



**Universidade Federal do Rio Grande
Faculdade de Medicina (FAMED)
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**



**ESPOROTRICOSE FELINA E DETECÇÃO DE *Sporothrix* spp. EM
PESCADOS: EVIDÊNCIAS INTEGRADAS EM SAÚDE ÚNICA E
ESTRATÉGIAS DE EDUCAÇÃO**

Bruna Muradás Esperon

Rio Grande, 2026.



Universidade Federal do Rio Grande
Faculdade de Medicina (FAMED)
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde



**ESPOROTRICOSE FELINA E DETECÇÃO DE *Sporothrix* spp. EM
PESCADOS: EVIDÊNCIAS INTEGRADAS EM SAÚDE ÚNICA E
ESTRATÉGIAS DE EDUCAÇÃO**

Bruna Muradás Esperon

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier

Coorientadora: Vanice Rodrigues Poester

Rio Grande, 2026.

Ficha Catalográfica

E77e Esperon, Bruna Muradás

Esporotricose felina e detecção de *Sporothrix* ssp. em pescados: evidências integradas em saúde única e estratégias de educação / Bruna Muradás Esperon -Rio Grande-RS, 2026.

199f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rio Grande/RS, 2026.

Orientadora: Dra Melissa Orzechowski Xavier

Coorientadora: Dra Vanice Rodrigues Poester

1. Fonte de infecção. 2. Materiais didáticos. 3. Micose subcutânea.
4. Metagenômica do trabalhador I. Xavier, Melissa Orzechowski .II. Poester, Vanice Rodrigues III. Título.

CDU 616.993.4:37.091

Catalogação na Fonte: Bibliotecária responsável: Rita Moraes CRB10/2506

Bruna Muradás Esperon

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

**ESPOROTRICOSE FELINA E DETECÇÃO DE *Sporothrix* spp. EM
PESCADOS: EVIDÊNCIAS INTEGRADAS EM SAÚDE ÚNICA E
ESTRATÉGIAS DE EDUCAÇÃO**

Banca examinadora

Profa Dra. Romina Buffarini - FURG

Profa Dra. Andrea von Groll -FURG

Prof. Dr Marcus de Melo Teixeira – Externo

Dra. Livia Munhoz – FURG (Suplente)

Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier – FURG (Orientadora)

Profa. Dra. Vanice Rodrigues Poester- FURG (Coorientadora)

Dedico este trabalho aos meus pais, Ione Muradás e Cláudio Esperon, pelo apoio incondicional em todas as etapas da minha formação, e ao meu avô, Luiz Carlos Merlo Esperon (*in memoriam*), cuja memória continua a inspirar minha trajetória acadêmica e pessoal.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por permitir que este trabalho nascesse como um sonho e por me conceder a paciência, a força e a resiliência necessárias para torná-lo realidade.

À minha mãe, Ione Muradás, meu profundo agradecimento pelo apoio incondicional, pela presença constante, pela dedicação e por acreditar em mim — muitas vezes mais do que eu mesma. Obrigada por ser meu “pássaro azul”, sempre impulsionando o meu voo. Ao meu pai, Cláudio Esperon, sou grata por me ensinar que o estudo é transformador e um bem que ninguém nos tira.

Agradeço ao meu avô Luiz Carlos Merlo Esperon (*in memoriam*), inspiração pela dedicação à profissão e a esta universidade que tive a honra de frequentar no doutorado. Guardo com carinho as lembranças de suas tardes de estudo. Ao meu avô Nelson Beck Muradás (*in memoriam*), agradeço pelas memórias no campo e pela paixão pelo mar e pelas pescarias — herança afetiva que trago comigo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier, agradeço pelas orientações, pela confiança, pelas oportunidades, pelas conversas enriquecedoras e por acreditar na proposta de avaliar pescados como possíveis fontes de *Sporothrix* spp. Sua contribuição foi essencial para transformar este projeto em realidade e para meu desenvolvimento pessoal e profissional, incluindo a realização da tão sonhada mobilidade acadêmica. À minha coorientadora, Profa. Dra. Vanice Rodrigues Poester, sou imensamente grata pelos ensinamentos, pelo apoio na bancada e na escrita científica, e por acreditar no estudo com peixes, viabilizando parcerias fundamentais. A vocês duas, agradeço por semearem entusiasmo e amor pelo mundo dos fungos em suas orientandas.

Aos membros e colaboradores do Grupo de Micologia Médica, agradeço pela troca de conhecimentos, pelo empenho e pela parceria ao longo desta trajetória. Aos graduandos que caminharam comigo, obrigada por permitirem que eu aprendesse a orientar e por enfrentarmos juntos tantos desafios. Às técnicas Fabiana Bernardon e Rejane Luvielmo, deixo meu sincero agradecimento pelo suporte contínuo, pela dedicação e pelo cuidado no preparo dos materiais para execução dos experimentos. À farmacêutica Karine Sanchotene e às biomédicas Jéssica Benelli e Mônica dos Santos,

obrigada por me introduzirem ao diagnóstico micológico na prática — experiência de grande valor para minha formação.

Agradeço ao Laboratório de Ictiologia da FURG — Professor Alexandre Garcia, Amanda Bauer, Yan Gowert e Deivid — pela parceria, pelos ensinamentos e pelas memoráveis saídas de campo, incluindo as coletas de peixes de vida livre. Ao Laboratório de Dinâmica Populacional Pesqueira (LADIPP), representado por Lucas Rodrigues, Márcio Freire, Abner e Raquel, agradeço pelas coletas de pescados, conversas e colaboração essencial para a execução deste trabalho.

Meu agradecimento especial ao Laboratório de Ecologia, Evolução e Micoses Endêmicas, ao Prof. Marcus de Melo Teixeira, sua família e equipe, pelo acolhimento em Brasília, pela paciência e pelos ensinamentos fundamentais em bioinformática. Agradeço também ao Bernardo, à Ana e à Lumi pela recepção carinhosa e pelas ajudas durante esse período.

Aos colegas e professores da pós-graduação, agradeço pelas trocas de conhecimento, pelo aprendizado e pela convivência enriquecedora. Registro, também, minha gratidão aos professores que contribuíram nas bancas de acompanhamento, qualificação e defesa, cujas participações foram indispensáveis ao amadurecimento deste trabalho.

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro por meio da concessão de bolsas, fundamentais para a realização desta pesquisa e para minha formação acadêmica. À Universidade Federal do Rio Grande (FURG), por ter sido o espaço que impulsionou meu crescimento científico, profissional e pessoal, oferecendo-me a base científica sólida, as oportunidades e o ambiente estimulante que contribuíram decisivamente para minha trajetória e para a pessoa e profissional que me tornei.

Por fim, agradeço às amigas de longa data. À Janine Bastos, pela amizade, pelo incentivo e acolhida durante minha permanência em Brasília; à Marcelle Garcia, pela amizade, parceria e pelas trocas de conhecimento desde os tempos em que eu era estagiária.

*“Gracias a la vida,
que me ha dado
tanto.”*

Mercedes Sosa

RESUMO

Introdução: A esporotricose é uma micose subcutânea emergente no mundo e um grave problema de saúde pública no Brasil, considerada como uma doença negligenciada. A região costeira ao sul do Rio Grande do Sul, há mais de duas décadas reporta casos da enfermidade. Os gatos domésticos e a adaptação da espécie *S. brasiliensis* a este hospedeiro apresentam papel central na epidemiologia da esporotricose, associando-se ao atual preocupante cenário na saúde pública nacional. No entanto, casos de esporotricose humana relacionados a infecção por trauma com pescado são descritos. Diante da complexidade da cadeia epidemiológica da esporotricose e de sua interface com o ambiente, torna-se fundamental aprofundar o conhecimento epidemiológico da doença em gatos domésticos, bem como ampliar o olhar para além da transmissão clássica, incorporando a investigação de potenciais fontes não convencionais de infecção, e atuar com estratégias educativas que fortaleçam a vigilância, a prevenção e a formação em micologia. **Objetivos:** monitorar o desfecho e tratamento da esporotricose felina em região hiperendêmica; investigar pescados/peixes como possível fonte de infecção por *Sporothrix* spp.; e elaborar materiais didáticos voltados ao ensino de micologia. Essas temáticas originaram três artigos/manuscritos apresentados como produção científica.

Manuscrito 1: Foi realizada a avaliação do manejo clínico, tratamento e desfechos da esporotricose felina, bem como do conhecimento dos tutores sobre a doença, em um município hiperendêmico do sul do Brasil. O estudo incluiu dados coletados a partir de questionário semi-estruturado aplicado a 62 tutores de gatos com esporotricose, demonstrando que a monoterapia com itraconazol foi o tratamento mais frequente, com duração média de 147 dias. A cura clínica ocorreu em 63% dos casos, enquanto 37% evoluíram a óbito, havendo associação significativa entre o uso de itraconazol manipulado e o óbito ($p = 0,036$). O tratamento representou importante impacto financeiro para os tutores, e lacunas no conhecimento sobre a doença foram evidenciadas. Os resultados reforçam a necessidade de políticas públicas, incluindo a oferta de antifúngicos e ações educativas, para o controle da esporotricose felina e zoonótica.

Manuscrito 2: Foi realizada a investigação da presença de *Sporothrix* spp. em peixes utilizando uma abordagem integrada, envolvendo análises metagenômicas, cultivo micológico, genotipagem e sequenciamento de genoma completo. O estudo incluiu 991 espécimes de três espécies de peixes, abrangendo diferentes estágios de vida, habitats e origens. Os peixes foram agrupados em três categorias e, ao todo, 46 pools de amostras foram submetidos às análises laboratoriais. A metagenômica revelou a detecção de OTUs/ASVs compatíveis com *S. brasiliensis* em 67,3% (31/46) dos pools analisados e com *S. schenckii* em 6,5% (3/46). O cultivo micológico permitiu o isolamento de quatro cepas de *S. brasiliensis*, cujos perfis genéticos se distribuíram em dois clados previamente descritos no Brasil, apresentando estreita relação com isolados clínicos de origem humana e animal. Os achados fornecem evidências inéditas da associação de *Sporothrix* spp. com peixes, ampliando o conhecimento sobre possíveis nichos ambientais e rotas de exposição desse patógeno em regiões endêmicas.

Manuscrito 3: Foi realizada a elaboração de materiais didático-pedagógicos voltados ao ensino da micologia, diante da reconhecida superficialidade dessa temática nos diferentes níveis de formação no Brasil e da carência de recursos educativos específicos. Foram desenvolvidos cultivos fúngicos duradouros, protótipos de estruturas microscópicas em impressão 3D e um guia teórico, contemplando vinte gêneros e espécies fúngicas de importância médica e biotecnológica. Os materiais produzidos configuram uma alternativa lúdica, inovadora que permite a visualização adequada de características morfológicas essenciais à identificação fúngica e contribui para a qualificação do ensino, a disseminação do conhecimento micológico e o enfrentamento da negligência histórica das doenças fúngicas. **Conclusões:** A presente

tese contribui de forma integrada e inovadora para melhor compreensão da cadeia epidemiológica da esporotricose e seu impacto na saúde pública. Os resultados evidenciam os desafios no manejo e tratamento da esporotricose felina em área hiperendêmica do sul do Brasil, destacando elevadas taxas de mortalidade, impacto financeiro significativo para os tutores e lacunas no conhecimento da população, reforçando a necessidade de políticas públicas voltadas à oferta de antifúngicos e ao fortalecimento da vigilância em saúde. Adicionalmente, a evidência de material genômico de *Sporothrix* spp. em peixes e pescados amplia a compreensão da interface ambiente–patógeno, abrindo novas perspectivas sobre rotas não convencionais de exposição e o papel de ecossistemas aquáticos na dinâmica da esporotricose. Por fim, a elaboração de materiais didático-pedagógicos inovadores voltados ao ensino da micologia contribui para a formação de profissionais mais capacitados e conscientes, enfrentando a negligência histórica das doenças fúngicas. Em conjunto, os achados desta tese reforçam a importância de uma abordagem integrada entre saúde animal, saúde humana, ambiente e educação para o enfrentamento efetivo da esporotricose em áreas endêmicas.

Palavras-chave: Fonte de Infecção, Materiais Didáticos, Micose Subcutânea, Metagenômica, Vigilância Epidemiológica.

Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) contemplado(s): 3- Saúde e Bem-estar; 4- Educação de Qualidade; 9- Indústria, Inovação e Infraestrutura; ODS 12 - Consumo e Produção Sustentáveis; 14- Vida na água; 15- Vida terrestre.

ABSTRACT

Sporotrichosis is an emerging subcutaneous mycosis worldwide and a serious public health problem in Brazil, being considered a neglected disease. The southern region of Rio Grande do Sul and the state of Rio de Janeiro have reported cases of the disease for more than two decades. Domestic cats and the adaptation of *Sporothrix brasiliensis* to this host play a central role in the epidemiology of sporotrichosis, being closely associated with the current national public health scenario. This occurs because these animals are the main victims and transmitters of the pathogen, carrying a high load of fungal propagules in their lesions, which are easily transmitted to other animals and humans. Given the complexity of the epidemiological chain of sporotrichosis and its interface with the environment, it is essential to broaden the perspective beyond classical transmission routes, incorporating the investigation of potential environmental and non-conventional sources of infection, as well as educational strategies that strengthen surveillance, prevention, and training in mycology. In this context, an integrated approach involving animal health, human health, the environment, and education emerges as a key axis for addressing sporotrichosis in endemic areas. The main objective of this thesis was to address different dimensions of this issue, including: monitoring treatment outcomes of feline sporotrichosis in a hyperendemic region; investigating fish and seafood as potential sources of infection by *Sporothrix* spp.; and developing didactic materials aimed at teaching mycology. These themes resulted in three articles/manuscripts presented as the scientific output of this thesis. **Manuscript 1:** An evaluation of the clinical management, treatment, and outcomes of feline sporotrichosis was conducted, as well as an assessment of owners' knowledge about the disease, in a hyperendemic municipality in southern Brazil. This retrospective study included cases diagnosed between 2021 and 2024, comprising 293 cats, of which 62 owners participated in interviews. Most animals were male, had outdoor access, and presented disseminated cutaneous lesions. Itraconazole monotherapy was the most frequently used treatment, with a mean duration of 147 days. Clinical cure was observed in 63% of cases, while 37% resulted in death, with a significant association between the use of compounded itraconazole and mortality ($p = 0.036$). Treatment represented a significant financial burden for owners, and gaps in knowledge about the disease were identified. These results reinforce the need for public policies, including the provision of antifungal therapy and educational actions, for the control of feline and zoonotic sporotrichosis. **Manuscript 2:** The presence of *Sporothrix* spp. in fish was investigated using an integrated approach combining metagenomic analyses, mycological culture, whole-genome sequencing, and genotyping. The study included three fish species (*Mugil liza*, *Cynoscion guatucupa*, and *Micropogonias furnieri*), encompassing different life stages, habitats, and origins, with a total of 991 specimens analyzed. Fish were grouped into three categories: *M. liza* obtained from a public market in the municipality of Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brazil; *C. guatucupa* and *M. furnieri* obtained from fishing industries; and juvenile *M. liza* collected from distinct natural environments. In total, 46 pooled samples were subjected to laboratory analyses. Metagenomic analysis detected OTUs/ASVs compatible with *Sporothrix brasiliensis* in 67.3% (31/46) of the analyzed pools and with *Sporothrix schenckii* in 6.5% (3/46). Mycological culture yielded four *S. brasiliensis* isolates, whose genetic profiles were distributed across two clades previously described in Brazil and showed close relatedness to clinical isolates of human and animal origin. These findings provide unprecedented evidence of the association between *Sporothrix* spp. and fish, expanding current knowledge on potential environmental niches and exposure routes of this pathogen in endemic regions. **Manuscript 3:** The development of didactic-pedagogical materials aimed at teaching mycology was carried out in view of the recognized

superficiality of this subject across different levels of education in Brazil and the lack of specific educational resources. Durable fungal cultures, three-dimensional printed prototypes of microscopic fungal structures, and a theoretical guide were developed, encompassing twenty fungal genera and species of medical and biotechnological importance. The materials produced represent a playful, innovative, and highly durable educational alternative, applicable to elementary and secondary education, higher education, and university extension activities. This approach enables adequate visualization of morphological characteristics essential for fungal identification and contributes to improving teaching quality, disseminating mycological knowledge, and addressing the historical neglect of fungal diseases. In summary, this thesis provides an integrated and innovative contribution to the understanding of sporotrichosis in the context of Brazilian public health by simultaneously addressing clinical, epidemiological, environmental, and educational aspects of the disease. The findings highlight challenges in the management and treatment of feline sporotrichosis in a hyperendemic area of southern Brazil, emphasizing high mortality rates, a significant financial burden on owners, and gaps in public awareness, thereby reinforcing the need for public policies focused on antifungal provision and strengthening health surveillance. Additionally, the investigation of fish and seafood as potential sources of infection by *Sporothrix* spp. expands the understanding of the environment–pathogen interface, opening new perspectives on non-classical routes of exposure and the role of aquatic ecosystems in the dynamics of sporotrichosis. Finally, the development of innovative didactic-pedagogical materials aimed at teaching mycology contributes to the training of more qualified and aware professionals, addressing the historical neglect of fungal diseases. Taken together, the findings of this thesis underscore the importance of an integrated approach involving animal health, human health, the environment, and education for the effective control of sporotrichosis in endemic areas.

Keywords: Source of Infection, Educational Materials, Subcutaneous Mycosis, Metagenomics, Epidemiological Surveillance.

Sustainable Development Goals (SDGs) addressed: SDG 3: Good Health and Well-Being; SDG 4: Quality Education; SDG 9: Industry, Innovation and Infrastructure; SDG 12: Responsible Consumption and Production; SDG 14: Life Below Water; SDG 15: Life on Land

LISTA DE TABELAS

Table 1. Composition of the analyzed fish and distribution of samples subjected to molecular biology. 84

Table 2: Results of mycological culture of fishes with high total read count and absolute abundance of *Sporothrix brasiliensis*.89

Supplementary Table S1: Total number of sequencing reads and absolute and relative abundance of *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* detected in fish samples collected from different origins.100

Supplementary Table S2: Origin of clinical and environmental samples of *Sporothrix spp.* 103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Macromorfologia de *Sporothrix* spp. A. Colônia filamentosa em ágar batata após sete dias de incubação a 25°C, obtidas por técnica de esgotamento. B. Colônia leveduriforme em meio de cultivo ágar *Brain Heart Infusion* (BHI) após sete dias de incubação a 37°C. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG). 20

Figura 2. Micromorfologia de *Sporothrix* spp. A. Fase filamentosa com hifas hialinas finas e septadas, e conídios cuja disposição na extremidade do conidióforo confere aspecto semelhante a “margaridas” (lactofenol azul algodão, aumento de 40x). B. Fase leveduriforme, com células pequenas ovaladas e alongadas, visualizadas em exame direto de amostra clínica (coloração de Gram em aumento de 40x). Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG). 21

Figura 3. Série histórica da esporotricose no Rio Grande do Sul (1997–2022). Linha do tempo ilustrando os principais estudos e eventos epidemiológicos relacionados à esporotricose felina, canina e humana no estado, incluindo os primeiros registros, a caracterização da transmissão zoonótica, o aumento progressivo da incidência na região sul e a disseminação para outras regiões do RS. 25

Figura 4. Manifestações clínicas da esporotricose em humanos. A. Forma linfocutânea, presença de lesões nodulares ao longo do trajeto linfático; B. Forma cutânea fixa, com lesão restrita ao local da inoculação traumática; C. Forma em mucosa ocular, com conjuntivite e lesões granulomatosas na conjuntiva inferior. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG) 27

Figura 5. Manifestações clínicas da esporotricose em felinos domésticos. A. Lesão cutânea localizada, restrita a um único sítio de inoculação, conhecida como “nariz de palhaço”; B. Lesões cutâneas disseminadas, múltiplas lesões com distribuição em distintas regiões corporais. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG). 29

MANUSCRITO 2

Figure 1. Sampling sites of free-living juvenile *Mugil liza* in the municipality of Rio Grande, located in the extreme southern region of Rio Grande do Sul, Brazil. 77

Figure 2. Schematic workflow illustrating the sampling, processing, and analytical steps applied to the fish specimens analyzed in this study. Fish were collected from public

markets, the fishing industry, and fisheries, processed individually or pooled according to the available biomass, mechanically homogenized, and subsequently subjected to metagenomic analyses, mycological culture, genotyping, and whole-genome sequencing..... 83

Figure 3. Fungal community structure and *Sporothrix* spp. diversity detected in fish samples by metagenomic analysis. (A) Relative abundance (%) of the fungal community at the phylum level across all analyzed samples. (B) Relative abundance (%) of the fungal community at the genus level. (C) Composition of *Sporothrix* operational taxonomic units (OTUs) at the genus/species level per sample, expressed as relative abundance (%). Samples are grouped according to the origin of the fish: public market, free-living (wild-caught), and industrially processed fish, highlighting differences among sampling sources. (D) Distribution of *Sporothrix* spp. operational taxonomic units (OTUs) detected in the analyzed samples..... 86

Figure 4. Alpha diversity and fungal richness across sampling locations and fish categories. (A) Alpha diversity of the fungal community measured by the Shannon diversity index across different sampling locations (origin). (B) Observed fungal richness (number of OTUs) across fish categories. Boxplots represent the median and interquartile range, with individual points corresponding to each sample. Differences among groups were assessed using the Kruskal–Wallis test, and no statistically significant differences were detected for either alpha diversity ($p = 0.497$) or observed richness ($p = 0.724$).....88

Figure 5- Short tandem repeat (STR) analysis of *Sporothrix* isolates derived from fish, seabird, and human (fisherman) samples. 91

Figure 6. Maximum-likelihood phylogeny inferred from whole-genome sequencing data showing the genetic relationships among *Sporothrix* isolates included in this study, which are represented by taxa in blue within *S. brasiliensis*. Geographic origin is indicated after each isolate according to Brazilian states' two-letter abbreviations or country. Scale bar represents substitutions per site. Detailed identification of each isolate is provided in the Supplementary Material (Table S2). 92

MANUSCRITO 3

Figura 1A) Processo de criação de modelos tridimensionais de fungos para impressão 3D: (a) Visualização no software Blender; (b) Arquivo no formato STL pronto para impressão. 115

Figura 1B) Construção de protótipos de fungos (a) Prototipação, usando a impressora FDM, da *Amanita* sp. (b) Prototipação do *Penicillium* spp. utilizando a impressora em resina. (c) Confeção, com a impressora FDM, do lithophane da *Amanita* sp. 115

Figura 2: Cultivos fúngicos de fungos filamentosos e leveduriformes conservado em resina para finalidade de apoio ao ensino de micologia básica. 116

Figura 3: Material de apoio alternativo e auxiliar para o ensino da Micologia, *Lithophane* de fungos e Protótipos em resina de fungos microscópicos em 3D. A) Placa com características microscópicas de *Aspergillus* sp.; B) Placa com características microscópicas de *Penicillium* sp.; C) Placa com características microscópicas de *Candida* sp.; D) Placa com características de um fungo macroscópico do gênero *Amanita* sp. E) *Penicillium* sp.; F) *Aspergillus* sp.; G) *Sporothrix* sp. e H) *Histoplasma* sp. 117

Figura 4: Material teórico de apoio com a finalidade de ser utilizado juntamente com os materiais didáticos desenvolvidos, placas com colônias fúngicas em resina e protótipos em impressão 3D. 118

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ASV	Variante de Sequência de Amplicon (<i>Amplicon Sequence Variant</i>)
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
°C	Graus Celsius
CAL	Calmodulina
EBSERH	Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares
FAMED	Faculdade de Medicina
FURG	Universidade Federal do Rio Grande
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HU-FURG	Hospital Universitário da FURG
HQs	Histórias em quadrinhos
ITC	Itraconazol
ITS	Espaçador transcrito interno
LabMico	Laboratório de Micologia
LAMP	<i>Amplificação Isotérmica Mediata por Alça (Loop-mediated isothermal amplification)</i>
MALDI-TOF	Espectrometria de massas por ionização/dessorção a laser assistida por matriz com tempo de voo
MLST	<i>Multilocus Sequence Typing</i>
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial da Saúde
OTU	Unidades Taxonômicas Operacionais (<i>Operational Taxonomic Units</i>)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
qPCR	PCR em tempo real
RS	Rio Grande do Sul
RJ	Rio de Janeiro
SNPs	pequeno número de polimorfismos de nucleotídeo único
SPSS	Statistical SPSSoftware Statistical Package for Social Sciences
STR	<i>Short Tandem Repeats</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
spp.	Espécies
WGS	sequenciamento de genoma completo (<i>whole genome sequencing</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 Características gerais do gênero <i>Sporothrix</i> spp.....	20
2.2 Histórico e Epidemiologia da Esporotricose	22
2.3 Manifestações Clínicas	26
2.4 Diagnóstico da Esporotricose	30
2.4.1 Métodos Clássicos ou Fenotípicos	30
2.4.2 Métodos de Identificação de Espécie	31
2.4.3 Métodos Alternativos de diagnóstico	32
2.4.4 Métodos Avançados para identificação de clados e detecção de <i>Sporothrix</i> spp.	35
2.5 Tratamento da Esporotricose	38
2.6 Medidas de Prevenção e Controle da Esporotricose	41
2.7 Habitat e Fontes de Infecção	44
2.7.1 Ambiente	44
2.7.2 Fômites	46
2.7.3 Animais como Reservatórios e Vetores Mecânicos	48
2.7.4 Evidências sobre pescados como fonte de infecção por <i>Sporothrix</i> spp.	50
2.8 Materiais didáticos para ensino da Micologia	51
3. JUSTIFICATIVA	54
4. OBJETIVOS	56
4.1 Objetivo Geral	56
4.2 Objetivos Específicos	56
5. MANUSCRITO 1	57
6. MANUSCRITO 2	70
7. MANUSCRITO 3	108
8. CONCLUSÕES	124
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	126
APÊNDICE A	143
APÊNDICE B	187

1 INTRODUÇÃO

A esporotricose zoonótica, causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix brasiliensis*, configura-se como uma micose subcutânea emergente de alta relevância epidemiológica e um crescente desafio para a saúde pública brasileira, sendo classificada como uma doença negligenciada (Gremião et al., 2020a). O felino doméstico representa o principal hospedeiro acometido e o mais eficiente e transmissor do agente etiológico (Gremião et al., 2015; Gremião et al., 2020b). Nos últimos cinco anos, tem-se observado uma acentuada expansão espacial da enfermidade, já documentada em praticamente todas as unidades federativas do Brasil, com manutenção de áreas hiperendêmicas consolidadas nos estados do Rio de Janeiro (RJ) e Rio Grande do Sul (RS) por mais de duas décadas (Lockhart et al., 2021). Ademais, a disseminação de *S. brasiliensis* ultrapassou fronteiras nacionais, com registros em países limítrofes e relatos de casos importados em regiões geograficamente distantes, caracterizando um cenário de emergência epidemiológica global (Rabello et al., 2022a; Rachman et al., 2022; Xavier et al., 2023).

Vale ressaltar que a região sul do RS principalmente os municípios de Rio Grande e Pelotas, há mais de duas décadas reporta casos da enfermidade, apresentando ao longo dos anos aumento no número de casos tanto em humanos como em gatos domésticos, totalizando cerca de 605 casos (504 em gatos e 101 em humanos) até o ano de 2021 (Brandolt et al., 2019; Munhoz et al., 2022). Atualmente, outras regiões do RS descrevem surtos e/ou aumento de casos (Spanemberg et al., 2021; Munhoz et al., 2022). Esse cenário regional, somado ao panorama nacional de expansão da esporotricose, contribuiu para o recente reconhecimento da doença como de notificação compulsória em âmbito nacional, a partir de 2025, reforçando a necessidade de vigilância epidemiológica integrada para a esporotricose humana e animal no Brasil (Brasil, 2025).

Os felinos domésticos e a adaptação da espécie *S. brasiliensis* a este hospedeiro apresentam papel central na epidemiologia da esporotricose, associando-se a atual situação de saúde pública nacional. Isto ocorre porque estes animais são as principais vítimas e transmissores do patógeno, carreando alta carga de propágulos fúngicos em suas lesões, facilmente transmitidos para outros animais e humanos (Gremião et al., 2020b). Além disso, estes animais frequentemente (74%) desenvolvem formas clínicas graves da doença (extracutânea e disseminada) raras em outros hospedeiros, podendo inclusive

evoluir para óbito se não tratada (Schubach et al., 2004; Gutierrez-Galhardo et al., 2015). De forma associada a esta problemática, o tratamento da esporotricose em felinos apresenta diversos obstáculos, como limitação de fármacos, dificuldade de administração diária de medicação por via oral, alto custo monetário, tempo prolongado (mínimo de 4 meses) e taxa de cura variável (40 a 96%), associada ao diagnóstico tardio e aderência limitada dos tutores ao tratamento prescrito (Gremião et al., 2017; Gremião et al., 2020b). Portanto, levando em consideração o papel central que gatos domésticos apresentam na epidemiologia da doença como principais vítimas e disseminadores de *S. brasiliensis*, o monitoramento bem como acompanhamento do manejo, tratamento e desfecho destes animais em áreas hiperendêmicas é essencial.

Embora medidas de controle e prevenção dessa micose incluam cautela no destino correto das carcaças de animais infectados para que não haja dispersão e contaminação ambiental pelo fungo (Barros et al., 2010), o habitat da espécie *S. brasiliensis* não está totalmente esclarecido (Matute; Teixeira, 2025). Existe a hipótese de que ambientes com alta salinidade possam ser mais propícios para manutenção e reprodução de *S. brasiliensis*, uma vez que as regiões de maior endemicidade da esporotricose felina e zoonótica no Brasil são costeiras e próximas ao mar, como Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul (Gremião et al., 2020a). Nesse contexto, o monitoramento e o rastreamento do agente etiológico em pescados, bem como o conhecimento do seu perfil de tolerância à salinidade são fundamentais para melhor entendimento sobre o agente etiológico e as fontes de infecção importantes na cadeia epidemiológica da doença.

Em adição, ressalta-se que com a população mundial em crescimento e potencial comércio global de aquicultura e pescado, o risco de contaminação ambiental e desenvolvimento de zoonoses de origem aquática em humanos está aumentando (Ziarati et al., 2022). Principalmente, as estruturas traumatizantes de peixes já foram evidenciadas como potenciais fontes de fungos patogênicos, inclusive os causadores da esporotricose (Mayorga et al., 1978; Ranjana et al., 2001; Haddad et al., 2002). Nesse sentido, há de se aprofundar o conhecimento do impacto desse risco físico na cadeia produtiva de pescado, tendo em vista o grande número de pescadores e manipuladores em contato constante com pescado (Leme et al., 2011). Entretanto, a atenção insuficiente aos fungos zoonóticos nos esforços internacionais e nacional de saúde pública acarreta um déficit no desenvolvimento de medidas de prevenção e controle das doenças fúngicas (Ziarati et al., 2022).

