosed in epidemic areas.<sup>6,7</sup>

The first choice for the treatment of cutaneous sporotrichosis is itraconazole, and terbinafine is a safe and effective alternative when itraconazole is contraindicated. Saturated<sup>5,3</sup> solution of potassium iodide (SSKI) was the first treatment for sporotrichosis through its immunological action, acting on the breakdown of granulomas, neutrophil chemotaxis, in addition to *Sporothrix* phagocytosis and inhibition.<sup>8</sup>

Hitherto, we have no knowledge about the epidemiology, clinical findings, and outcomes of ocular sporotrichosis in northeastern Brazil, the newest epidemic area. Herein, we present a series of seven cases of ocular sporotrichosis with the

involvement of the ocular adnexa without trauma with successful antifungal treatment, followed at a Public University Hospital of Paraíba, Northeast Brazil.

## METHODS

### Local and Design of Study

This was a prospective cohort study based on medical appointments and their follow-up in 148 patients referred to the infectious disease outpatient clinic at the tertiary public hospital from January to December, 2018 (12 months). The study was conducted in João Pessoa, capital of the state of Paraíba, Northeast Brazil. This study received ethics approval from the Ethical Review Board of the Center for Medical Sciences, Federal University of Paraíba, Brazil, under code CAAE 74157817.0.0000.8069.

### Study population

Of the 182 patients, sporotrichosis was confirmed by clinical and microbiological examination in 148. Of these, seven had unilateral granulomatous conjunctivitis associated with purulent secretion, and in three of these, lymphadenopathy adjacent (preauricular and/or submandibular) consistent with Parinaud's oculoglandular syndrome. Moreover, all patients had contact with sick cats. Data were collected regarding the age of presentation, gender, clinical form of sporotrichosis, distribution of lesions, treatment instituted, and laboratorial findings.

### Mycological laboratory diagnosis

Biological samples were taken from affected regions by swabbing secretions. We performed direct microscopy using 20% potassium hydroxide and panoptic staining of the secretions. Eye secretions were seeded on Sabouraud dextrose agar plates, and incubated for up to 15 days at 25-28 °C to obtain the clinical isolate on culture. Slide cultures were stained with lactophenol cotton blue and observed under a light microscope.<sup>9</sup>

### Complementary laboratory analysis

Antifungal susceptibility testing was carried out by broth microdilution according to CLSI M38-A2,<sup>10</sup> and genomic identification was reached by DNA extraction from the mycelial phase, as previously described. Partial sequencing of the calmodulin gene was performed, and BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)) analysis was carried out by searching for similar sequences deposited in GenBank.<sup>11</sup>

## RESULTS

Patient 1 is a 15-year-old female student from the city of João Pessoa, capital of Paraíba state (PB), who sought health assistance in the ophthalmological emergency on 07/24/2018 with a history of nodulation in the lower eyelid and bulbar conjunctiva of the right eye over 25 days without history of trauma, but direct contact with a domestic cat. Biomicroscopy showed external and internal hordeolum, with secretion and inflammatory collection in bulbar conjunctiva. Cephalexin and ciprofloxacin eye drops were prescribed. The patient returned on 07/26/2018 with the lesion presenting a granulomatous appearance. A fragment of the bulbar conjunctiva was collected and sent for culture with isolation of *Sporothrix* spp. Itraconazole (ITZ) at 200 mg/day was started at the ophthalmology outpatient clinic on 08/10/2018 and the patient was referred to the infectious disease outpatient clinic for follow-up. Evolved with improvement of the eye lesion after three months of treatment, and was discharged without interurrences and complete resolution of the lesion.

Patient 2 is a 13-year-old male student from João Pessoa-PB, who reported a history of contact with exudate from a cat skin lesion, and subsequent appearance of a lesion in the right eye 02 months ago when he sought care at the ophthalmological emergency department. He performed swab culture of the eye lesion on 08/14/2018, which was positive for *Sporothrix* spp when started ITZ at 100 mg/day. Afterwards, he was referred to the infectious disease outpatient clinic on 10/02/2018, and ITZ at 100 mg/day was maintained after medical consultation until discharged.

Patient 3 is a 28-year-old housewife from Santa Rita-PB (João Pessoa metropolitan region), was attended at the infectious disease outpatient clinic on 12/04/2018 with a history of contact with cat wounds and subsequent appearance of a lesion on the left hand (Figure 1A) accompanied by subcutaneous nodules on the left forearm (Figure 1B), and followed by the appearance of a lesion in the tarsal and bulbar

conjunctiva of the right eye for about 4 months (Figures 1C and 1D). Evaluated by the ophthalmological emergency department when cultured secretions from the lesion in the left hand and right eye were performed, which revealed the growth of *Sporothrix* spp in both. On this occasion, she started treatment with ITZ at 200 123 mg/day, which was maintained until discharged.

Patient 4 is a 24-year-old male public employee was admitted at the infectious disease infirmary on 04/18/18 with an ulcerated lesion on the left forearm, which appeared one month ago after scratching by a domestic cat, and painful lymphatic nodules (Figure 1E) on the same side associated with submandibular and left cervical lymphadenopathy (Figure 1F), watery eyes and nodular lesions in the left eye (Figure 1G). He also had arthralgia in the elbows, knees and ankles, in addition to pain in the heel. Biomicroscopy of the left eye showed a nodule in the region of the lacrimal gland, painful on palpation, and inflammation. Culture of ocular secretions from the left eye revealed growth of *Sporothrix* sp. He was discharged with clinical improvement on 04/24/18 with ITZ 400 mg/day, which was reduced to 200 mg/day in the first visit at the infectious disease outpatient clinic on 05/14/18. On 7/21/18, he was discharged from the outpatient clinic after three months of treatment with ITZ and complete resolution of the fungal infection.

Patient 5 is a 8-year-old female student from João Pessoa-PB was attended at the ophthalmological emergency on 07/19/18 with hyperemia and secretion in the right eye associated with preauricular adenomegaly that appeared about 30 days ago, without association with trauma. However, the child had a history of direct contact with a cat family. Biomicroscopy of the right eye revealed hyperemia and granulomas in the superior and inferior tarsal conjunctiva. At the medical assistance, a culture of conjunctival secretion from the right eye was collected, which isolated *Sporothrix* sp. She was evaluated at the infectious disease outpatient clinic on 07/08/18 when saturated solution of potassium iodide (SSKI; 1 g/ml) in increasing divided doses of 8/8 hs was started up to reaching 3 g/day. She evolved with dyspeptic complaints when trying to maintain the dose at 3 g/day, being then reduced to 1.5 g/day and then increased to 2.25 g/day with good tolerability. After 03 months of treatment, 147 she was discharged on 11/20/18 with complete resolution of the lesions.

Patient 6 is a 50-year-old housewife from João Pessoa who was attended by the ophthalmological emergency on 11/01/18 with a complaint of burning and tearing in

the right eye for approximately 90 days. The patient did not report trauma, but a history of direct contact with a domestic cat. Ophthalmic examination showed hyperemia with tarsal conjunctival 152 secretion and granuloma in the lower eyelid. Scraping culture of the lesion in the palpebral conjunctiva of the right eye from 11/05/18 was positive for *Sporothrix* sp. and on 11/08/18 ITZ 200 mg/day was prescribed. She completed 06 months of treatment on 05/08/19 with complete resolution of the eye injury and was discharged from the infectious disease outpatient clinic on 07/08/19.

Patient 7 is a 27-year-old unemployed from João Pessoa-PB with no history of contact with animals or trauma. The patient was evaluated on 12/11/18 at the infectious disease outpatient clinic with a report of a granulomatous lesion in the right eye associated with conjunctival hyperemia, and preauricular and cervical lymphadenomegaly for about 60 days, unrelated to trauma or contact with animals (Figure H and I). On examination, a granulomatous lesion in the lower eyelid of the right eye was observed. In this medical appointment, the patient presented an eye lesion swab culture of 12/06/18 positive for *Sporothrix* sp. ITZ was started at 200 mg/day. She showed significant improvement of the eye injury, and after 10 weeks the ITZ dose was reduced to 100 mg/day and maintained until completing 4 months. She was discharged on 06/10/19 after an ophthalmology evaluation that confirmed the complete resolution of the eye lesion on biomicroscopy.

## DISCUSSION

A series of seven cases of ocular sporotrichosis with involvement of the adnexa, and in three of these cases, the presence of Parinaud's oculoglandular syndrome were described.<sup>12,13,14</sup> According to the literature, our findings corroborate the predominance of female cases, with five cases.<sup>15,16,17</sup> The involvement in this case series of patients with a mean age of 23.6 years emphasizes the importance of ocular sporotrichosis among children and young adults, who are more exposed to the fungus due to greater “face-to-face” contact with the sick animal associated with affection and jokes.<sup>6,18</sup>

The geographic expansion of zoonotic sporotrichosis by *S. brasiliensis*, mainly through the cat, has been experienced in South and Southeast Brazil in the last decades.<sup>19</sup> Nowadays, the emergence of the epidemic has occurred in the Brazilian Northeast,<sup>4,20</sup> and it has made possible to identify cases of extracutaneous

sporotrichosis considered rare, such as ocular sporotrichosis.<sup>7,9</sup> Although zoonotic transmission of sporotrichosis is related to biting and scratching by infected cats,<sup>3,21</sup> none of the patients in this study had a previous history of ocular trauma, leading us to hypothesize that autoinoculation may occur, in addition to handling skin lesions in other areas of the body. The presence of the lymphocutaneous form in the Patients 3 and 4 may favor ocular infection. Moreover, the identification of *S. brasiliensis* in the cases with genomic characterization emphasizes the possibility of non-traumatic inoculation of the fungus.<sup>22</sup>

Ocular sporotrichosis can present as an intraocular infection or an infection of the eye adnexa when it affects the eyelids, conjunctiva and the lacrimal system.<sup>7,23</sup> In granulomatous conjunctivitis, yellowish nodules with a smooth and shiny surface are clustered, involving the tarsal and/or bulbar conjunctiva, associated with conjunctival hyperemia and/or purulent exudate,<sup>17</sup> which was found in six of the seven patients. Initially, the nodular lesions caused by granulomatous conjunctivitis may be confused with hordeolum or chalazion, as presented in Patient 1, delaying diagnosis and appropriate therapy.<sup>17,24</sup> When granulomatous conjunctivitis is accompanied by ipsilateral preauricular and submandibular adenomegaly, as observed in Patients 4, 5 and 7, Parinaud's oculoglandular syndrome is characterized.<sup>12</sup> Although Parinaud's oculoglandular syndrome is classically associated with infection by *Bartonella henselae*,<sup>25</sup> the 199 diagnosis of ocular sporotrichosis may be facilitated in sporotrichosis endemic areas.

Dacryocystitis is an infection of the lacrimal system. However, this infection due to sporotrichosis is infrequent.<sup>7</sup> In a recent retrospective study of 120 cases of ocular sporotrichosis 202 from 2007 to 2017, in the state of Rio de Janeiro, Brazil, dacryocystitis was identified in 7.5% of cases.<sup>18</sup> It may present with other clinical manifestations, such as conjunctivitis and lymphocutaneous form<sup>24,26</sup> and evolve with sequelae.<sup>27</sup> Even though, Patient 4 had a nodular lesion in the lacrimal region, he did not progress to the classic picture of dacryocystitis characterized by erythema, edema and pain in a hardened area over the nasolacrimal sac just below the anatomical limit of the medial canthal ligament.<sup>26</sup>

Hypersensitivity reactions in the sporotrichosis is associated with zoonotic transmission of *S. brasiliensis* and can manifest as erythema nodosum, erythema multiforme, Sweet's syndrome and reactive arthritis.<sup>2,28</sup> Reactive arthritis often

disappears with specific treatment for sporotrichosis, but the use of corticosteroids may be necessary in other hypersensitivity reactions.<sup>18,28,29</sup> We noted probable reactive arthritis in Patient 4, who polyarthralgia and enthesitis of the left calcaneus were evident, which soon disappeared with the use of itraconazole.