Além desses fatores ecológicos e ocupacionais, o desconhecimento generalizado sobre a esporotricose agrava ainda mais o cenário epidemiológico. Em nossa região hiperendêmica para a esporotricose, verificou-se que 26% dos profissionais de saúde não conheciam a doença e cerca de 40% desconheciam ou apontaram incorretamente o agente etiológico e a principal manifestação clínica em seus pacientes (45%) (Poester et al., 2019). Esse déficit de conhecimento compromete a suspeição clínica, etapa fundamental para o diagnóstico precoce e o tratamento adequado, especialmente em áreas de elevada endemicidade. Logo, a escassez de materiais didáticos sobre essa área em diferentes esferas da educação, desde o ensino básico até o superior potencializam esse desconhecimento, contribuindo indiretamente para que as doenças fúngicas sejam negligenciadas (Rodrigues; Nosanchuk, 2021).

Diante desse contexto multifatorial, o objetivo desta tese foi contemplar diferentes vertentes da problemática relacionada a esporotricose, abrangendo: o monitoramento do desfecho e tratamento da esporotricose felina em região hiperendêmica; a investigação de pescados/peixes como possível fonte de infecção por *Sporothrix* spp.; e a elaboração de materiais didáticos voltados ao ensino de micologia. Essas temáticas originaram três manuscritos apresentados como produção científica desta tese.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características gerais do gênero *Sporothrix* spp

Fungos do gênero *Sporothrix* pertencem ao Reino Fungi, filo Ascomycota, classe *Sordariomycetes*, Ordem *Ophiostomatales* e família *Ophiostomataceae* (Rodrigues et al., 2020, Rodrigues; Camargo, 2022). Até 2007, apenas *Sporothrix schenckii* era reconhecida como agente etiológico da esporotricose. Contudo, análises moleculares realizadas com isolados clínicos de diferentes regiões do mundo demonstraram haver diferenças genéticas substanciais permitindo sua classificação em distintas espécies. Assim, foram propostas as novas espécies *S. schenckii sensu strictu*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. luriae*, *S. chilensis* e *S. pallida* como agentes relacionados à esporotricose (Marimon et al., 2007; Rodrigues et al., 2020).

Todas espécies de *Sporothrix* são fungos termodimórficos, podendo sobreviver e se reproduzir na fase filamentosa e/ou leveduriforme. A fase filamentosa é quando estão no ambiente a uma temperatura de 25°C e, a fase leveduriforme, como patógenos no hospedeiro, a uma temperatura próxima a 37°C (Lacaz et al., 2002). As principais características macroscópicas na fase filamentosa são a presença de colônias membranosas de bordas radiadas e aderidas ao meio de cultura com mudança de coloração ao longo do seu crescimento, iniciando na maioria das vezes com coloração creme e escurecendo gradativamente até ficar enegrecida, devido a produção de melanina (Figura 1A) (Queiroz-Telles et al., 2021). Enquanto na fase leveduriforme a colônia possui consistência cremosa, de coloração creme (Figura 1B) (Castro et al., 2013).

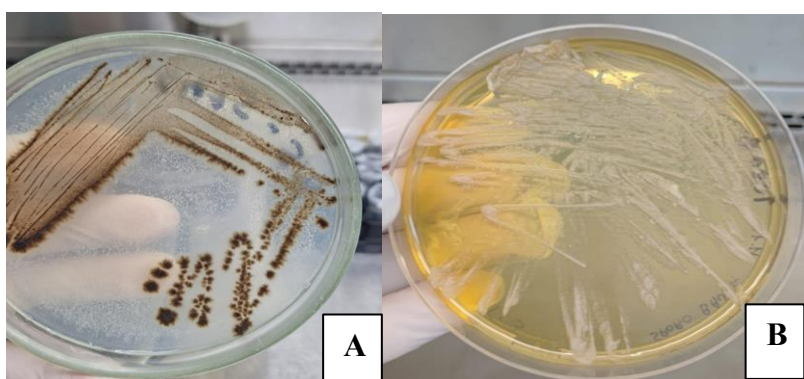


Figura 1. Macromorfologia de *Sporothrix* spp. A. Colônia filamentosa em ágar batata após sete dias de incubação a 25°C, obtidas por técnica de esgotamento. B. Colônia leveduriforme em meio de cultivo *Brain Heart Infusion* (BHI) após sete dias de incubação a 37°C. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

Microscopicamente, a fase filamentosa apresenta hifas hialinas, septadas, finas e ramificadas, conídios sésseis, e conidióforos com conídios em seu ápice em disposição simpodial sendo relacionado a um aspecto de margarida (Figura 2A) (Castro et al., 2013). E na fase leveduriforme é caracterizado pela presença de blastoconídios ovalados, arredondados ou alongados “em forma de charuto” (Figura 2B) (Queiroz-Telles et al., 2021).

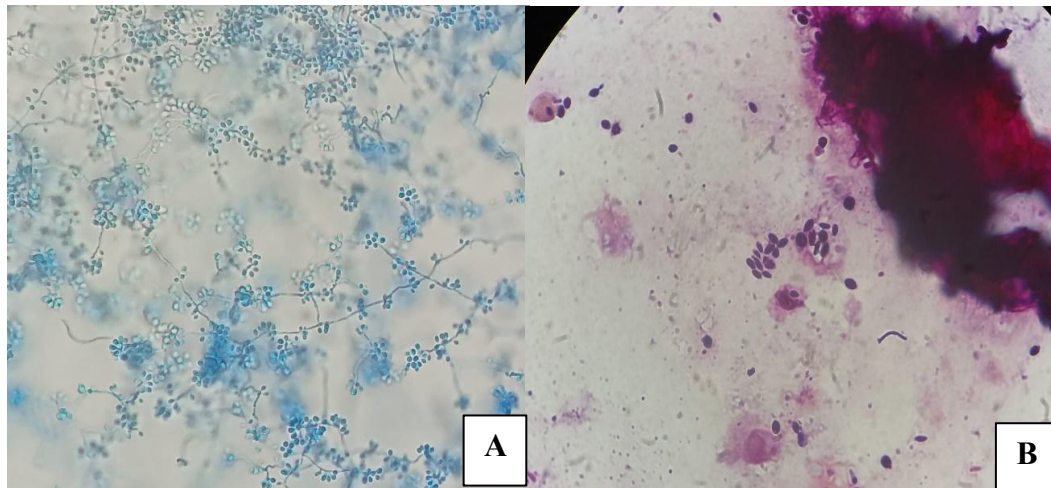


Figura 2. Micromorfologia de *Sporothrix* spp. A. Fase filamentosa com hifas hialinas finas e septadas, e conídios cuja disposição na extremidade do conidióforo confere aspecto semelhante a “margaridas” (lactofenol azul algodão, aumento de 40x). B. Fase leveduriforme, com células pequenas ovaladas e alongadas, visualizadas em exame direto de amostra clínica (coloração de Gram em aumento de 40x). Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

As espécies de maior relevância clínica são *S. schenckii* sensu stricto, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. mexicana*. Recentemente, outras espécies de *Sporothrix* foram identificadas como agentes etiológicos da doença em gatos, incluindo *Sporothrix humicola*, relatada em um gato diabético no Reino Unido, e *Sporothrix brunneoviolacea*, descrita em um felino no extremo sul do Rio Grande do Sul. Embora capazes de causar doença em gatos, ainda não se sabe se essas espécies possuem potencial zoonótico ou capacidade de causar infecções em humanos (Makri et al., 2020; Trápaga et al., 2025). No entanto, *S. globosa*, *S. schenckii* sensu stricto e *S. mexicana* tem como fonte de infecção o solo e vegetais, sendo a exposição ao fungo, seja ocupacional ou recreacional um fator importante no desenvolvimento da doença (Orofino-Costa et al., 2022). São fungos geofílicos, cujo habitat preferencial é o solo com abundância de matéria orgânica em decomposição (Benvegnú et al., 2017). Por outro lado, *S. brasiliensis* apresenta um perfil epidemiológico distinto, caracterizado pela predominância da transmissão

zoonótica, principalmente associada aos felinos domésticos, que atuam simultaneamente como principais hospedeiros acometidos e fontes de infecção. Esses animais desempenham papel central como amplificadores do agente etiológico, contribuindo de forma significativa para a manutenção do ciclo de transmissão e para a disseminação do fungo em ambientes urbanos (Gremião et al., 2015).

Dentre as espécies mencionadas, destaca-se *S. brasiliensis* como a espécie mais virulenta, seguida de *S. schenckii* (Arrillaga-Moncrieff et al., 2009; Della Terra et al., 2017). Ensaios de virulência em modelo murino demonstraram que *S. brasiliensis* resulta nas maiores cargas fúngicas nos órgãos dos animais, além de provocar lesões mais extensas e maior mortalidade em comparação às espécies *S. schenckii*, *S. globosa*, *S. mexicana* (Arrillaga-Moncrieff et al., 2009; Della Terra et al., 2017). De forma semelhante, em humanos, formas clínicas mais atípicas da esporotricose têm sido frequentemente associadas à infecção por *S. brasiliensis*. Essa maior gravidade clínica parece estar relacionada a um conjunto de fatores de virulência, entre os quais se destaca a maior capacidade de síntese de melanina por essa espécie fúngica, característica que pode contribuir para a evasão da resposta imune do hospedeiro e para a persistência da infecção, sem que esse seja, entretanto, o único mecanismo envolvido (Almeida-Paes et al., 2014; Almeida-Paes et al., 2015).

2.2 Histórico e Epidemiologia da Esporotricose

A esporotricose é uma enfermidade de distribuição mundial com alta endemicidade principalmente em áreas tropicais e subtropicais, sendo considerada a micose subcutânea mais frequente na América Latina e, principalmente, no Brasil, Colômbia, México, Guatemala e Peru (Orofino-Costa et al., 2022). Casos de esporotricose são igualmente relatados na China, Índia, Japão, EUA e Austrália, principalmente associados a traumas com fontes vegetais (Orofino-Costa et al., 2022).

A esporotricose foi inicialmente descrita no final do século XIX, quando Schenck (1898) isolou o fungo causador da doença a partir do abscesso de um paciente (Schenck, 1898; Barros et al., 2011). No Brasil, Lutz e Splendore registraram em 1907 os primeiros casos, ao identificarem ratos naturalmente infectados no sistema de esgoto de São Paulo. Décadas depois, na década de 1950, de Almeida e colaboradores reportaram o primeiro caso zoonótico gato–humano no país. Contudo, foi apenas a partir de meados dos anos 1990 que a esporotricose emergiu de forma explosiva, impulsionada por surtos felinos no Rio de Janeiro, onde *Sporothrix* foi isolado das garras e da cavidade oral dos animais e

68% dos pacientes humanos relataram arranhaduras ou mordeduras (Schubach et al., 2001). Nesse mesmo período, também foram descritos os primeiros surtos de esporotricose felina e zoonótica no estado do Rio Grande do Sul (Nobre et al., 2001). Em poucas décadas, uma micose antes esporádica transformou-se em um dos mais importantes problemas de saúde pública veterinária e humana no Brasil (Rodrigues et al., 2020).

A emergência dos casos no Brasil e países vizinhos da América Latina, está relacionada especificamente a transmissão zoonótica do *Sporothrix brasiliensis* (Rodrigues et al., 2020). A presença de felinos com esporotricose, sintomáticos em áreas urbanas populosas antecede a infecção humana bem como está associado ao aumento no número de casos dessa enfermidade zoonótica (Bento et al., 2021). A demora no diagnóstico e no tratamento, a criação de gatos semidomiciliados e não castrados, o abandono dos animais doentes e o descarte inadequado de animais mortos contribui para a disseminação do fungo e a infecção entre os animais, e influencia diretamente no número de casos em seres humanos que vivem na mesma área geográfica (Cavalcanti et al., 2018).

O aumento da incidência da esporotricose transmitida por gatos no Brasil tem sido amplamente descrito em diversos estados do Brasil. Nas regiões Sul e Sudeste (Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul) essa micose é considerada hiperendêmica (Almeida-Paes et al., 2014; Montenegro et al., 2014; Fernandes et al., 2018; Poester et al., 2022ab) e, nos últimos cinco anos diversos estados relataram a ocorrência do aumento de casos de esporotricose, como na região Nordeste (Arantes-Ferreira et al., 2019; Lacerda Filho et al., 2019, Aguiar et al., 2023). Recentemente, casos alóctones da doença foram descritos em Mato Grosso (Veggi et al., 2025, Vieira et al., 2025).

Casos de esporotricose por *S. brasiliensis* já foram também relatados em países vizinhos ao Brasil, como Argentina (Etchecopaz et al., 2020), Paraguai (García Duarte et al., 2017) e Chile (Thomson et al., 2023; Godoy-Martínez et al., 2026). Em adição casos exportados são descritos no Reino Unido e Estados Unidos, relacionados com gatos doentes introduzidos do Brasil (Rachman et al., 2022; Barnacle et al., 2023).

Logo, o controle e a prevenção da ocorrência de novos casos de esporotricose por *S. brasiliensis* são etapas essenciais para o manejo da doença entre humanos e animais

(Sanchotene et al., 2015). No Brasil, até recentemente, a esporotricose não integrava a lista nacional de doenças de notificação compulsória, o que contribuiu para a subnotificação e para a limitação do conhecimento sobre seu real impacto epidemiológico, mesmo em estados considerados hiperendêmicos (Munhoz et al., 2022). Apenas em 2025 a esporotricose passou a ser incluída na lista de notificação compulsória em âmbito nacional, o que historicamente dificultou a estimativa precisa da incidência da doença no país (Brasil, 2025). Nesse contexto, o estado do Rio de Janeiro destacou-se por adotar a notificação obrigatória desde 2013, permitindo estimativas mais robustas, como a incidência aproximada de dez casos por 100.000 habitantes registrada nesse estado (Rodrigues et al., 2020; Orofino-Costa et al., 2022).

Os primeiros relatos de esporotricose felina no Sul do Rio Grande do Sul foram relatados há cerca de 20 anos (Nobre et al., 2001), descrevendo a prevalência persistente por três anos da doença no mesmo gatil desde 1997 e relatando caso de esporotricose humana após arranhão de gato. Xavier e colaboradores (2004) relataram o primeiro caso de transmissão zoonótica de esporotricose no município de Pelotas, no qual a infecção foi transmitida a um atendente de clínica veterinária após arranhadura por um felino infectado, ocorrida durante o procedimento de contenção para coleta de material de lesões cutâneas. Posteriormente Madrid e colaboradores (2012) atualizaram os dados quanto ao cenário epidemiológico da micose no Sul do estado, reportando uma série de casos de esporotricose incluindo 92 gatos e 11 cães que foram diagnosticados em um período de 10 anos e oriundos de oito municípios do Rio Grande do Sul (Rio Grande, Pelotas, Canguçu, Capão do Leão, Morro Redondo, Pedro Osório, São Lourenço e Bento Gonçalves) (Madrid et al., 2012).

O estabelecimento da hiperendemia na região sul do RS com crescimento exponencial do número de casos foi subsequentemente reportado por Sanchotene e colaboradores, que relataram o acometimento de 129 gatos em somente quatro anos (2010-2014), diagnosticados no Laboratório de Micologia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Os autores referem um aumento na incidência dos casos no decorrer dos anos, passando de 0,75 novos casos/mês em 2010 para 3,33 novos casos/mês em 2014 (Sanchotene et al., 2015). Brandolt e colaboradores (2019) acrescentaram dados sobre a ocorrência de mais de 100 casos de esporotricose humana diagnosticados no período de 2012 a 2017, na região, sendo cerca de 90% casos zoonóticos. Vale ressaltar que nesse estudo a distribuição temporal da doença foi de 20 casos/ano e espacialmente foi

evidenciado a prevalência da doença principalmente em dois municípios, Rio Grande e Pelotas, os principais municípios da região sul do RS (Brandolt et al., 2019).

Em um estudo epidemiológico e de séries temporais sobre os casos confirmados de esporotricose felina em Pelotas/RS, em um período de onze anos (2007 a 2018), foram diagnosticados 288 felinos com a doença, sendo em maior parte machos (75%, 212/280) e adultos (60%, 121/200) (Pereira et al., 2024). Estudo subsequente conduzido por Poester e colaboradores (2018) na região, demonstrou 372 casos de esporotricose diagnosticados em felinos, 34 em caninos e 83 em humanos em um período de 07 anos, sendo que a média de 18 casos/ano nos três primeiros anos de estudo passou para 116 nos últimos três anos (Poester et al., 2018). E, mais recentemente, Munhoz e colaboradores (2022), reportaram o início da disseminação da esporotricose para outras regiões do estado do Rio Grande do Sul, relatada por 83% dos participantes oriundos de 40 municípios do estado (Munhoz et al., 2022).

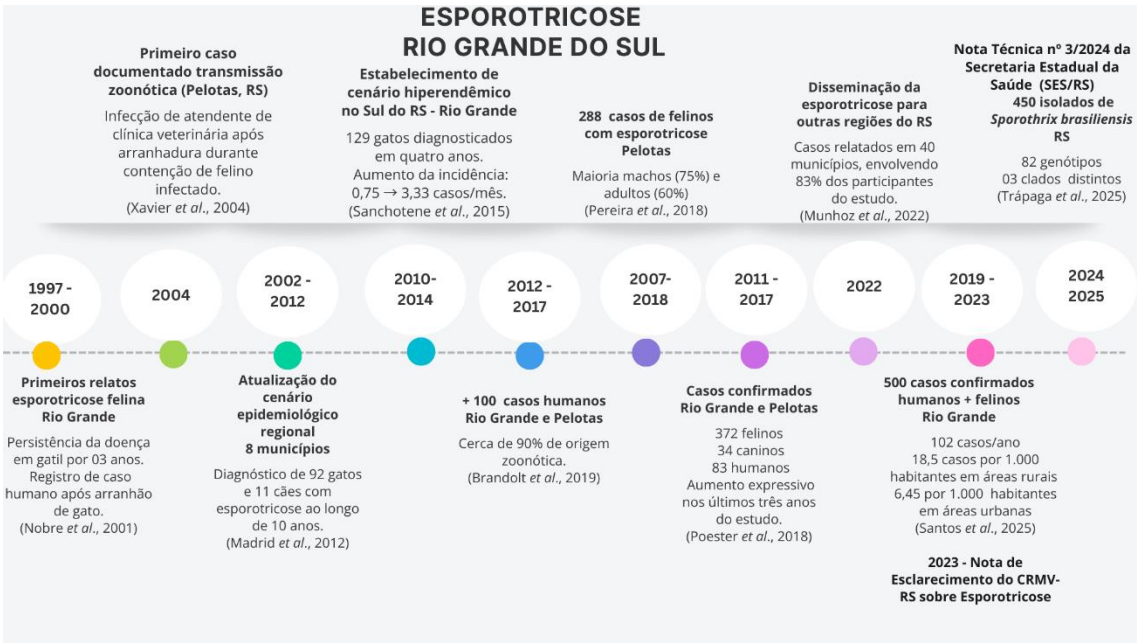


Figura 3. Série histórica da esporotricose no Rio Grande do Sul (1997–2022). Linha do tempo ilustrando os principais estudos e eventos epidemiológicos relacionados à esporotricose felina, canina e humana no estado, incluindo os primeiros registros, a caracterização da transmissão zoonótica, o aumento progressivo da incidência na região sul e a disseminação para outras regiões do RS.

Estudos recente de georreferenciamento realizados na região sul do Rio Grande do Sul reforçam a complexidade e a magnitude da esporotricose como problema de saúde pública. Em uma análise retrospectiva abrangendo o período de 2019 a 2023,

aproximadamente 500 casos foram diagnosticados em um centro de referência, com média anual de 102 casos. A distribuição espacial, avaliada por meio da densidade de Kernel, revelou áreas de expressiva sobreposição de casos felinos e humanos, evidenciando focos de transmissão ativa. As prevalências observadas atingiram 18,5 casos por 1.000 habitantes em áreas rurais e 6,45 por 1.000 em áreas urbanas, destacando diferenças territoriais relevantes para a disseminação da doença (Santos et al., 2025). De forma complementar, análises genotípicas recentes de isolados de *Sporothrix brasiliensis* provenientes do Rio Grande do Sul identificaram a circulação de três clados distintos (Trápaga et al., 2025).

Em relação a notificação compulsória da esporotricose humana, o RJ notifica os casos desde 2013 e Minas Gerais desde 2018 (Rio de Janeiro, 2013; Prefeitura de Belo Horizonte, 2018). Somente em 2023, o Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio Grande do Sul publicou Nota de Esclarecimento sobre esporotricose. Posteriormente, em 2024, o Governo do Estado do Rio Grande do Sul reconheceu a esporotricose como doença de notificação compulsória em âmbito estadual, com a publicação de nota técnica contendo orientações para a vigilância da esporotricose animal e humana (Rio Grande do Sul, 2024).

Em nível nacional, a inclusão da esporotricose na Lista Nacional de Notificação Compulsória foi formalizada pela Ministério da Saúde por meio da Portaria GM/MS nº 6.734/2025, que tornou obrigatória a notificação dos casos humanos nos serviços de saúde públicos e privados. A normativa estabelece responsabilidades quanto ao registro no sistema oficial de vigilância e visa padronizar a produção de dados epidemiológicos em todo o país. De forma complementar, a Nota Técnica nº 20/2025, atualizada em janeiro de 2026, detalha critérios de definição de caso, fluxos de notificação e diretrizes para investigação epidemiológica, promovendo maior integração entre vigilância e assistência e qualificando o monitoramento da doença no território nacional.

2.3 Manifestações Clínicas

A esporotricose tem evolução subaguda a crônica e acomete, além de humanos, diversas espécies de animais, tanto silvestres como domésticos (Barros et al., 2011), sendo mais prevalente em gatos domésticos e humanos (Pereira et al., 2014; Lopes-Bezerra et al., 2018, Valdez et al., 2023). A doença pode ocorrer nas formas subcutâneas (fixa / linfocutânea, Figura 4AB), mucosas ou mais graves (disseminada ou extracutânea) (Freitas et al., 2015; Poester et al., 2024). Geralmente, as lesões aparecem em média em

cerca de 1 a 3 semanas após a infecção fúngica e tendem a ser nodulares, gomosas, pustulares, ulceradas e/ou crostosas, com exsudação serosanguinolenta e bordas eritematosas ou violáceas (Kauffman et al., 2007, Zhao; Li; Yang, 2025). Vale ressaltar que embora a linfangite nodular ascendente (Figura 4A) seja a forma clínica mais comum, a doença pode manifestar-se com características distintas, o que dificulta o diagnóstico (Xavier et al., 2013, Poester et al., 2024) (Figura 4).

As formas mucosas da esporotricose têm sido descritas em situações de inoculação direta de propágulos fúngicos nas mucosas, sendo a ocular (Figura 4C) a mais frequentemente relatada, correspondendo a aproximadamente 86% dos casos, seguida pelo acometimento da mucosa nasal (11%) e, de forma menos frequente, da mucosa oral (<1%) (Queiroz-Telles; Buccheri; Benard, 2019; Poester et al., 2024). Essas manifestações estão geralmente associadas ao contato direto com secreções de felinos infectados, devido a aerossolização de propágulos fúngicos provenientes de gatos com envolvimento respiratório, o que pode contribuir para a infecção das mucosas, favorecendo o desenvolvimento dessas formas clínicas (de Andrade Galliano Daros Bastos et al., 2022).



Figura 4. Manifestações clínicas da esporotricose em humanos. A. Forma linfocutânea, presença de lesões nodulares ao longo do trajeto linfático; B. Forma cutânea fixa, com lesão restrita ao local da inoculação traumática; C. Forma em mucosa ocular, com conjuntivite e lesões granulomatosas na conjuntiva inferior. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

A esporotricose humana afeta ambos os sexos e pode ocorrer em qualquer idade (Orofino-Costa et al., 2022). Em humanos, a maior parte dos casos reportados (~95%) são subcutâneos, predominando a forma linfocutânea (75 a 90% dos casos) (Rodrigues et al., 2020) e, os principais fatores de risco para esporotricose grave incluem diabetes, alcoolismo crônico, terapia com esteroides, cânceres hematológicos e transplantes de órgãos (Su et al., 2025).

Por outro lado, em gatos ocorre o oposto, a forma disseminada é a mais frequente, associada a lesões com alta carga fúngica. Esta manifestação severa da doença apenas nestes hospedeiros ocorre devido a fatores intrínsecos, e culmina na disseminação da doença para forma invasiva e fatal (Gremião et al., 2017). Geralmente, os felinos com esporotricose exibem lesões com granulomas mal formados, com alta carga fúngica, apresentando caráter disseminado nestes animais mesmo sem imunodepressão associada, diferentemente do que ocorre em outros animais e humanos, bem como quando comparado as outras espécies de *Sporothrix* spp. (Gremião et al., 2017). Além disso, a doença é frequente em gatos machos adultos, abandonados e não castrados (Gremião et al., 2015; Santos et al., 2024). Em um estudo envolvendo 347 casos de esporotricose com diferentes manifestações clínicas, a forma cutâneo-linfática foi relatada em 19,3% dos casos, enquanto a forma disseminada correspondeu a 39,5%, e o acometimento extracutâneo foi observado em 34,9% dos animais (Schubach et al., 2004). Em contraste, estudos mais recentes têm demonstrado um predomínio de apresentações clínicas mais extensas em felinos. Em um estudo com 102 gatos diagnosticados com esporotricose, 86,3% apresentaram lesões cutâneas múltiplas (Figura 5B), enquanto apenas 13,7% exibiram lesões únicas (Figura 5A) (Santos et al., 2024). As regiões anatômicas mais frequentemente acometidas incluíram os membros torácicos (61,8%), a face (58,8%), o plano nasal (52,0%) e as orelhas (51,0%). Além disso, lesões ulcerativas foram observadas nos membros pélvicos em 47,1% dos casos, na região periocular em 42,2% e na região toracolombar dorsal em 26,5% dos felinos avaliados. Lesões cutâneas localizadas na região toracolombar dorsal foram significativamente mais frequentes quando comparadas às observadas na cauda (17,6%) e na região cervical dorsal (13,7%)

($P < 0,05$), reforçando o padrão de disseminação cutânea multifocal observado na esporotricose felina contemporânea (Santos et al., 2024) (Figura 5).

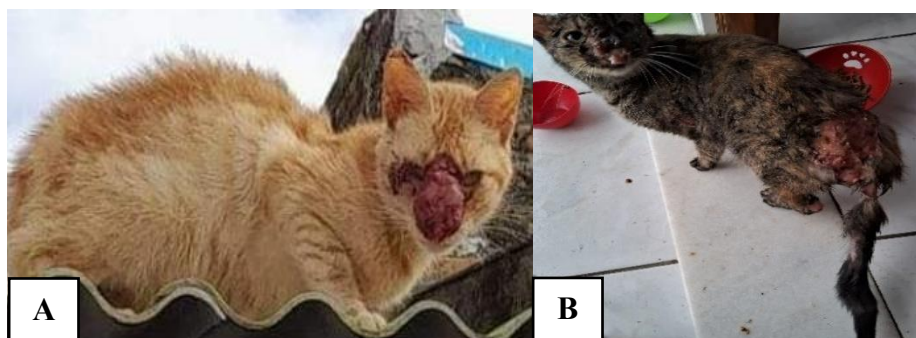


Figura 5. Manifestações clínicas da esporotricose em felinos domésticos. A. Lesão cutânea localizada, restrita a um único sítio de inoculação, conhecida como “nariz de palhaço”; B. Lesões cutâneas disseminadas, múltiplas lesões com distribuição em distintas regiões corporais. Fonte: Laboratório de Micologia (FAMED – FURG).

Vale ressaltar que nos últimos cinco anos, houve aumento exponencial no número de artigos que relatam casos atípicos de esporotricose zoonótica, coincidindo com a expansão significativa da doença em todo o território brasileiro, o que tem revelado um espectro clínico muito mais amplo do que o tradicionalmente descrito, especialmente nas infecções por *S. brasiliensis* (Poester et al., 2024). Dados comparativos mostram que pacientes humanos infectados por essa espécie ($n = 45$) apresentam quadros significativamente mais graves e variados do que aqueles infectados por *S. schenckii* sensu stricto ($n = 5$), incluindo infecção cutânea disseminada em indivíduos imunocompetentes, reações de hipersensibilidade e acometimento mucoso, enquanto *S. schenckii* mantém um padrão mais leve e localizado (Almeida-Paes et al., 2014).

Conforme observado por Almeida-Paes et al (2014), *S. brasiliensis* está associada a manifestações incomuns e potencialmente graves, achado reforçado pela revisão de Poester et al (2024), na qual a esporotricose zoonótica atípica unifocal ($n = 731$) apresentou reação de hipersensibilidade como manifestação predominante (51%), seguida pelo envolvimento mucoso (35%), principalmente ocular (Poester et al., 2024). Nos casos mais graves ($n = 105$), destacou-se a ocorrência de osteoartrite (8%), meningoencefalite (4%) e acometimento pulmonar (2%), além de formas multifocais envolvendo simultaneamente osso, pulmões, mucosas e meninges, com elevada letalidade (Poester et al., 2024). As apresentações atípicas abrangeram reações de hipersensibilidade (predomínio de eritema nodoso e multiforme), doença ocular com múltiplos padrões

combinados, osteomielite e artrite séptica, esporotricose pulmonar primária ou disseminada, e meningite, sendo esta última majoritariamente em pacientes imunossuprimidos e com alto índice de óbito (70%) (Poester et al., 2024). A presença de comorbidades foi marcante, principalmente em pacientes com Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), embora formas graves também tenham ocorrido em indivíduos sem doença subjacente (Poester et al., 2024). Assim, a esporotricose atípica, particularmente relacionada a *S. brasiliensis*, configura um conjunto de apresentações clínicas complexas, multifocais e potencialmente fatais, que contrastam radicalmente com o curso clássico e localizado tradicionalmente atribuído à doença (Poester et al., 2024).

2.4 Diagnóstico da Esporotricose

2.4.1 Métodos Clássicos ou Fenotípicos

O método de diagnóstico padrão ouro para esporotricose é o cultivo micológico, que permite o isolamento de *Sporothrix* spp. de amostras oriundas de pacientes com suspeita da doença; após este isolamento o agente é identificado, em nível de gênero, por parâmetros morfológicos e por conversão da fase filamentosa para a leveduriforme (Gremião et al., 2020b). As amostras para a análise laboratorial são caracterizadas por secreções das lesões colhidas com *swab* estéril ou biópsia tecidual, das quais deve ser realizado exame micológico direto, juntamente com o cultivo fúngico (Sanchotene et al., 2015, Trápaga et al., 2024).