Laboratory diagnosis of sporotrichosis includes direct and histopathological examination, mycological culture, and molecular identification of the species.<sup>30</sup> Like other clinical presentations, in ocular sporotrichosis the gold standard for diagnosis is the conventional culture of clinical specimens, such as tissue fragments and secretion from lesions, from which it is possible to observe delicate conidiophores and conidia arranged sympodially with floral appearance (Figure 1J). Although, the histopathological slides are used, biopsy is an invasive procedure that is prone to complications, and the histopathological findings may be nonspecific and mimic other granulomatous conditions.<sup>15,24,30,31</sup> In our study, patients 2, 3, 4, 5 and 7 underwent swab collection of secretion or ocular lesion, while patients 1 and 6 underwent collection of a fragment of lesion of the bulbar and tarsal conjunctiva, respectively, to seed on culture and in all *Sporothrix* sp. were isolated.

Despite the molecular identification of the *Sporothrix* species having important implications for the choice of antifungal therapy,<sup>32</sup> this approach has gained special attention in the current spread of sporotrichosis to the northeast region of Brazil.<sup>1,20,33</sup> Nevertheless, it is not available in most hospitals.<sup>24</sup> The identification of *S. brasiliensis* in 3 of our patients (Patients 1, 2 and 3) corroborates recent literature data that implicate this species as a main cause of human sporotrichosis in the states of Pernambuco and Rio Grande do Norte, neighboring the state of Paraíba, homeland of all patients in this series of cases.

Like cutaneous sporotrichosis, the treatment of ocular sporotrichosis is performed orally, and in the same doses with ITZ, terbinafine or with SSKI. ITZ is the treatment of choice at a dose of 100 to 400 mg/day, usually for 3 to 6 months, despite its high cost.<sup>15,34</sup> SSKI shows good results, but its main disadvantages are adverse effects and low tolerability.<sup>18,24</sup> When there is intraocular involvement, amphotericin B administered parenterally alone or in combination with oral antifungal agents is the most commonly used treatment.<sup>7</sup> In our case series, six 239 patients were treated with ITZ and only one 8-year-old child was treated with SSKI. Unlike the study by Ramírez-Soto<sup>35</sup>, where 20 out of 21 patients were treated with SSKI. Our patient had

the dose of SSKI reduced after the appearance of adverse events, which did not impair the treatment, and promoted clinical cure of the eye lesion. The ITZ dose ranged from 100 to 200 mg/day and only one of the patients started treatment with 400 mg/day, which was reduced to 200 mg/day during outpatient follow-up.

Despite the limited number of patients, healing without ocular sequelae in all the patients is quite encouraging. On the other hand, Arinelle et al<sup>18</sup> identified sequelae in 22.5% in 247 a series of 120 cases of ocular sporotrichosis.

Even though antifungal susceptibility tests are still limited, this knowledge becomes increasingly necessary due to *Sporothrix* clinical strains have shown the ability to develop resistance to conventional antifungals.<sup>36</sup> The high inhibitory concentrations against FLZ and VRZ among the three genetically identified strains emphasizes the guidance not to use them in the treatment of sporotrichosis. However, the susceptibility to ITZ and TBF of the same strains points to the maintenance of these antifungals as first-line therapeutic agents for the treatment of ocular sporotrichosis, in agreement with the literature.<sup>1,4</sup> Although *Sporothrix* clinical strains showed low minimal inhibitory concentrations to CTZ (Table 1), its bioavailability is lower than ITZ.

Furthermore, the detection of resistance to Amph B in one of these strains is noteworthy. Nevertheless, the play of this resistance in vitro needs to be better understood.

## CONCLUSION

Sporotrichosis is a broad-clinical spectrum fungal infection that displays a behavioral polymorphism. Uncommon manifestations of the disease may be challenging in the medical assistance. Therefore, this study recommends that sporotrichosis should be considered as diagnostic hypothesis in granulomatous conjunctivitis. Although there are usually no long-term ocular sequelae if ocular sporotrichosis is treated in a timely manner, it can cause prolonged eye discomfort and require several medical appointments.



Figure 1. (A) ulcerated lesions on the left hand accompanied by (B) nodules on the left forearm (C); Lesion in the tarsal conjunctiva, and (D) upper eyelid of the right eye; (E) painful lymphatic nodules on the left, and (F) submandibular lymphadenopathy on the same side; (G) watery eyes and nodular lesions in the left eye; (H and I) granulomatous lesion in the lower eyelid of the right eye; (J) micromorphology from the colony grown on potato dextrose agar for 15 days at 25°C showing septate mycelial filaments, delicate conidiophores, and conidia arranged sympodially 290 with floral arrangements (Lactophenol cotton blue staining x1,000).

Table 1. Minimal inhibitory concentration in  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of three *Sporothrix brasiliensis* related to ocular sporotrichosis, and identified by calmodulin partial sequencing, against antifungals drugs.

Case (isolate)	GenBank accession number	Amph B	ITZ	FLZ	VRZ	CTZ	TBF
Patient 1	OP094679	4	1	$\geq 64$	4	0.125	0.125
Patient 2	OP094680	0.5	0.06	32	2	0.125	0.125
Patient 3	OP094681	0.06	0.25	$\geq 64$	4	0.25	0.125

Amph B, amphotericin B; ITZ, itraconazole; FLZ, fluconazole; VRZ, voriconazole; CTZ, cetoconazole, and TBF, terbinafine.

## REFERENCES

1. Silva CE, Valeriano CAT, Ferraz CE, Neves RP, Oliveira MME, Silva JCAL, Magalhães V, Lima294 Neto RG, 2021. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the 295 state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Future Microbiol* 16: 1371–1379.
2. Almeida-Paes R, Oliveira MME, Freitas DFS, Valle ACF, Zancopé-Oliveira RM, Gutierrez297 Galhardo MC, 2014. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* Is 298 Associated with Atypical Clinical Presentations. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e3094.
3. Gremião ID, Miranda LH, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira NA, 2017. Zoonotic epidemic of 300 sporotrichosis: cat to human transmission. *PloS Pathog* 13: 2–8.
4. Valeriano CAT, Ferraz CE, Oliveira MME, Inácio CP, Oliveira EP, Lacerda AM, Neves RP, Lima302 Neto RG, 2020. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic 127po : Case series in the northeast of Brazil. *JAAD Case Rep* 6: 988–992.
5. Arenas R, Sánchez-Cardenas CD, Ramirez-Hobak L, Arriaga LFR, Memije MEV, 2018. Sporotrichosis: From KOH to molecular biology. *J Fungi* 4: 1–10.
6. Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Cognialli R, Lustosa BPR, Vicente VA, Ramírez-Marín. NA, 2022. 308 Sporotrichosis in Children: Case series and Narrative Review. *Curr Fungal Infect Rep* 16: 33–46.
7. Ramírez-Soto MC, Tirado-Sánchez A, Bonifaz A, 2021. Ocular sporotrichosis. *J Fungi* 7: 1–20.
8. Lyra MR, Sokoloski V, de Macedo PM, Azevedo ACP, 2021. Sporotrichosis refractory to conventional treatment: therapeutic success with potassium iodide. *Na Bras Dermatol* 96: 231–233.
9. Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, da Silva AB, Inácio CP, Lima-Neto RG, de Andrade M, Magalhães O, dos Santos F, Neves RP, 2019. High-Virulence Cat-Transmitted Ocular 316 Sporotrichosis. *Mycopathologia* 184: 547–549

10. CLSI, 2008. CLSI, 2011. Reference Method For Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing Of Filamentous Fungi: Approved Standard – Second Edition. CLSI document M38-A2. Wayne, 319 PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
11. LIMA IMF, Ferraz CE, Lima-Neto RG, Takano DM, 2020. Case Report: Sweet Syndrome in 321 Patients with Sporotrichosis: A 10-Case Series. *Am J Trop Med Hyg.* 103: 2533-2538.
12. de Abreu Ribeiro AS, Bisol T, Menezes MS, 2010. Síndrome Oculoglandular de Parinaud 323 causada por esporotricose. *Na Bras Oftalmol* 69: 317–322.
13. Ferreira CP, Nery NA, de Almeida AC, Ferreira LC, Corte-Real S, Conceição-Silva F, 2014. 325 Parinaud's oculoglandular syndrome associated with *Sporothrix schenckii*. *IDCases* 1: 38–39.
14. Madureira LS, Gatti RF, Prohmann CM, Sanmiguel J, de Almeida MTG, Mattar FRO, Antonio JR, 2018. Síndrome Oculoglandular de Parinaud Causada por *Sporothrix schenckii*. *Na SPDV* 429-433.
15. Ramírez-Oliveros JF, Schechtman RC, de Vries HJ, Lora L, Arinelli AC, Nery JAC, Freitas DFS, 330 2021. Ocular adnexal sporotrichosis: A case series. *JAAD Case Rep* 13: 52–56.
16. Ribeiro CR, Silva BP, Almeida-Costa AA, Neto AB, Vieira LA, Lima MA, Lima M, 2020. Ocular 332 Sporotrichosis. *Am J Ophthalmol Case Rep* 19: 100865.
17. Yamagata J, Rudolph FB, Nobre M, Nascimento LV, Sampaio F, Arinelli A, Freitas DF 2017. Ocular sporotrichosis: A frequently misdiagnosed cause of granulomatous conjunctivitis in epidemic 128po f. *Am J Ophthalmol Case Rep* 8: 35–38.
18. Arinelli A, Aleixo A, Freitas D, do Valle A, Almeida-Paes R, Nobre Guimarães AL, Oliveira R, Gutierrez-Galhardo MC, Curi A, 2022. Ocular Manifestations of Sporotrichosis in a Hyperendemic Region in Brazil: Description of a Series of 120 Cases. *Ocul Immunol Inflamm* 1–9.

19. Poester VR, Mattei AS, Madrid IM, Pereira J, Klafke GB, Sanchotene KO, Brandolt TM, Xavier MO, 2018. Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic? *Zoonoses and public health* 65: 815–821.
20. de Oliveira Bento A, de Sena Costa AS, Lima SL, do Monte Alves M, de Azevedo Melo AS, Rodrigues AM, da Silva-Rocha WP, Milan EP, Chaves GM. 2021. The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. *PloS Negl Trop Dis* 15: e0009693.
21. Paiva MT et al, 2020. Spatial association between sporotrichosis in cats and in human during a Brazilian epidemics. *Prev Vet Med* 183: 105125.
22. Schubach A et al, 2005. Primary conjunctival sporotrichosis: Two cases from a zoonotic epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. *Cornea* 24: 491–493.
23. Aidar MN, Rebeschini BM, Mata C, Borges TC, Araújo M, 2022. The importance of considering the possibility of ocular sporotrichosis in a population with high incidence rates of sporotrichosis. *Arq Bras Oftalmol* 86: 1–4.
24. Gameiro Filho AR, Estacia CT, Gameiro RR, de Mattos Fonseca Vieira L, Soccia da Costa D, 2020. Ocular and cutaneous sporotrichosis. *Am J Ophthalmol Case Rep* 20: 100885.
25. Galindo-Bocero J, Sánchez-García S, Álvarez-Coronado M, Rozas-Reyes P, 2017. Síndrome oculoglandular de Parinaud: a propósito de un caso. *Arch Soc Esp Oftalmol* 92: 37–39, 2017.
26. Freitas DF, Lima IA, Curi CL, Jordão L, Zancopé-Oliveira RM, Valle AC, Galhardo MC, Curi AL, 2014. Acute dacryocystitis: Another clinical manifestation of sporotrichosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 109: 262–264.
27. de Macedo PM, Sztajn bok DC, Camargo ZP, Rodrigues AM, Lopes-Bezerra LM, Bernardes-Engemann AR, Orofino-Costa R, 2015. Dacryocystitis due to *Sporothrix brasiliensis*: A case of a successful clinical and serological outcome with low-dose potassium iodide treatment and oculoplastic surgery. *Br J Dermatol* 172: 1116–1119.