O exame micológico direto é realizado pelo esfregaço da amostra clínica em lâmina e subsequente coloração por técnica convencional, podendo ser realizado a coloração de Gram (células Gram-positivas), Panótico rápido ou por técnicas como Prata metenamina de Grocott ou corantes fluorescentes, que auxiliam no aumento da visibilidade das estruturas fúngica (Civila et al., 2004; Sanchotene et al., 2015; De Macêdo-Sales et al., 2018; Cognialli et al., 2025a). Na visualização em microscópico, visualizam-se blastoconídios ovalados ou alongados, sugestivos de *Sporothrix* spp. (Gremião et al., 2021). Essa técnica apresenta baixa sensibilidade e especificidade, principalmente em humanos e animais que demonstram nas lesões escassas células leveduriformes, diferente dos gatos em que são encontradas abundantes blastoconídios (Orofino-Costa et al., 2022).

Por outro lado, o cultivo tem alta sensibilidade (66% a 100%) e especificidade para diagnóstico da esporotricose. (Orofino-Costa et al., 2022). A variabilidade da taxa de sensibilidade é influenciada por fatores pré-analíticos como qualidade da coleta,

transporte e armazenamento da amostra (Civila et al., 2004; Gremião et al., 2020; Orofino-Costa et al., 2017).

Para a realização do cultivo micológico, utilizam-se meios como ágar Sabouraud acrescido de antibiótico, cloranfenicol, podendo-se incluir cicloheximida, com incubação a 25–30 °C por até 30 dias, devido ao possível crescimento tardio (Sanchotene et al., 2015, Sanchotene et al. 2017; Queiroz-Telles et al., 2022). De modo geral, o crescimento da fase filamentosa ocorre em 5–7 dias e pode ser confirmado pela conversão para a fase leveduriforme em meio BHI (Barros; De Almeida Paes; Schubach, 2011). Esse método é parão-ouro para o diagnóstico definitivo da micose. Entre as limitações destaca-se o tempo variável de diagnóstico e a não identificação da espécie causal, para tanto há necessidade de técnicas moleculares, as quais trazem contribuições para a epidemiologia molecular e a filogenia de *Sporothrix* spp.. Em adição, a sensibilidade do cultivo também é reduzida em pacientes com formas extracutâneas de esporotricose. Assim, ressalta-se a importância de métodos complementares para detecção e identificação do agente etiológico (Gremião et al., 2020).

2.4.2 Métodos de Identificação de Espécie

Os métodos clássicos, baseados em características morfológicasbioquímicas do fungo, não são suficientes para identificação de espécies de *Sporothrix*. A estreita relação fenotípica e a sobreposição de características morfológicas entre espécies patogênicas e não patogênicas do gênero limitam significativamente a acurácia da identificação em nível de espécie, tornando esses critérios insuficientes para uma discriminação taxonômica (Rodrigues; Hoog; de Camargo, 2014). Nesse cenário, exames complementares assumem papel relevante ao auxiliar e refinar a identificação obtida pelos métodos clássicos, contribuindo para maior precisão diagnóstica, especialmente no contexto da esporotricose zoonótica (Trápaga et al., 2024).

Técnicas moleculares, destacando-se a reação em cadeia da polimerase (PCR), permitem a discriminação de espécies com elevada especificidade, sendo amplamente utilizadas como ferramentas complementares ao diagnóstico clássico (Rodrigues; Hoog; de Camargo, 2014). Além disso, a espectrometria de massas por ionização/dessorção a laser assistida por matriz com tempo de voo (MALDI-TOF MS) tem se mostrado uma abordagem rápida e custo-efetiva para a identificação de isolados fúngicos, com considerável economia de material e mão de obra, tendo confiabilidade e precisão da

identificação da espécie comparável a métodos moleculares, desde que haja bancos de dados adequados (Matos et al., 2019; Orofino-Costa et al., 2022; de Carvalho et al., 2025). Nesse contexto, Oliveira et al. (2015) demonstraram a identificação bem-sucedida de espécies de *Sporothrix* por meio da construção de um banco de dados MALDI interno robusto, abrangente quanto ao número de espectros e à diversidade geográfica das cepas, cujos perfis de referência foram previamente validados por análises moleculares. Esses autores evidenciaram ainda que o MALDI-TOF MS apresenta acurácia equivalente à obtida por sequenciamento parcial de genes como calmodulina, β -tubulina e quitina sintase, especialmente para a identificação de *S. brasiliensis* (Oliveira et al., 2015).

Recentemente, métodos isotérmicos de amplificação, como *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP), tem sido investigado como alternativa promissora para a identificação de *Sporothrix* spp., especialmente por sua rapidez e simplicidade operacional (Araujo et al., 2024; do Carmo Silva et al., 2025).

2.4.3 Métodos Alternativos de diagnóstico

Nos últimos anos, a crescente complexidade epidemiológica da esporotricose, associada à expansão geográfica da doença e ao aumento do número de casos em humanos e animais, tem evidenciado limitações importantes dos métodos diagnósticos convencionais. Embora o cultivo micológico permaneça como padrão de referência, seu tempo prolongado de processamento, a necessidade de infraestrutura laboratorial especializada e a dificuldade na identificação em nível de espécie a partir de características morfológicas reforçam a necessidade de abordagens diagnósticas alternativas, mais rápidas, sensíveis e, aplicáveis diretamente a amostras clínicas.

Os métodos biomoleculares têm se consolidado como alternativas promissoras para o diagnóstico direto da esporotricose a partir de amostras clínicas, incluindo exsudatos, fragmentos de lesões cutâneas, secreções e tecidos. Técnicas baseadas na reação em cadeia da polimerase (PCR), em suas diferentes modalidades, possibilitam a detecção específica do DNA de *Sporothrix* spp., com elevada sensibilidade e especificidade, além de permitir a identificação em nível de espécie. Essas abordagens reduzem significativamente o tempo diagnóstico e contribuem para uma tomada de decisão clínica mais rápida e precisa.

Além do impacto clínico, o conhecimento do perfil molecular do fungo contribui para a compreensão da dinâmica de ocorrência das espécies de *Sporothrix* spp., especialmente aquelas com envolvimento zoonótico (Alvarez; Oliveira; Pires, 2022). Logo, as técnicas de diagnóstico molecular têm se destacado por permitir a detecção rápida de *Sporothrix* spp. diretamente das amostras clínicas, inclusive com identificação em nível de espécie; entretanto, ainda se restringem ao ambiente de pesquisa ou a ensaios *in house* (Marimon et al., 2007; Rodrigues et al., 2015). Os principais métodos descritos incluem PCR espécie-específico (Gonsales et al., 2020; Poester et al., 2021; Rodrigues; De Hoog; De Camargo, 2015), nested-PCR (Hayashi et al., 2019; Luiz et al., 2022; Almeida-Silva et al., 2023), e qPCR (Zhang et al., 2019; Della Terra et al., 2022; Marques de Macedo et al., 2023). E diversos alvos moleculares vêm sendo explorados para esse fim, como β -tubulina, fator de alongação, quitina sintase, espaçador transcrito interno (ITS) e calmodulina (CAL), evidenciando o potencial dessas abordagens para expandir e qualificar o diagnóstico da esporotricose (Rudramurthy; Chakrabarti, 2017).

As principais diferenças entre as técnicas moleculares residem em seus princípios de detecção e sensibilidade (Brown et al., 2025). A PCR espécie-específica utiliza primers desenhados para reconhecer exclusivamente sequências únicas de uma determinada espécie, permitindo discriminar organismos filogeneticamente próximos dentro de um mesmo complexo fúngico, como ocorre no gênero *Sporothrix*. Trata-se de uma técnica qualitativa, baseada na simples detecção (presença/ausência) do amplicon (Marimon et al., 2007; Rodrigues et al., 2015). A nested-PCR, por sua vez, envolve duas rodadas sucessivas de amplificação: a primeira com primers externos e a segunda com primers internos “aninhados” na região previamente amplificada. Essa estratégia aumenta de forma significativa a sensibilidade e a especificidade, sendo especialmente útil para amostras com baixa carga fúngica; contudo, apresenta maior risco de contaminação cruzada devido ao manuseio adicional entre as etapas (Hu et al., 2003). Por outro lado, PCR em tempo real (qPCR) permite a detecção e, quando aplicável, a quantificação do DNA alvo durante a própria reação, por meio de sondas fluorescentes ou corantes intercalantes. É uma técnica altamente sensível, rápida e menos suscetível a contaminações do que a nested PCR, além de possibilitar análises quantitativas da carga fúngica e identificação espécie-específica quando sondas apropriadas são empregadas

(Brown et al., 2025). Em um estudo conduzido por Zhang et al. (2019) relataram qPCR multiplex em biópsias felinas com sensibilidade de 93% versus 87% do cultivo.

Diversos estudos têm avaliado o desempenho dessas técnicas moleculares em diferentes tipos de amostras clínicas. Hayashi et al. (2019) avaliaram amostras de tecido cutâneo incluídas em parafina e observaram 100% de sensibilidade e 98,7% de especificidade para o nested PCR. Por outro lado, Poester et al. (2021) relataram que o PCR convencional espécie-específico, aplicado a amostras de secreção coletadas por swab, apresentou 59% de sensibilidade e 100% de especificidade; segundo os autores, o uso de um método *in house* de extração de DNA pode ter contribuído para a menor sensibilidade observada. Rodrigues et al. (2015) também aplicaram o PCR espécie-específico em biópsias de camundongos experimentalmente infectados e encontraram sensibilidade superior à histopatologia. Em estudo semelhante, De Freitas et al. (2025) analisaram 15 biópsias de pacientes humanos com esporotricose confirmada, das quais 86,7% foram positivas tanto pelo PCR espécie-específico quanto pelo nested. Em estudo com amostras humanas, Marques de Macedo et al. (2023) demonstraram elevado desempenho do RT-qPCR aplicado diretamente a amostras clínicas, com sensibilidade global de 91,18%, atingindo 96,72% em amostras cutâneas e 100% em amostras respiratórias, além de alta eficiência analítica (100%). Complementarmente, Trápaga et al. (2024) avaliaram uma PCR espécie-específica para o diagnóstico de esporotricose causada por *Sporothrix brasiliensis* utilizando amostras não invasivas coletadas por swab de humanos e gatos, observando boa concordância com a cultura (86%) e coeficientes Kappa elevados (0,722 para humanos e 0,727 para felinos), reforçando a utilidade dessa abordagem como ferramenta diagnóstica sensível, específica e aplicável em contextos clínicos e veterinários.

Mais recentemente, a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) tem emergido como uma ferramenta inovadora para o diagnóstico da esporotricose diretamente a partir de amostras clínicas (do Carmo et al., 2025). Essa técnica apresenta vantagens relevantes, como rapidez, simplicidade operacional, menor dependência de equipamentos sofisticados e alta sensibilidade, sendo particularmente atrativa para aplicação em laboratórios com infraestrutura limitada e em cenários de vigilância epidemiológica (do Carmo et al., 2025). Estudos iniciais indicam que a LAMP pode desempenhar um papel importante no diagnóstico precoce da infecção por *Sporothrix* spp., ampliando o acesso a métodos moleculares em diferentes contextos clínicos e

regionais. Araujo et al. (2024) relataram especificidade de 100% em amostras de animais experimentais. E, recentemente em um estudo que utilizou LAMP diretamente em amostras clínicas de felinos, sem necessidade de extração prévia de DNA, atingiu 100% de sensibilidade e especificidade em amostras positivas no cultivo (Araujo et al., 2024; do Carmo Silva et al., 2025).

Além disso, métodos sorológicos têm sido investigados como ferramentas complementares para o diagnóstico da esporotricose, particularmente em situações em que o isolamento fúngico é dificultado ou inviável. Embora esses testes ainda não estejam amplamente disponíveis comercialmente, apresentam potencial tanto para o diagnóstico quanto para o monitoramento da resposta terapêutica, especialmente em formas clínicas disseminadas ou atípicas da doença. Diversos antígenos de *Sporothrix* spp. têm sido avaliados em diferentes plataformas sorológicas, incluindo ensaios imunoenzimáticos (ELISA), imunoblotting e testes rápidos, com resultados promissores (Fernandes et al., 2011; Bernardes-Engemann et al., 2014; Cognialli et al., 2022).

2.4.4 Métodos Avançados para identificação de clados e detecção de *Sporothrix* spp.

Métodos moleculares avançados de alta resolução têm se mostrado fundamentais para aprofundar o conhecimento sobre a diversidade genética, a estrutura populacional e a dinâmica de transmissão de *Sporothrix* spp., superando as limitações das abordagens fenotípicas e dos métodos moleculares convencionais. Essas técnicas permitem a identificação de clados e linhagens geneticamente relacionadas, o rastreamento epidemiológico de surtos e a correlação entre isolados clínicos (provenientes de humanos e de animais) e ambientais, contribuindo para uma compreensão mais abrangente da ecoepidemiologia da esporotricose (Matute; Teixeira, 2025). Ademais, tais abordagens são particularmente relevantes para a detecção de *Sporothrix* spp. em amostras ambientais, como solo e matéria orgânica, nas quais a baixa carga fúngica, a elevada complexidade microbiana e as dificuldades de isolamento em cultivo limitam a aplicação de métodos tradicionais (Matute; Teixeira, 2025). Dessa forma, essas estratégias ampliam a capacidade de identificação de possíveis fontes ambientais de infecção e fortalecem investigações baseadas no conceito de *One Health* (Uma Só Saúde).

Atualmente, o sequenciamento de genoma completo (*whole genome sequencing*, WGS) é reconhecido como o padrão-ouro para a genotipagem de fungos, por apresentar

resolução significativamente superior à de outras abordagens moleculares (Salem-Bango et al., 2023; Spruijtenburg et al., 2024). Esse método permite a discriminação entre isolados com base em diferenças mínimas no genoma, frequentemente representadas por um pequeno número de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), o que o torna particularmente apropriado para a investigação de cadeias de transmissão e a elucidação de surtos (Spruijtenburg et al., 2024). Contudo, a aplicação do WGS ainda enfrenta limitações importantes, incluindo os elevados custos operacionais, sobretudo em contextos com restrição de recursos, além do maior tempo necessário para obtenção e análise dos resultados, o que pode comprometer sua utilidade em situações que demandam respostas rápidas (Spruijtenburg et al., 2024). Ademais, essa abordagem requer infraestrutura computacional robusta e expertise bioinformática para o processamento e interpretação do grande volume de dados gerados, sendo que os fluxos analíticos para identificação e comparação de SNPs ainda carecem, em muitos cenários, de validação e padronização (Spruijtenburg et al., 2024).

As técnicas de genotipagem molecular, como o *Multilocus Sequence Typing* (MLST) e a análise de *Short Tandem Repeats* (STR), têm sido amplamente empregadas para investigar a diversidade genética, a estrutura populacional e as relações epidemiológicas entre isolados do gênero *Sporothrix* (de Carvalho et al., 2022; Rabello et al., 2024; Spruijtenburg et al., 2024). O MLST baseia-se na análise comparativa de sequências de múltiplos loci gênicos conservados, permitindo a identificação de perfis alélicos e a inferência de relações filogenéticas robustas entre espécies e linhagens, sendo particularmente útil para estudos evolutivos e de dispersão geográfica (Spruijtenburg et al., 2024). Por sua vez, a genotipagem por STR explora regiões genômicas altamente polimórficas, conferindo elevado poder discriminatório para diferenciar isolados geneticamente próximos, o que a torna especialmente indicada para investigações de surtos, cadeias de transmissão e estudos de microevolução (de Carvalho et al., 2022). No contexto da esporotricose, a aplicação combinada de MLST e STR tem contribuído para elucidar padrões de transmissão zoonótica, identificar clones epidêmicos, como aqueles associados a *Sporothrix brasiliensis* e, aprofundar a compreensão da dinâmica epidemiológica da doença em áreas hiperendêmicas (Trápaga et al., 2025).

Métodos independentes de cultivo, como a metagenômica, consolidaram-se como ferramentas robustas para a caracterização e comparação da diversidade microbiana em diferentes ambientes, possibilitando a identificação de microrganismos subdetectados ou

não recuperáveis por métodos microbiológicos clássicos (Costa et al., 2022). No contexto da esporotricose, essa abordagem possibilita a identificação de *Sporothrix* em matrizes como solo, madeira, água, biofilmes e superfícies associadas à cadeia do pescado, ampliando a compreensão sobre sua ecologia e dinâmica de transmissão (Matute; Teixeira, 2025). Além disso, o uso de abordagens de *metabarcoding* fúngico, com ênfase na região do ITS, tem se consolidado como uma ferramenta eficaz para discriminar espécies e comparar comunidades fúngicas entre diferentes ambientes, incluindo a detecção de patógenos em nichos endêmicos e não endêmicos de fungos clínicos e ambientais (Lücking et al., 2020). Assim, a aplicação da metagenômica fortalece estudos epidemiológicos sob a perspectiva da Saúde Única, integrando informações ambientais, humanas e animais para a elucidação das vias de exposição e manutenção da esporotricose.

Evidências recentes obtidas a partir de ensaios de genotipagem combinados ao sequenciamento de genoma completo (WGS) demonstraram que *S. brasiliensis* apresenta uma diversidade genética maior do que previamente assumido (Spruijtenburg et al., 2024). Os níveis de variabilidade observados não seriam compatíveis com uma expansão clonal recente a partir de um único evento de introdução, sugerindo, ao contrário, múltiplas introduções independentes da espécie na população de mamíferos no Brasil (Spruijtenburg et al., 2024). Apesar dessa diversidade, foram identificados grandes agrupamentos genéticos baseados em marcadores de repetições em STR, abrangendo extensas áreas geográficas e incluindo isolados provenientes tanto de humanos quanto de gatos, o que fornece forte evidência de transmissão zoonótica sustentada (Spruijtenburg et al., 2024). Adicionalmente, casos recentes de esporotricose por *S. brasiliensis* em países fronteiriços ao Brasil reforçam o potencial de disseminação regional dessa espécie. Na Argentina, por exemplo, dois casos humanos identificados em Buenos Aires foram genotipados utilizando ensaios específicos para *S. brasiliensis*, e ambos os isolados apresentaram perfis genéticos idênticos, sugerindo origem comum e estreita relação filogenética com isolados previamente caracterizados no Brasil (Fernandez et al., 2024).

Em síntese, os dados genômicos e de genotipagem disponíveis demonstram que *Sporothrix brasiliensis* apresenta uma estrutura populacional organizada em, pelo menos, quatro principais clados geneticamente distintos, conforme descrito em análises baseadas em microssatélites e MLST. Esses clados exibem marcada estruturação geográfica, destacando-se o clado associado ao Rio de Janeiro, que concentra o maior número de

isolados e se relaciona à expansão para outros estados brasileiros e países vizinhos (Losada et al.,2023). O clado do Rio Grande do Sul apresenta maior distância genética em relação aos demais, sugerindo introdução independente, enquanto Minas Gerais e Distrito Federal configuram agrupamentos monofiléticos próprios (Eudes Filho et al., 2020; Losada et al.,2023; Rabello et al.,2024). Esse cenário evidencia que a epidemia brasileira de esporotricose zoonótica não resulta de uma única expansão clonal, mas de múltiplas linhagens geneticamente estruturadas que evoluem e se dispersam regionalmente (Eudes Filho et al.,2020; Losada et al., 2023; Rabello et al., 2024; Colombo et al., 2024).

2.5 Tratamento da Esporotricose

O itraconazol (ITC), um triazol fungistático, é considerado a primeira escolha terapêutica para tratamento da esporotricose, independente do hospedeiro e da espécie de *Sporothrix* envolvida, por sua segurança e eficácia de 90% a 100%. Porém, esse princípio ativo não é indicado como primeira escolha na população pediátrica pela falta de estudos, não é recomendado em gestantes por ser teratogênico e embriotóxico, e para pacientes com hepatite e insuficiência cardíaca. Além disso, em humanos, o fármaco diminui o nível sérico de anticoncepcionais orais. Devido a sua farmacocinética e farmacodinâmica, é extremamente importante o monitoramento do paciente a partir de hemograma, com perfil lipídico, e testes de função hepática, antes e 30 dias após o início do tratamento (Orofino-Costa et al., 2022).

Em humanos a dosagem recomendada é de 100 a 200 mg/dia via oral para as apresentações cutânea localizada e cutânea-linfática; para as demais pode ser utilizada uma dosagem de 400 mg/dia (Kauffman et al., 2007; Barros et al., 2011). Enquanto em felinos, a dosagem indicada é de 25 a 100 mg/kg diariamente, até quatro semanas após a cura clínica das lesões (Gremião et al., 2021). No que se refere às espécies de *Sporothrix* e à resposta ao tratamento com ITC, um estudo conduzido por Almeida-Paes et al. (2014) demonstrou que, independentemente da forma clínica da doença, houve uma tendência a durações mais curtas de tratamento em pacientes humanos com esporotricose causada por *Sporothrix brasiliensis* (mediana de 16 semanas) quando comparados àqueles infectados por *Sporothrix schenckii* (mediana de 24 semanas). Em contrapartida, em um estudo conduzido no Sul do Rio Grande do Sul, houve ausência de resposta clínica em 42% dos casos, especialmente naqueles tratados com ITC 100 mg/dia, sendo necessário modificar

o tratamento, seja por aumento de doses (até 400mg/dia) ou combinações de antifúngicos (como iodeto de potássio) (Poester et al., 2022d). Nesse estudo a cura clínica exigiu uma média de 187 dias (26,7 semanas) de tratamento, que variou de acordo com a forma clínica da doença e a idade dos pacientes (Poester et al., 2022d).

Vale ressaltar que em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, especialmente ao bypass gástrico em Y de Roux (RYGB), a eficácia do ITC no tratamento da esporotricose pode ser significativamente comprometida em razão das alterações anatômicas e fisiológicas do trato gastrointestinal, que interferem diretamente em sua absorção oral (Melo et al., 2025). A redução do volume gástrico, da secreção ácida e da liberação biliar, além da modificação do trânsito intestinal, resulta em aumento do pH gástrico e prejuízo na solubilização e absorção do ITC, fármaco de natureza lipofílica e dependente de meio ácido para adequada biodisponibilidade (Crestani et al., 2020; Melo et al., 2025). Diante desse cenário, o uso de ITC em pacientes bariátricos deve ser cauteloso e, idealmente, acompanhado por monitorização terapêutica de fármacos. Logo, a terbinafina desponta como uma opção terapêutica mais adequada nesses pacientes, uma vez que apresenta farmacocinética menos dependente do pH gástrico e absorção mais previsível após cirurgia bariátrica, podendo representar uma estratégia mais eficaz para o tratamento da esporotricose nesse grupo específico (Crestani et al., 2020; Melo et al., 2025).

Por sua vez, a terbinafina é uma alilamina fungicida com excelente concentração em tecido adiposo, derme, epiderme unhas e córnea (Ryder, 1992; Gupta; Ryder; Johnson., 2004). De modo geral, é utilizada como segunda linha de tratamento (Melo et al., 2025). Além disso, tem mínima interação com outros medicamentos, sendo uma alternativa terapêutica para esporotricose em pacientes com comorbidades e idosos. É considerado o fármaco de primeira escolha para casos de esporotricose leves a moderados em crianças maiores de dois anos. No entanto, é contraindicado em gestantes e mulheres em períodos de amamentação (Orofino-Costa et al., 2022).

Embora a terbinafina seja considerada uma alternativa terapêutica no tratamento da esporotricose cutânea em humanos, evidências clínicas e experimentais indicam limitações relevantes de sua eficácia em felinos acometidos pela doença (Gremião et al., 2022; Viana et al., 2024). Em um estudo de coorte conduzido com gatos diagnosticados com esporotricose, cujo objetivo foi avaliar a efetividade e a segurança da terbinafina administrada na dose de 30–60 mg/kg/dia, observou-se desempenho terapêutico

insatisfatório. Dos 54 animais inicialmente incluídos, apenas 30 completaram o acompanhamento, dos quais somente 10 alcançaram cura clínica, com tempo mediano de tratamento de 18,5 semanas. Em contrapartida, a falha terapêutica foi registrada em 18 casos, além do óbito de dois animais durante o tratamento. Adicionalmente, a ocorrência de eventos adversos foi frequente, sendo relatadas reações adversas em 22 gatos e elevação das transaminases séricas em 10 animais, evidenciando preocupações quanto à segurança do fármaco. Esses achados reforçam que a terbinafina pode não representar uma opção terapêutica confiável para a esporotricose felina, especialmente quando comparada a outras estratégias terapêuticas consagradas (Viana et al., 2024).

Outra alternativa é o iodeto de potássio que foi o primeiro fármaco utilizado no tratamento da esporotricose e continua sendo uma boa escolha terapêutica quando associado com o ITC, não só pelo custo baixo, mas também pela rápida resposta clínica em vista seu efeito imunomodulador e antiinflamatório (Orofino-Costa et al., 2022). Na esporotricose humana, é utilizado associado ao ITC e a dosagem recomendada do iodeto de potássio é que seja crescente, inicialmente com 50 mg, três vezes ao dia, de solução saturada da substância, podendo chegar até 400 mg, dependendo da resposta do paciente (Kauffman et al., 2007). Enquanto em felinos é recomendado dosagens de dosagens de 2,5 a 5 mg/kg/24h até 20 mg/kg/24h na falta de resposta clínica (Gremião et al., 2021). Vale ressaltar que em felinos é necessário acompanhamento clínico quanto à toxicidade, uma vez que pode ocasionar vômito, anorexia, icterícia, tremores, hipotermia e/ou insuficiência cardíaca.

A anfotericina B é um macrolídeo poliênico, reservado para casos extracutâneos, pacientes imunocomprometidos (pacientes com HIV) e gestantes com doença disseminada, uma vez que o itraconazol e terbinafina não são indicados (Fichman et al., 2022a). É considerado o único antifúngico aprovado para administração em gestantes com a forma grave da doença, pois não é teratogênico. Porém, é considerado um fármaco cardiotoxico e nefrotóxico (Orofino-Costa et al., 2022).

De modo geral, as opções para tratamento da esporotricose são limitadas, sendo frequentemente utilizadas o itraconazol, o iodeto de potássio e a anfotericina B (Gremião et al., 2017). Geralmente, essas drogas estão associadas a longo período de tratamento, a reações adversas deletérias e refratariedade, principalmente, em felinos devido a erros de

manejo do animal em tratamento ou farmacológico ou resistências aos antifúngicos (Nakasu et al., 2021).

O mecanismo de ação do itraconazol se caracteriza pela interação do fármaco com a enzima 14- α -desmetilase, que atua no impedimento da transformação de um importante componente da membrana plasmática dos fungos, do lanosterol em ergosterol, prejudicando sua síntese e causando danos às células fúngicas (Kurn; Wadhwa, 2022). Enquanto o mecanismo de ação da anfotericina B é aderir ao ergosterol da membrana do fungo que é capaz de modificar sua permeabilidade (Orofino-Costa et al., 2022).

Devido aos casos em que ocorreram falhas terapêuticas com o tratamento com itraconazol, o uso de antifúngicos em associação deve ser considerado para obtenção de sinergia. A combinação de itraconazol e iodeto de potássio representa uma importante opção para o tratamento tanto de humanos quanto de gatos que apresentam múltiplas lesões cutâneas, lesões de mucosa nasal e/ou sinais respiratórios, bem como para casos refratários (Kauffman et al., 2007; Gremião et al., 2022). Desse modo, nos últimos anos, tem-se evidenciado a necessidade de identificar novos compostos químicos e/ou fármacos reposicionados que sejam acessíveis, clinicamente eficazes e associados a menor risco de efeitos colaterais no tratamento da esporotricose. Em uma revisão sistemática conduzida por Xavier et al. (2023), foi demonstrado que, no que se refere à atividade antifúngica, 25 estudos relataram a ação *in vitro* de 20 compostos químicos distintos, enquanto oito estudos investigaram fármacos reposicionados contra *Sporothrix brasiliensis*. Adicionalmente, 12 artigos avaliaram a atividade de 14 fármacos em associação com antifúngicos comerciais tradicionalmente empregados no tratamento da esporotricose. Apesar desses avanços, apenas cinco estudos relataram atividade *in vivo* contra *S. brasiliensis*, envolvendo cinco fármacos distintos, utilizando modelos experimentais invertebrados e vertebrados. Essa limitação pode ser atribuída, ao menos em parte, à dificuldade na identificação de novos alvos terapêuticos seletivos, uma vez que as células fúngicas compartilham diversas similaridades estruturais e metabólicas com as células humanas, o que restringe o desenvolvimento de fármacos eficazes sem toxicidade significativa ao hospedeiro (Scorzoni et al., 2017).

2.6 Medidas de Prevenção e Controle da Esporotricose

As medidas de prevenção e controle da esporotricose devem considerar intervenções integradas e custo-efetivas, capazes de impactar simultaneamente a saúde

animal e humana (Araújo et al., 2023). Embora o Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro ofereça atendimento especializado e medicamentos gratuitos para pacientes humanos acometidos pela esporotricose, a ausência de políticas públicas amplas e sistematizadas voltadas ao atendimento veterinário subsidiado limita o controle efetivo da doença em áreas hiperendêmicas (de Souza et al., 2024). Considerando que os animais, especialmente os gatos, desempenham papel central na manutenção e transmissão de *S. brasiliensis*, a implementação de políticas que garantam diagnóstico, tratamento e acompanhamento gratuitos ou de baixo custo para animais torna-se uma estratégia essencial para a redução sustentada da transmissão (de Souza et al., 2024). Assim, ações combinadas que incluam diagnóstico precoce, tratamento acessível, manejo responsável, castração, educação em saúde e fortalecimento das políticas públicas de atenção médica e veterinária configuram-se como pilares fundamentais para o controle da esporotricose e para a mitigação de seu impacto como problema emergente de saúde pública no Brasil (Gremião et al., 2020b; Araújo et al., 2023).

Modelagens matemáticas recentes, representando a transmissão de *S. brasiliensis* entre gatos estratificados por idade e sexo, demonstraram que a doença pode se estabelecer rapidamente em populações urbanas com grande proporção de animais não castrados, e que estratégias baseadas exclusivamente na redução de contato, como a castração em massa, embora importantes, não são suficientes para diminuir de forma significativa a prevalência da esporotricose (Araújo et al., 2023). Por outro lado, o tratamento sistemático e em larga escala de gatos infectados apresenta maior potencial para reduzir os níveis endêmicos da doença, especialmente quando associado a intervenções que diminuem o contato entre animais (Araújo et al., 2023).

No entanto, o tratamento farmacológico enfrenta desafios relevantes, por ser caro, prolongado (mediana de quatro meses) e exigir administração diária, dificultando sua implementação em larga escala, sobretudo em regiões de baixa renda. Ainda assim, intervenções mais simples, como a castração em massa de machos e fêmeas, podem aumentar de forma sinérgica a eficácia do tratamento, contribuindo para estratégias de saúde pública mais integradas. Além disso, o fornecimento público de medicamentos adequados para o tratamento de pacientes de baixa renda e animais doentes seria fundamental para reduzir a disseminação da doença (Alvarez; Oliveira; Pires, 2022).

Uma vez identificado um caso de esporotricose, o animal deve ser mantido em quarentena domiciliar, restrito ao ambiente interno e separado de outros animais, a fim de prevenir a transmissão da infecção. O ambiente em que o animal permanece deve ser rigorosamente higienizado, utilizando-se soluções desinfetantes como hipoclorito de sódio a 1% ou álcool a 70% (Barros; de Almeida Paes; Schubach, 2011). Materiais porosos, como cobertores, panos ou objetos utilizados pelo animal para repouso ou lazer, devem ser descartados adequadamente, e, quando indicado, o ambiente pode ser tratado com produtos antifúngicos específicos ou método físico a partir de um dispositivo protótipo de luz ultravioleta C contra *Sporothrix brasiliensis* que demonstrou ser um potencial método para desinfecção de superfícies (Barros et al., 2011; Terçola et al., 2024). Em casos de óbito, enterrar o animal não é recomendado, uma vez que pode favorecer a disseminação do fungo no ambiente; nessas situações, a cremação do corpo constitui a conduta mais segura (Gremião et al., 2015).

Apesar dessas recomendações, observa-se que, em muitos contextos, animais doentes são abandonados, inclusive com o conhecimento dos tutores, permanecendo nas vias públicas até a morte (Montenegro et al., 2014). De forma semelhante, animais sem domicílio frequentemente adoecem e morrem sem qualquer manejo sanitário adequado. Essas práticas contribuem significativamente para a manutenção do ciclo de transmissão de *S. brasiliensis* e expansão da esporotricose, favorecendo a persistência e a multiplicação do fungo no ambiente e expondo outros animais e humanos, mesmo inicialmente saudáveis, ao risco de infecção (Montenegro et al., 2014).

No que tange à prevenção ocupacional, recomenda-se o uso de equipamentos de proteção individual durante atividades de atendimento clínico e realização do tratamento. Pessoas envolvidas no manejo de animais suspeitos ou diagnosticados com esporotricose, especialmente médicos-veterinários e tutores, devem utilizar máscara do tipo N95, proteção ocular, avental de mangas longas e luvas de procedimento, com o objetivo de reduzir o risco de exposição ao patógeno fúngico (Orofino-Costa et al., 2017).

De modo geral, educação em saúde para conscientização quanto a necessidade de manter os gatos domiciliados, enfrentamento da problemática dos animais errantes e diagnóstico precoce permanecem como estratégias mais eficazes no enfrentamento da esporotricose, considerando que, tanto em humanos quanto em animais, o tratamento é prolongado e oneroso, fatores que frequentemente culminam no abandono de animais

doentes e na consequente ampliação da transmissão entre populações felinas de rua (Viana et al., 2018).

2.7 Habitat e Fontes de Infecção

Nichos ecológicos de *Sporothrix* spp. descritos incluem solos ricos em celulose com umidade relativa de 37,5% a 99,06%, temperatura entre 6,6°C e 28,8°C, pH entre 3,5-9,4, plantas, água, madeira em decomposição (Barros; de Almeida Paes; Schubach, 2011; Ramírez-Soto et al., 2018), sendo as fontes ambientais mais relatadas: roseiras, talos de milho e feno e musgo *Sphagnum* (Chakrabarti et al., 2015).

Com relação a espécie *S. brasiliensis* o felino doméstico é relatado como a principal fonte de infecção e disseminador da mesma para humanos e outros animais (Marimon et al., 2007; Gremião et al., 2017). No entanto, o papel do ambiente como reservatório de *S. brasiliensis* é pouco estudado e apresenta diversas lacunas. Em regiões hiperendêmicas de esporotricose felina, é descrito que o animal enfermo pode transferir o fungo para o ambiente pelo contato das lesões com o entorno, através de suas fezes ou após sua morte em caso de destino incorreto do corpo - enterrando os corpos de felinos doentes (Poester et al., 2018c). Logo, essa espécie já foi isolada do solo e de madeiras de demolição em um jardim, mas seus nichos ecológicos não são tão bem estabelecidos, na medida que muitos estudos demonstram baixas (Rogers; Beneke, 1964; Rodrigues et al., 2014; Córdoba et al., 2018; Rabello et al., 2022b) ou nenhuma (Poester et al., 2018c; da Costa et al., 2022) taxas de isolamento e detecção de *S. brasiliensis* em amostras ambientais, tanto por métodos de diagnóstico clássico como por métodos moleculares, instigando a necessidade de mais estudos que avaliem ambientes onde esse agente etiológico é capaz de crescer e se reproduzir (Ramírez-Soto et al., 2018).

2.7.1 Ambiente

O solo e a madeira constituem importantes reservatórios ambientais para espécies do complexo *Sporothrix*, especialmente em ambientes caracterizados por elevada carga de matéria orgânica e altos níveis de umidade (Barros; de Almeida Paes; Schubach, 2011; Ramírez-Soto et al., 2018). Situações associadas a obras, demolições e reformas podem aumentar o risco de exposição humana ao fungo, particularmente quando envolvem o manuseio de solo revolvido, entulhos e madeira envelhecida ou em decomposição (Kauffman et al., 2007; Barros et al., 2011; Chakrabarti et al., 2015). Da mesma forma, materiais de construção armazenados de forma inadequada e madeiras de demolição

reutilizadas em jardins ou estruturas domiciliares têm sido associados a casos esporádicos de esporotricose, reforçando o papel desses ambientes como potenciais fontes de infecção por inoculação traumática (Kauffman et al., 2007; Barros et al., 2011; Chakrabarti et al., 2015).

Espécies do gênero *Sporothrix* apresentam ampla distribuição ambiental e já foram isoladas de diversos substratos naturais, evidenciando sua elevada capacidade de adaptação a distintos nichos ecológicos. Os isolamentos ambientais são descritos principalmente a partir de solos ricos em matéria orgânica, detritos vegetais, serrapilheira, madeira em decomposição, talos de milho, folhas de cana-de-açúcar, feno e musgos do gênero *Sphagnum*, além de fragmentos lenhosos utilizados em construções e jardins (Ramírez-Soto et al., 2018). O fungo também foi recuperado de plantas ornamentais, especialmente roseiras, historicamente associadas à transmissão da esporotricose, bem como de ambientes úmidos e sombreados que favorecem sua sobrevivência (Queiroz-Telles, et al., 2011).

Entre 1938 e 1947, as minas de ouro da região de Witwatersrand, na África do Sul, foram palco do maior surto de esporotricose já descrito mundialmente, afetando milhares de trabalhadores (Govender et al. 2015). À época, levantou-se a hipótese de que a contaminação de madeira não tratada utilizada no escoramento das galerias subterrâneas estivesse associada à ocorrência dos casos, embora essa relação epidemiológica não tenha sido definitivamente comprovada. Décadas depois, Govender et al. (2015) conduziram, pela primeira vez, uma investigação epidemiológica detalhada em uma mina de ouro sul-africana reaberta, com o objetivo de identificar fatores associados à ocorrência da esporotricose nesse contexto. Nesse estudo foi identificado 17 casos prováveis ou confirmados da doença, correspondendo a aproximadamente um em cada cinco mineiros expostos. Embora espécies geneticamente distintas de *Sporothrix* tenham sido isoladas de amostras clínicas e ambientais, os autores apontaram o solo contaminado e a madeira não tratada e, presente no subsolo como as fontes mais prováveis de infecção. Ressalta-se que nenhum novo caso foi registrado após a implementação de medidas de controle, incluindo o fechamento de seções da mina, o tratamento da madeira e a adoção sistemática de equipamentos de proteção individual. Esses achados evidenciam o potencial de ressurgimento da esporotricose em ambientes minerários que utilizam técnicas tradicionais de extração, em detrimento de processos altamente mecanizados, e reforçam

a importância da vigilância epidemiológica contínua em áreas de mineração consideradas sentinela.

Além disso, na Austrália Ocidental, casos esporádicos de esporotricose foram relatados na região sudoeste, particularmente em áreas de cultivo de trigo; entretanto, em 2000 foi observado um aumento significativo no número de casos (Beaman, 2002). Entre 2000 e 2003, foram notificados 41 casos humanos confirmados micologicamente, em comparação com apenas oito casos registrados entre 1997 e 1999 (Feeney et al., 2007). As investigações epidemiológicas identificaram o feno contaminado como a fonte mais provável de infecção, com exposição documentada em nove dos onze pacientes (Feeney et al., 2007). A maioria dos indivíduos afetados relatou contato com feno durante atividades de jardinagem doméstica, enquanto outros foram expostos durante o uso agrícola comercial (Feeney et al., 2007). Destaca-se que oito pacientes haviam manuseado feno adquirido de dois fornecedores comerciais localizados na região de Margaret River, e dois casos pediátricos foram associados à exposição recreativa ao brincar sobre feno antes do início dos sintomas. As investigações ambientais, incluindo a coleta e a cultura micológica de amostras de feno provenientes de pontos de venda comerciais, propriedades rurais e áreas-controle, reforçaram o papel do feno contaminado como a fonte desse surto de esporotricose (Feeney et al., 2007).

Embora *S. schenckii* seja mais frequentemente isolado do ambiente, evidências crescentes indicam que *S. brasiliensis* também pode persistir em substratos ambientais, sobretudo em regiões hiperendêmicas, possivelmente em decorrência da contaminação do solo e de materiais orgânicos por secreções, fezes ou carcaças de animais infectados (Poester et al., 2018c; Rabello et al., 2022b).

2.7.2 Fômites

Fômites são definidos como quaisquer objetos inanimados que, quando contaminados por microrganismos infecciosos, podem atuar como veículos de transmissão de agentes etiológicos para um novo hospedeiro (Stephens et al., 2019). No contexto da esporotricose, essa via de transmissão representa um mecanismo adicional e frequentemente subestimado. Objetos contaminados, como instrumentos perfurocortantes, materiais de jardinagem, utensílios utilizados no manejo animal e, mais recentemente, equipamentos empregados em procedimentos estéticos, como tatuagens, podem atuar como veículos de inoculação de *Sporothrix* (Schubach et al., 2004; Barros

et al., 2011; Chakrabarti et al., 2015; Ramírez-Soto et al., 2018; Fichman et al., 2022b; Poester et al., 2022c; de Albuquerque Costa et al., 2025).

Em casos confirmados de esporotricose associados a procedimentos de tatuagem, os pacientes relataram ausência de contato com gatos, levantando a hipótese de que a transmissão de *Sporothrix brasiliensis* tenha ocorrido durante o próprio procedimento, possivelmente em decorrência da contaminação das agulhas, da tinta ou da água utilizada na diluição do pigmento (Fichman et al., 2022; Poester et al., 2022c). Em contraste, uma explicação alternativa para casos semelhantes envolve a convivência com gatos com esporotricose comprovada, nos quais a ruptura da barreira cutânea causada pela tatuagem recente pode agir como porta de entrada para *S. brasiliensis*, a partir do contato com secreções altamente contaminadas provenientes de lesões felinas, que geralmente apresentam elevada carga fúngica (Poester et al., 2022c). Esses achados reforçam a complexidade das vias de transmissão da esporotricose e destacam a necessidade de rigorosas práticas de biossegurança, esterilização e controle sanitário, tanto em ambientes domésticos quanto em contextos profissionais (Fichman et al., 2022b; Poester et al., 2022c; de Albuquerque Costa et al., 2025).

Além disso, estudos conduzidos no Brasil já demonstravam, desde a década passada, a presença de *Sporothrix* spp. em superfícies inanimadas, levantando a hipótese de que o ambiente pudesse atuar como fonte de infecção para animais e humanos. Mattei e colaboradores (2011) relataram o isolamento de *Sporothrix* sp. tanto em ambientes hospitalares quanto domiciliares, a partir de amostras coletadas em superfícies como mesas, armários, bancadas e paredes de um serviço veterinário, bem como em sofás, tapetes, portões de madeira e camas de gatos em residências com casos de esporotricose felina. No ambiente hospitalar, o agente etiológico foi detectado em 1,5% das amostras, incluindo o isolamento a partir de um armário do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), achado que, já à época, sustentava a hipótese de contaminação ambiental e transmissão indireta. Em contraste, o fungo foi isolado de todas as áreas avaliadas nos ambientes domiciliares, reforçando o potencial desses locais como reservatórios de *Sporothrix* spp. Os autores destacaram que tais superfícies poderiam atuar como fontes de infecção por meio de inoculação traumática ou contato direto com lesões cutâneas preexistentes, expondo profissionais e tutores de animais ao risco de infecção. Recentemente, Cognialli et al. (2025b) conduziram um estudo experimental prospectivo para avaliar a persistência de *Sporothrix brasiliensis* em

diferentes superfícies inanimadas comumente presentes em ambientes domésticos e urbanos, incluindo aço inoxidável, MDF (fibra de média densidade), madeira, azulejo e tecido de poliéster. Os autores demonstraram que o fungo é capaz de permanecer viável por períodos prolongados, persistindo por até 240 horas (10 dias) em MDF, 288 horas (12 dias) em azulejo, 384 horas (16 dias) em tecido de poliéster e até 600 horas (25 dias) em aço inoxidável. Esses achados corroboram observações clínicas prévias que sugerem a transmissão indireta de *S. brasiliensis* por meio de objetos contaminados, reforçando o papel dos fômites como possíveis fontes de infecção. Trata-se do primeiro estudo *in vitro* a demonstrar de forma sistemática a persistência ambiental de *S. brasiliensis* em diferentes superfícies, fornecendo subsídios relevantes para a compreensão das vias de transmissão do patógeno e para o aprimoramento de estratégias de prevenção e controle da esporotricose sob a perspectiva da Saúde Única (Cogniali et al., 2025b).

2.7.3 Animais como Reservatórios e Vetores Mecânicos

Além dos felinos domésticos, outros animais têm sido implicados na epidemiologia da esporotricose, atuando como reservatórios ocasionais ou vetores mecânicos de *Sporothrix* spp. Roedores silvestres e sinantrópicos, como ratos e tatus, podem entrar em contato com solos contaminados e matéria orgânica, transportando propágulos fúngicos aderidos à pelagem, unhas ou mucosas (Lutz; Splendore, 1907; Alves et al., 2010). Relatos esporádicos também descrevem a infecção em porquinhos-da-índia (Prazeres Júnior et al. 2024), cavalos (Page; Frothingham; Paige, 1910), e em animais silvestres e marinhos, como golfinhos (Migaki et al., 1978), evidenciando a ampla plasticidade ecológica do gênero *Sporothrix*. Embora esses animais não desempenhem papel central na cadeia de transmissão zoonótica, sua participação pode contribuir para a dispersão ambiental do fungo e para a complexidade epidemiológica da esporotricose, especialmente em interfaces entre ambientes naturais, urbanos e aquáticos.

Em uma revisão conduzida por Rabello e colaboradores (2022a), avaliando casos notificados de 1907 a 2020 no Brasil, foi encontrado na literatura 8538 casos em animais. Destes, 7750 (90,77%) eram gatos e 676 (7,92%) cães. Outros animais incluíam equinos (n = 2), bovinos (n = 40), ratos (n=40) e animais selvagens (24 quatis, 3 felinos; 2 primatas – (*Cebus apella*; e 1 tamanduá-bandeira (Rabello et al., 2022a). Embora a transmissão zoonótica felina foi quase exclusiva em 3492 (79,3%) casos. Outros animais envolvidos na transmissão da esporotricose (0,54%) foram tatus (n=10), ratos (n=4), cães

(n = 3), peixes (n = 2), insetos (n = 2), calopsitas, mosquitos e porquinhos-da-índia, um caso cada (Rabello et al., 2022a).

A esporotricose associada à caça ao tatu tem sido descrita nas regiões Sul do Brasil, Argentina e Uruguai, onde essa prática ocorre por motivos culturais, de subsistência ou lazer, apesar das restrições legais vigentes. Nesses locais, já foram relatados casos de esporotricose relacionados à caça de tatu (Vidal; Rodrigues, 1993; Gesuele; Rosa, 2005; Alves et al., 2010). Em um estudo conduzido no Rio Grande do Sul, Brasil, todos os pacientes diagnosticados eram do sexo masculino, refletindo o perfil predominante dos indivíduos envolvidos nessa atividade (Alves et al., 2010). As espécies *Dasypus hybridus* (mulita), *D. septemcinctus* e *D. novemcinctus*, comumente encontradas no Rio Grande do Sul, são protegidas pela legislação ambiental brasileira; contudo, a exposição ocupacional ou recreativa persiste em determinadas áreas rurais. Foram relatados dez casos de esporotricose em indivíduos residentes nas regiões Centro-Oeste e Oeste do estado, nos quais a infecção esteve associada a traumas cutâneos provocados por arranhões durante a captura dos animais (Alves et al., 2010). Clinicamente, observou-se a predominância da forma linfocutânea, seguida da forma cutânea fixa, com tempo de evolução dos sintomas variando de um a dezesseis meses até o diagnóstico, evidenciando o caráter ocupacional e traumático dessa via de infecção (Alves et al., 2010).

Em outro cenário, a infecção espontânea por *Sporothrix* em ratos foi descrita desde os primeiros estudos sobre a esporotricose no Brasil. Lutz e Splendore relataram o isolamento de espécimes patogênicos a partir de ratos naturalmente infectados, confirmando a suscetibilidade de *Rattus norvegicus* à doença e caracterizando um dos primeiros registros de esporotricose animal. Nesses relatos clássicos, o fungo foi isolado de lesões e da cavidade oral dos animais, levantando a hipótese de transmissão por mordedura (Lutz; Splendore, 1907). De fato, casos zoonóticos associados a ratos foram descritos, incluindo episódios em que a infecção humana ocorreu após mordida de rato na mão ou no dedo, resultando em lesões compatíveis com esporotricose (Lutz; Splendore, 1907; Rabello et al., 2022a). Além dos mamíferos terrestres, há relatos que indicam a participação de organismos aquáticos na epidemiologia da esporotricose, ampliando o espectro ecológico do gênero *Sporothrix* (Migaki et al., 1978; Mayorga et al., 1978; Leme et al., 2011). Embora raramente descritos como fontes diretas de infecção, peixes e outros animais aquáticos têm sido associados a casos humanos de esporotricose, sobretudo em contextos ocupacionais, como a pesca artesanal (Mayorga et al., 1978;

Leme et al., 2011). Nesses cenários, a infecção parece estar relacionada a traumas cutâneos provocados por espinhos, nadadeiras ou ossos durante o manuseio dos animais, possibilitando a inoculação do fungo (Mayorga et al., 1978; Leme et al., 2011). Esses achados sugerem que os peixes não atuam como reservatórios clássicos, mas podem desempenhar papel relevante como veículos mecânicos ou fontes indiretas de infecção, especialmente em ambientes aquáticos contaminados, justificando a necessidade de aprofundar a investigação sobre a relação entre pescados e a transmissão de *Sporothrix* spp.

2.7.4 Evidências sobre pescados como fonte de infecção por *Sporothrix* spp.

Conforme o art. 205 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), entende-se por pescado os peixes, os crustáceos, os moluscos, os anfíbios, os répteis, os equinodermos e outros animais aquáticos usados na alimentação humana (Brasil, 2020). Embora haja evidências da relação de pescados na cadeia epidemiológica de *Sporothrix* spp. há uma lacuna extensa devido à escassez de estudos para avanço do conhecimento acerca do seu impacto.

Em 1978, na Guatemala, um foco endêmico de esporotricose em pescadores foi relacionado ao isolamento de *S. schenckii* em peixes como *C. gutulatum* e *Tilapia mozambica* (Mayorga et al., 1978). Na ocasião, em um período de três anos, dos 53 pacientes com esporotricose, 45,3% relatavam trauma pelas barbatanas de *C. gutulatum* ou *Tilapia mozambica* (Mayorga et al., 1978). Já nos anos 2000, foi reportado caso de esporotricose em pescadores com lesão traumática por espinho da nadadeira dorsal de *Tilapia* sp. (Haddad et al, 2002), bem como por trauma provocado com ossos de um bagre (Haddad et al, 2004). A partir desses relatos, um estudo envolvendo estruturas traumatogênicas (picadas, raios de barbatanas e dentes afiados) de peixes, incluindo espécies como *Serrassalmus maculatus* (piranha) e *Hoplias malabaricus* (traíra), *Pimelodus maculatus* (mandis), *Plagioscion* spp. (corvina) e *Tilapia* spp. buscou evidenciar a presença de fungos potencialmente patogênicos, porém não descrevendo o isolamento de *Sporohrix* sp. (Leme et al., 2011), instigando a necessidade de mais estudos para avaliar o pescado como possível fonte de infecção desse fungo.

Um caso clínico relevante para a compreensão dos possíveis vínculos entre a atividade pesqueira e a infecção por *Sporothrix* spp. envolve um pescador de 51 anos, oriundo do extremo sul do Rio Grande do Sul, que desenvolveu monoartrite crônica no

joelho direito após um trauma contuso ocorrido em uma embarcação de madeira (Xavier et al., 2013). Apesar de múltiplas abordagens terapêuticas, incluindo cirurgia e antibioticoterapia, não houve resolução clínica até que o agente etiológico foi identificado como *Sporothrix* sp. a partir de cultura do líquido sinovial (Xavier et al., 2013). A principal hipótese de infecção incluía a inoculação direta do fungo por meio do trauma relacionado ao ambiente laboral, caracterizado pelo contato constante com madeira, água e pescados possivelmente contaminados (Xavier et al., 2013). Esse caso reforça a importância de considerar a exposição ocupacional de trabalhadores do setor pesqueiro como um fator de risco adicional para esporotricose, ampliando a discussão sobre a interface entre pescados, ambientes aquáticos e fungos do gênero *Sporothrix* dentro do contexto de uma zoonose complexa.

Recentemente, foi descrito um surto de esporotricose ocupacional associado a uma atividade alimentar não tradicionalmente reconhecida como fator de risco. Bao e colaboradores (2025) relataram ocorrência de casos de esporotricose cutânea em trabalhadores de um restaurante na China, todos envolvidos no manuseio e amarração de caranguejos utilizando cordas potencialmente contaminadas. A investigação epidemiológica sugeriu que microtraumas cutâneos durante essa atividade facilitaram a inoculação do fungo, identificado como *Sporothrix globosa* (Bao et al., 2025). Esse achado amplia o entendimento clássico da esporotricose como uma micose associada predominantemente a solo e material vegetal, evidenciando que ambientes ligados à cadeia do pescado e a materiais orgânicos úmidos podem atuar como fontes relevantes de infecção humana. O estudo reforça a importância de considerar exposições ocupacionais e ambientais alternativas na epidemiologia da esporotricose, especialmente em contextos de manipulação de organismos aquáticos e seus utensílios.

2.8 Materiais didáticos para ensino da Micologia

O desconhecimento e a negligência com as doenças fúngicas incluindo a esporotricose deve-se em parte ao déficit existente no estudo da micologia nos distintos níveis de formação acadêmica. Essa ciência, que engloba a biologia dos fungos e suas interações com o ambiente e com a saúde animal e humana, têm sido historicamente subvalorizados nos currículos educacionais (Rosa; Mohr, 2010; Oda; Delizoicov, 2011; Rosa et al., 2019; Gomes, 2022). Desde o ensino básico, a temática dos fungos aparece de forma superficial ou descontínua, muitas vezes restrita a conceitos isolados, sem a

exploração aprofundada de sua diversidade biológica, importância ecológica e principalmente sem sequer mencionar suas implicações para a saúde pública (Rosa; Mohr, 2010; Rosa et al., 2019; Gomes, 2022). Logo, a ausência de desenvolvimento mais robusto de materiais didáticos voltados ao ensino de micologia contribui para a formação deficiente dos estudantes nessa área do conhecimento (Rosa; Mohr, 2010; Rosa et al., 2019; Gomes, 2022).

Estudos que analisaram livros didáticos utilizados no Ensino Médio demonstram que temas micológicos vêm sendo reduzidos em edições recentes, com menor número de páginas e menos atividades relacionadas, o que compromete a construção de um entendimento mais aprofundado dos fungos, tanto em termos de biologia quanto de suas aplicações e impactos sociais (Rosa et al., 2019). Por outro lado, no nível superior, embora a micologia esteja presente em cursos de ciências biológicas, medicina e áreas afins, sua abordagem frequentemente ocorre de maneira fragmentada, inserida em disciplinas mais amplas como microbiologia ou doenças infecciosas, sem componente curricular dedicado especificamente à micologia médica ou biológica (Barcelos; Weiser; Ganiko-Dutra, 2025). Uma pesquisa realizada em escolas médicas do sul do Brasil revelou que, apesar de todas incluírem micologia nos currículos, nenhuma instituição oferece a disciplina como unidade curricular independente, e muitas vezes o tempo dedicado ao tema é limitado, com reduzida oferta de atividades práticas e laboratórios específicos, evidenciando fragilidades na formação acadêmica de futuros profissionais de saúde perante doenças fúngicas (Pasqualotto et al., 2025).

Desse modo, a importância do fortalecimento do ensino de micologia se torna ainda mais evidente diante de desafios contemporâneos de saúde pública (Steinbach et al., 2003). Em outubro de 2022, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou pela primeira vez a lista de patógenos fúngicos prioritários, um esforço global para orientar pesquisas, políticas de saúde e desenvolvimento de capacidades diagnósticas e terapêuticas frente às infecções fúngicas que representam maior ameaça à saúde pública (WHO, 2022). Essa lista categorizou 19 fungos em grupos de prioridade (crítica, alta e média) com base em critérios de impacto na saúde, resistência a antifúngicos e necessidades não atendidas de pesquisa e desenvolvimento, demonstrando tanto a crescente preocupação global com as micoses invasivas quanto a necessidade urgente de profissionais capacitados para enfrentar esses desafios clínicos e epidemiológicos (WHO, 2022).

A lacuna no ensino de micologia, tanto em níveis básicos quanto superiores, contribui diretamente para a subestimação da importância dos fungos em contextos de saúde pública, dificultando o reconhecimento clínico, o diagnóstico precoce e a resposta efetiva às infecções fúngicas emergentes e resistentes (Rodrigues; Nosanchuk, 2020; Pasqualotto et al., 2025). A falta de materiais didáticos adequados e de estratégias pedagógicas inovadoras não só limita a formação científica de estudantes, mas também pode comprometer futuros esforços de vigilância, diagnóstico e tratamento (Rodrigues; Nosanchuk, 2020).

Alguns materiais didáticos inovadores e lúdicos têm sido propostos na literatura para superar as deficiências históricas no ensino da micologia e ampliar as possibilidades de aprendizagem em diferentes níveis educacionais. Entre as metodologias destacadas estão as histórias em quadrinhos (HQs), que facilitam a compreensão de conceitos biológicos complexos ao integrar narrativa visual e científica; o uso de aplicativos educacionais, como o *Funga*, que permite a exploração interativa da diversidade fúngica em contextos reais; e a construção de jogos didáticos, que promovem o engajamento ativo dos estudantes por meio de desafios e tomadas de decisão sobre temas micológicos (Pereira, 2020; Oliveira, 2022; Ribeiro, 2024). Esses materiais têm sido aplicados com sucesso no ensino médio, contribuindo para o interesse e a compreensão de tópicos como diversidade e ciclo de vida de fungos. Para micologia ambiental e ecologia, Pereira (2020) priorizou-se o uso de HQs, que facilitaram a explicação dos papéis ecológicos dos fungos em cadeias tróficas e ciclos biogeoquímicos; para micologia médica, foram utilizados trechos do aplicativo “Funga”, que permitem discutir interações patógeno-hospedeiro, fatores de virulência e epidemiologia de micoses; e para abordar a estrutura dos fungos, adotou-se o jogo didático sobre micologia, que reforçou, de forma lúdica, os componentes da célula fúngica e as diferenças morfológicas entre grupos taxonômicos (Pereira, 2020; Oliveira, 2022; Ribeiro, 2024). No entanto, a partir da busca por materiais didáticos foi observado que materiais visuais, que auxiliem a identificar estruturas micro e macroscópicas dos fungos de importância médica e que sejam elaborados de forma sustentáveis são escassos.

3. JUSTIFICATIVA

No Brasil, a esporotricose zoonótica (felino doméstico-humano) é a principal micose subcutânea, e considerada como um grave e emergente problema de saúde pública com crescente expansão geográfica. Já está descrita em todos os estados brasileiros, sendo amplamente reportada no Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul por mais de duas décadas (Lockhart et al., 2021). Vale destacar que tanto as regiões referentes ao início da epidemia há cerca de 20 anos, como as regiões que vem demonstrando aumento dos casos mais recentemente geralmente localizam-se em áreas costeiras e próximas ao mar, como sul do Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Pernambuco e Alagoas por exemplo (Gremião et al., 2020a; Silva et al., 2021).

Evidências sugerem que elevadas taxas de salinidade podem influenciar a sobrevivência e a adaptação de fungos patogênicos no ambiente aquático. Embora essa relação ainda não esteja completamente elucidada para *Sporothrix brasiliensis*, a hipótese ganha relevância diante de relatos, ainda que escassos, de casos de esporotricose associados a pescado como fonte de infecção (Mayorga et al., 1978; Haddad et al., 2002). Assim, torna-se essencial investigar a possível presença do agente etiológico em pescados provenientes de regiões estuarinas, que apresentam naturalmente variações de salinidade capazes de influenciar a ecologia microbiana local.

Apesar de a maior parte das pesquisas sobre microrganismos em ambientes salinos ter se concentrado em bactérias, já é reconhecido que diversos fungos conseguem sobreviver e se reproduzir sob condições de elevada salinidade, incluindo leveduras negras, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (Chung; Kim; Choi, 2019). Diante disso, a análise de pescados como potenciais reservatórios ou veículos de transmissão de *Sporothrix* é uma lacuna importante, justificando a necessidade de estudos que avaliem esse possível elo dentro de uma perspectiva *One Health* (Uma Só Saúde).

Outro eixo crucial para compreender a dinâmica epidemiológica da esporotricose zoonótica refere-se ao manejo terapêutico dos casos felinos. A doença em gatos apresenta caráter grave, com elevada carga fúngica e importante potencial de disseminação para humanos e outros animais (Gremião et al., 2017). Esses fatores tornam o acompanhamento dos desfechos clínicos especialmente relevante para a saúde pública.