28. Orofino-Costa R, Macedo PM, Rodrigues AM, Bernardes-Engemann AR, 2017. Sporotrichosis: Na update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. Na Bras 367 Dermatol 92: 606–620.
29. Orofino-Costa R, Bóia MN, Magalhães GA, Damasco NA, Bernardes-Engemann AR, Benvenuto F, Silva IC, Lopes-Bezerra LM, 2010. Arthritis as a hypersensitivity reaction in a case of 370 sporotrichosis transmitted by a sick cat: Clinical and serological follow 130po f 13 months. Mycoses 53: 81–83.
30. Zhang M, Li F, Li R, Gong J, Zhao F, 2019. Fast diagnosis of sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa*, *Sporothrix schenckii*, and *Sporothrix brasiliensis* based on multiplex real-time PCR. 374 PloS Negl Trop Dis 13: e0007219.
31. Zhang YQ, Xu XG, Zhang M, Jiang P, Zhou XY, Li ZZ, Zhang MF, 2011. Sporotrichosis: Clinical 376 and histopathological manifestations. Am J Dermatopathol 33: 296–302.
32. Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP, 2015. Molecular Diagnosis of Pathogenic 378 *Sporothrix* Species. PloS Negl Trop Dis 9: e0004190.
33. Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP, 2016. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in 380 Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. PloS Pathog 12: e1005638.
34. Liborio Neto AO, Caetano TR, Gervasio NHP, Carneiro RC, 2019. Conjunctival and bulbar sporotrichosis as Parinaud’s oculoglandular syndrome acquired by blood inoculation. GMS 383 Ophthalmol Cases 11:Doc02.
35. Ramírez-Soto MC, 2015. Sporotrichosis: The Story of na Endemic Region in Peru over 28 Years 385 (1985 to 2012). PloS One, 10(6):e0127924.
36. Waller SB, Dalla Lana DF, Quatrin PM, Ferreira MRA, Fuentefria AM, Mezzari A, 2021. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: na overview. Braz J Microbiol 52(1):73-80.

**ANEXO D – E-MAIL DE CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 2**

09/08/2022 11(40)

**Manuscript submitted - AJTMH-22-0501**

American Journal of Tropical Medicine &amp; Hygiene

&lt;onbehalf@manuscriptcentral.com&gt;

Ter, 09/08/2022 14G39

**Para:** goncalves\_reginaldo@hotmail.com <goncalves\_reginaldo@hotmail.com>**Cc:** editorial@ajtmh.org <editorial@ajtmh.org>

09-Aug-2022

Re: AJTMH-22-0501

Manuscript ID Dear Prof.

Reginaldo Lima Neto:

This is to acknowledge that the above manuscript has been received by the American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. Please refer to this number in all your future correspondence with the Journal office.

Your user name is: goncalves\_reginaldo@hotmail.com

Your password may be found by using the password help function on the log-in page.

**FOR ORIGINAL SUBMISSIONS:**

This information refers to ORIGINAL SUBMISSIONS only. If this is a revised manuscript, please skip to the REVISIONS section of this letter below.

Please verify the following information and notify the journal office immediately if there are any discrepancies:

Manuscript type: Clinical Case Report

Title: Ocular sporotrichosis: A-7 case series

Authors: Silva Neto, Francisco; Gadelha, Camila; Silva, Larissa; Silva, Alan; Pazos, Natália;

Silva, Mayara; Sousa, Bruna; Dulgheroff, Ana Carolina; Guerra, Felipe; da Silveira, Vera ;  
Oliveira, Manoel; Lima Neto, Reginaldo

Number of tables: 01

Number of figures: 01

Word count: 2,801

Right running head: Ocular sporotrichosis

The journal adheres to [ICMJE recommendations for authorship](#). Please read Section II.A.2 of the ICMJE recommendations for more information on authorship guidelines. ALL co authors must fill out the AJTMH [Authorship Agreement Form](#). Additionally, only the corresponding author must fill out and submit the [Copyright Form](#).

As the corresponding author, we ask that you collect this form from all authors and submit to [editorial@ajtmh.org](mailto:editorial@ajtmh.org) in one batch or document. Be sure to include your manuscript number in

about:blank    Página 1 de 2 09/08/2022 11(40

the subject line of your email.

There are page charges for publication in the Journal. You will receive a separate e-mail from the journal office staff with estimated page charges. (There are no page charges for book reviews, letters to the editor, and editorials.)

If you are not already a member of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH), now would be a good time to join. Members receive a subscription to the journal, discounted page charges, and access to a professional network of peers in the field of tropical medicine. For information on membership, please visit <https://www.astmh.org/forastmh-members/join-astmh>

FOR REVISIONS:

Thank you for submitting your revised manuscript to the journal. The revised manuscript may need to go out for review again. We will keep you updated on its status.

If you would like to be removed from our database, please email [editorial@ajtmh.org](mailto:editorial@ajtmh.org). Please refer to our privacy policy, which can be found here: <https://www.ajtmh.org/privacy-policy>

Thank you for your interest in The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.

Sincerely,

Alison Jaeb

Alison Jaeb

Editorial Production Manager [editorial@ajtmh.org](mailto:editorial@ajtmh.org)

### ANEXO E – VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO 3

Human sporotrichosis in a university hospital in northeast Brazil

Francisco Bernardino da Silva Neto<sup>1,2</sup>, Camila de Lima Gadelha<sup>3</sup>, Larissa Alves da Silva<sup>4</sup>, Natalia Diniz Nunes Pazos<sup>4</sup>, Alan Frazão da Silva<sup>5</sup>, Mayara Bárbara da Silva<sup>6</sup>, Bruna Rodrigues de Sousa<sup>6</sup>, Ana Carolina Bernardes Dulgheroff<sup>5</sup>, Felipe Queiroga Sarmiento Guerra<sup>4</sup>, Vera Magalhães<sup>7</sup>, Manoel Marques Evangelista Oliveira<sup>8</sup>, Reginaldo Gonçalves de Lima Neto<sup>6,7</sup>

1. Lauro Wanderley University Hospital, Federal University of Paraíba (UFPB), João Pessoa Brazil.
2. Department of Infectious, Parasitic and Inflammatory Diseases, Center for Medical Sciences, UFPB, João Pessoa, Brazil.
3. Undergraduated course in Medicine, Center for Medical Sciences, UFPB, João Pessoa, Brazil.
4. Post-Graduate Program in Bioactive Synthetic Natural products, UFPB, João Pessoa, Brazil.
5. Technical Health School, UFPB, João Pessoa, Brazil.
6. Post-Graduate Program in Fungal Biology, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil.
7. Department of Tropical Medicine, Center for Medical Sciences, UFPE, Recife, Brazil.
8. Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil.

Address Corresponding to: Prof. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto, Ph.D. Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Da engenharia S/N, 50740-600, Recife, Brazil. Phone: +55 081 2126 8580, Fax: +55 081 2126 8580. E-mail: [reginaldo.limant@ufpe.br](mailto:reginaldo.limant@ufpe.br)

## ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis caused by fungi of the pathogenic clade *Sporothrix* distributed throughout the world, especially in tropical and subtropical regions, and which in Brazil has shown intense geographic expansion while zoonotic transmission has established itself as the main route responsible for outbreaks in endemic areas. The objective of this work is to describe the sociodemographic, clinical and epidemiological characteristics of human sporotrichosis cases in Paraíba, Northeast Brazil, diagnosed from January to December 2018, genotypically identify the species and determine in vitro sensitivity to the main antifungals available for the treatment. This is a descriptive prospective study that included 148 patients with sporotrichosis followed up at the referral outpatient clinic for infectious and parasitic diseases of a university hospital in northeastern Brazil. Most patients were female (59.4%). The age of the patients ranged from 1 to 85 years. 46 (31.1%) patients declared a monthly family income of up to one minimum wage, with 135 (91.2%) reporting some level of education. 113 (76.3%) patients came from the state capital, João Pessoa. 110 (74.3%) patients reported home contact with sick cats. Half of those reported non-traumatic contact with the feline. Home contact with dogs was reported by four (2.7%) patients. The lymphocutaneous form represented 69.6% of the patients, the fixed cutaneous form 23.6% and eight (5.4%) patients had ocular involvement. Manifestations of hypersensitivity occurred in only 2.7% of patients. Itraconazole was prescribed to 90.5% of patients. *Sporothrix brasiliensis* was the species identified in all 17 isolates submitted to genetic characterization through partial sequencing of the calmodulin gene. Antifungal sensitivity tests demonstrated excellent in vitro efficacy of itraconazole and terbinafine, with only three isolates resistant to itraconazole and none to terbinafine. Human sporotrichosis in Paraíba presents a concentration of cases in the state capital, it has a zoonotic character, by feline-man transmission, affecting more women. There is a predominance of the lymphocutaneous form, but extracutaneous forms such as the ocular must be remembered in the current context of sporotrichosis in the state, which has become endemic. The identification of *S. brasiliensis* in all isolates evaluated may justify the non-traumatic transmission of sporotrichosis in a percentage similar to the traumatic transmission by biting and/or scratching. The

excellent in vitro antifungal activity of itraconazole allows it to remain the first choice in the treatment of sporotrichosis.

Keywords: Sporotrichosis. Sporothrix. Zoonotic transmission. Brazilian Northeast.

## INTRODUCTION

Sporotrichosis is the most frequent subcutaneous mycosis in the world<sup>1</sup> but the highest prevalence is observed in tropical and subtropical regions, especially in the Americas and Asia<sup>2</sup>. It can be manifested by cutaneous (lymphocutaneous, fixed and disseminated cutaneous) and extracutaneous (ocular, pulmonary and osteoarticular) involvement, in addition to hypersensitivity reactions and disseminated disease with systemic involvement in the immunosuppressed patient<sup>3</sup>.

Over the past decade, molecular phylogeny has revolutionized the taxonomy of *Sporothrix* pathogenic species, changing our perceptions of epidemiology, fungus-host interaction, virulence, and drug susceptibility. *Sporothrix shenckii* (sensu stricto), *S. brasiliensis*, *S. globosa* and *S. luriei* composing, then, the pathogenic clade of the genus *Sporothrix*.<sup>4</sup>

Commonly associated with leisure or work activities such as gardening and agriculture<sup>5</sup>, in the last two decades, the incidence of zoonotic sporotrichosis has been increasing, particularly in Brazil<sup>6</sup>. The entry of the cat in the sporotrichosis transmission chain causing epizootics or zoonosis has contributed to the definition of new paradigms in the transmission of sporotrichosis reaching epidemic levels, making the disease a serious public health problem<sup>7</sup>. In Brazil, the metropolitan region of Rio de Janeiro represents the epicenter of the zoonotic epidemic of sporotrichosis<sup>4</sup>.

During the period from 1998 to 2017, Brazil experienced a geographic expansion of sporotrichosis<sup>8</sup> and the northeast region became the new frontier of this mycosis with the registration of feline cases and zoonotic transmission in the states of Alagoas, Pernambuco and Rio Grande do Norte altering the epidemiological profile of sporotrichosis in region<sup>9-11</sup>.

Given the geographic expansion of sporotrichosis to the northeast of Brazil, associated with zoonotic transmission and the lack of consistent data regarding human cases in the state of Paraíba, it is essential to know the sociodemographic, clinical and

epidemiological characteristics of this mycosis, in addition to determining which species involved and their antifungal sensitivity profile that will support local health authorities in the formulation of public policies for prevention and control and in the elaboration of appropriate therapeutic guidelines in the face of the current scenario of sporotrichosis in Paraíba.

## **MATERIALS AND METHOD**

### Study Location and Design

This was a prospective and descriptive study based on the medical follow-up of 148 patients with sporotrichosis referred to the infectious and parasitic diseases outpatient clinic of a tertiary public hospital from January to December 2018 (12 months). A review of the medical records of patients diagnosed with ocular sporotrichosis was also performed. The study was carried out in João Pessoa, capital of the state of Paraíba, Northeastern Brazil. This study received ethical approval from the Research Ethics Committee of the Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal da Paraíba, Brazil, under code CAAE 74157817.0.0000.8069.

### Study population

Of the 182 patients, sporotrichosis was confirmed by clinical and microbiological examination in 148. Data were collected regarding sex, age, origin, occupation, schooling, monthly family income, contact with animals, clinical form of sporotrichosis, distribution of lesions, presence of hypersensitivity reactions and treatment instituted.

### Mycological laboratory diagnosis

Biological samples were taken from the affected regions by means of secretion swabs. The secretions were seeded on Sabouraud dextrose agar plates and incubated for up to 15 days at 25-28°C to obtain the clinical isolate in culture. Slide cultures were stained with lactophenol blue cotton and observed under a light microscope<sup>12</sup> (Figure 1H).

## Complementary laboratory analysis

The antifungal susceptibility test was performed by broth microdilution according to CLSI M38-A2<sup>13</sup>, and genomic identification was achieved by DNA extraction from the mycelial phase. Partial sequencing of the calmodulin gene was performed and BLAST analysis ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)) was performed by searching for similar sequences deposited in GenBank<sup>14</sup>.

## RESULTS

A total of 148 patients diagnosed with sporotrichosis from January to December 2018 were included in the present study, 88 (59.4%) were female, representing the majority of cases. The youngest patient was 1 year old, while the oldest was 85 years old, with a mean age of  $41.33 \pm 19.1$  years, median of 42 years and mode of 44 years of age.

Most patients lived in João Pessoa, with a total of 113 patients (76.3%). Patients had different occupations but housewives represented 11.5% of patients while rural workers only 1.3% of patients. Most patients, 106 (71.6%) had some degree of basic education and 46 (31%) reported receiving up to a minimum wage of monthly family income.

Of the 148 patients, 110 (74.4%) reported previous contact with sick cats with half of these reporting traumatic contact by scratching and/or biting. Contact with dogs was observed in four (2.7%) patients but only one (0.67%) reported biting.

Regarding the clinical forms of sporotrichosis, 103 (69.6%) had the lymphocutaneous form (Figures 1A, 1B, 1C and 1D), and 35 (23.6%) had the fixed cutaneous form (Figure 1F) and eight (5.4%) had ocular involvement (Figure 1E). Most injuries affected the upper limbs in 83 (56.1%), followed by involvement of the lower limbs in 36 (24.3%) patients. One patient presented the disseminated cutaneous form resulting from multiple scratches from a cat and another patient, infected by HIV, presented disseminated lesions throughout the integument.

A hypersensitivity reaction was observed in four (2.7%) patients, one with the fixed cutaneous form presenting erythema multiforme (Figure 1G) and one patient with

ocular sporotrichosis who developed reactive arthritis. In the other two patients, it was not possible to clinically identify the hypersensitivity reaction.

One hundred and thirty-four patients (90.5%) were treated with ITC. SSIK was prescribed to 12 (8.1%) patients, nine of whom were children. One pregnant patient was only monitored and instructed to use local thermotherapy. After reviewing the medical records of patients diagnosed with ocular sporotrichosis, it was found that the dose of itraconazole ranged from 100 to 200 mg/day and only one of the patients started treatment with 400 mg/day, which was then reduced to 200 mg/day during outpatient follow-up and one patient who used saturated potassium iodide solution had her medication adjusted due to dyspeptic complaints during treatment.

Table 1 summarizes the sociodemographic, clinical and epidemiological characteristics of the patients evaluated.

Of the 148 isolates sent for sensitivity testing by determining the minimum inhibitory concentration (MIC), it was possible to perform it in 80 (54.05%) (Table 2) in addition to genetic characterization through partial sequencing of the calmodulin in 17 (11.5%) isolates. (Figure 2) Antifungal sensitivity tests showed excellent in vitro efficacy of itraconazole and terbinafine, with only three isolates resistant to itraconazole and none to terbinafine, and the only species identified was *S. brasiliensis*.

## DISCUSSION

Human sporotrichosis has been studied in several countries due to its cosmopolitan distribution, especially in Latin American countries such as Brazil, Peru and Mexico<sup>15,16</sup>. In some parts of Brazil, it is estimated that sporotrichosis is responsible for 0.5% of all dermatoses<sup>17</sup>. The studies focus on the state of Rio de Janeiro, where there has been a constant increase in the number of cases of sporotrichosis, becoming a public health problem<sup>18,19</sup>. Other states in southern and southeastern Brazil, such as São Paulo, Espírito Santo, Minas Gerais and Rio Grande do Sul, also report cases of feline and human sporotrichosis<sup>20-23</sup>. Recently, some publications have pointed to the expansion of this epidemic to states in the Northeast region of Brazil, such as Pernambuco, Rio Grande do Norte and Alagoas<sup>9-11</sup>.

In this scenario of geographic expansion of sporotrichosis to northeastern Brazil, mainly due to zoonotic transmission<sup>11,24</sup>, we present a series of 148 cases of human sporotrichosis, all with a positive mycological culture for *Sporothrix* sp. considered as the gold standard method for the definitive diagnosis of sporotrichosis in 25 patients followed up at a university hospital in Paraíba, a state in Northeastern Brazil.

The genetic identification of *S. brasiliensis* as has been occurring in Pernambuco and Rio Grande do Norte<sup>11,24</sup>, states neighboring Paraíba, in 17 clinical isolates from our sample, despite representing only 11.5% of our isolates, the others identified only like *Sporothrix* sp., is important from an epidemiological point of view because *S. brasiliensis*, previously restricted to southern and southeastern Brazil<sup>7</sup>, is now found in areas far from the epicenter of the epidemic. Furthermore, the fact that *S. brasiliensis* is a more virulent species than *Sporothrix sensu stricto*<sup>26</sup> seems to favor zoonotic transmission from cats to humans<sup>4</sup>, and the consequent geographic expansion in our continental country<sup>11</sup>.

As other studies show the relationship between sick cats and zoonotic transmission<sup>2</sup>, in our study we found that contact with sick cats was reported by 74.4% of patients. It is interesting to observe that half of these patients, that is, 55 patients have denied any traumatic contact, such as bites and scratches, with their animals, which may be related to greater transmissibility of *S. brasiliensis* even when there is no apparent damage to the skin of the animal. humans<sup>20</sup>, or unnoticed injuries have occurred, especially during animal handling, thus favoring infection<sup>27</sup>.

Sporotrichosis in dogs is a rare disease and has minimal zoonotic potential, however in recent years an increasing number of cases have been recorded in Brazil, especially in Rio de Janeiro<sup>28,29</sup>. Despite this, we observed in our series four patients who reported contact with dogs, one of them being a victim of a bite on the left forearm and development of lymphocutaneous sporotrichosis in the left upper limb followed by ocular involvement on the right with Parinaud's syndrome.

The change from the occupational acquisition profile related to soil and plant manipulation<sup>19</sup> to intra-domestic acquisition is also related to zoonotic transmission, especially related to the act of caring for sick cats, and the identification of *S. brasiliensis*<sup>20</sup>. Despite this The relationship between the occurrence of sporotrichosis and the performance of domestic activities has already been well established in other studies<sup>16,19</sup> in our study only 17 women declared they were housewives, which

represented 21.2% of the female patients evaluated, perhaps justified by the the fact that some women feel ashamed to say they are housewives.

Differently from what occurs in Espírito Santo<sup>21,30</sup>, a state in the southeastern region of Brazil, the identification in our study of only two patients with occupation related to agriculture corroborates the data in the literature that shows the predominance of zoonotic transmission over classical transmission of sporotrichosis in the northeast of Brazil, in Rio de Janeiro and São Paulo<sup>10,11,20</sup>

In relation to the age range of involvement, corroborating other data in the literature<sup>2,27</sup> our study shows an extremely wide age range among patients diagnosed with sporotrichosis, predominantly among adult patients. A recent study published by Queiroz-Telles et al., (2022)<sup>31</sup> compared two series of cases of sporotrichosis in pediatric patients, in Mexico and Brazil, with 20 children in the first and 21 children in the second, and in this case it represented 12% of the total number of patients. patients, very close to the frequency found in our study of 11.5% of patients under 18 years of age.

The occurrence of sporotrichosis varies with gender<sup>15</sup>. In our study, the predominance of female patients corroborates other studies carried out in Brazil, especially in Rio de Janeiro, whose patients are mainly women<sup>19,27,32,33</sup> and more recently in neighboring states, Pernambuco and Rio Grande do Norte<sup>10, 11</sup>. However, it differs from that observed in Espírito Santo, where most patients with sporotrichosis are men<sup>21</sup>.

The spatial distribution of sporotrichosis predominantly in the metropolitan region of João Pessoa reflects the urbanization trend of mycosis as observed in Rio de Janeiro<sup>34</sup>. In addition, a higher frequency of low-income patients and lower levels of education characterize the current scenario of human sporotrichosis in Paraíba, as observed in areas of the state of Rio de Janeiro, Pernambuco and Rio Grande do Norte<sup>2,10,11,19</sup>, however , it is noteworthy that in the present study, the sample was evaluated by convenience, since there was no active search for patients, but rather their search for the public service offered at the HULW, meeting a demand from patients with more precarious socioeconomic conditions.

Corroborating with several studies already published<sup>20,27,35</sup>, in our study the most frequent clinical form was the lymphocutaneous form and the upper limbs were the main anatomical site of involvement. The fixed cutaneous form represents between 10

and 20% of the clinical presentations of sporotrichosis<sup>1</sup>. In our case series, we observed a frequency of 23.6% among the 148 cases studied, unlike what was observed in Rio Grande do Norte, with a frequency of 39.9% among 122 cases of sporotrichosis, and in Rio Grande do Sul, with 38.6 % of 101 cases, in the latter surpassing the lymphocutaneous form<sup>11,36</sup>.

In our study, only two cases of disseminated lesions were observed. One of the patients, a female, was scratched by her cat in several parts of the body where several lesions appeared at the same time, without systemic invasion as observed in two patients by Valeriano et al., (2020)<sup>24</sup>. Another HIV-infected male patient, in probable therapeutic failure to antiretroviral drugs, presented heterogeneous and polymorphic skin lesions with associated systemic involvement, as described by Tshisevhe et al., (2021)<sup>37</sup> in an HIV-infected patient. Thus, the first patient was classified as having disseminated cutaneous sporotrichosis and the second as having disseminated sporotrichosis. It is important to remember that there is no consensus on this division of disseminated forms since the involvement of internal organs can occur in most cases<sup>38</sup>.

Extracutaneous sporotrichosis is rare and difficult to diagnose in the absence of cutaneous lesions. It often develops pulmonary, central nervous system, osteoarticular and ocular system involvement<sup>38,39</sup>. Ocular sporotrichosis resulting from *Sporothrix* infection is reported in hyperendemic areas and although it may occur due to traumatic inoculation of the fungus into the eye, many cases occur without the identification of predisposing factors<sup>39</sup> In a recent publication Arinelle et al., (2022)<sup>40</sup> reported 120 cases of ocular sporotrichosis from 2007 to 2017 in Rio de Janeiro. In Pernambuco, Lacerda Filho et al., (2019)<sup>12</sup> reported a case of ocular sporotrichosis transmitted by cats as well as in Rio Grande do Norte by Oliveira Bento et al., (2021)<sup>11</sup>. In a period of just one year, we observed eight cases of ocular sporotrichosis with granulomatous conjunctivitis in our research. In none of them was direct trauma to the affected eye identified, in three of them the ocular involvement occurred as Parinaud's syndrome and in one of the patients the transmission occurred after a dog bit his forearm.

*Sporothrix brasiliensis* infection is also associated with the emergence of a greater number of hypersensitivity reactions such as erythema nodosum, erythema multiforme and Sweet's syndrome<sup>38</sup>. In our study, only four (2.7%) patients had a hypersensitivity reaction in one of them we could identify erythema nodosum and in

another reactive arthritis. In the others, it was not possible to establish the diagnosis of hypersensitivity reaction. This percentage is lower than that observed in other studies<sup>11,14</sup> and may be due to the fact that patients who, in addition to sporotrichosis, had a hypersensitivity reaction sought care at the dermatology outpatient clinic instead of the infectious and parasitic disease outpatient clinic.