Além disso, diversos desafios relacionados ao tratamento, como a dificuldade de administração dos fármacos, a longa duração das terapias, a hepatotoxicidade dos

medicamentos de primeira escolha e a emergência de resistência fúngica aos azóis e polienos (Rodrigues et al., 2022) podem influenciar diretamente a adesão ao tratamento, o tempo de cura e, conseqüentemente, a manutenção de animais infectados na comunidade. Dessa forma, torna-se fundamental desenvolver estudos epidemiológicos que avaliem o manejo, a resposta clínica e os desfechos dos tratamentos na prática, de modo a compreender seus impactos na cadeia de transmissão. Esses dados são essenciais para subsidiar melhorias nas estratégias de controle, orientar o desenvolvimento de alternativas terapêuticas e apoiar a formulação de políticas públicas voltadas ao enfrentamento da esporotricose.

Por fim, e não menos importante, a Micologia, apesar de sua relevância para a saúde humana, animal e ambiental, permanece pouco contemplada nos materiais didáticos tradicionalmente utilizados no ensino das Ciências Biológicas e da Saúde (Silva; Fraga, 2017). A compreensão das características dos fungos, suas interações ecológicas e seu impacto na saúde pública demanda recursos pedagógicos atualizados, acessíveis e alinhados às metodologias ativas de aprendizagem. Contudo, a escassez de conteúdos visuais, práticos e contextualizados ainda representa um obstáculo ao processo de ensino–aprendizagem, especialmente em temas como identificação macro e micromorfológica e o estudo de doenças emergentes (Dos Santos Ferreira; Dos Santos Ferreira, 2017). Diante desse cenário, a elaboração de materiais didáticos específicos para Micologia torna-se essencial para ampliar o engajamento dos estudantes, fortalecer a formação acadêmica e capacitar futuros profissionais a reconhecer, diagnosticar e enfrentar enfermidades fúngicas com maior precisão e senso crítico.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Integrar evidências epidemiológicas, clínicas, ambientais e educativas sobre a esporotricose, por meio da avaliação do manejo e do tratamento de gatos infectados, da investigação de pescados e peixes de vida livre como potenciais fontes de infecção por *Sporothrix* spp., e da elaboração de material didático em micologia, visando fortalecer estratégias de prevenção e de educação em saúde.

4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o tratamento e o desfecho da esporotricose felina realizado pelos tutores de uma região hiperendêmica para doença, bem como o conhecimento dos tutores sobre a doença, seus métodos de prevenção e estimar a taxa de transmissão zoonótica;
- Avaliar a taxa de colonização por *Sporothrix* spp. em distintas espécies de pescados;
- Comparar a taxa de colonização por *Sporothrix* spp. em diferentes etapas de vida da tainha;
- Analisar os perfis genotípicos (STR) de isolados de *Sporothrix* spp. oriundos de peixes e compará-los com isolados de origem clínica de felinos, caninos e humanos.
- Caracterizar o micobioma de amostras de pescado, com ênfase na abundância absoluta e relativa de *Sporothrix* spp;
- Avaliar o genoma total de isolados de *Sporothrix* spp. provenientes de peixes;
- Produzir materiais alternativos de caráter didático-pedagógico, para o ensino de micologia.

5. MANUSCRITO 1

Manuscrito aceito, na data 23 de janeiro de 2026, para publicação no periódico *Journal of Epidemiology and Public Health*, ISSN: 3065-9078.

Título: TREATMENT AND OUTCOME OF FELINE SPOROTRICHOSIS IN A LONG-TERM HYPERENDEMIC AREA

Autores: Bruna Muradás Esperon, Vanice Rodrigues Poester, Cassiane Ferreira dos Santos Lessa, Mariana Rodrigues Trápaga, Livia Silveira Munhoz, Karine Ortiz Sanchotene, Fabiana Fedatto Bernardon, Melissa Orzechowski Xavier.

O presente estudo retrospectivo foi desenvolvido a partir da análise de dados diagnósticos do Laboratório de Micologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande (FAMED – FURG), referentes ao período de janeiro de 2021 a dezembro de 2024. A doutoranda foi responsável pelo levantamento do número total de diagnósticos realizados no período e pela seleção anual dos casos de esporotricose felina. Posteriormente, procedeu à triagem dos casos elegíveis com base na disponibilidade de número de telefone nas requisições laboratoriais, estabelecendo os critérios de inclusão e exclusão conforme previsto no protocolo de pesquisa. A doutoranda elaborou integralmente o projeto de pesquisa, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), submetendo-os à Plataforma Brasil e ao Comitê de Ética em Pesquisa da FURG, obtendo a devida aprovação ética. Também foi responsável pela construção do instrumento de coleta de dados, composto por 29 perguntas estruturadas. Entre março de 2024 e junho de 2025, realizou todas as tentativas de contato telefônico previstas no protocolo, conduziu as entrevistas após a leitura e aceite do TCLE, totalizando 62 participantes, e executou integralmente a coleta de dados. O estudo teve como objetivo avaliar o manejo, o tratamento e os desfechos da esporotricose felina, bem como o conhecimento dos tutores sobre a esporotricose, em um município hiperendêmico no sul do Brasil. Além da execução da coleta, a doutoranda foi responsável pela organização, tabulação e sistematização dos dados obtidos, bem como pela redação do manuscrito científico, sob auxílio e supervisão da orientadora e da coorientadora.

Treatment and outcome of feline sporotrichosis in a long-term hyperendemic area

Bruna Muradás Esperon^{*1,2}, [#]Vanice Rodrigues Poester^{*1,2}, Cassiane Ferreira dos Santos Lessa^{1,2}, Mariana Rodrigues Trápaga^{1,2}, Livia Silveira Munhoz², Karine Ortiz Sanchotene^{1,2,3}, Fabiana Fedatto Bernardon^{2,3} [#]Melissa Orzechowski Xavier^{1,2}

[1] *Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, Rio Grande do Sul state (RS), Brazil*; [2] *Laboratório de Micologia (FAMED-FURG), Rio Grande, RS, Brazil*; [3] *Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Jr., FURG, Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (Ebserh) (HU-FURG/Ebserh), Rio Grande, RS, Brazil*

* Authors contributed equally to this work

#Corresponding author: Prof^ª Dr^ª Melissa Orzechowski Xavier and Prof^ª Dr^ª Vanice Rodrigues Poester. Laboratório de Micologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Campus Saúde. Visconde de Paranaguá 102, Centro, 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil. **e-mail:** melissaxavierfurg@gmail.com and vanicerp@gmail.com

ABSTRACT

Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* is a major zoonotic public health problem in Brazil and an emerging neglected tropical disease worldwide. Southern Rio Grande do Sul has been a hyperendemic area since the 1990s; however, a lack of knowledge regarding the treatment and outcomes of cats still persists. Thus, our study aimed to evaluate the management, treatment, and outcomes of feline sporotrichosis, as well as owners' knowledge about the disease, in a hyperendemic city in southern Brazil. A retrospective analysis was performed including cases diagnosed between January 2021 and December 2024, followed by interviews with cat owners. Among 293 feline sporotrichosis, 62 owners participated. Most cats were male (75%), had outdoor access (55%), and disseminated cutaneous lesions (56%). Itraconazole monotherapy was the

most frequent treatment (77%), with a mean duration of 147 days. Clinical cure occurred in 63% of treated cats, while 37% died. Treatment with compounded itraconazole was significantly associated with death ($p=0.036$). The mean treatment cost was USD 167, representing a substantial financial burden for owners. Nearly half of participants (42%) learned about sporotrichosis only after the cat diagnosis, and 16% reported zoonotic transmission. Our findings highlight treatment challenges, limited public awareness, and the need for free antifungal therapy programs and educational actions. Strengthening public health policies and veterinary support is essential for effective control of feline and zoonotic sporotrichosis.

KEYWORDS: *Sporothrix brasiliensis*, zoonosis, Rio Grande do Sul, itraconazole.

INTRODUCTION

Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* is recognized as a serious public health problem in Brazil and has been classified as an emerging neglected tropical disease worldwide (WHO, 2023). Brazil alone has reported more than 8,000 human cases and over 7,000 feline cases, considering only those documented in the literature (Rabello et al., 2022). Additionally, other South American countries such as Argentina, Chile, and Paraguay have reported outbreaks or case series of *S. brasiliensis* infection in both humans and animals (Xavier et al., 2023). As a result, sporotrichosis became a notifiable disease across the entire Brazilian territory; however, this designation, limited to human cases, was only established in 2025, more than two decades after the first reported zoonotic case by *S. brasiliensis* (Barros et al., 2001; Nobre et al., 2001; Brazil, 2025).

The domestic cat is the central pillar of zoonotic sporotrichosis, serving as both the primary victim as the main transmitter of *S. brasiliensis* (Gremião et al., 2020). This is largely because cats frequently develop severe forms of the disease (disseminated and extracutaneous presentations), associated with a high fungal burden. Transmission of *S. brasiliensis* occurs readily through scratches and bites, leading to traumatic inoculation of the skin, or through contact of infectious secretions with mucous membranes (Sanhotene et al., 2015; Brandolt et al., 2018; Bastos et al., 2022).

One of the major challenges in controlling the disease in animals, and its consequent impact on public health, is related to difficulties during the treatment, which often leads to unfavorable outcomes in infected cats. A recent systematic review showed

that, in Brazil, most cats have free access to the streets and are predominantly male, factors that contribute to the dispersion of *S. brasiliensis* (Dumont-Viollaz et al., 2025). Regarding treatment, the study reported that itraconazole monotherapy was commonly used, with prolonged therapy durations and favorable clinical outcomes. However, the financial cost of this treatment was not evaluated, which likely influences treatment adherence by cat owners, especially considering Brazil's significant socioeconomic disparities (Dumont-Viollaz et al., 2025). Furthermore, the study found statistically significant associations between clinical outcomes and the clinical manifestations of sporotrichosis, the type of antifungal therapy, and antifungal side effects. These findings highlight the need to investigate such associations in all hyperendemic regions of Brazil (Dumont-Viollaz et al., 2025).

Another critical issue surrounding sporotrichosis is the lack of knowledge about the disease, even in hyperendemic regions (Poester et al., 2022). For example, the southern region of Rio Grande do Sul (RS) was one of the first areas in Brazil to report zoonotic sporotrichosis cases in humans during the 1990s, alongside the state of Rio de Janeiro (Nobre et al., 2001; Barros et al., 2010). Despite being hyperendemic for over two decades, a significant lack of awareness persists among both cat owners and healthcare professionals regarding key aspects of the disease, such as its etiologic agent, transmission routes, clinical manifestations, and preventive measures (Poester et al., 2018b; 2019).

Therefore, clinical and epidemiological data on feline sporotrichosis, the key of *S. brasiliensis* transmission, mainly considering treatment and outcome variables, are essential for understanding the broader public health impact of the disease, along with evaluating the knowledge of cat owners. Thus, this study aimed to assess the management, treatment, and outcomes of cats diagnosed with sporotrichosis, as well as to evaluate their owners' knowledge about the disease in a hyperendemic city in southern Brazil.

METHODS

A retrospective study was conducted using data from the Mycology Laboratory at the Medical School of the Federal University of Rio Grande (FAMED – FURG), covering the period from January 2021 to December 2024. The laboratory is located in the city of Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brazil (-32.034777721750054; -52.11199494580826), a hyperendemic area for sporotrichosis since the 1990s (Poester et al., 2018a). Since 2010,

the laboratory is a regional reference offering free diagnostic services for animals with sporotrichosis suspicious, through a university extension project, supporting private medical veterinary professionals from Rio Grande city.

All feline sporotrichosis cases diagnosed by the Mycology Laboratory (FAMED–FURG) during the study period were reviewed in order to invite the animals' owners (tutors) to participate in the study. All animal's tutor with the availability of a valid phone number were contacted. Cases were excluded if the phone number was incorrect or if the contact could not be reached after three tentative in distinct periods of a day and distinct days of week.

All participants that accepted to participate in the study were included and interviewed by a questionnaire consisting of 29 questions regarding the management, treatment and outcomes of their cats with sporotrichosis, as well as their knowledge about preventive measures and other cases of the disease in the neighborhood. This study was approved by the Ethics Committee of FURG under protocol number CAAE 77193424.9.0000.5324.

Data were analyzed using frequency distributions and chi-square tests in the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 25.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). The variables analyzed for associations were: clinical manifestation (fixed or disseminated) versus outcome (death or cure); type of itraconazole (commercial or compounded) versus outcome; and route of drug administration (mixed with food or administered orally) versus outcome. The monetary cost of treatment was estimated based on the owners' reports and converted to U.S. dollars. A p-value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

From a total of 293 cats with confirmed sporotrichosis 150 (51%) had an owner's phone number available in the database. After at least three tentatives of contact by phone without success, 88 were excluded, resulting in 62 participants in this study.

Most of the cats from the owners included were male (75%; 45/60) and castrated (76%; 45/59 – 1 missing data), being 15% (7/45) undergoing the procedure after the diagnosis of sporotrichosis. About a half of cats had free access to the streets (55%; 34/62) and presented disseminated cutaneous lesions (56%; 35/62).

According to the owners, the median period of apparent lesions until the diagnosis and the beginning of the treatment were 76 days (range: 1–730 days). Three animals died

before the beginning of the treatment and three tutors were unable to recall the name of the drug used for sporotrichosis. Itraconazole was the drug of choice in the other 56 animals, administered as monotherapy in 77% (43/56) of cases and in combination with potassium iodide in 23% (13/56). The mean duration of treatment was 147 days (range: 1–1095 days). According to the owners, the monetary cost of treatment was up USD 753, with a mean of USD 167. Most of the animals received the drug orally (71%; 40/56), while the remaining ones received it mixed with food (29%; 19/56).

Clinical cure was achieved in 61% (34/56) of treated cats, while 39% (22/56) died (n=20) or were lost by the tutors (n=2). Relapse of the disease was observed in 37.5% (21/56) of the animals. The correct discharge of the body from dead animals (cinder) occurred in just one case (5%; 1/20), the others were mainly buried in the backyards of the owners houses (55%, 11/20), improperly buried in vacant lot (25%, 5/20) and improperly discarded in domestic waste bins (15%, 3/20).

The clinical manifestation of sporotrichosis (fixed or disseminated) was not associated with outcome ($p=0.28$), as well as the route of drug administration (mixed with food or administered orally) ($p=0.533$). However, the type of itraconazole used showed a significant association: 76% of cats treated with compounded itraconazole died, compared with 45% of those treated with commercial itraconazole ($p=0.036$).

About half of the owners (53%; 33/62) reported not using personal protective equipment when handling infected animals, and 42% (26/62) were only made aware of sporotrichosis at the time of their cat's diagnosis. More than half of the participants (52%; 32/62) reported observing other cats with lesions suggestive of sporotrichosis in their neighborhood, and 10% (6/62) reported transmission of *S. brasiliensis* within their household to another animal (cat or dog). Zoonotic transmission was confirmed in 16% of owners (10/62), who developed fixed or lymphocutaneous sporotrichosis after being scratched or bitten by their infected cat.

DISCUSSION

For the first time in southern Brazil, a region considered hyperendemic since the 1990s, we report the treatment management and outcomes of cats with sporotrichosis (Nobre et al., 2001). An alarming finding was the high rate of unfavorable outcomes, resulting in about half of the infected animals dead or presenting a relapsing of the disease. We also highlight here the substantial monetary costs of treatment borne by the owners. Considering the central role of cats in the dispersion and maintenance of *S.*

brasiliensis, these results reaffirm a concerning epidemiological scenario in our region, one of the relevant areas for sporotrichosis in Brazil and worldwide (Rabello et al., 2022; Xavier et al., 2023).

Moreover, most of the affected cats were male, had free access to the streets, and presented lesions for a prolonged period (on average more than two months) prior the diagnosis. This is a well-known scenario that facilitated the dispersion of the fungal pathogen to other animals and human hosts (Sanchotene et al., 2015; Gremião et al., 2020), which is further aggravated by the data showed here regarding owners' limited knowledge about the disease and poor adherence to preventive measures. Therefore, the need for more effective treatment strategies is urgent in hyperendemic areas.

A key finding of our study relates to the monetary cost of treatment for cat owners. Brazil is a socioeconomically unequal country, and the average treatment cost of USD 167 represents nearly 60% of the national minimum wage (~USD 250), corresponding to a substantial portion of household expenses such as rent (Ferreira et al., 2006; Brazil, 2024). This financial burden negatively impacts adherence to treatment for cats, and is probably one of the causes of the high mortality and relapsing rate showed in our cases. Although some Brazilian states or municipalities provide antifungal therapy for cats free of charge, this is not a nationwide policy, leaving areas such as ours without access to subsidized treatment (Amazonas, 2021; Rio de Janeiro, 2024; Saquarema, 2024). These findings underscore the urgent need to implement free treatment for feline sporotrichosis at the national level.

Itraconazole is a highly active drug against sporotrichosis (Gremião et al., 2020). Thus, besides the possible fails to treatment adherence another hypothesis for the unfavorable outcomes of cats from our study could be related to their infection by more resistant strains, since non-wild-type isolates of *S. brasiliensis* have been reported in our region (Vettorato et al., 2017; Nakasu et al., 2021; Trápaga et al., 2025). In addition, we showed that the use of compounded itraconazole was significantly associated with the outcome death. In fact, although it has been recommended to be avoided by guidelines (Gremião et al., 2020), its use for the treatment of animals with sporotrichosis persists due to the lower cost in comparison with the commercial one.

Interestingly, the administration of the drug by opening the capsule and mixing their content with food did not negatively influence the treatment outcomes. Since this approach not only facilitated once-daily dosing in cats as well as contribute to avoid bites and scratches we suggest that it can be chosen instead forcing the cat to swallow the drug.

Nevertheless, further studies are needed to evaluate plasma concentrations of itraconazole through its administration with food.

Another important finding concerns the knowledge about sporotrichosis among owners of infected cats. Approximately half of the participants became aware of the disease only after their pet's diagnosis. This is particularly concerning given that our region has been hyperendemic since the 1990s and educational activities have been conducted since around 2011 (Nobre et al., 2001; Poester et al., 2022). Despite these efforts, public knowledge remains limited, underscoring the urgent need for stronger public health interventions at both municipal, state and national levels, as academic initiatives *per se* appears insufficient. Equally concerning is the lack of protective measures adopted by owners when handling infected cats. More than half of them did not follow safety recommendations, which likely contributed to the zoonotic transmission observed in our study and frequently reported in our region (Gremião et al., 2020; Brandolt et al., 2018; Poester et al., 2018). These findings reflect not only local but also global neglect of sporotrichosis (WHO, 2023), which poses significant challenges to controlling the spread of cases in both humans and animals.

A positive finding, however, was that most animals were castrated, and many underwent the procedure after diagnosis. This highlights sporotrichosis as a motivating factor for castration, which is a recommended preventive measure for sporotrichosis and other zoonotic and infectious diseases (Barros et al., 2010; Gremião et al., 2020). Our study has some limitations, such as potential bias related to the questionnaire-based design and the use of a convenience sample, which may have introduced errors in the final variables and findings.

Nevertheless, this study represents an important first step toward understanding the outcomes and treatment of infected cats in hyperendemic areas of Southern Brazil and contributes to guiding future research in this field. Therefore, our study highlights the urgent need for public health measures including surveillance, assistance, treatment and education to disseminate and apply interventions to promote effective strategies for sporotrichosis control and prevention.

Acknowledgements

The authors are grateful to *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*, *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico*,

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS number: 23/2551-0000503-4, and 24/2551-0000720-2).

Conflict of Interest

All authors declare that they have no conflicts of interest pertaining to this work.

REFERENCES

Almeida-Paes R, do Valle ACF, Freitas DFS, de Macedo PM, Zancopé-Oliveira RM, Gutierrez-Galhardo MC. The present and future research agenda of sporotrichosis on the silver anniversary of zoonotic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2024;119:e230208. Published 2024 Feb 12. doi:10.1590/0074-02760230208.

Bastos FAGD, Cognialli RCR, Farias MR, Monti FS, Wu K, Queiroz-Telles F. Spread of *Sporothrix* spp. through respiratory droplets from infected cats: A potential route of transmission. *Med Mycol*. 2022;60(11):myac079. doi:10.1093/mmy/myac079.

Barros M, Schubach T, Coll J, Gremião I, Wanke B, Schubach A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2010; 27, 455–460.

Barros M, Schubach TM, Galhardo MC, et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96(6):777-779. doi:10.1590/s0074-02762001000600006

BARROS, M. B. L.; DE ALMEIDA PAES, Rodrigo; SCHUBACH, Armando Oliveira. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 633-654, 2011.

Brandolt TM, Madrid IM, Poester VR, Sanchotene KO, Basso RP, Klafke GB, Rodrigues, ML, Xavier MO. Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012–2017. *Medical Mycology*. 2018. 1–7. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy082>.

Brazil, Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 6.734/2025, de 18 de março de 2025. 2025. <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-6.734-de-18-de-marco-de-2025-620767223>.

Gremião IDF, Martins da Silva da Rocha E, Montenegro H, Carneiro AJB, Xavier MO, de Farias MR, Monti F, Mansho W, de Macedo Assunção Pereira RH, Pereira SA, Lopes-Bezerra LM. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2020 <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00365-3>.

Macêdo-Sales PA, Souto SRLS, Destefani CA, et al. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. *BMC Vet Res*. 2018;14(1):19. Published 2018 Jan 18. doi:10.1186/s12917-018-1340-4

Nobre M, Potter-de-Castro A, Caetano D, Leonardo-de- Souza L, Araujo-Meireles MC, Ferreiro L. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2001; 18, 137–140.

Paraná. NOTA TÉCNICA CONJUNTA Nº 6/2023 – DAV/CVIA/DVVZI e CEMEPAR. Governo do Estado, Secretária de Saúde. 2023.

Poester VR, Brandolt TM, Klafke GB, Xavier MO. Population knowledge on sporotrichosis in an endemic area in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Pesquisa Em Saúde*. 2018b; 20(4), 25–30.

Poester VR, Stevens DA, Basso RP, et al. CATastrophe: Response to the challenges of zoonotic sporotrichosis in southern Brazil. *Mycoses*. 2022;65(1):30-34. doi:10.1111/myc.13363.

Poester VR, Mattei AS, Madrid IM, Pereira JTB, Klafke GB, Sanchotene KO, Brandolt TM, Xavier MO. Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic? *Zoonoses and Public Health*, June. 2018a. 1–7. <https://doi.org/10.1111/zph.12504>.

Poester VR, Saraiva LA, Pretto AC, Klafke GB, Sanchotene KO, Melo AM, Cardone S, Xavier MO. Desconhecimento de profissionais e ações de extensão quanto à

esporotricose no extremo Sul do Brasil. *VITTALLE - Revista de Ciências Da Saúde*. 2019; 31 (1), 8–14. <https://doi.org/10.14295/vittalle.v31i1.8214>.

Rabello VBS, Almeida MA, Bernardes-Engemann AR, Almeida-Paes R, de Macedo PM, Zancopé-Oliveira RM. The Historical Burden of Sporotrichosis in Brazil: a Systematic Review of Cases Reported from 1907 to 2020. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2022; 53 (1), 231–244. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00658-1>.

Sanchotene KO, Madrid IM, Klafke GB, Bergamashi M, Terra PPD, Rodrigues AM, de Camargo ZP, Xavier MO. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. *Mycoses*. 2015; <https://doi.org/doi:10.1111/myc.12414>.

World Health Organization, WHO. *Neglected tropical diseases*. 2023.

Xavier MO, Poester VR, Trápaga MR, Stevens DA. *Sporothrix brasiliensis*: Epidemiology, Therapy, and Recent Developments. *Journal of Fungi*. 2023; 9 (9), 921. <https://doi.org/10.3390/jof9090921>.

Dumont-Viollaz A, Santos DAR, Thomson P. Zoonotic sporotrichosis: Systematic review and clinical aspects of feline and canine cases. *Med Mycol*. 2025 Jul 2;63(7):myaf060. doi: 10.1093/mmy/myaf060. PMID: 40705328.

Brasil. (2024, 30 de dezembro). Decreto nº 12.342, de 30 de dezembro de 2024, que dispõe sobre o valor do salário mínimo a vigorar a partir de 1º de janeiro de 2025. Diário Oficial da União. Recuperado de http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2023-2026/2024/decreto/d12342.htm

Ferreira FHG, Leite PG, Litchfield JA. The rise and fall of Brazilian inequality, 1981–2004. Washington (DC): World Bank; 2006. (Policy Research Working Paper No. 3867).

Amazonas. Lei Ordinária nº 5.410, de 24 de fevereiro de 2021. Disponível em: <https://sapl.al.am.leg.br/media/sapl/public/normajuridica/2021/11238/5410.pdf>

Rio de Janeiro, RJ. Lei Ordinária nº 3.492, de 2024. Disponível em: <https://www.1746.rio/hc/pt-br/articles/10735450548635-Atendimento-cl%C3%ADnico-para-animais-com-Esporotricose>

Saquarema, RJ. Lei Ordinária nº 2.643, de 21 de outubro de 2024. Disponível em: https://transparencia.saquarema.rj.leg.br/arquivos/3720/_0000001.pdf

Pereira SA, Passos SR, Silva JN, Gremião ID, Figueiredo FB, Teixeira JL, Monteiro PC, Schubach TM. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. Vet Rec. 2010 Mar 6;166(10):290-4. doi: 10.1136/vr.166.10.290. PMID: 20208075.

de Miranda LHM, Silva JN, Gremião IDF, Menezes RC, Almeida-Paes R, Dos Reis ÉG, de Oliveira RVC, de Araujo DSDA, Ferreiro L, Pereira SA. Monitoring Fungal Burden and Viability of *Sporothrix* spp. in Skin Lesions of Cats for Predicting Antifungal Treatment Response. J Fungi (Basel). 2018 Aug 7;4(3):92. doi: 10.3390/jof4030092. PMID: 30087237; PMCID: PMC6162451.

de Souza EW, Borba CM, Pereira SA, Gremião IDF, Langohr IM, Oliveira MME, de Oliveira RVC, da Cunha CR, Zancopé-Oliveira RM, de Miranda LHM, Menezes RC. Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. Sci Rep. 2018 Jun 13;8(1):9074. doi: 10.1038/s41598-018-27447-5. PMID: 29899416; PMCID: PMC5998065.

Nakasu CCT, Waller SB, Ripoll MK, Ferreira MRA, Conceição FR, Gomes ADR, Osório LDG, de Faria RO, Cleff MB. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. Braz J Microbiol. 2021 Mar;52(1):163-171. doi: 10.1007/s42770-020-00290-5.

Vettorato R, Heidrich D, Fraga F, Ribeiro AC, Pagani DM, Timotheo C, Amaro TG, Vettorato G, Scroferneker ML. Sporotrichosis by *Sporothrix schenckii* sensu stricto with itraconazole resistance and terbinafine sensitivity observed in vitro and in vivo: Case report. Med Mycol Case Rep. 2017 Oct 28;19:18-20. doi: 10.1016/j.mmcr.2017.10.001. PMID: 29204336; PMCID: PMC5711665.

Trapaga, M. R. ; Spruijtenburg, B. ; Hidalgo, J. E. D.; Jacomel, B.; Madrid, I. M.; Pereira, D. I. B. ; Mattei, A. ; Gomes, A.R.; Faria, R. O.; Silveira, F.; Severo, C. B.; AQUINO, V. R. ; FRANZ, A. P. G.; BOTTON, S. ; POESTER, V. R. ; GROOT, T.; MEIJER, E. F. J. ; XAVIER, M. O. . *Sporothrix brasiliensis* from the southernmost state of Brazil reveals high genotypic diversity and worrying antifungal susceptibility profile. In: 12TH TRENDS IN MEDICAL MYCOLOGY (TIMM2025), 2025, Bilbao. Anais, 2025.

Poester VR, Stevens DA, Basso RP, Munhoz LS, Zanchi M, Benelli JL, Klafke GB, Cardone S, Xavier MO. CATastrophe: Response to the challenges of zoonotic sporotrichosis in southern Brazil. *Mycoses*. 2022 Jan;65(1):30-34. doi: 10.1111/myc.13363. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34390588.

6. MANUSCRITO 2

Manuscrito elaborado sob as normas do periódico “*Medical Mycology*”, fator de impacto 2.3 (2024).

Título: *Sporothrix brasiliensis* in Coastal Fishes: Implications for Marine–Terrestrial Spillover

Autores: Bruna Muradás Esperon, Bernardo Guerra Tenório, João Paulo Romualdo Alarcão Bernardes, Livia Silveira Munhoz, Amanda Letícia Bauer, Yan Gowert, Alexandre Miranda Garcia, Lucas dos Santos Rodrigues, Bram Spruijtenburg, Theun the Groot, Eelco Meijier, Mariana Rodrigues Trápaga, Vanice Rodrigues Poester, Rosely Maria Zancopé-Oliveira, Rodrigo de Almeida Paes, Marcus de Melo Teixeira, Melissa Orzechowski Xavier.

O presente estudo constitui a primeira investigação sistemática voltada à detecção de espécies do gênero *Sporothrix* em peixes e pescados de diferentes espécies, origens produtivas e ambientes ecológicos, contemplando um expressivo número amostral (n = 991). A pesquisa integrou abordagens metodológicas complementares, incluindo métodos micológicos clássicos, análise metagenômica, genotipagem por marcadores moleculares e sequenciamento de genoma total (WGS), configurando um desenho metodológico robusto e multidimensional.

O projeto esteve inserido na Rede Saúde Única FAPERGS/FIOCRUZ, intitulada “Esporotricose e *Sporothrix brasiliensis* no contexto *One Health*: Promoção da saúde, pesquisa e inovações para melhoria diagnóstica e terapêutica na saúde humana e animal, e para melhor compreensão do impacto da saúde ambiental na interface humano-animal-ecossistema”, sob coordenação conjunta dos Laboratórios de Micologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande (FAMED–FURG) e do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI–Fiocruz).

A doutoranda foi responsável pela concepção metodológica relacionada ao processamento de peixes e pescados, incluindo padronização de protocolos de coleta, manipulação asséptica, processamento laboratorial e armazenamento das amostras, sob supervisão e revisão da orientadora. Também atuou diretamente na organização logística do recebimento dos exemplares provenientes de diferentes cadeias produtivas e ambientes naturais.

No âmbito das parcerias institucionais estabelecidas ao longo do projeto, destacam-se colaborações do Laboratório de Dinâmica de Populações de Peixes (LADIPP) e o Laboratório de Ictiologia, ambos do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (IO-FURG). Essas parcerias possibilitaram o acesso a amostras provenientes de indústrias pesqueiras (como corvinas e pescadas) e a coleta de tainhas juvenis de vida livre em quatro áreas com distintos padrões abióticos. A doutoranda participou ativamente das atividades de campo, incluindo a utilização de rede de arrasto para captura dos espécimes, aprendizado em identificação das espécies e compreensão dos parâmetros ambientais associados aos locais de coleta.

Adicionalmente, a doutoranda realizou mobilidade acadêmica na Universidade de Brasília (UnB), sob orientação do Prof. Dr. Marcus de Melo Teixeira, participando ativamente das análises bioinformáticas relacionadas à metagenômica e ao sequenciamento de genoma total, incluindo etapas de processamento, organização e interpretação dos dados, sob supervisão direta.