Even though antifungal susceptibility tests are still limited, this knowledge becomes increasingly necessary since the species of the *Sporothrix* complex showed the ability to develop resistance to conventional antifungals, with *S. brasiliensis* being the fungal species with high capacity to acquire a mutational or resistance mechanism<sup>41</sup>.

Despite the high cost, in this case series the patients were mostly treated with oral Itraconazole, in accordance with recently published studies<sup>20,11,10</sup>. Terbinafine was not prescribed for any of the patients while amphotericin B deoxycholate was prescribed only for the HIV-infected patient who had disseminated disease but as soon as he was discharged the therapy was switched to itraconazole. The saturated solution of potassium iodide was used for 12 patients, including nine children due to the ease of administration of the solution in drops and in the others due to the occurrence of contraindications to the use of itraconazole.

From 2005 to 2010, about 1,000 patients were diagnosed with sporotrichosis at IPEC–Fiocruz, including 12 pregnant women<sup>42</sup> and due to the effects it can have on the fetus, the treatment of sporotrichosis in pregnant women is a great challenge, making it possible to use Amphotericin B in cases serious<sup>43</sup>. Only one patient in our case series was pregnant and it was decided to keep her without drug treatment and with guidance to perform thermotherapy, one of the options for this situation, resulting in the patient's discharge without the need for drug treatment after delivery.

Regarding treatment, the use of Itraconazole in most patients is in accordance with literature data<sup>3,44</sup>, as is the discharge of patients followed up with complete resolution of the lesions, regardless of the medication prescribed<sup>19,32</sup>.

The antifungal susceptibility tests of the 8 isolates, excellent with in vitro tooling of itraconazole and terbinafine. Although three remain resistant to itraconazole, maintaining excellent in vitro activity, which allows for continuous treatment of sporotrichosis. The fact that no terbinafine resistance has been manufactured in vitro

reinforces what has already been observed by Waller et al., (2021) an alternative in an emergency scenario of resistance to Itraconazole<sup>45</sup>.

## CONCLUSION

Human sporotrichosis in Paraíba presents a concentration of cases in the state capital, it has a zoonotic character, by feline-man transmission, affecting more women. There is a predominance of the lymphocutaneous form, but extracutaneous forms such as the ocular must be remembered in the current context of sporotrichosis in the state, which has become endemic. The identification of *S. brasiliensis* in all isolates evaluated may justify the non-traumatic transmission of sporotrichosis in a percentage similar to the traumatic transmission by biting and/or scratching. The excellent in vitro antifungal activity of itraconazole allows it to remain the first choice in the treatment of sporotrichosis. In addition, the organization of services for the correct identification of the patient with sporotrichosis, the decentralization of the mycological diagnosis, the accessibility to the prescribed treatment and the elaboration of effective measures to control the feline population associated with environmental measures to avoid soil contamination are essential to control the expansion of this mycosis.

Table 1 Sociodemographic, clinical and epidemiological data of human sporotrichosis cases treated at the Outpatient Clinic for Infectious and Parasitic Diseases of the HULW/UFPB, Paraíba, Brazil. (2018)

	Patients (n)	%
<b>Sex</b>		
- Feminine	88	59,4
- Male	60	40,6

**Age group**

- < 18 years	17	11,5
- 18-65 years	114	77,0
- > 65 years	17	11,5

**Provenance**

- João Pessoa	113	76,3
- Metropolitan area	31	21,0
- State interior	4	2,7

**Occupation**

- Veterinary activities	1	0,7
- Housewives	17	11,5
- Rural worker	2	1,3
- Others	110	74,3
- Unemployed	12	8,1
- Not applicable/Ignored	6	4,1

**Education**

- illiterate	11	7,4
- Basic education	106	71,6
- University education	31	21,0

**Family monthly income\***

- up to 1	46	31,0
-> 1 to 2	39	26,4
- > 2 to 3	32	21,6

- > 3 to 4	13	8,8
- > 4	14	9,5
- Did not declare	4	2,7

### **Contact with sick cats**

- Traumatic contact by scratching and/or biting	55	37,2
- Non-traumatic contact	55	37,2

### **Clinical form**

- Fixed cutaneous	35	23,6
- Lymphocutaneous	103	69,6
- Disseminated cutaneous	1	0,7
- Extracutaneous	8	5,4
- Widespread	1	0,7

### **Anatomical site of the lesion**

- Head	9	6,1
- Upper limbs	83	56,1
- Lower members	36	24,3
- Trunk	10	6,7
- Eye	8	5,4
- 2 or more anatomical sites	2	1,4

### **Presence of hypersensitivity reactions**

- Yea	4	2,7
-------	---	-----

- No	144	97,3
------	-----	------

**Prescribed treatment**

- Itraconazole	134	90,5
- Saturated potassium iodide solution	12	8,1
- Amphotericin B deoxycholate	1	0,7
- Expectant	1	0,7

---

\*In minimum wage in force in 2018

---

Table 2 MIC values in µg/mL of six antifungal drugs against 16 clinical isolates of *S. brasiliensis* and 64 of *Sporothrix* spp from cases of human sporotrichosis treated at the Outpatient Clinic for Infectious and Parasitic Diseases of the HULW/UFPB, Paraíba, Brazil. (2018)

		antifungal drugs					
		ANF B	CET	FLC	ITC	TBF	VRC
Isolados (n)		MIC	MIC	MIC	MIC	MIC	MIC
<i>S. brasiliensis</i> (16)	Variation	0,015-4	0,06-4	32-64	0,03-4	0,125-0,125	0,5-16
	MG	0,25	0,25	47,25	0,36	0,125	2,48
<i>Sporothrix</i> spp.(64)	Variation	0,007-8	0,06-8	8-64	0,031-16	0,125-0,125	0,25-16
	MG	0,13	0,33	52,66	0,42	0,125	2,35

---

ANF B: Amphotericin B; CET: Ketoconazole; FLC: Fluconazole; ITC: Itraconazole; TBF: Terbinafine; VRC: Voriconazole; MIC: Minimum inhibitory concentration; MG: Geometric mean. Note: *Candida parapsilosis* ATCC 22019 yeast was used in all antifungal susceptibility tests as a reference strain, and the MICs were according to the M27-S4 protocol published by CLSI.

---



Figure 1. (A) ulcerated lesion with elevated edges on the left wrist with ascending lymphatic involvement (B and C) nodular lesions on the face with descending lymphatic involvement (D) extensive ulcerated lesion in the right intercostal region and nodules along the lymphatic chain of the lateral wall of the trunk (E) nodular lesion on the upper eyelid of the left eye (F and G) single nodular lesion on the 5th right finger and extensive erythematous plaque with nodules compatible with erythema nodosum (H) micromorphology of the colony cultured on potato dextrose agar for 15 days at 25°C showing septate mycelial filaments, delicate conidiophores and conidia arranged sympodally with floral arrangements (1000x cotton blue lactophenol)

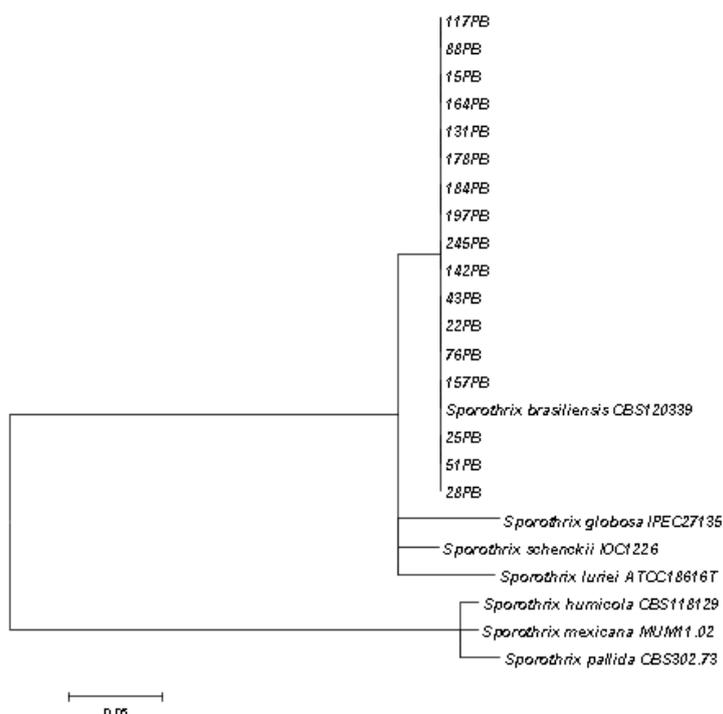


Figure 2 Phylogenetic tree showing the relationship of 17 PB clinical isolates with other *Sporothrix* sp. The maximum likelihood statistical method, which expressed in percentage terms the similarity of the clinical isolates with the other strains, was obtained through Bootstrap analysis, replicated 1,000x, and shown in the branches. There were 269 positions in the final dataset. The scale bar indicates nucleotide substitutions per site.

## REFERENCES

1. Orofino-Costa R, de Macedo PM, Bernardes-Engemann AR. Hyperendemia of Sporotrichosis in the Brazilian Southeast: Learning From Clinics and Therapeutics. *Curr Fungal Infect Rep.* 2015;9(4):220–228. doi:10.1007/s12281-015-0235-0
2. Alzuguir CLC, Pereira SA, Magalhães MAFM, et al. Geo-epidemiology and socioeconomic aspects of human sporotrichosis in the municipality of Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil, between 2007 and 2016. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020;114(2). doi:10.1093/trstmh/trz081
3. Orofino-Costa R, Rodrigues AM, de Macedo PM, 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
4. Rodrigues A, de Hoog GS, de Camargo ZP. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. *PLOS Pathog.* 2016;12(7). doi:10.1371/journal.ppat.1005638

5. Redigueri BC, da Cruz Bahiense I, de Carvalho JA, et al. Clinical, Epidemiological, and Epizootic Features of *Sporothrix brasiliensis* in Espírito Santo, Brazil. *Ecohealth*. 2022;19(1):124–134. doi:10.1007/s10393-022-01578-8
6. Gremião I, Miranda L, Reis E, Rodrigues A, Pereira S. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLOS Pathog*. 2017;13(1):2–8. doi:10.1371/journal.ppat.1006077
7. Rodrigues A, Terra P, Isabella G, Pereira S, Orofino-Costa R, Camargo Z. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. *Mycopath*. 2020;0. doi:10.1007/s11046-020-00425-0
8. Gremião IDF, Marques M, Oliveira E, de Miranda LHM, Freitas DFS, Pereira SA. Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(3):621–624. doi:10.3201/eid2603.190803
9. Marques-Melo EH, Lessa DF da S, Nunes ACBT, et al. Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato do primeiro caso no estado de Alagoas. *Rev Baiana Saúde Pública*. 2014;38(2):490–498. doi:10.5327/z0100-0233-2014380200018
10. Silva CE, Valeriano CAT, Ferraz CE, et al. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Future Microbiol*. 2021;16(18):1371–1379. doi:10.2217/fmb-2021-0142
11. de Oliveira Bento A, de Sena Costa AS, Lima SL, et al. The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(8):1–20. doi:10.1371/journal.pntd.0009693
12. Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, Da Silva AB, et al. High-Virulence Cat-Transmitted Ocular Sporotrichosis. *Mycopathologia*. 2019;184(4):547–549. doi:10.1007/s11046-019-00347-6
13. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi. *CLSI*. 2008;28(14). [https://clsi.org/media/1461/m27a3\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1461/m27a3_sample.pdf)
14. De Lima ÍMF, Ferraz CE, De Lima-Neto RG, Takano DM. Case report: Sweet syndrome in patients with sporotrichosis: A 10-case series. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;103(6):2533–2538. doi:10.4269/ajtmh.20-0579
15. Oyarce JA, García C, Alave J, Bustamante B. Epidemiological clinical and laboratory characterization of sporotrichosis in patients of a tertiary care hospital in Lima. *Rev Chil Infectol*. 1991;33(3):315–321. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n3/art12.pdf>

16. Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, Mochizuki T, Li S. Global epidemiology of sporotrichosis. *Med Mycol.* 2014;53(1):3–14. doi:10.1093/mmy/myu062
17. Rodrigues A. Taxonomia polifásica e características proteômicas do complexo *Sporothrix schenckii*. Published online 2010.
18. Barros MB d. L, Schubach AO, Schubach TMP, Wanke B, Lambert-Passos SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: Epidemiological aspects of a series of cases. *Epidemiol Infect.* 2008;136(9):1192–1196. doi:10.1017/S0950268807009727
19. da Silva MBT, de Mattos Costa MM, da Silva Torres CC, et al. Esporotricose urbana: Epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saude Publica.* 2012;28(10):1867–1880. doi:10.1590/S0102-311X2012001000006
20. Bittencourt AA, Oyafuso LKM, Cavalin RF, et al. A neglected disease. Human sporotrichosis in a densely populated urban area in São Paulo, Brazil: clinical–epidemiological and therapeutic aspects. *Brazilian J Microbiol.* 2022;53(2):739–748. doi:10.1007/s42770-022-00713-5
21. Caus ALO, Zanotti RL, Faccini-Martínez ÁA, Paterlini GV, Falqueto A. Epidemiological and clinical aspects of sporotrichosis in Espírito Santo State, southeast Brazil: A study of three decades (1982–2012). *Am J Trop Med Hyg.* 2019;100(3):706–713. doi:10.4269/ajtmh.18-0667
22. Lecca LO, Paiva MT, de Oliveira CSF, et al. Associated factors and spatial patterns of the epidemic sporotrichosis in a high density human populated area: A cross-sectional study from 2016 to 2018. *Prev Vet Med.* 2020;176(November 2019):104939. doi:10.1016/j.prevetmed.2020.104939
23. Benvegnú AM, Dallazzem LND, Chemello RML, Beber AAC, Chemello D. Case series of sporotrichosis at a teaching hospital in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2020;53:1–4. doi:10.1590/0037-8682-0509-2019
24. Valeriano CAT, Ferraz CE, Oliveira MME, et al. Cat-transmitted disseminated cutaneous sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in a new endemic area: Case series in the northeast of Brazil. *JAAD Case Reports.* 2020;6(10):988–992. doi:10.1016/j.jdcr.2020.07.047
25. Rudramurthy SM, Chakrabarti A. Sporotrichosis: Update on Diagnostic Techniques. *Curr Fungal Infect Rep.* 2017;11(3):134–140. doi:10.1007/s12281-017-0283-8
26. Della Terra PP, Rodrigues AM, Fernandes GF, Nishikaku AS, Burger E, de Camargo ZP. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen

- Sporothrix brasiliensis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(8):1–23. doi:10.1371/journal.pntd.0005903
27. Barros M, Schubach A, do Valle AC, et al. Cat-Transmitted Sporotrichosis Epidemic in Rio de Janeiro , Brazil : Description of a Series of Cases. *Clin Infect Dis*. 2004;38(15):529–535.
28. Mascarenhas MB, Lopes NL, Pinto TG, et al. Canine sporotrichosis: Report of 15 advanced cases. *Pesqui Vet Bras*. 2018;38(3):477–481. doi:10.1590/1678-5150-PVB-4562
29. Filgueira KD. Esporotricose Na Espécie Canina : Relato De Um Caso Na Cidade De Mossoró , Rn. *Ciência Anim Bras*. 2009;10(2):673–677.
30. de Araujo ML, Rodrigues AM, Fernandes GF, de Camargo ZP, de Hoog GS. Human sporotrichosis beyond the epidemic front reveals classical transmission types in Espírito Santo, Brazil. *Mycoses*. 2015;58(8):485–490. doi:10.1111/myc.12346
31. Queiroz-Telles F, Bonifaz A, Cognialli R, Lustosa BPR, Vicente VA, Ramírez-Marín HA. Sporotrichosis in Children: Case series and Narrative Review. *Curr Fungal Infect Rep*. 2022;16(2):33–46. doi:10.1007/s12281-022-00429-x
32. De Lima Barros MB, Schubach TP, Coll JO, Gremião ID, Wanke B, Schubach A. Esporotricose: A evolução e os desafios de uma epidemia. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Heal*. 2010;27(6):455–460.
33. Bonifaz A, Tirado-Sánchez A. Cutaneous Disseminated and Extracutaneous Sporotrichosis: Current Status of a Complex Disease. *J Fungi*. 2017;3(1). doi:10.3390/jof3010006
34. 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
35. Benvegnú AM, Dallazzem LND, Chemello RML, Beber AAC, Chemello D. Case series of sporotrichosis at a teaching hospital in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020;53:1–4. doi:10.1590/0037-8682-0509-2019
36. Brandolt TM, Madrid IM, Poester VR, et al. Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in Southern Brazil, 2012–2017. *Med Mycol*. 2019;57(5):527–533. doi:10.1093/mmy/myy082
37. Tshisevhe V, Skosana L, Motse K, Maphosa T, Mitton B. Disseminated sporotrichosis in a person with human immunodeficiency virus disease. *Access Microbiol*. 2021;3(9):1–5. doi:10.1099/acmi.0.000262

38. 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
39. Ramírez-Soto MC, Tirado-Sánchez A, Bonifaz A. Ocular sporotrichosis. *J Fungi.* 2021;7(11):1–20. doi:10.3390/jof7110951
40. Arinelli A, Aleixo ALQC, Freitas DFS, et al. Ocular Manifestations of Sporotrichosis in a Hyperendemic Region in Brazil: Description of a Series of 120 Cases. *Ocul Immunol Inflamm.* 2022;00(00):1–9. doi:10.1080/09273948.2022.2027465
41. Waller SB, Dalla Lana DF, Quatrin PM, Ferreira MRA, Fuentefria AM, Mezzari A. Antifungal resistance on Sporothrix species: an overview. *Brazilian J Microbiol.* Published online 2020.
42. Ferreira CP, Do Valle ACF, Freitas DFS, Reis R, Galhardo MCG. Pregnancy during a sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Gynecol Obstet.* 2012;117(3):294–295. doi:10.1016/j.ijgo.2012.02.003
43. Fichman V, Valle ACF do, de Macedo PM, et al. Cryosurgery for the treatment of cutaneous sporotrichosis in four pregnant women. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12(4):3–8. doi:10.1371/journal.pntd.0006434
44. Kauffman CA, Bustamante B, Chapman SW, Pappas PG. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2007;45(10):1255–1265. doi:10.1086/522765
45. Borba-Santos LP, Rodrigues AM, Gagini TB, et al. Susceptibility of Sporothrix brasiliensis isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafine. *Med Mycol.* 2015;53(2). doi:10.1093/mmy/myu056

## ANEXO F – PARECER CONSUBSTANCIADO



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Esporotricose em pacientes atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley no ano de 2018

**Pesquisador:** FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 74157817.0.0000.8069

**Instituição Proponente:** UFPB - Centro de Ciências Médicas/CCM

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.421.381

#### Apresentação do Projeto:

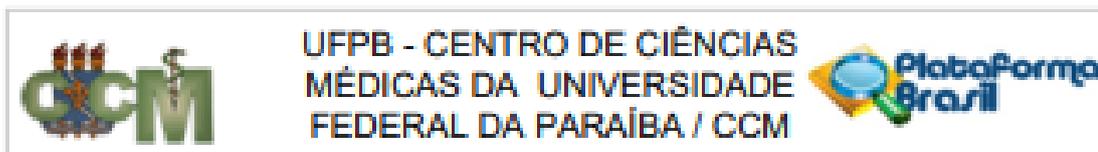
Trata-se de um estudo longitudinal prospectivo, descritivo, por meio de preenchimento de formulário e revisão do prontuário que visa uma estratégia de investigação sobre as características clínicas e sociodemográficas de pacientes atendidos nos serviços de Dermatologia e de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, em diagnóstico clínico de esporotricose confirmado laboratorialmente através do exame micológico direto ou cultura positiva para *Sporothrix* spp ou anatomopatológico compatível com esporotricose, no período de 12 meses, de janeiro a dezembro de 2018.

A pesquisa será desenvolvida por Camila de Lima Gadelha, do Curso de Medicina da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Prof. Francisco Bernardino da Silva Neto e Coorientadora: Esther Bastos Paillot.

#### Objetivo da Pesquisa:

**Geral:** descrever as características clínicas e sociodemográficas dos casos de esporotricose atendidos nos Serviços de Dermatologia e Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, no período janeiro a dezembro de 2018, e desta forma alertar os profissionais da existência desta micose em nosso meio, possibilitando assim o diagnóstico precoce, e consequentemente, o tratamento adequado aos pacientes acometidos.

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1  
**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOÃO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7617 **E-mail:** comitedeetica@ccm.ufpb.br



Continuação do Projeto: 2.421.381

#### Objetivos Secundários:

- Caracterizar a amostra quanto a forma clínica da doença (cutâneo-localizada, cutâneo-linfática e disseminada) e localização da lesão dos pacientes com esporotricose;
- Caracterizar a amostra quanto ao tratamento prescrito;
- Caracterizar a amostra quanto a faixa etária, prevalência pelo sexo apresentada nos pacientes acometidos pela esporotricose atendidos no Hospital

#### Universitário;

- Caracterizar a amostra quanto a ocupação profissional e atividades laborais dos pacientes, nível de escolaridade, situação econômica e procedência;
- Caracterizar a amostra quanto o contato com animal doméstico;

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

##### Riscos:

Os pacientes que participarão da pesquisa não apresentarão riscos, visto que trata-se de um estudo prospectivo no qual todos os dados coletados serão manejados e analisados confidencialmente, e os resultados serão apresentados de forma agregada não permitindo a identificação individual dos participantes. Não serão realizadas fotografias dos pacientes nem dos dados do formulário ou do prontuário. Trata-se de um estudo não intervencionista (sem intervenções clínicas) e sem alterações/influências na rotina/tratamento do participante de pesquisa.

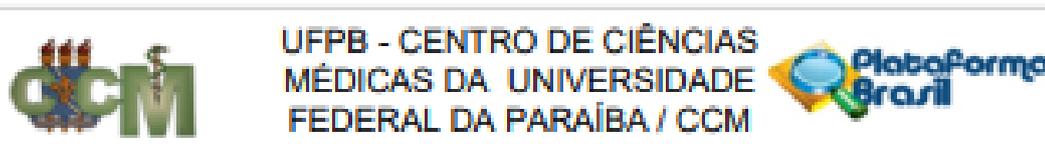
##### Benefícios:

Compreender as características clínicas e sociodemográficas dos casos de esporotricose atendidos nos Serviços de Dermatologia e de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, referência no estado da Paraíba no atendimento a pacientes com afecções dermatológicas e doenças infecciosas e parasitárias. Permitindo o melhor conhecimento acerca da esporotricose, possibilitando assim o diagnóstico precoce, e consequentemente, o tratamento adequado aos pacientes acometidos.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo apresenta delineamento metodológico adequado e atende as recomendações éticas das Resoluções que envolvem seres humanos ( Resolução 466/12, e 510/16, Conselho Nacional de

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1  
**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7617 **E-mail:** comfedeetica@ccm.ufpb.br



Continuação do Parecer: 2.421.281

Saúde).

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Devidamente apresentados conforme solicitação do CEP-CCM/UFPB.

**Recomendações:**

Assegurar aos participantes da pesquisa os benefícios resultantes do projeto, seja em termos de retorno social, acesso aos procedimentos, produtos ou agentes da pesquisa (R.466/12.CNS,MS).

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há pendências ou inadequações. Deste modo, a pesquisa encontra-se apta à aprovação.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O protocolo de pesquisa foi considerado APROVADO, em Reunião Ordinária realizada no dia 29 de novembro de 2017, no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos -CEP/CCM/UFPB, conforme NORMA OPERACIONAL Nº 001/2013, nos termos do item 5, do Capítulo XIII, da Resolução CNS nº 466 de 12 de dezembro de 2012.