A genotipagem molecular foi desenvolvida em colaboração internacional com o Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases do Canisius-Wilhelmina Hospital (Nijmegen, Países Baixos), ampliando o escopo analítico do estudo e fortalecendo a dimensão translacional e global da investigação.

Além da elaboração integral do projeto, a doutoranda foi responsável pela coleta e processamento das amostras, organização e curadoria dos bancos de dados, sistematização das análises laboratoriais e genômicas, análise integrada dos resultados e redação do manuscrito científico, sob supervisão da orientadora. O estudo consolidou uma abordagem inovadora ao investigar a interface entre ambiente aquático, cadeia produtiva pesqueira e micologia médica, inserindo-se no arcabouço conceitual da Saúde Única e ampliando a compreensão sobre potenciais nichos ecológicos e rotas de dispersão de *Sporothrix* spp.

***Sporothrix brasiliensis* in Coastal Fishes: Implications for Marine–Terrestrial Spillover**

AUTHORS:

Bruna Muradás Esperon^[1,2], Bernardo Guerra Tenório^[3], João Paulo Romualdo Alarcão Bernardes^[3], Livia Silveira Munhoz^[2], Amanda Letícia Bauer^[4], Yan Gower^[4], Alexandre Miranda Garcia^[4], Lucas dos Santos Rodrigues^[5], Bram Spruijtenburg^[6], Theun the Groot^[6], Eelco Meijer^[6], Mariana Rodrigues Trápaga^[1,2], Vanice Rodrigues Poester^[1,2], Rosely Maria Zancopé-Oliveira^[7], Rodrigo de Almeida Paes^[7], Marcus de Melo Teixeira^[3,*], Melissa Orzechowski Xavier^[1,2,*]

[1] Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brazil.

[2] Laboratório de Micologia, Faculdade de Medicina (FaMed), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brazil.

[3] Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília-DF, Brazil.

[4] Laboratório de Ictiologia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brazil.

[5] Laboratório de Dinâmica Populacional Pesqueira (LADIPP), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brazil.

[6] Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Canisius-Wilhelmina Hospital, Nijmegen, Netherlands.

[7] Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 21040-360, Rio de Janeiro (RJ), Brazil

*** Corresponding authors:**

Prof. Dr. Melissa Orzechowski Xavier. Laboratório de Micologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Campus Saúde. Visconde de Paranaguá 102, Centro, 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil. **Phone:** (+55) 53-32374636/ 4634 **e-mail:** melissaxavierfurg@gmail.com

Prof. Dr. Marcus de Melo Teixeira. Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília. Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, 70910900, Brasília, DF, Brasil. **Phone:** (+55) 61-31071671, **e-mail:** marcus.teixeira@gmail.com

Abstract

Historically considered a disease of gardeners, sporotrichosis has undergone a shift in its epidemiological profile over the past two decades, becoming associated with zoonotic outbreaks driven by domestic cats, particularly *Sporothrix brasiliensis* in South America, with occasional reports of imported cases in non-endemic regions. Although there are reports of fishermen affected during fishing activities, the involvement of fish and seafood in the sporotrichosis chain remain scarcely investigated. This is the first study to evaluate the presence of *Sporothrix* in three species of fish (n=991) from different habitats. A pool of specimens totalized 46 samples subjected to metagenomic analyses, mycological culture, genotyping and whole-genome sequencing. Metagenomic analysis detected OTUs/ASVs compatible with *S. brasiliensis* in 67.3% (31/46) of the analyzed pools and with *S. schenckii* in 6.5% (3/46). Mycological culture yielded four *S. brasiliensis* isolates, whose genetic profiles were distributed across two clades previously described in Brazil, showing close correspondence with clinical strains from humans and animals. These findings expand the known environmental spectrum of *Sporothrix* and support the hypothesis that aquatic environments may participate in the ecological cycle of sporotrichosis, highlighting the relevance of integrated One Health approaches.

Key-words: metagenomics; source of infection; subcutaneous mycosis; zoonosis

Introduction

Sporotrichosis is an endemic mycosis caused by thermodimorphic fungi of the genus *Sporothrix* ^(1, 2). Most cases are caused by *Sporothrix schenckii* sensu stricto, *Sporothrix brasiliensis*, and *Sporothrix globosa* ⁽¹⁾. This disease is globally distributed and displays particularly high endemicity in Latin America, eastern Asia, and southern Africa ⁽³⁾. Historically, sporotrichosis was considered a disease of agricultural workers and gardeners—hence the term “gardener’s disease”—as infections were typically associated with traumatic inoculation with contaminated plant residues ⁽⁴⁾. Over the past two decades, however, a major epidemiological shift has occurred. Cats have been identified as the main hosts and efficient transmitters of *Sporothrix* spp., leading to zoonotic outbreaks that affect both animals and humans ⁽⁵⁾. Feline-associated transmission of *S. brasiliensis* led to extensive epidemics in tropical and subtropical regions, particularly in South America ⁽⁶⁻⁸⁾. Additionally, imported cases in non-endemic countries have also been reported ⁽⁹⁻¹¹⁾.

Zoonotic sporotrichosis first emerged as a recognized epidemic in Rio de Janeiro in the late 1990s. Almost simultaneously, independent outbreaks were documented in Rio

Grande do Sul, southern Brazil, pointing to two concurrent and spatially distinct waves of zoonotic emergence across southeastern and southern Brazil^(2, 7, 8, 12). However, in the past decade, an expressive geographic expansion of a sporotrichosis by *S. brasiliensis* occurred across the country⁽⁶⁾. Multiple outbreaks involve genetically distinct *Sporothrix* populations that appear to have arisen independently⁽¹³⁻¹⁶⁾. Together, these data reject the notion of a single epidemic lineage spreading nationwide and instead point to multiple geographically adapted populations shaped by local ecological and anthropogenic pressures^(13, 15, 17).

Therefore, the evolutionary biology of *Sporothrix* spp. remains poorly understood, including its mechanisms of adaptation to new environments, responses to climatic fluctuations, and interactions with human and animal hosts⁽¹⁸⁾. In this regard, outbreaks have been temporally associated with extreme weather events such as floods, whose frequency is expected to rise with global warming^(18, 19). Another important research front involves identifying and quantifying animal reservoirs, elucidating cross-species transmission, and assessing the co-evolutionary dynamics between hosts and pathogens⁽²⁰⁾. Population genomics, combined with systematic environmental sampling, is essential for unraveling the mechanisms of adaptation and divergence within the genus⁽¹⁹⁾.

Beyond terrestrial ecosystems, the role of aquatic environments in the ecology and transmission of *Sporothrix* spp. remains virtually unexplored and urged as a priority area of investigation. Importantly, multiple independent sporotrichosis outbreaks in southern and southeastern Brazil have repeatedly emerged in areas bordering marine and coastal ecosystems. Strikingly, these same regions correspond to the locations where cat-to-human transmission was first documented in Brazil, marking a pivotal shift in the epidemiology of sporotrichosis from a predominantly environmental mycosis to a zoonotic epidemic^(12, 21). This consistent spatial overlap is unlikely to be coincidental and suggests that coastal and peri-coastal settings may represent ecological and socio-environmental interfaces that favor the amplification and spread of *S. brasiliensis* through animal reservoirs, particularly domestic cats⁽⁶⁾. While the contribution of marine ecosystems per se remains unresolved, the recurrent association of outbreak epicenters with coastal landscapes highlights a critical knowledge gap and strongly supports the need for integrated One Health investigations addressing environmental reservoirs, animal hosts, and human exposure pathways in these transitional ecosystems.

The rapid global expansion of aquaculture and fish trade, valued at USD 472 billion in 2022 and employing over 60 million people, has intensified human exposure to

aquatic pathogens and heightened concerns regarding environmental contamination and zoonotic risks^(22,23). Fishermen and fish handlers are routinely exposed to fish-associated microorganisms through traumatic skin injuries and sustained contact with organic matter from aquatic environments and materials used in fishing practices^(24,25). At least three reports of sporotrichosis linked to marine or coastal settings have been documented, suggesting that *Sporothrix* spp. may be transmitted not only through cat-associated zoonotic routes but also via traumatic inoculation involving fish and fishing-related inanimate objects, including wooden boats, ropes, and hooks^(20,26-28). Despite the recognized occurrence of fungal infections after fish-related injuries, sporotrichosis remains largely unexplored in this context. Moreover, fisheries and coastal markets often attract rodents and stray or feral cats due to the availability of discarded fish and organic waste, creating an interface between infected animals, humans, and aquatic environments. Thus, investigating the potential role of marine animals in the transmission chain of *Sporothrix* represents an urgent priority within a One Health framework.

Here, we investigated the presence of *Sporothrix* spp. in fish specimens collected from a coastal region of southern Brazil, a hyperendemic area for sporotrichosis, using a combination of metagenomic sequencing and culture-based microbiological approaches across multiple fish species and ecological niches. We also performed STR and whole-genome sequencing of isolates recovered from fish samples for a comparative genomic analysis with strains derived from human and animal infections.

METHODS

Fish Sampling

Fish sampling was conducted between 2023 and 2025 at nine sites in the municipality of Rio Grande, Rio Grande do Sul, southern Brazil (32°02'06" S; 52°05'55" W). This study was carried out in collaboration with the Laboratory of Mycology, Faculty of Medicine (FaMed – FURG); the Laboratory of Fish Population Dynamics (LADIPP), Institute of Oceanography (IO – FURG); and the Laboratory of Ichthyology, Institute of Oceanography (IO – FURG)

The first stage of the study was conducted between November 2023 and March 2024. During this period, adult specimens of *Mugil liza* were purchased weekly from the Rio Grande Public Market (32°02' S, 52°05' W). All specimens were obtained from the same vendor, totaling 30 adult individuals analyzed. To ensure sample freshness, organoleptic characteristics were evaluated at the time of purchase⁽²⁹⁾. The fish were individually packed in non-sterile plastic bags provided by the market, transported on ice

to the laboratory, and processed within at least two hours at the Faculty of Medicine (FaMed), Federal University of Rio Grande (FURG), Rio Grande do Sul, Brazil.

The second stage of the study consisted of adult specimens of striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*) (n = 50) and whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) (n = 50), which were kindly provided on a weekly basis by representatives of four local fish-processing industries in the municipality, in partnership with the Laboratory of Fish Population Dynamics (LADIPP). Ten sampling events were carried out between July 2024 and February 2025, with a monthly or biweekly frequency. Each sampling event comprised five individuals per species. All specimens were individually wrapped in sterile aluminum foil, transported on ice, and processed within four hours of arrival at the laboratory. Prior to processing, each fish was weighed (g), measured (cm), and assessed for organoleptic characteristics.

The third stage of the study consisted of obtaining free-living juvenile specimens of *M. liza* (n=861), which were captured monthly or biweekly, depending on favorable weather conditions, in nearby coastal areas, totaling eight field sampling events. Field activities were conducted by the Medical Mycology Research Group in collaboration with the Ichthyology Research Group at the Federal University of Rio Grande (FURG). The capture of juvenile mullets was carried out between July 2024 and February 2025. Four distinct sampling sites were included for the capture of juvenile *M. liza*: the Atlantic Ocean (EMA, Point 1) (32.20751° S, 52.17467° W), a drainage channel near the Atlantic Ocean site (Sangradouro, Point 2) (32.19999° S, 52.16877° W), the Lagoon Mouth (32.15070° S, 52.10226° W) (Prainha, Point 3), and Ponte dos Franceses in the Patos Lagoon (32.06023° S, 52.08821° W) (Point 4) (Figure 1).



Figure 1. Sampling sites of free-living juvenile *Mugil liza* in the municipality of Rio Grande, located in the extreme southern region of Rio Grande do Sul, Brazil.

At each sampling site, water physicochemical parameters (pH, turbidity, salinity, oxygen saturation, among others) were recorded using a ProDSS multiparameter probe (YSI, USA). Fishing was conducted using a beach-seine net in the breaker zone, at depths of up to one meter. Species other than *M. liza* were immediately released. After capture, juvenile mullets were immersed in 10% clove oil (eugenol) and subsequently placed in sterile containers or wrapped in sterile aluminum foil and kept on ice. The specimens were then immediately transported to the laboratory, where they were measured (mm), weighed (g), morphologically identified as *M. liza*, specifically based on the presence of three anal-fin spines and eight rays and processed within a maximum of four hours (30).

Sample Processing

For adult specimens obtained from the Public Market (*Mugil liza* adults; $n = 28$), 25g of tissue fragments from each individual—including gills, dorsal spiny fin, fillet, spines, and fins—were aseptically dissected using sterile scalpels and scissors. Sample processing was performed at a ratio of 25 g of fish tissue to 250 mL of phosphate-buffered saline (PBS) supplemented with chloramphenicol (0.30 mg/mL) (Alamar Tecnocientífica Ltda., São Paulo, Brazil) and gentamicin (100 mg/mL) (Hypofarma®, Belo

Horizonte, Brazil). For metagenomic analyses, samples were pooled in groups of two individuals per composite sample, for a total of 14 pools (Table 1).

For fish obtained from the fishing industry (*C. guatucupa* and *M. furnieri*), five individuals per species were processed. For each of the five specimens of each species, 25 g of tissue per anatomical site were collected and pooled across individuals: gills, fillet, and a combined sample of scales, spines, and fins. Overall, sample processing was performed at a ratio of 25 g of fish tissue to 250 mL of phosphate-buffered saline (PBS), supplemented with chloramphenicol (0.30 mg/mL) (Alamar Tecno-Científica Ltda., São Paulo, Brazil) and gentamicin (100 mg/mL) (Hypofarma®, Belo Horizonte, Brazil). For metagenomics analyses, all anatomical sites were pooled, resulting in a total of 75 g of tissue per composite sample (Table 1).

Juvenile *M. liza* fish were processed whole and in multiples due to their low individual biomass (ranging from <1g to 10.4g per individual). Overall sample processing was performed at a ratio of 25 g of fish to 250 mL of phosphate-buffered saline (PBS), supplemented with chloramphenicol (0.30 mg/mL) (Alamar Tecno-Científica Ltda., São Paulo, Brazil) and gentamicin (100 mg/mL) (Hypofarma®, Belo Horizonte, Brazil). For molecular biology analyses, samples were also organized by sampling site, using approximately 50 g of juvenile *M. liza* to obtain three composite samples per sampled geographical site (Table 1).

All samples were homogenized using a Mixer in Nox (Oster®, United States) at maximum speed for 5 minutes. Between sample pools, the homogenizer was decontaminated with 70% ethanol followed by two washes with 300mL of sterile PBS. The processing procedures for the different fish groups analyzed are summarized in Figure 2.

Amplicon metagenomics and community profiling

Amplicon sequencing was performed targeting the fungal internal transcribed spacer 1 (ITS1) region using the universal fungal barcode primers ITS1-F and ITS2. PCR amplification was carried out using Illumina-compatible adapters with dual indexing (i7 and i5). Following amplification, libraries were purified, quantified, and pooled at equimolar concentrations. The final library pool was sequenced on an Illumina NovaSeq X platform, generating paired-end reads for downstream metagenomic and community analyses. Raw Illumina amplicon data were processed with AMPtk (v1.6). Reads were imported and demultiplexed using `amptk illumina`, producing a demultiplexed FASTQ

file for downstream denoising. Demultiplexing configurations were set primer-aware processing targeting ITS1 using the primer pair ITS1-F/ITS2. Denoising and amplicon sequence variant (ASV) inference were performed using AMPtk's DADA2 workflow (amp_{tk} dada2) on the demultiplexed reads using a stringent clustering/similarity setting (-p 99). Representative sequences and abundance tables generated by AMPtk were taxonomically classified using amp_{tk} taxonomy, with the UNITE fungal ITS reference database implemented through the AMPtk/RDP classifier framework (--rdp_db fungalits_unite). Taxonomic classification was performed according to the ITS1 and metadata files were provided to link sample identifiers to biological metadata for downstream ecological analyses (See Supplementary Table 2). To facilitate targeted downstream analyses, taxonomically annotated representative-sequence (ASVs) FASTA files were filtered to extract sequences assigned to focal higher-level groups of interest. Specifically, sequences classified as Chaetothyriales and Onygenales were programmatically retrieved from the taxonomy FASTA output by header matching, generating group-specific FASTA subsets for follow-up analyses.

For phylogeny-aware community analyses, representative sequences were aligned and used to infer phylogenetic trees in QIIME2 using align-to-tree-mafft-fasttree, producing aligned, masked alignments and rooted trees. Alpha and beta diversity metrics were then computed with qiime diversity core-metrics-phylogenetic using a sampling depth of 10,000 reads per sample and a study-specific metadata table. Outputs from this step were used for comparative community structure analyses across fish species and ecological niches.

For ITS-based phylogenetic placement/typing analyses, maximum-likelihood phylogenies were inferred with IQ-TREE2 using ModelFinder (-m TEST) and multiple branch support measures: ultrafast bootstrap (1,000 replicates), SH-aLRT/aLRT (1,000 replicates), and aBayes support. Resulting trees were used to contextualize ITS sequence diversity relative to reference types and/or study-defined clusters. Metagenomic library preparation and sequencing was performed at GenOne Biotechnologies (Rio de Janeiro, Brazil). Raw demultiplexed FASTQ files were imported into QIIME 2 v2024.10. Quality control and denoising were performed using the DADA2 plugin, which implements filtering, error correction, dereplication, paired-end read joining, and chimera removal to infer amplicon sequence variants (ASVs) representing exact biological sequences present in the dataset (31). Chimera detection and removal inherent to DADA2 mitigates artefactual sequences arising from PCR recombination. Representative ASV sequences

were generated along with an ASV feature table. Taxonomic assignment of ASVs was conducted using a naïve Bayes classifier trained on an appropriate release of the UNITE fungal ITS database for fungi, which is a curated reference resource for ITS barcoding of fungal taxa, allowing assignment of fungal ITS variants to taxonomic ranks ⁽³²⁾. Downstream filtering removed potential contaminants and non-target sequences prior to ecological analyses.

Alpha and Beta Diversity Analyses

Alpha diversity metrics were calculated using the phyloseq framework in RStudio (Version 2025.09.1+401). After importing the curated phyloseq object, species richness and diversity indices were estimated for each sample using the `estimate_richness` function. Specifically, Observed richness, Shannon diversity, and Simpson diversity indices were computed based on the final OTU/ASV abundance table. Sample metadata were extracted directly from the phyloseq object and merged with the alpha diversity estimates using unique sample identifiers. To ensure consistency between sequencing-derived identifiers and metadata records, sample IDs were harmonized prior to merging, and successful joins were explicitly verified to avoid missing metadata assignments. Alpha diversity comparisons were conducted across biologically relevant groupings, including sampling origin (`origem`) and host species category (`especie_categorizada`).

Because diversity metrics did not meet assumptions of normality, nonparametric Kruskal–Wallis tests were used to assess differences among groups. P values were reported directly from these tests without post hoc pairwise comparisons, as the primary objective was to test overall group-level effects. Results were visualized using boxplots combined with jittered individual data points to illustrate within-group variability and sample-level dispersion. All alpha diversity plots were generated using `ggplot2`, with consistent themes and axis scaling to ensure comparability across panels. Beta diversity analyses were performed using distance-based ordination and permutation-based multivariate testing. Community dissimilarity matrices were calculated from the phyloseq object using two complementary metrics: 1) Bray–Curtis dissimilarity, which accounts for relative abundance differences among taxa. 2) Jaccard dissimilarity, calculated on presence–absence data to emphasize compositional turnover independently of abundance. Distance matrices were computed using the `phyloseq::distance` function and subsequently used for both ordination and statistical testing. Principal Coordinates Analysis (PCoA) was applied to both Bray–Curtis and Jaccard distance matrices using the `ordinate` function

in phyloseq. Ordination scores were extracted from the resulting eigenvector matrices and merged with sample metadata based on sample identifiers. The proportion of variance explained by the first two principal coordinate axes was calculated from the eigenvalues and reported directly in axis labels. PCoA results were visualized as two-dimensional scatter plots, with samples colored by sampling origin and shaped by host species category. To aid interpretation of group structure, 95% confidence ellipses were drawn around samples sharing the same origin using a multivariate normal approximation. To formally test the effects of sampling origin and host species category on community composition, permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) was conducted using the `adonis2` function from the `vegan` package. Separate models were fitted for Bray–Curtis and Jaccard distance matrices, using the following formula:

$$\text{distance}^* \sim \text{origin} + \text{fish species}$$

*This formula should be read as “Does the difference in community composition between samples (distance) vary as a function of sampling origin and fish species?”.

Permutation tests were performed with 999 permutations. The resulting R^2 values and P values were extracted for each explanatory variable and reported alongside ordination plots to facilitate direct comparison between visual and statistical patterns. All analyses were conducted in R using `phyloseq`, `vegan`, `tidyverse`, `ggplot2`, and `patchwork`. Figures were exported as publication-ready PDF files with fixed dimensions and consistent graphical parameters. Individual panels and combined multi-panel figures were saved separately to allow flexible use in manuscripts and supplementary materials.

Culture

The mycological culture was performed after the metagenomic analyses. Six samples with the highest relative abundance of *S. brasiliensis* were selected. Tissue samples were centrifuged, and the resulting pellet (~0.4 g) was resuspended in 250 μL of sterile saline solution supplemented with chloramphenicol (0.30 mg/mL; Alamar Tecnológica Ltda, SP, Brazil) and gentamicin (100 mg/mL; Hypofarma®, Belo Horizonte, Brazil). Subsequently, 100 μL of the suspension was plated onto Mycosel agar (BBL Mycosel Agar, EUA, Interlab®) and potato dextrose agar (PDA - KASVI®, Spain). Cultures were incubated at 30 °C and monitored for fungal growth for up to 20 days.

Additional *Sporothrix* spp. isolates included for comparative analyses

Additionally, we included one *S. brasiliensis* isolate obtained from a seabird (Poester et al., *in press*) and one *S. schenckii*. These isolates were included for comparative purposes with *Sporothrix* spp. isolates obtained from fish samples, enabling

the assessment of genetic similarities and phylogenetic relationships among isolates from different hosts and environmental contexts.

Genotyping by STR

Genotyping of the four *S. brasiliensis* isolates obtained from fish samples was performed by Short tandem repeats (STR) analysis, conducted as previously described⁽³³⁾. Briefly, three multiplex PCR assays targeting tri- and hexanucleotide repeats (M3-I, M3-II, and M6) were used to amplify microsatellite loci, followed by capillary electrophoresis on a 3500XL genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Allele copy numbers were determined using GeneMapper 5 software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), and genetic analyses were performed with BioNumerics v7.6.1 (Applied Maths NV, Sint-Martens-Latem, Belgium). The genotypes identified in the present study were compared with previously genotyped *Sporothrix* isolates from the same geographic region, including isolates characterized in the study by Trápaga et al. (2025), in order to assess genetic relatedness and regional circulation patterns.

Whole-genome sequencing and comparative genomics

Whole-genome sequencing was carried out on four *S. brasiliensis* isolates recovered during the second culture attempt. Genomic DNA was extracted as described above, and approximately 1 µg per isolate was used to construct paired-end sequencing libraries with the Illumina Nextera DNA Flex kit, incorporating dual indices (i7 and i5; 8-mer/8-mer). Libraries were quantified by qPCR, pooled in equimolar proportions, and sequenced on an Illumina NovaSeq 6000 system. Sequence data were demultiplexed using standard Illumina workflows, followed by adapter removal and quality trimming with Trimmomatic v0.36. High-quality reads were mapped to the *S. brasiliensis* reference genome strain 5110 using BWA-MEM v0.7.7. To place the newly sequenced isolates in a broader population context, their genomes were analyzed together with 92 publicly available *S. brasiliensis* genomes^(14, 34). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) were identified using the Northern Arizona SNP Pipeline (NASP), with indel realignment performed using the RealignerTargetCreator and IndelRealigner tools in GATK v3.3-0. Variant calling was conducted with the GATK UnifiedGenotyper under stringent filtering criteria ($QD \geq 2.0$, $FS \leq 60.0$, $MQ \geq 30.0$, $MQRankSum \geq -12.5$, $ReadPosRankSum \geq -8.0$). SNP positions with coverage below 10× across all samples or exceeding the 99th percentile of genome-wide coverage were excluded to reduce false-positive signals. Evolutionary relationships among *S. brasiliensis* isolates were reconstructed from the

concatenated SNP alignment using Maximum Likelihood (ML) inference in IQ-TREE2. The optimal substitution model was selected using ModelFinder based on Bayesian Information Criterion. Branch support was evaluated using ultrafast bootstrap approximation (1,000 replicates), approximate likelihood-ratio tests (1,000 replicates), and aBayes support values. Analyses were performed using the multi-threaded MPI implementation with automatic CPU optimization, and phylogenies were visualized with FigTree v1.4.4.

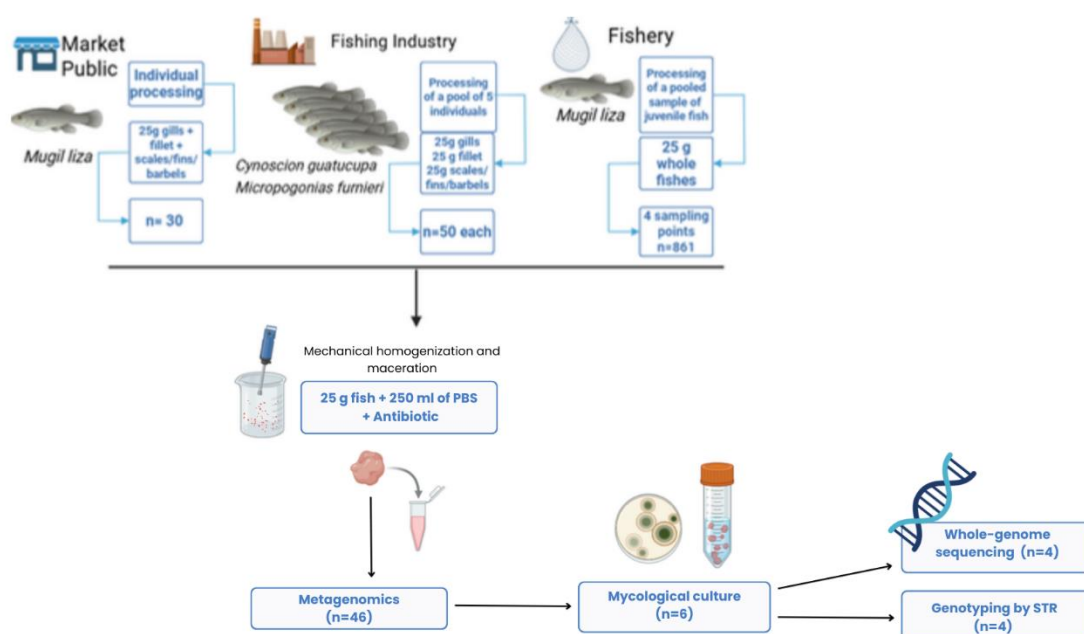


Figure 2. Schematic workflow illustrating the sampling, processing, and analytical steps applied to the fish specimens analyzed in this study. Fish were collected from public markets, the fishing industry, and fisheries, processed individually or pooled according to the available biomass, mechanically homogenized, and subsequently subjected to metagenomic analyses, mycological culture, genotyping, and whole-genome sequencing.

Results

Diversity of the study population

A total of 991 fish specimens were included in the study, comprising 30 adult *M. liza* obtained from the same source at the Rio Grande Public Market; 861 juvenile *M. liza* collected from four environmental sampling sites; and 50 *C. guatucupa* and 50 *M. furnieri* obtained from four fish-processing industries in the municipality of Rio Grande, RS,

Brazil. We generated a total of 46 pooled tissue samples subjected to metagenomic analyses (Table 1).

Table 1. Composition of the analyzed fish and distribution of samples subjected to molecular biology.

Species	Sample Origin	Life Stage	Number of individuals	Sampling Sites	Number of samples for molecular biology*
<i>Mugil liza</i>	Open Market	Adult	30**	1	14
<i>Mugil liza</i>	Free-fishing	Juvenile	861	4	12
<i>Cynoscion guatucupa</i>	Fishing Industry	Adult	50	4	10
<i>Micropogonias furnieri</i>	Fishing Industry	Adult	50	4	10
Total	-	-	991	-	46

*Pooled fish tissue samples destined for metagenomic analyses were selected based on their representativeness of the different sampling sites and origins. Specifically, for public markets, two individuals were included per sample; for free-living fish, three samples were collected per sampling site; and for fish-processing industries, five individuals were included per sample.

**Two adult *Mugil liza* specimens were excluded from the molecular analyses due to the absence of detectable DNA in the extracted samples.

Metagenomic Analyses

This step revealed that fungal communities associated with fish samples were consistently dominated by Ascomycota, followed by Basidiomycota, regardless of sample origin or fish category (Figure 3A). Minor contributions from other phyla were detected at low relative abundance across all groups. Overall, phylum-level profiles were remarkably similar among samples obtained from industrial processing facilities, public markets, and natural environments, indicating limited variation in higher-level fungal composition across sampling contexts.