Lembramos que, após o término da pesquisa, o pesquisador responsável, em atendimento à Resolução 466/2012, do CNS/MS, deverá anexar (via online) na Plataforma Brasil, através do ícone "notificação", o Relatório Final da pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P PROJETO_984037.pdf	18/11/2017 13:58:11		Aceito
Outros	fichadecadastroHU.docx	18/11/2017 13:55:53	FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito
Outros	FORMULARIO_Pesquisa.docx	18/11/2017 13:55:12	FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_pacientes.docx	18/11/2017 13:54:37	FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PesquisaTCC_Esporotricose.docx	18/11/2017 13:54:20	FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito

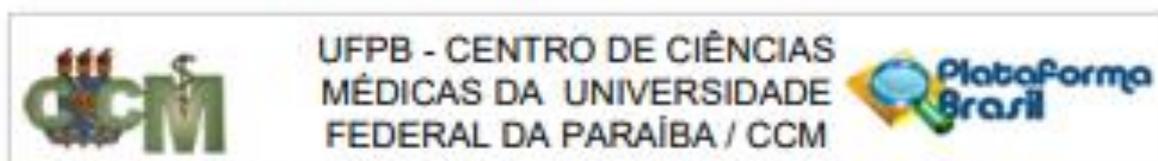
**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1

**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900

**UF:** PB **Município:** JOÃO PESSOA

**Telefone:** (81)3216-7617

**E-mail:** comitedetica@ccm.ufpb.br



Continuação do Parecer: 2.421.381

Cronograma	Cronograma.docx	18/11/2017 13:53:55	FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.docx	18/11/2017 13:52:24	FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

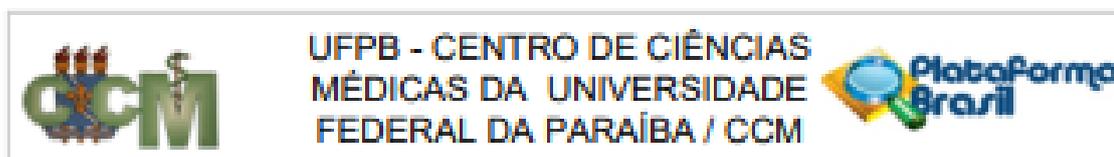
JOAO PESSOA, 07 de Dezembro de 2017

---

**Assinado por:**  
Iaponira Cortez Costa de Oliveira  
(Coordenador)

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 54 - Cidade Universitária Campus I  
**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (81)3218-7617 **E-mail:** comitedeetica@ccm.ufpb.br

## ANEXO G – PARECER CONSUBSTANCIADO EMENDA 1



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Esporotricose em pacientes atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley no ano de 2018

**Pesquisador:** FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 74157817.0.0000.8069

**Instituição Proponente:** UFPB - Centro de Ciências Médicas/CCM

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.420.844

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma emenda do projeto intitulado Esporotricose em pacientes atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley no ano de 2018, desenvolvido pela estudante Camilla de Lima Gadelha, sob orientação do Prof. Francisco Bernardino da Silva Neto, do Curso de Medicina da UFPB.

#### Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, descritivo, com preenchimento de questionário padrão e revisão do prontuário, sobre as características clínicas e sociodemográficas dos pacientes com esporotricose que serão atendidos no período de janeiro a dezembro de 2018 nos Serviços de Dermatologia e Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Lauro Wanderley, em João Pessoa-PB. A identificação fenotípica e molecular e o teste de sensibilidade *in vitro* terão caráter experimental, e será um estudo descritivo e transversal e utilizará as cepas de *Sporothrix spp* isoladas dos pacientes com esporotricose que foram atendidos no período de janeiro a dezembro de 2018 nos Serviços de Dermatologia e Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Lauro Wanderley, em João Pessoa-PB e que encontram-se armazenadas na Micoteca do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley.

#### Local do Estudo

A pesquisa será realizada nos serviços de Dermatologia e de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Lauro Wanderley em João Pessoa, Paraíba. Atualmente o HULW conta com

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1  
**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOÃO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7617 **E-mail:** comitedetica@ccm.ufpb.br



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



Continuação do Parecer: 3.420.844

cerca de 1.100 servidores. Possui 220 leitos, 80 consultórios médicos, e realiza 20 mil atendimentos e 250 cirurgias por mês. Tem mais de 40 especialidades e tem a capacidade de realizar 50 mil exames por mês e 700 internações mensais. A Unidade de Doenças Infecciosas e Parasitárias conta com um Serviço de Internação atualmente com 22 leitos, Ambulatório Especializado em Doenças Infecciosas e Parasitárias e o Serviço de Atendimento Especializado às Infecções Sexualmente Transmissíveis/Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida/Hepatites Virais. O Serviço de Dermatologia está inserido na Unidade de Clínica Médica e possui leitos de internamento e Ambulatório Especializado nas diversas áreas da Dermatologia oferecendo atendimento gratuito a todo o estado da Paraíba.

A identificação fenotípica e os testes de sensibilidade *in vitro* serão realizados no Laboratório de Micologia Clínica do Departamento de Ciências Farmacológicas, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba e a identificação molecular no Laboratório de Microbiologia, Biologia Molecular e Citologia da Escola Técnica de Saúde do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, ambos com toda a infraestrutura para realização dos experimentos propostos.

#### População e amostra

No referido estudo, a amostra corresponderá a todos os pacientes que forem atendidos nos serviços de Dermatologia e de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, com diagnóstico clínico de esporotricose confirmado laboratorialmente através do exame micológico direto ou cultura positiva para *Sporothrix* spp ou anatomopatológico compatível com esporotricose, no período de 12 meses, entre janeiro e dezembro de 2018. Para serem submetidos a identificação fenotípica e molecular e ao teste de sensibilidade *in vitro*, serão considerados apenas aqueles pacientes com cultura positiva para *Sporothrix* spp.

#### Critérios de exclusão:

- 1) Pacientes acompanhados pelos Serviços de Dermatologia ou Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW que não apresentam diagnóstico clínico nem laboratorial para esporotricose;
- 2) Pacientes acompanhados pelos Serviços de Dermatologia ou Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW que apresentam diagnóstico clínico de esporotricose porém não obtiveram diagnóstico laboratorial confirmatório ou não foram submetidos aos exames de cultura do fungo, micológico direto e anatomopatológico.
- 3) Pacientes que obtiveram diagnóstico laboratorial confirmado através da cultura do fungo,

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1

**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900

**UF:** PB **Município:** JOÃO PESSOA

**Telefone:** (83)3216-7617

**E-mail:** comitecedetica@ccm.ufpb.br



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



Continuação do Parecer: 3-420.844

exame micológico direto ou anatomopatológico mas não foram acompanhados pelos Serviços de Dermatologia ou Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW;

4) Pacientes sem culturas positivas para *Sporothrix* spp ou com culturas positivas para *Sporothrix* spp realizadas em outros laboratórios externos ao HULW.

**Instrumento e técnica para coleta de dados**

Para a realização do estudo, os pacientes que preencherem o critério de inclusão serão encaminhados para o ambulatório de origem (serviço de Dermatologia ou de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW) onde o paciente será atendido, o prontuário revisado e as informações serão registradas em um formulário padronizado. As informações serão registradas e posteriormente haverá a análise estatística. As informações colhidas serão:

- 1) Forma clínica da doença (cutâneo-localizada, cutâneo-linfática ou disseminada)
- 2) Localização da lesão (membro superior, membro inferior, tronco ou face)
- 3) Tratamento prescrito
- 4) Sexo
- 5) Faixa etária
- 6) Ocupação profissional
- 7) Escolaridade (analfabeto, nível fundamental, médio ou superior)
- 8) Renda mensal
- 9) Procedência (João Pessoa, região metropolitana, interior, ignorado)
- 10) Contato com animal doméstico (gato, cão ou outro)

As cepas de *Sporothrix* spp isoladas dos pacientes com esporotricose que foram atendidos no período de janeiro a dezembro de 2018 nos Serviços de Dermatologia e Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Lauro Wanderley, em João Pessoa-PB e que encontram-se armazenadas na Micoteca do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley serão encaminhadas ao Laboratório de Micologia Clínica do Departamento de Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba Laboratório de Microbiologia, Biologia Molecular e Citologia da Escola Técnica de Saúde do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, para identificação fenotípica e teste de sensibilidade *in vitro* e identificação molecular respectivamente.

#### IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA DAS ESPÉCIES

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1

**Bairro:** CASTELO BRANCO

**CEP:** 58.051-900

**UF:** PB

**Município:** JOÃO PESSOA

**Telefone:** (83)3216-7617

**E-mail:** comitetedica@ccm.ufpb.br



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



Continuação do Projeto: 3.420.844

Na taxonomia clássica para a classificação dos fungos serão utilizadas características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, abaixo relacionadas:

#### Ensaio morfológicos:

Para a caracterização macroscópica dos isolados serão estudados: a coloração, a textura e o diâmetro da colônia.

#### Crescimento vegetativo em meio CMA:

Os isolados serão previamente replicados em PDA (Potato Dextrose Agar), a temperatura ambiente por 10 dias. Em seguida serão realizados os ensaios de crescimento vegetativo em meio CMA (Corn Meal Agar), 30°C por 14 dias e verificado a produção de colônias marrons ou incolores.

Para a caracterização microscópica dos isolados serão estudados: o formato, a coloração, a ornamentação, a disposição e o arranjo dos conídios; a coloração, o diâmetro e os septos apresentados pelas hifas, etc, através do microcultivo (RIDDELL, 1950).

#### Ensaio fisiológicos:

De acordo com Marimon et al. (2007), as temperaturas de incubação discriminatórias para a comparação durante o crescimento vegetativo serão de 30, 35 e 37° C, cujos isolados serão cultivados em PDA, por 21 dias, em triplicata. Ao final do período se calculará a média dos diâmetros das colônias e verificará a influência da temperatura na inibição do crescimento fúngico.

O efeito fungistático capaz de inibir o crescimento fúngico ou como fator fungicida capaz de inviabilizar as células fúngica será verificado incubando os isolados a 40° C por 21 dias. Depois estes isolados serão incubados a 28° C, por 14 dias.

#### Ensaio bioquímicos

As assimilações de fontes de carbono (glicose, rafinose, ribitol e sacarose), na concentração de 2%

<b>Endereço:</b> Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1
<b>Bairro:</b> CASTELO BRANCO <b>CEP:</b> 58.051-900
<b>UF:</b> PB <b>Município:</b> JOÃO PESSOA
<b>Telefone:</b> (83)3216-7617 <b>E-mail:</b> comitedetica@ccm.ufpb.br



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



Continuação do Protocolo: 3.420.004

por conídios de *Sporothrix* spp. serão testadas em meio Yeast Nitrogen Base (YNB) (Difco), segundo protocolo de Marimon et al., (2007).

A glicose será o controle positivo.

Os isolados serão previamente cultivados em PDA, a temperatura ambiente durante 10-14 dias e os conídios serão coletados em 3mL de solução salina estéril, a qual será filtrada em gaze estéril e ajustada para a quantificação dos conídios em espectrofotômetro. A leitura será realizada em um comprimento de onda de 520 nm (A520) e ajustada para absorbância de 0,21 – 0,29 DO (Densidade ótica), que corresponderá a um inóculo de  $2 \times 10^5$  a  $2 \times 10^6$  UFC/mL. A viabilidade dos conídios será verificada concomitantemente ao experimento, que será semear 100  $\mu$ L da suspensão dos conídios em placa de Petri contendo PDA, incubando-a a temperatura ambiente por 10 dias.

Os ensaios serão realizados em triplicata inoculando 50  $\mu$ L da suspensão de conídios, mais 150  $\mu$ L de YNB de cada tratamento previamente descrito. No tempo zero será realizada uma leitura. Em seguida, as placas micro titulação serão incubadas a 25° C durante 10 dias e novas leituras serão realizadas nas mesmas condições de absorbância.

Para a classificação das espécies do complexo *S. schenckii* será utilizada como base a chave taxonômica de Rodrigues, A. M. (2010)

#### TESTES DE SENSIBILIDADE

A atividade antifúngica dos medicamentos testados, serão avaliadas pelo método de determinação da CIM, conforme procedimentos relatados no documento M38A da CLSI.