At the genus level, fungal communities displayed substantially greater heterogeneity (Figure 3B). Individual samples were characterized by complex and

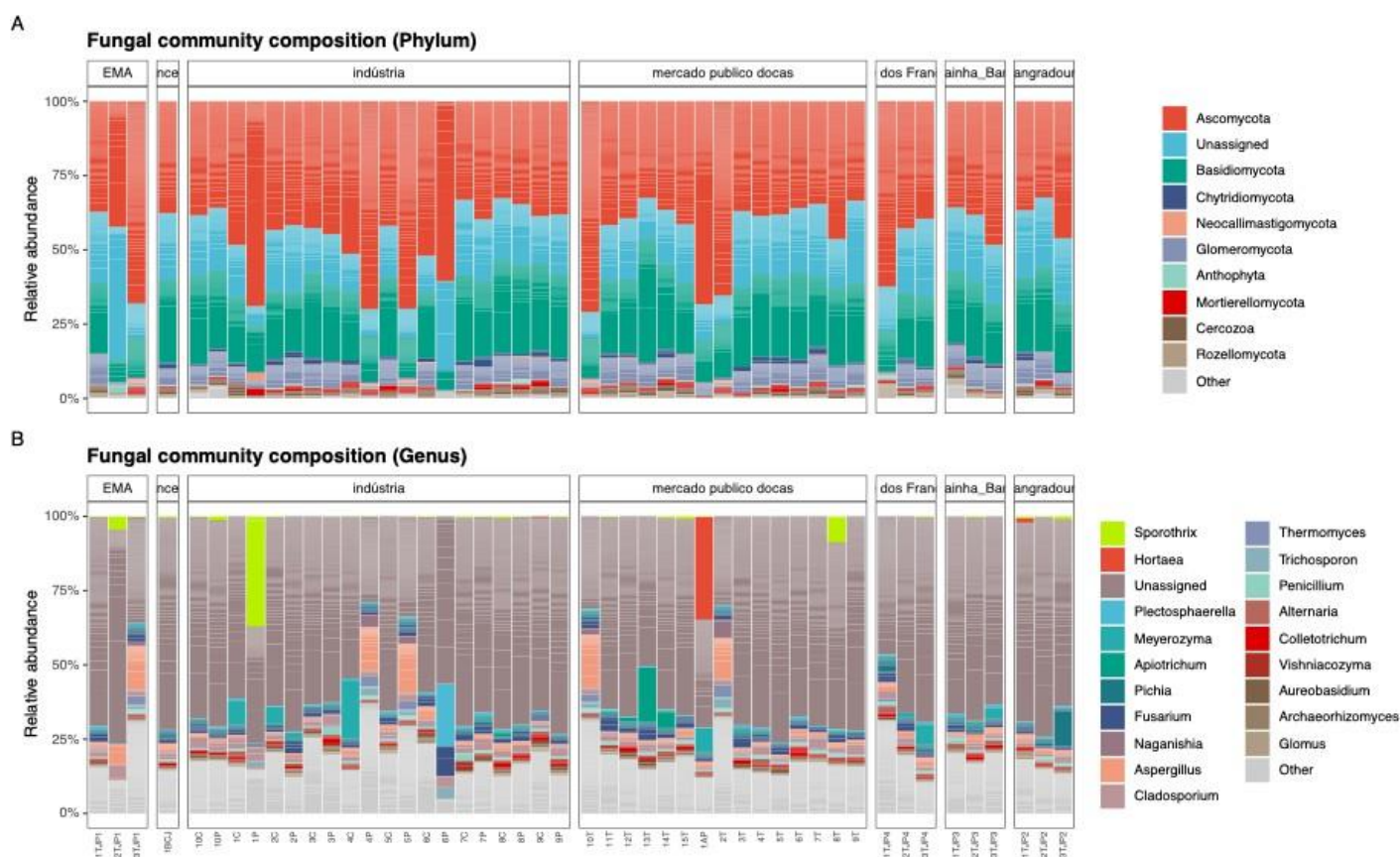
variable genus-level assemblages, reflecting high fungal diversity across fish species and origins, including *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichosporon*, *Penicillium*. Moreover, within this heterogeneous background, the genus *Sporothrix* was consistently detected but generally represented a minor fraction of the total mycobiome, except in one pool sample in which this genus accounted for 37%. In this set, sequences were compatible with *S. brasiliensis* in 67.3% ($n = 31/46$) of the samples, and with *S. schenckii* in 6.5% ($n = 3/46$). The relative abundance of *S. brasiliensis* ranged from <1% to 37% of the total reads per sample, whereas *S. schenckii* showed abundances below 1%. Two samples (4.3%) contained reads compatible with both *Sporothrix* species mentioned above (Supplementary Table S1). Notably, *Sporothrix* showed higher relative abundance in subsets of samples derived from industrial processing facilities and public markets, as well as in some samples collected directly from the marine environment, suggesting non-uniform distribution across sampling sources.

Breaking down to the fish species analyzed in the present study, adult *M. liza* samples obtained from the Public Market showed positivity for *S. brasiliensis* in 42.8% of the metagenomic-analyzed pools ($n = 6/14$), with absolute abundance ranging from 5 to 6,436 reads and relative abundance between <1% and 8.5% of the detected mycobiome. Among free-living juvenile *M. liza*, 75% of the samples ($n = 9/12$) presented reads attributed to *S. brasiliensis*, with absolute abundance ranging from 77 to 3,280 reads and relative abundance between <1% and 4.5%. For adult *C. guatucupa* obtained from fish-processing industries, 80% of the samples ($n = 8/10$) were positive for *S. brasiliensis*, with absolute abundance ranging from 45 to 23,538 reads and relative abundance between <1% and 37% of the mycobiome. In contrast, adult *M. furnieri* samples from the industries showed reads for *S. brasiliensis* in 60% of the analyzed samples ($n = 6/10$), with absolute abundance ranging from 66 to 455 reads and relative abundance below 1%, ranging from 0.08% to 0.6% of the total mycobiome.

S. schenckii was detected in a considerably smaller proportion of the analyzed samples, being present in only 6.5% of the evaluated pools ($n = 3/46$). All positive samples originated from *M. liza*, including one adult specimen obtained from the Public Market and two free-living juveniles collected at the Point 2 and Point 3 environmental sites. The absolute abundance of *S. schenckii* ranged from 57 to 198 reads, whereas its relative abundance consistently remained below 1% of the total mycobiome, varying between 0.07% and 0.26%. All positive samples originated from *M. liza*, including one

adult specimen obtained from the Public Market and two free-living juveniles collected at the beach (Point 2 and Point 3 environmental sites) (Figure 1).

Furthermore, a focused analysis of *Sporothrix* composition revealed that reads assigned to this genus were largely dominated by a small number of operational taxonomic units (OTUs), with most samples exhibiting the predominance of a single OTU (Figure 3C). In a subset of samples, multiple *Sporothrix* OTUs co-occurred, although typically at low relative abundance. Across the full dataset, five distinct *Sporothrix* OTUs were identified, indicating limited but discernible intra-genus diversity. One OTU (OTU3063) was the most frequent and widely distributed across samples, accounting for the majority of *Sporothrix*-associated reads. OTU-based phylogenetic reconstruction placed the *Sporothrix* OTUs into two well-supported clusters corresponding to reference strains of *S. brasiliensis* and *S. schenckii* (Figure 3D). Four OTUs grouped closely with *S. brasiliensis*, whereas two OTUs clustered with *S. schenckii*, confirming the presence of lineages genetically related to both species in the analyzed samples. One OTU occupied an intermediate position between these clades, consistent with either intraspecific variation or the presence of closely related but unresolved *Sporothrix* lineages.



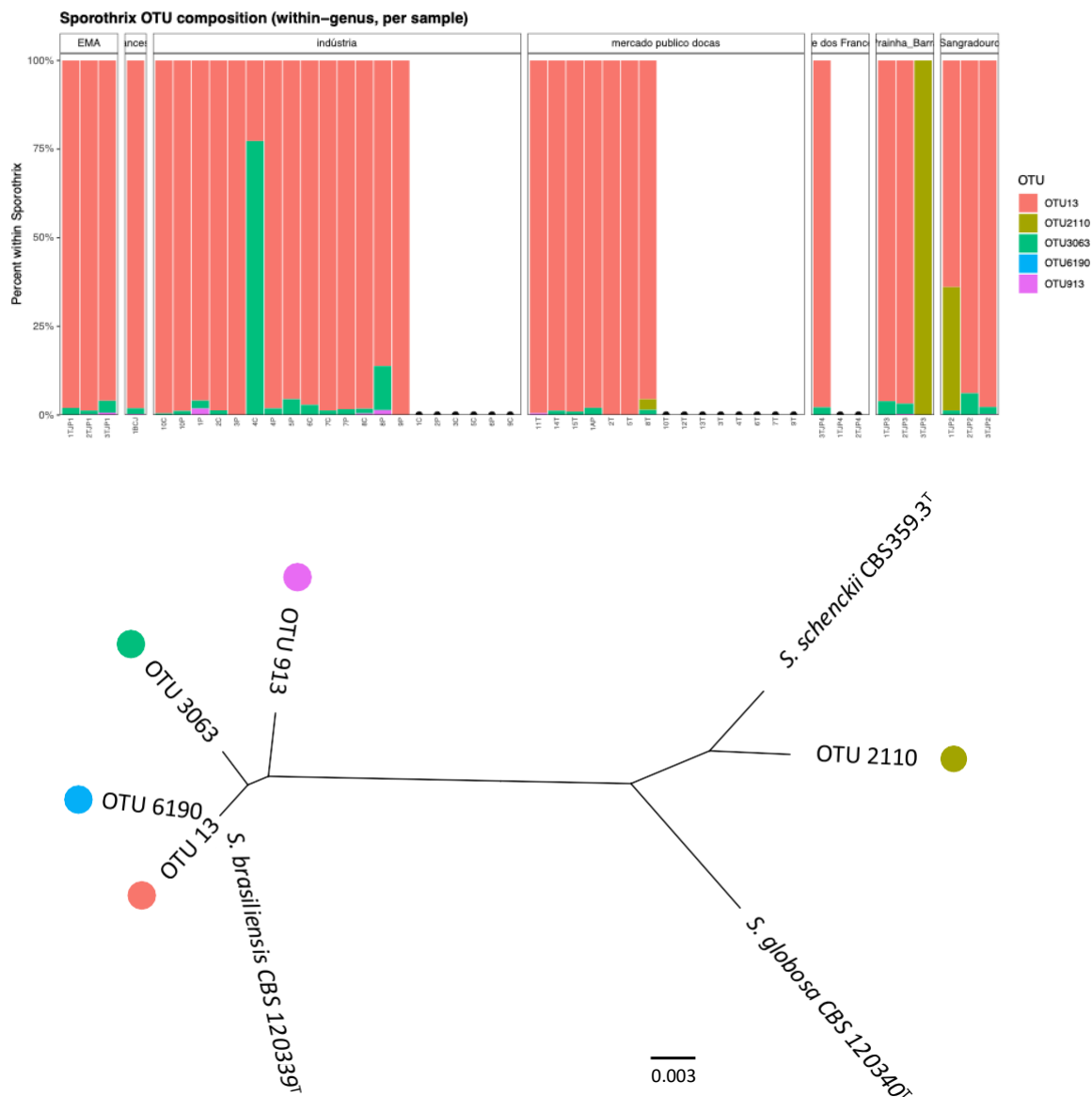


Figure 3. Fungal community structure and *Sporothrix* spp. diversity detected in fish samples by metagenomic analysis. (A) Relative abundance (%) of the fungal community at the phylum level across all analyzed samples. (B) Relative abundance (%) of the fungal community at the genus level. (C) Composition of *Sporothrix* operational taxonomic units (OTUs) at the genus/species level per sample, expressed as relative abundance (%). Samples are grouped according to the origin of the fish: public market, free-living (wild-caught), and industrially processed fish, highlighting differences among sampling sources. (D) Distribution of *Sporothrix* spp. operational taxonomic units (OTUs) detected in the analyzed samples.

Overall, stratification by fish species and origin revealed marked differences in the frequency and abundance of *S. brasiliensis*. Adult *Mugil liza* obtained from the Public Market showed positivity in 42.8% of the analyzed pools, whereas free-living juvenile *M. liza* exhibited a higher detection rate (75%). The highest frequency and abundance were observed in adult *C. guatucupa* from industrial processing facilities, where *S. brasiliensis*-related OTUs were detected in 80% of samples and reached up to 37% of the total mycobiome. In contrast, *M. furnieri* from the same industrial context showed lower relative abundances, consistently below 1%. Detection of *S. schenckii* was restricted to *M. liza* and occurred at low abundance in a small number of samples.

Despite these differences in *Sporothrix* occurrence and abundance, overall fungal community diversity remained comparable across sampling groups. Alpha diversity, assessed using the Shannon index, did not differ significantly among locations, nor did observed fungal richness expressed as OTU counts (Figure 4), indicating that variation in *Sporothrix* representation occurred against a broadly stable background of fungal diversity.

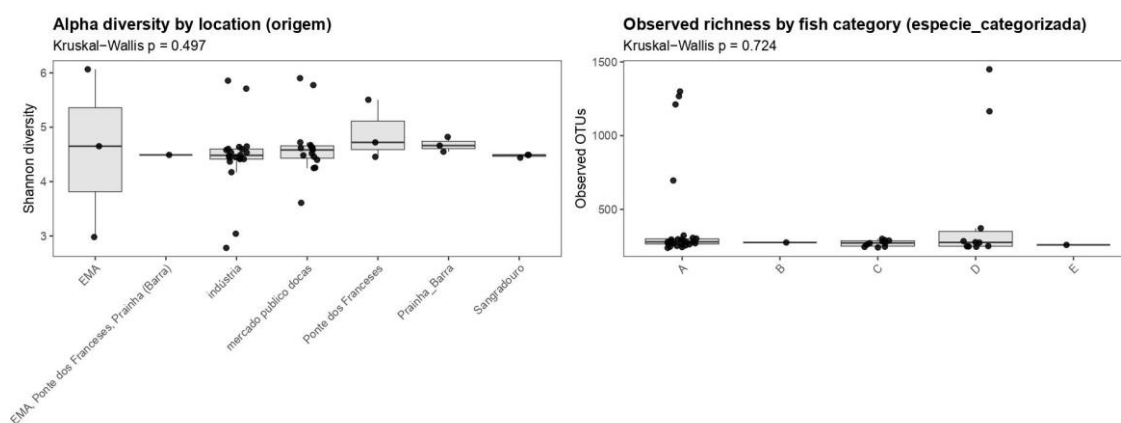


Figure 4. Alpha diversity and fungal richness across sampling locations and fish categories. (A) Alpha diversity of the fungal community measured by the Shannon diversity index across different sampling locations (origin). (B) Observed fungal richness (number of OTUs) across fish categories. Boxplots represent the median and interquartile range, with individual points corresponding to each sample. Differences among groups were assessed using the Kruskal–Wallis test, and no statistically significant differences were detected for either alpha diversity ($p = 0.497$) or observed richness ($p = 0.724$).

Mycological culture

Fungal colonies of *Sporothrix* spp. were recovered in four samples submitted to mycological culture (4/6), including three obtained from *C. guatucupa* and one from a

free-living *M. liza*. Interestingly, in *C. guatucupa*, one sample yielded positive growth in two plates, with isolation from gill tissue and from a pooled sample of scales, fins, and barbels, while no growth was observed in the fillet.

Table 2: Results of mycological culture of fishes with high total read count and absolute abundance of *Sporothrix brasiliensis*.

Species/Life stage	Origin	Total read count	Absolute abundance	Relative abundance	Culture
<i>C. guatucupa</i> Adult	Fishing industry	63551	23538	37%	Positive*
<i>C. guatucupa</i> Adult	Fishing industry	62788	65	0.10%	Positive
<i>C. guatucupa</i> Adult	Fishing industry	74858	145	0.19%	Negative
<i>C. guatucupa</i> Adult	Fishing industry	76643	1043	1.36%	Positive
<i>M. liza</i> juvenile	Free-fishing (Atlantic Ocean)	72266	3280	4.5%	Negative
<i>M. liza</i> juvenile	Free-fishing (drainage channel near the Atlantic Ocean site)	73437	803	1.09%	Positive

* The *Sporothrix* colony could not be isolated due to microbial contamination.

Genotyping by STR

The isolates from fish samples recovered in culture (n=4) were subjected to genotyping analysis, identifying four distinct genetic profiles in two distinct genetic clades. Three isolates exhibited genotypes belonging to Clade II (Rio Grande do Sul), and one belonged to Clade I (Rio de Janeiro), as described in a recent study (Trápaga et al.,

2025, *in press*). Notably, the isolates were obtained from free-living juvenile *M. liza* and *C. guatucupa*; the latter yielded two *Sporothrix* isolates with distinct genotypes, one belonging to Clade I and the other to Clade II (Figure 5).

Comparison of the four *S. brasiliensis* isolates obtained from fish with a large dataset of *S. brasiliensis* isolates from routine clinical sources identified 46 genetically corresponding isolates exhibiting genotypic profiles comparable to those recovered from human, canine, and feline patients from a region recognized as hyperendemic for sporotrichosis. Short tandem repeat (STR) analysis of the isolates obtained in this study was performed and compared with clinical *S. brasiliensis* isolates. Isolates recovered from *C. guatucupa* shared identical genotypes with 80.4% (37/46) of the clinical isolates, including samples from felines (n = 28), one canine (n = 1), and humans (n = 8), demonstrating a close genetic relationship between environmental and clinical isolates. In contrast, the *S. brasiliensis* isolate obtained from free-living juvenile *M. liza* did not share genotypes with the clinical isolates analyzed, suggesting differences in the circulating genetic profiles between the fish species evaluated or distinct epidemiological dynamics associated with these sources.

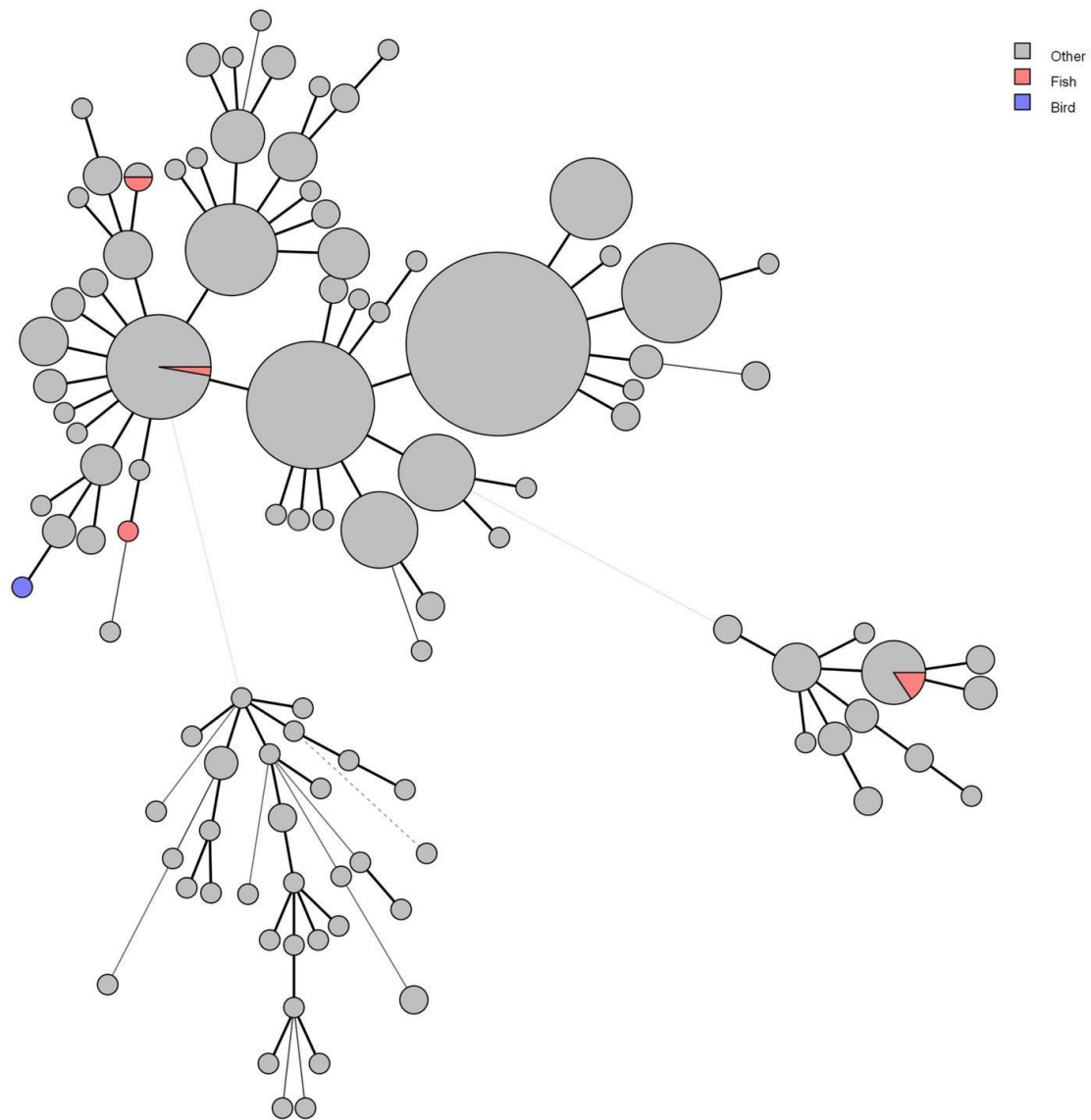


Figure 5- Short tandem repeat (STR) analysis of *Sporothrix* isolates derived from fish, seabird, and human (fisherman) samples.

Whole genome sequencing and comparative genomics

Whole-genome sequencing followed by phylogenomic reconstruction revealed a clear and highly structured population framework within the *Sporothrix* genus among isolates from fish and a seabird (**Figure 6**). Genome-wide analysis robustly separated *S. brasiliensis* and *S. schenckii* into two well-supported species-level clades, consistent with their current taxonomic classification.

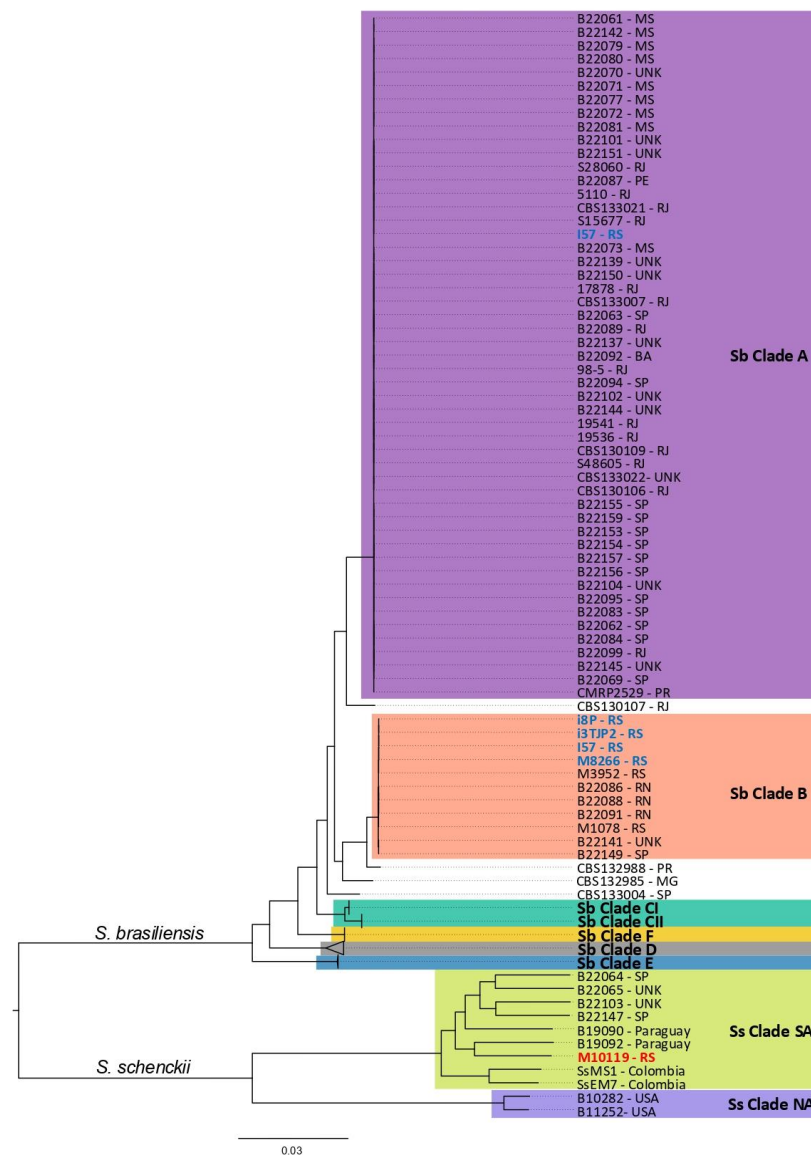


Figure 6. Maximum-likelihood phylogeny inferred from whole-genome sequencing data showing the genetic relationships among *Sporothrix* isolates included in this study, which are represented by taxa in blue within *S. brasiliensis*. Geographic origin is indicated after each isolate according to Brazilian states' two-letter abbreviations or country. Scale bar represents substitutions per site. Detailed identification of each isolate is provided in the Supplementary Material (Table S2).

Within *S. brasiliensis*, isolates are segregated into multiple deeply supported clades, revealing substantial intraspecific genetic structure. The largest and most diverse group corresponded to Sb Clade A, which comprised the majority of analyzed isolates and included strains originating predominantly from southeastern Brazil, particularly from Rio de Janeiro and São Paulo, but also from northeastern, southern and midwestern states. Only a single isolate from this study (I57) clustered with Sb Clade A. Additionally,

this clade displayed extensive internal branching, indicating long-term diversification and sustained circulation within this geographic region.

A second major lineage within *S. brasiliensis*, Sb Clade B, formed a distinct and well-supported cluster, composed mainly of isolates from southern and northeastern Brazil, in which four of our isolates, highlighted by taxa in blue (i8P; i3TJP2; 157; M8266), were clustered in this clade. Compared with Sb Clade A, Sb Clade B displayed shorter internal branch lengths and reduced phylogenetic dispersion, indicating lower observed genetic diversity. Moreover, additional *S. brasiliensis* lineages (Sb Clades C, CII, D, E, and F) were resolved as smaller, phylogenetically distinct groups branching basal to the two major clades. These minor clades comprised fewer isolates and occupied intermediate positions in the phylogeny, collectively highlighting the complex evolutionary history of *S. brasiliensis*. Collectively, *S. brasiliensis* isolates derived from fish samples grouped within clades A and B (Supplementary Table 2). The seabird-derived isolate was also clustered within clade B, together with a subset of aquatic-associated isolates.

Notably, the branching pattern of *S. brasiliensis* clades was markedly distinct from that observed in *S. schenckii*, with *S. brasiliensis* exhibiting greater lineage diversification and shorter internal branch lengths within major clades, consistent with rapid expansion and ongoing transmission. In contrast, *S. schenckii* showed longer branch lengths separating continental clades, indicative of older divergence events and more limited recent gene flow. In summary, these whole-genome analyses demonstrate that *S. brasiliensis* is composed of multiple, genetically structured lineages with strong geographic associations, whereas *S. schenckii* displays a more conservative phylogenetic architecture dominated by continental-scale divergence.

DISCUSSION

Recent reports of sporotrichosis cases associated with marine environments have raised questions of whether this fungus is restricted to terrestrial environments or may also occur in aquatic ecosystems^(26, 37). In this context, the present study provides novel evidence that *S. brasiliensis* and *S. schenckii* can be detected in fish from southern Brazil. Using both phenotypic evidence (culture-based isolation) and genomic approaches, we show that commercially relevant fish species from this region harbor genetic material from *Sporothrix*. This is the first study to systematically investigate the presence of *Sporothrix* spp. in free-living fish and fishery products from a region hyperendemic for sporotrichosis, expanding current understanding of the environmental distribution of this

fungus and highlighting the complexity of its ecology at the interface between aquatic environments, animals, and humans.

The detection of environmental fungi in fish and seafood is not exclusive to *Sporothrix*. Previous studies have reported the presence of fungal pathogens in fish and seafood, including genera such as *Aspergillus*, *Candida*, *Penicillium*, *Fusarium*, and *Exophiala* spp., even though it is often unclear whether their presence reflects true infection, superficial colonization, or environmental contamination during handling and commercialization ^(25, 38-41). Additionally, public markets represent complex ecological interfaces where zoonotic and environmental fungi may be introduced by synanthropic animals, such as rodents and stray cats, as well as through inadequate hygiene practices. Thus, the detection of *Sporothrix*'s genetic material in fish may result from multiple, non-mutually exclusive pathways, including direct environmental exposure, handling-related contamination, or indirect introduction by natural mammalian hosts.

This interpretation is further supported by the ability of fungi within the phylum Ascomycota, including taxa phylogenetically related to *Sporothrix*, to persist in aquatic environments through sediments, ice, and inanimate surfaces, facilitating passive attachment to fish tissues without necessarily establishing infection ⁽⁴²⁾. Recent experimental evidence demonstrates that *S. brasiliensis* can remain viable for weeks on a variety of inanimate surfaces relevant to exposure risk — including wood, tiles, synthetic fabrics, and stainless steel — providing a mechanistic basis for indirect transmission via contaminated fomites beyond classical sapronotic routes ⁽⁴³⁾. In parallel, environmental surveys conducted in hyperendemic areas of southeastern Brazil have isolated *S. brasiliensis* from abandoned wooden materials located near recurrent human and feline sporotrichosis cases, with high genetic similarity between environmental and clinical isolates, confirming long-term environmental survival outside host organisms ⁽⁴⁴⁾. These data support the hypothesis that environmental persistence on diverse fishing materials — including wooden boats, ropes, nets, fishing equipment, and water-contacting surfaces — may act as environmental reservoirs or mechanical vectors for *Sporothrix*. Furthermore, a few reports on sporotrichosis cases after contact with inanimate objects or fish further reinforce the plausibility of fungal presence in aquatic environments and are consistent with the detection of *Sporothrix* DNA observed in this study ^(20, 26-28). Altogether, documented environmental persistence, prolonged viability on the surface of inanimate objects, and established sapronotic niches provide a coherent conceptual framework to hypothesize that aquatic sediments and associated equipment used in

fishing and aquaculture may facilitate indirect exposures, justifying targeted culture-based and molecular surveillance studies to quantify the contribution of these reservoirs to sporotrichosis epidemiology in fish and other aquatic animals.

From an ecological perspective, we detected *Sporothrix*-associated genetic material in all fish species analyzed. However, *C. guatucupa* exhibited the highest relative abundance of *S. brasiliensis*, accounting for up to 37% of the detected mycobiome. This finding is particularly noteworthy, as *C. guatucupa* is predominantly a coastal marine species in its adult phase and shows lower tolerance to salinity fluctuations compared with *M. liza*, which is highly euryhaline, and *M. furnieri*, both of which spend a significant part of their life cycle in estuarine environments ⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾. The high abundance of *S. brasiliensis* in *C. guatucupa* therefore suggests that exposure to this pathogen may also occur in coastal marine environments, extending beyond the niches such as classical estuarine or terrestrial-associated niches. Unlike *M. liza*, which performs a well-defined long-distance reproductive migration along the southwestern Atlantic coast, *M. furnieri* and *C. guatucupa* do not exhibit true latitudinal spawning migrations, but rather seasonal regional movements associated with reproduction and the use of estuarine areas as nurseries ⁽⁴⁵⁻⁴⁹⁾. This observation exemplifies that differences in migration patterns and habitat use among these species may influence the likelihood of contact with environmental reservoirs of the fungus.