#### Preparação do inóculo

As cepas de *Sporothrix* spp. serão cultivadas em ágar batata - dextrose durante 7 dias, a 35°C. Após esse período deve-se cobrir as colônias com cerca de 1mL de solução salina estéril a 0,85%, e preparar uma suspensão mexendo delicadamente as colônias com a ponta de uma pipeta de

Endereço: Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1  
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900  
UF: PB Município: JOÃO PESSOA E-mail: comitedeetica@ccm.ufpb.br  
Telefone: (81)3216-7617



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



Continuação do Parecer: 3.420.844

transferência. A mistura resultante de conídios e fragmentos de hifas, deve ser então, transferida para um tubo de ensaio estéril. Aguardar de 3 a 5 minutos até que as partículas mais pesadas da suspensão se depositem no fundo do tubo, então a suspensão superior deverá ser transferida para outro tubo estéril, que deverá ser devidamente fechado, homogeneizado e colocado em um agitador de tubos por 15 segundos.

As densidades da suspensão de conídios serão lidas e ajustadas para uma densidade óptica de 00,9 a 0,11 ou numa transmitância de 80% a 82%. Só então as suspensões deverão ser diluídas 1:50 no meio padrão. As diluições de inóculo nas proporções de 1:50 corresponderão a duas vezes a densidade necessária de  $0,4 \times 10^4$  a  $5 \times 10^4$  UFC/mL.

inóculo do teste de sensibilidade será produzido em quantidade suficiente para inocular cada poço com 0,1mL da suspensão diluída. Para quantificar o inóculo será colocado 0,01mL de uma diluição de 1:100 do inóculo ajustado numa placa de ágar Sabouraud - dextrose para determinar o número viável de UFC por mililitros. As placas serão incubadas a temperatura de 28°C a 30 °C e observadas todos os dias para verificar a presença de colônias de fungos.

#### Determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima) - CLSI M38A

A determinação da CIM dos produtos será realizada pela técnica de microdiluição, padronizada no documento CLSI M38A, 2002, e em duplicata. Utilizando placas de 96 poços serão adicionados, em cada orifício da placa, 100 µL do inóculo, previamente diluído ao meio RPMI 1640 duplamente concentrado. Posteriormente, 100 µL da solução dos antifúngicos, também duplamente concentrado, serão dispensados nas cavidades da primeira linha da placa nas respectivas concentrações preconizadas no documento padrão. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de modo que na primeira linha da placa se encontrará a maior concentração e na última, a menor concentração.

Um controle de micro-organismo será realizado colocando-se nos poços 100 µL do inóculo de cada cepa, previamente diluído ao meio RPMI 1640 duplamente concentrado. Um controle de esterilidade também foi realizado, onde foi colocado 200 µL do RPMI 1640 em um orifício sem a suspensão dos fungos. As placas serão seladas e incubadas a 25-28°C por até 72 horas para ser realizada a leitura.

Define-se a CIM para os antifúngicos testados como a menor concentração capaz de inibir

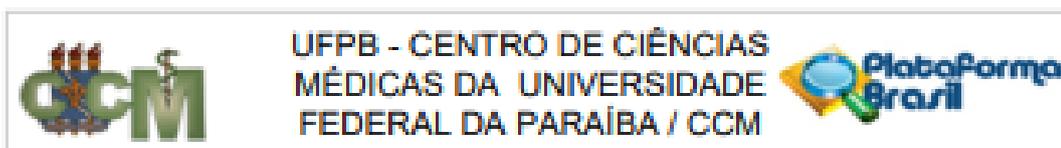
**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1

**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900

**UF:** PB **Município:** JOÃO PESSOA

**Telefone:** (83)3216-7617

**E-mail:** comitademica@ccm.ufpb.br



Continuação do Protocolo: 3.430.844

visualmente o crescimento fúngico verificado nos orifícios, quando comparado com o crescimento controle.

#### Determinação da CFM (Concentração Fungicida Mínima)

Após a leitura da CIM em 72 horas, alíquotas de 10 L serão retiradas de cada poço da placa de microtitulação que não apresentaram crescimento fúngico, e semeadas em meio agar Sabouraud dextrose (ASD). As placas serão incubadas a 28°C por 48-72 horas. A CFM será definida como a menor concentração do antifúngico que produzirá 3 ou menos colônias no meio. (ESPINEL-INGROFF et al., 2002; RODRIGUES et al., 2014)

#### IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS ESPÉCIES DO COMPLEXO *S. SCHENCKII*

Os isolados serão submetidos à extração de DNA seguida por PCR espécie-específico com base no gene da calmodulina (CAL) segundo descrito por Rodrigues, Hoog e Camargo (2015). Brevemente, as amostras serão incubadas à temperatura ambiente em placa de agar Sabouraud durante sete dias. Então, será adicionado 300 $\mu$ L de água ultrapura sobre a placa, submetendo-as à agitação suave para destacar os conídios. Será realizada uma leitura no espectrofotômetro no filtro de 520nm e a densidade ótica ajustada para valor entre 0,21 a 0,29. A suspensão será transferida para um microtubo de 200 $\mu$ L e aquecida por 10min a 95°C em termociclador. Uma alíquota de 2  $\mu$ L será reservada como DNA template para a reação em cadeia da polimerase (PCR) conforme protocolo descrito por Rodrigues, Hoog e Camargo (2015) e serão utilizados um conjunto de oligonucleotídeos de inicialização espécie-específico (*S. brasiliensis*, Sbra-F e Sbra-R; *S. schenckii*, Ssch-F e Ssch-R e *S. globosa*, Sglo-F e Sglo-R; descritos por Rodrigues, Hoog e Camargo (2015). Além disso, será utilizado um par de primers (reverse e forward) como controle interno específico (IPC-F e IPC-R) que tem como alvo a região 5.8s do operon do DNA ribossomal do *Sporothrix* e espécies relacionadas, para verificar a presença do DNA do fungo. Cepas de *Sporothrix schenckii* e de *Sporothrix brasiliensis* previamente caracterizadas por sequenciamento gênico e gentilmente cedidas pelo professor Reginaldo Gonçalves de Lima Neto da Universidade Federal de Pernambuco serão utilizadas como amostras controles. O produto da PCR será separado por eletroforese em gel de agarose 1,2% na presença do corante de ácido nucleico, o SYBR Safe. Um marcador de tamanho molecular de 50 bp DNA será utilizado como ladder. As bandas serão irradiadas por luz ultravioleta e reveladas através do fotodocumentador. O tamanho da banda revelada pelo PCR

Endereço: Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1  
 Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900  
 UF: PB Município: JOAO PESSOA  
 Telefone: (81)3216-7617 E-mail: comitedetica@ccm.ufpb.br



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



Continuação do Protocolo: 3.420.004

espécie-específico de cada isolado será comparado com os controles positivos para *Sporothrix brasiliensis* e *Sporothrix schenckii*.

#### Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos será realizada através do software Statistical Package for Social Science (SPSS) data editor versão 20.0. O nível de significância será  $p < 0,05$  para aceitação da hipótese de nulidade. Construir análises a partir das seguintes variáveis: forma clínica, localização da lesão, tratamento prescrito, sexo, faixa etária, ocupação profissional, escolaridade, renda mensal, procedência, contato com animal doméstico, espécie do *Sporothrix* e sensibilidade antifúngica.

#### Objetivo da Pesquisa:

##### Objetivo Geral

- Descrever as características clínicas e sociodemográficas e realizar a caracterização fenotípica e molecular testando a sensibilidade *in vitro* aos antifúngicos e a derivados de plantas medicinais das cepas de *Sporothrix* spp isoladas dos casos de esporotricose atendidos nos Serviços de Dermatologia e Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, no período de janeiro a dezembro de 2018.

##### Objetivos específicos

- Caracterizar a amostra quanto a forma clínica (cutâneo-localizada, cutâneo-linfática, disseminada) e localização da lesão;
- Caracterizar a amostra quanto ao tratamento prescrito;
- Caracterizar a amostra quanto ao sexo, faixa etária, ocupação, escolaridade, situação sócio-econômica e procedência;
- Caracterizar a amostra quanto ao contato com animais domésticos;
- Caracterizar fenotipicamente as cepas de *Sporothrix* spp, isoladas da amostra com seu respectivo perfil de sensibilidade aos antifúngicos usuais utilizados contra a doença e a derivados de plantas medicinais;
- Realizar a identificação molecular das cepas de *Sporothrix* spp isoladas da amostra.

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus I

**Bairro:** CASTELO BRANCO

**CEP:** 58.051-900

**UF:** PB

**Município:** JOÃO PESSOA

**Telefone:** (83)3215-7517

**E-mail:** comitedetica@ccm.ufpb.br



UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA PARAÍBA / CCM



Continuação do Parecer: 3.420.664

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

##### **Riscos da pesquisa:**

Não há riscos aos pacientes que participarão da pesquisa, visto que trata-se de um estudo prospectivo no qual todos os dados coletados serão gerenciados e analisados confidencialmente, e os resultados serão apresentados de forma agregada não permitindo a identificação individual dos participantes. Não serão realizadas fotografias dos pacientes nem dos dados do formulário. Trata-se de um estudo não intervencionista (sem intervenções clínicas) e sem alterações/influências na rotina/tratamento do participante de pesquisa. Não há riscos previstos nesta nova fase da pesquisa, uma vez que as cepas já foram previamente isoladas e identificadas como *Sporothrix spp* e os pacientes devidamente tratados sem que houvesse também a dependência da identificação da sensibilidade aos antifúngicos para instituição do tratamento.

##### **Benefícios da pesquisa:**

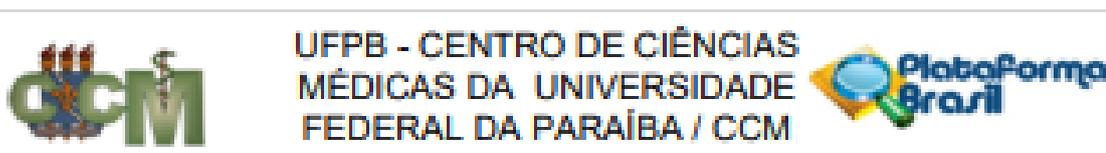
Compreender as características clínicas e sociodemográficas dos casos de esporotricose atendidos nos Serviços de Dermatologia e de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HULW, referência no estado da Paraíba no atendimento a pacientes com afecções dermatológicas e doenças infecciosas e parasitárias. Permitindo o melhor conhecimento acerca da esporotricose, possibilitando assim o diagnóstico precoce, e consequentemente, o tratamento adequado aos pacientes acometidos. Os benefícios desta nova fase da pesquisa se expressam no conhecimento acerca das espécies que estão causando o atual surto na nossa região e das possíveis resistências aos antifúngicos usuais além de permitir testar derivados de plantas medicinais que possam ser alternativas ao tratamento convencional.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A emenda foi apresentada com o objetivo de complementar as informações acerca da identificação da espécie ou espécies do fungo *Sporothrix*, e seu perfil de sensibilidade, responsável(ais) pelo atual surto de Esporotricose na região metropolitana de João

Pessoa contribuindo com as autoridades sanitárias para o delineamento de estratégias de controle e tratamento dos casos humanos e identificação de possíveis novos medicamentos, tomando a terapêutica mais acessível a população.

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1  
**Bairro:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOÃO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7617 **E-mail:** comitedeetica@ccm.ufpb.br



Continuação do Parecer: 3.430.844

Outros	fichadecadastroHU.docx	13:55:53	BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.docx	18/11/2017 13:52:24	FRANCISCO BERNARDINO DA SILVA NETO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

JOAO PESSOA, 27 de Junho de 2019

---

**Assinado por:**

**Iaponira Cortez Costa de Oliveira**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Centro de Ciências Médicas, 3º andar, Sala 14 - Cidade Universitária Campus 1  
**Cidade:** CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900  
**UF:** PB **Município:** JOAO PESSOA  
**Telefone:** (83)3216-7617 **E-mail:** comitedeetica@ccm.ufpb.br