Although *S. schenckii* has historically been associated with most environmentally acquired cases of sporotrichosis, particularly those linked to soil and decomposing organic matter such as rose bushes and plant debris, the metagenomic approach employed in the present study revealed a considerably lower number of reads for this species when compared to *S. brasiliensis* ⁽³⁵⁾. This pattern likely reflects the current hyperendemic scenario of sporotrichosis caused by *S. brasiliensis* in Brazil, characterized by widespread circulation and a high capacity for zoonotic transmission, especially in association with domestic cats ⁽⁸⁾. Two plausible hypotheses may explain this hyperendemic scenario. First, *S. brasiliensis* may have originated in aquatic host environments associated with the food chain and subsequently adapted to the feline host, analogous to the previously proposed evolutionary hypothesis involving rodents. Thus, although cats are recognized as the main transmitters and also the primary victims of *S. brasiliensis* infection in humans, it is essential to broaden the investigation to other potential animal reservoirs. In this context, fish and other animals, both aquatic and terrestrial, should be considered within the epidemiological chain of sporotrichosis⁽⁵⁰⁾. Alternatively, the second

hypothesis is that inadequate disposal practices of infected feline carcasses may contribute to environmental contamination and persistence of *S. brasiliensis* in the environment, including marine ecosystems, thereby favoring its detection over other species within the genus *Sporothrix* ⁽⁵¹⁾. Supporting this interpretation, it is noteworthy that the largest sporotrichosis outbreaks in Brazil are concentrated in coastal areas, such as the states of Rio de Janeiro and Rio Grande do Sul and regions of northeastern Brazil, suggesting that environmental, climatic, and anthropogenic factors specific to these regions may influence the transmission dynamics of the pathogen ^(6, 11, 52-54).

The metagenomic profiling revealed a broadly conserved phylum-level structure of fish-associated fungal communities dominated by Ascomycota and Basidiomycota, regardless of host species or sampling origin. In contrast, pronounced heterogeneity at the genus level indicates that ecological and host-associated variation is primarily expressed at finer taxonomic scales. Within this diverse background, *Sporothrix* was consistently detected across environmental, industrial, and market-derived samples, supporting its recurrent presence rather than sporadic contamination. Although generally present at low relative abundance, *Sporothrix* reached high levels in a subset of samples, highlighting the influence of local ecological or handling-related factors on its persistence. Species-level analyses revealed a marked predominance of *S. brasiliensis*, which was detected across multiple fish species and sampling contexts, whereas *S. schenckii* occurred infrequently and at consistently low abundance. This asymmetry parallels the known ecological and epidemiological dominance of *S. brasiliensis* in Brazil and suggests a broader environmental footprint for this species. Additionally, intra-sample diversity of *Sporothrix* was limited, with most samples dominated by a single OTU, indicating constrained intra-genus variation and potential ecological filtering. Moreover, phylogenetic placement of these OTUs alongside reference strains confirmed their genetic affinity to clinically relevant *Sporothrix* species, reinforcing the biological significance of metagenomic detections. Notably, differences in *Sporothrix* abundance occurred without significant changes in overall fungal diversity, indicating lineage-specific dynamics rather than global shifts in community structure. Together, these findings expand the ecological context of pathogenic *Sporothrix* species and highlight fish-associated environments as potential niches for their environmental persistence.

Although no statistically significant differences in alpha diversity were detected among sampling sites, the greater within-group variability observed at certain locations, particularly EMA, suggests localized environmental heterogeneity. This dispersion in

Shannon index values may reflect variable environmental conditions, multiple sources of microbial input, or differences related to fish handling and exposure along the capture and commercialization chain. In contrast, sites such as Point 2 and Point 3 exhibited more clustered diversity values, indicating comparatively more homogeneous microbial communities. Overall, these findings indicate that alpha diversity is not strongly structured by sampling location, suggesting that factors other than the environment of origin, such as host-related characteristics, tissue type, or post-capture conditions, may play a more prominent role in shaping microbial diversity. Importantly, the lack of marked differences in alpha diversity does not preclude the occurrence of specific fungal taxa, including *Sporothrix* spp., within these communities, supporting the hypothesis that the presence of the fungus may be driven by compositional shifts rather than changes in overall community diversity.

Meanwhile, short tandem repeat (STR) genotyping and whole-genome phylogenomic analyses together place the fish-derived *Sporothrix* isolates within the broader population structure of *S. brasiliensis*, revealing both close genetic overlap with clinical strains and lineage-specific heterogeneity. STR analysis of four cultured isolates recovered from fish identified four distinct genotypes distributed across two previously defined clades, with three isolates assigned to Clade II (Rio Grande do Sul) and one to Clade I (Rio de Janeiro). Notably, two isolates obtained from *C. guatucupa* belonged to different STR clades, indicating that genetically distinct *S. brasiliensis* lineages can co-occur within a single fish species. Comparison with a large clinical dataset further showed that isolates from *C. guatucupa* shared identical STR profiles with the majority of human and animal clinical isolates from the same hyperendemic region, underscoring a close genetic relationship between fish-associated and clinically circulating strains. In contrast, the isolate obtained from free-living juvenile *M. liza* did not match any clinical genotypes, suggesting lineage-specific differences in ecological distribution or epidemiological connectivity among fish hosts. Whole-genome phylogenomic analysis complements these findings by placing the same isolates within established population lineages of *S. brasiliensis*, with most fish-derived isolates clustering within Sb Clade B—a genetically cohesive lineage rather than representing sporadic or phylogenetically isolated variants. The co-localization of the seabird-derived isolate within the same clade further supports the association of this lineage with non-human hosts and aquatic or coastal-associated environments. Alternatively, a single isolate grouped within the highly diverse Sb Clade A, which is dominated by isolates from southeastern Brazil. This placement suggests that

fish-associated isolates can occur across multiple major *S. brasiliensis* lineages, although they appear to be disproportionately represented within Clade B in the present dataset. Also, the highlighted *S. schenckii* isolate clustered within the South American clade, alongside isolates from other Latin American countries, reinforces the strong continental-scale phylogeographic structure observed in this species. Together, the concordance between STR-based genotypic overlap with clinical isolates and WGS-based lineage assignment indicates that fish-associated *S. brasiliensis* strains are not phylogenetically distinct or host-restricted, but instead embedded within circulating genomic lineages that include human and animal pathogens. These results highlight the value of combining high-resolution genotyping with genome-wide phylogenetics to resolve fine-scale population structure and to contextualize environmental isolates within the evolutionary landscape of an emerging fungal pathogen.

Considering this study represents an initial investigation into the presence of *Sporothrix* spp. in marine fish, it is therefore subject to important limitations. The number of viable isolates obtained was small ($n = 4$), and although both STR typing and whole-genome sequencing were performed, the limited sample size restricts the generalizability of our findings. In addition, the relatively short sampling period highlights the need for long-term monitoring to better understand temporal dynamics and potential persistence of *Sporothrix* in aquatic environments. Given the vast marine biodiversity, future studies should include a broader range of fish species and ecological niches to provide a more comprehensive assessment of the distribution, genetic diversity, and potential epidemiological role of *Sporothrix* in marine ecosystems.

Finally, although our findings do not allow us to assert the occurrence of active infection in the analyzed fish, they raise relevant hypotheses regarding possible exposure pathways, including environmental contamination, fish handling and processing, and indirect interaction with natural mammalian hosts of the genus *Sporothrix*. In this context, it becomes essential to further investigate the pathogenic potential of these fungal species in aquatic organisms, as well as to clarify whether fish may act as reservoirs, passive vectors, or merely as environmental indicators of pathogen circulation. The need for additional studies is reinforced by previously reported cases of fishermen developing sporotrichosis during fishing activities, suggesting that occupational exposure may represent a still poorly understood risk pathway. Accordingly, *in vivo* experimental studies, combined with histopathological, microbiological, and fungal viability assessments are critical to distinguish superficial contamination from true infection, as

well as to evaluate the zoonotic risk associated with contact with and consumption of fish. Taken together, these findings emphasize the importance of continuous environmental monitoring and integrated approaches under a One Health perspective, contributing to sporotrichosis surveillance in hyperendemic areas and to the development of preventive strategies aimed at public and occupational health.

Acknowledgment

The authors are grateful to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) and Brazilian program “Pesquisas Ecológicas de Longa Duração-PELD” (Brazilian LongTerm Ecological Program (BR-LTER) through the Ministry of Science and Technology (MCT/CNpq).

Supplementary Material

Supplementary Table S1: Total number of sequencing reads and absolute and relative abundance of *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii* detected in fish samples collected from different origins.

Sample	Origin	Total reads	Absolute abundance <i>S. brasiliensis</i>	Relative abundance <i>S. brasiliensis</i>	Absolute abundance <i>S. schenckii</i>	Relative abundance <i>S. schenckii</i>
2T	Market public – <i>M. liza</i>	69954	5	0,007	0	0
3T	Market public – <i>M. liza</i>	74257	0	0	0	0
4T	Market public – <i>M. liza</i>	75132	0	0	0	0
5T	Market public – <i>M. liza</i>	74444	63	0,08	0	0
6T	Market public – <i>M. liza</i>	76222	0	0	0	0
7T	Market public – <i>M. liza</i>	75649	0	0	0	0
8T	Market public – <i>M. liza</i>	75726	6436	8,4	198	0,2
9T	Market public – <i>M. liza</i>	76222	0	0	0	0
10T	Market public – <i>M. liza</i>	70028	0	0	0	0
11T	Market public – <i>M. liza</i>	74763	13	0,01	0	0
12T	Market public – <i>M. liza</i>	76315	0	0	0	0
13T	Market public – <i>M. liza</i>	75996	0	0	0	0

14T	Market public – <i>M. liza</i>	7559 1	411	0,5	0	0
15T	Market public – <i>M. liza</i>	7555 9	733	0,9	0	0
1TJP1	<i>M. liza</i> juvenile	7483 8	151	0,2	0	0
2TJP1	<i>M. liza</i> juvenile	7226 6	3280	4,5	0	0
3TJP1	<i>M. liza</i> juvenile	6956 8	149	0,2	0	0
1TJP2	<i>M. liza</i> juvenile	7524 6	253	0,3	135	0,1
2TJP2	<i>M. liza</i> juvenile	7455 6	245	0,3	0	0
3TJP2	<i>M. liza</i> juvenile	7343 7	803	1,09	0	0
1TJP3	<i>M. liza</i> juvenile	7351 5	77	0,1	0	0
2TJP3	<i>M. liza</i> juvenile	7550 4	344	0,4	0	0
3TJP3	<i>M. liza</i> juvenile	7392 2	0	0	57	0,07
1TJP4	<i>M. liza</i> juvenile	7195 0	0	0	0	0
2TJP4	<i>M. liza</i> juvenile	7603 9	0	0	0	0
3TJP4	<i>M. liza</i> juvenile	7197 4	278	0,3	0	0
1C	<i>Micropogonias furnieri</i>	7499 3	0	0	0	0
2C	<i>Micropogonias furnieri</i>	7433 7	228	0,3	0	0

3C	<i>Micropogonias furnieri</i>	76306	0	0	0	0
4C	<i>Micropogonias furnieri</i>	75998	66	0,08	0	0
5C	<i>Micropogonias furnieri</i>	75864	0	0	0	0
6C	<i>Micropogonias furnieri</i>	77593	175	0,2	0	0
7C	<i>Micropogonias furnieri</i>	75223	389	0,5	0	0
8C	<i>Micropogonias furnieri</i>	75069	455	0,6	0	0
9C	<i>Micropogonias furnieri</i>	75874	0	0	0	0
10C	<i>Micropogonias furnieri</i>	76331	219	0,2	0	0
1P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	63551	23538	37	0	0
2P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	75332	0	0	0	0
3P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	62788	65	0,1	0	0
4P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	70767	108	0,15	0	0
5P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	52490	45	0,08	0	0
6P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	68564	0	0	0	0
7P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	75006	184	0,2	0	0
8P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	74858	145	0,1	0	0
9P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	75169	264	0,3	0	0

10P	<i>Cynoscion guatucupa</i>	7664 3	1043	1,3	0	0
-----	--------------------------------	-----------	------	-----	---	---

Supplementary Table S2: Origin of clinical and environmental samples of *Sporothrix* spp.

Identification of the isolate	Origin
<i>i57</i>	<i>C. guatucupa</i> Fishing industry (gills)
<i>i57</i>	<i>C. guatucupa</i> (Pool of scales, fins, and fish bones)
<i>i8P</i>	<i>C. guatucupa</i>
<i>i3TJP2</i>	<i>M. liza</i> juvenile Point 2
<i>M8266</i>	Seabird

REFERENCES

1. Marimon R, Cano J, Gene J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. J Clin Microbiol. 2007;45(10):3198-206.
2. Rodrigues AM, Della Terra PP, Gremiao ID, Pereira SA, Orofino-Costa R, de Camargo ZP. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. Mycopathologia. 2020;185(5):813-42.
3. Morgado DS, Castro R, Ribeiro-Alves M, Correa-Moreira D, Silva J, Menezes RC, et al. Systematic review of literature to evaluate global distribution of species of the *Sporothrix* genus stored in culture collections. Front Cell Infect Microbiol. 2024;14:1382508.
4. Queiroz-Telles F, Nucci M, Colombo AL, Tobon A, Restrepo A. Mycoses of implantation in Latin America: an overview of epidemiology, clinical manifestations, diagnosis and treatment. Med Mycol. 2011;49(3):225-36.

5. Gremião IDF, Miranda LHM, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLOS Pathogens*. 2017;13(1):e1006077.
6. Gremiao IDF, Oliveira MME, Monteiro de Miranda LH, Saraiva Freitas DF, Pereira SA. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(3):621-4.
7. Poester VR, Stevens DA, Basso RP, Munhoz LS, Zanchi M, Benelli JL, et al. CATastrophe: Response to the challenges of zoonotic sporotrichosis in southern Brazil. *Mycoses*. 2022;65(1):30-4.
8. Munhoz LS, Poester VR, Severo CB, Trapaga MR, Madrid IM, Benelli JL, et al. Update of the Epidemiology of the Sporotrichosis Epidemic in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mycoses*. 2022;65(12):1112-8.
9. Rachman R, Ligaj M, Chinthapalli S, Serafino Wani R. Zoonotic acquisition of cutaneous *Sporothrix brasiliensis* infection in the UK. *BMJ Case Rep*. 2022;15(5).
10. Barnacle JR, Chow YJ, Borman AM, Wyllie S, Dominguez V, Russell K, et al. The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America. *Med Mycol Case Rep*. 2023;39:14-7.
11. Poester VR, Xavier MO, Munhoz LS, Basso RP, Zancope-Oliveira RM, Freitas DFS, et al. *Sporothrix brasiliensis* Causing Atypical Sporotrichosis in Brazil: A Systematic Review. *J Fungi (Basel)*. 2024;10(4).
12. de-Oliveira-Nobre M, Potter-de-Castro A, Caetano D, Leonardo-de-Souza L, Araujo-Meireles MC, Ferreiro L. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Rev Iberoam Micol*. 2001;18(3):137-40.
13. Rodrigues AM, de Melo Teixeira M, de Hoog GS, Schubach TM, Pereira SA, Fernandes GF, et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(6):e2281.
14. Eudes Filho J, Santos IBD, Reis CMS, Patane JSL, Paredes V, Bernardes J, et al. A novel *Sporothrix brasiliensis* genomic variant in Midwestern Brazil: evidence for an older and wider sporotrichosis epidemic. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):2515-25.
15. de Souza Rabello VB, de Melo Teixeira M, Meyer W, Irinyi L, Xavier MO, Poester VR, et al. Multi-locus sequencing typing reveals geographically related intraspecies variability of *Sporothrix brasiliensis*. *Fungal Genet Biol*. 2024;170:103845.
16. Colombo SA, de Carvalho JA, Bicalho GC, de Magalhaes Soares DF, de Oliveira CSF, Tavares GC, et al. The Emergence of New *Sporothrix brasiliensis* Genotypes in Current Epidemic of Sporotrichosis in Southeastern Brazil. *Mycoses*. 2024;67(9):e13792.
17. do Prado CM, Razzolini E, Santacruz G, Ojeda L, Geraldo MR, Segovia N, et al. First Cases of Feline Sporotrichosis Caused by *Sporothrix brasiliensis* in Paraguay. *J Fungi (Basel)*. 2023;9(10).
18. Fuchs T, Visagie CM, Wingfield BD, Wingfield MJ. *Sporothrix* and Sporotrichosis: A South African Perspective on a Growing Global Health Threat. *Mycoses*. 2024;67(10):e13806.
19. Matute DR, Teixeira MM. *Sporothrix* is neglected among the neglected. *PLoS Pathog*. 2025;21(3):e1012898.

20. Bao F, Huai P, Chen C, Wang S, Zhang Y, Li Z, et al. An Outbreak of Sporotrichosis Associated With Tying Crabs. *JAMA Dermatol.* 2025;161(8):883-5.
21. de Lima Barros MB, Schubach TM, Galhardo MC, de Oliveira Schubach A, Monteiro PC, Reis RS, et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(6):777-9.
22. Ziarati M, Zorriehzahra MJ, Hassantabar F, Mehrabi Z, Dhawan M, Sharun K, et al. Zoonotic diseases of fish and their prevention and control. *Vet Q.* 2022;42(1):95-118.
23. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024 - Blue Transformation in action. Rome, Italy: FAO; 2024 2024. 264 p.
24. Leme FC, Negreiros MM, Koga FA, Bosco Sde M, Bagagli E, Haddad Junior V. Evaluation of pathogenic fungi occurrence in traumatogenic structures of freshwater fish. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(2):182-5.
25. Le F, Liu B, Si Z, Li S, Qiao J. Prevalence of Dermatitis and Superficial Fungal Infection of the Hands in Seafood Workers: An Investigation from Food Markets in Ningbo, China. *Risk Manag Healthc Policy.* 2020;13:427-31.
26. Mayorga R, Caceres A, Toriello C, Gutierrez G, Alvarez O, Ramirez ME, et al. [An endemic area of sporotrichosis in Guatemala]. *Sabouraudia.* 1978;16(3):185-98.
27. Haddad VJ, Miot HA, Bartoli LD, Cardoso Ade C, de Camargo RM. Localized lymphatic sporotrichosis after fish-induced injury (*Tilapia* sp.). *Med Mycol.* 2002;40(4):425-7.
28. Xavier MO, Bittencourt LR, Silva CM, Vieira RS, Pereira HC. Atypical presentation of sporotrichosis: report of three cases. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46(1):116-8.
29. Argenta FF. Tecnologia de pescado: características e processamento da matéria-prima. [Work completion of specialization]. In press 2012.
30. NAÉRCIO A. MENEZES CDOMN. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). *Zootaxa.* 2010(2519):10.
31. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods.* 2016;13(7):581-3.
32. Abarenkov K, Nilsson RH, Larsson KH, Taylor AFS, May TW, Froslev TG, et al. The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Res.* 2024;52(D1):D791-D7.
33. Spruijtenburg B, Bombassaro A, Meijer EFJ, Rodrigues AM, Grisolia ME, Vicente VA, et al. *Sporothrix brasiliensis* genotyping reveals numerous independent zoonotic introductions in Brazil. *J Infect.* 2023;86(6):610-3.
34. Ribeiro Dos Santos A, Misas E, Min B, Le N, Bagal UR, Parnell LA, et al. Emergence of zoonotic sporotrichosis in Brazil: a genomic epidemiology study. *Lancet Microbe.* 2024;5(3):e282-e90.
35. Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, Mochizuki T, Li S. Global epidemiology of sporotrichosis. *Med Mycol.* 2015;53(1):3-14.

36. Ramirez-Soto MC, Aguilar-Ancori EG, Tirado-Sanchez A, Bonifaz A. Ecological Determinants of Sporotrichosis Etiological Agents. *J Fungi (Basel)*. 2018;4(3).
37. Toriello C, Brunner C, Parra-Jaramillo L. Climate Change and Its Impact on Sporotrichosis. 2022. p. 87-97.
38. Yanong RP. Fungal diseases of fish. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2003;6(2):377-400.
39. Hatai K. Diseases of fish and shellfish caused by marine fungi. *Prog Mol Subcell Biol*. 2012;53:15-52.
40. Gomes AL, de Godoy SH, de Castro Burbarelli MF, Chaguri MP, de Sousa RL, Fernandes AM. Fish feed mycobiota and aflatoxins in round fish tissues. *J Sci Food Agric*. 2022;102(4):1391-6.
41. Shabir U, Dar JS, Bhat AH, Nazir R, Ameen F. The hidden world of fish fungal pathogens: molecular identification and phylogenetic analysis in common carp, *Cyprinus carpio*. *Arch Microbiol*. 2023;205(9):311.
42. Grossart HP, Van den Wyngaert S, Kagami M, Wurzbacher C, Cunliffe M, Rojas-Jimenez K. Fungi in aquatic ecosystems. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(6):339-54.
43. Cognialli RCR, Queiroz-Telles F, Cavanaugh AM, Redigueri BC, Santos GCD, Matias FM, et al. New Insights on Transmission of *Sporothrix brasiliensis*. *Mycoses*. 2025;68(3):e70047.
44. Rabello VBS, Almeida-Silva F, Scramignon-Costa BS, Motta BDS, de Macedo PM, Teixeira MM, et al. Environmental Isolation of *Sporothrix brasiliensis* in an Area With Recurrent Feline Sporotrichosis Cases. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:894297.
45. Jaureguizar A, Guerrero R. Striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*) population structure in waters adjacent to Rio de la Plata, environmental influence on its inter-annual variability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 2009;85:89-96.
46. Lemos VM, Varela AS, Jr., Schwingel PR, Muelbert JH, Vieira JP. Migration and reproductive biology of *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in south Brazil. *J Fish Biol*. 2014;85(3):671-87.
47. Lisboa V, Barcarolli IF, Sampaio LA, Bianchini A. Acclimation of juvenile *Mugil liza* Valenciennes, 1836 (Mugiliformes: Mugilidae) to different environmental salinities. *Neotropical Ichthyology*. 2015;13.
48. Jaureguizar AJ, Militelli MI, Guerrero R. Distribution of *Micropogonias furnieri* at different maturity stages along an estuarine gradient and in relation to environmental factors. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 2008;88(1):175-81.
49. Fontoura NF, Schulz UH, Alves TP, Silveira TCL, Pereira JJ, Antonetti DA. How Far Upstream: A Review of Estuary-Fresh Water Fish Movements in a Large Neotropical Basin. *Frontiers in Marine Science*. 2019;Volume 6 - 2019.
50. Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal-Animal Transmission. *PLoS Pathog*. 2016;12(7):e1005638.
51. Dias Cavalcanti E, Camargo Ignácio T, Kunrath SE, Mano Meinerz AR, Osório de Farias R, da Gama Osório L. Sporothricosis: review. *Pubvet*. 2018;12(11).

52. Poester VR, Mattei AS, Madrid IM, Pereira JTB, Klafke GB, Sanchotene KO, et al. Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic? *Zoonoses Public Health*. 2018;65(7):815-21.
53. Lacerda Filho AM, Cavalcante CM, Da Silva AB, Inacio CP, de Lima-Neto RG, de Andrade MCL, et al. High-Virulence Cat-Transmitted Ocular Sporotrichosis. *Mycopathologia*. 2019;184(4):547-9.
54. Aguiar BA, Borges IL, Silva BWL, Rodrigues FRN, Goncalves LD, do Rosario Casseb A, et al. First case report of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in the state of Ceara - Brazil. *Med Mycol Case Rep*. 2023;40:12-5.

7. MANUSCRITO 3

Artigo aceito para publicação na data 17 de outubro de 2025 na Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde, ISSN - 2446-5410.

Título: Confecção de materiais para ensino e popularização da micologia

Autores: Bruna Muradás Esperon, Vanice Rodrigues Poester, Jéssica Estefania Davila Hidalgo, Caroline Vanessa Bauman Bertti, Everaldo Arashiro, Melissa Orzechowski Xavier

A doutoranda foi responsável pela realização dos cultivos micológicos destinados à aplicação em resina, incluindo preparo, monitoramento do crescimento e padronização das condições experimentais. Ademais, elaborou o guia teórico que fundamenta o produto educacional, participando do planejamento do design didático, da organização do conteúdo técnico-científico e da redação do artigo científico derivado do estudo.

Confecção de materiais para ensino e popularização da micologia

Preparation of materials for teaching and popularization of mycology

Bruna Muradás Esperon^[1,2], Vanice Rodrigues Poester^[1,2], Jéssica Estefania Davila Hidalgo^[1,2], Caroline Vanessa Bauman Bertti^[3], Everaldo Arashiro^[3],
Melissa Orzechowski Xavier^[1,2]

[1] Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande do Sul, Brasil.

[2] Laboratório de Micologia, FAMED, FURG, RS, Brasil.

[3] Laboratório Ciência 3D (Ci3D), Instituto de Matemática, Estatística e Física (IMEF), FURG, RS, Brasil

Autor de correspondência: Prof^a Dr^a Vanice Rodrigues Poester e Prof^a Dr^a Melissa Orzechowski Xavier. Laboratório de Micologia, FAMED, FURG, Campus Saúde. Visconde de Paranaguá 102, Centro, 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil.

Telefone: (+55) 53-32374636/ 4634 **e-mail:** vanicerp@gmail.com e melissaxavierfurg@gmail.com

RESUMO| Introdução: A superficialidade no ensino da micologia, ciência que estuda os fungos, é uma realidade nos distintos níveis de formação dos educandos no Brasil, desde o ensino básico ao superior. Como consequência há prejuízo no avanço de inovações biotecnológicas, bem como na saúde, sendo muitas doenças fúngicas negligenciadas. Soma-se a essa problemática a carência de materiais educativos pedagógicos que abordem a temática da micologia. **Objetivo:** Logo, o objetivo deste estudo é reportar à elaboração de material de cunho didático-pedagógico para auxílio no ensino da micologia. **Metodologia:** Foram produzidos cultivos fúngicos duradouros, e protótipos da microscopia desses microrganismos em impressão 3D, acompanhados de um guia teórico, representando vinte gêneros/espécies fúngica. **Resultados:** O desenvolvimento desses materiais propõe uma alternativa lúdica e inovadora de recurso didático, aplicável tanto no ensino fundamental e médio, como em laboratórios de ensino e pesquisa em instituições de ensino superior, bem como em atividades de extensão. Tratam-se de materiais de alta durabilidade e que permitem a visualização plena de características necessárias à identificação de fungos de importância biotecnológica e médica. **Conclusão:** Espera-se ampla utilização do material desenvolvido, para que o mesmo contribua para a disseminação do conhecimento micológico de forma mais acessível e engajadora, enfrentando a negligência histórica das doenças fúngicas e consequentemente, favoreça o diagnóstico precoce e adequado de micoses, por

meio da formação de profissionais mais conscientes, críticos e preparados para lidar com infecções fúngicas emergentes e reemergentes.

Palavras-chave: Fungos; Micoses; Microbiologia; Educação em saúde; Extensão universitária.

ABSTRACT: Introduction: Superficial teaching of mycology, the science that studies fungi, is a reality at all levels of education in Brazil, from primary to higher education. This hinders the advancement of biotechnological innovations and hinders health, with many fungal diseases being neglected. This problem is compounded by the lack of educational materials addressing mycology. **Objectives:** Therefore, the objective of this study is to report on the development of didactic-pedagogical material to aid in the teaching of mycology. **Methods:** Long-lasting fungal cultures and microscopic prototypes of these microorganisms were produced using 3D printing, accompanied by a theoretical guide, representing twenty genera/species of fungi. **Results:** The development of these materials proposes a playful and innovative teaching resource, applicable in both primary and secondary education, as well as in teaching and research laboratories in higher education institutions, as well as in outreach activities. These are highly durable materials that allow for the full visualization of characteristics necessary for the identification of fungi of biotechnological and medical importance. **Conclusion:** The developed material is expected to be widely used, so that it contributes to the dissemination of mycological knowledge in a more accessible and engaging way, addressing the historical neglect of fungal diseases and consequently, favoring the early and adequate diagnosis of mycoses, through the training of more aware, critical and prepared professionals to deal with emerging and re-emerging fungal infections.

Keywords: Fungi; Mycoses; Microbiology; Health education; University extension.

INTRODUÇÃO

O desconhecimento sobre os inúmeros benefícios e malefícios dos fungos, bem como sobre o atual impacto das micoses na sobrevivência e/ou a qualidade de vida de ~7 milhões de pacientes ao redor do mundo anualmente¹ são decorrentes da abordagem defasada da micologia nos distintos cenários e níveis da educação². A escassez de materiais didáticos sobre essa área em diferentes esferas da educação, desde o ensino básico até o superior potencializam esse desconhecimento, contribuindo indiretamente para que as doenças fúngicas sejam negligenciadas³, e consequentemente haja falta de políticas públicas relacionadas à sua prevenção⁴.

Os fungos de importância médica, apresentam características macroscópicas e microscópicas importantes para sua identificação, como diferentes colorações, aspectos, texturas de colônia e características micro morfológicas como formação celular – pluri ou unicelular - formato e tipo de hifas, conídios, e blastoconídios, etc^{5,6}. Desse modo, a utilização de materiais educativos que permitam a visualização dessas características em instituições de ensino sem laboratórios equipados para tal é uma alternativa facilitadora do ensino-aprendizagem devido a ativação da memória visual, agregando na geração, percepção, armazenamento, análise e transformação dessas imagens em conteúdo educacional⁷.

Dessa forma, levando em consideração à importância dos fungos para o ambiente e para o ser humano somado à escassez de materiais didáticos para o ensino da micologia, faz-se necessário o emprego do conhecimento para elaboração de distintos materiais e técnicas que auxiliem no ensino sobre características morfológicas dos fungos de forma criativa, didática, dinâmica e interativa, facilitando a compreensão e assimilação de conteúdos⁸. Para tanto, materiais de alta durabilidade, que facilitem a logística, reduzam o tempo de preparo bem como o desperdício com consumíveis laboratoriais são fundamentais para a sustentabilidade. Com isso, a criação de modelos de colônias fúngicas em resina cristal poliéster incolor, bem como a criação de protótipos em impressão 3D das características microscópicas dos fungos são alternativas que agregam ambos processos de identificação (macro e microscopia), e também proporcionam uma maior transparência, resistência mecânica, rigidez e durabilidade, sendo potenciais materiais didáticos que somarão a disseminação do conhecimento micológico para o ensino básico^{7,9}. Dessa forma, o objetivo do presente estudo é reportar e descrever a elaboração de material didático duradouro e seu respectivo guia teórico para o ensino da micologia.

MÉTODOS

Período e local do estudo

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Micologia da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e no

Laboratório de Ciência 3D (Ci3D), localizado no Instituto de Matemática, Estatística e Física (IMEF) da FURG durante o período de 2023 e 2024.

Recurso didático desenvolvido

No intuito de auxiliar o ensino da identificação fúngica, recursos didáticos de características macroscópicas e microscópicas destes microrganismos foram desenvolvidos. Para avaliação macroscópica foram confeccionadas colônias duradouras de gênero/espécies de fungos, utilizando resina epóxi. Para micromorfologia, protótipos de estruturas fúngicas microscópicas foram construídas em impressão 3D.

Colônias Fúngicas duradouras

Gêneros/espécies fúngica(o)s

Como exemplares de fungos filamentosos foram incluídos isolados de *Aspergillus* secção *Flavi*, *Aspergillus* secção *Fumigati*, *Aspergillus* secção *Nigri*, *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* (*Nannizzia gypsea*), *Trichophyton rubrum*, *Trichoderma* sp., *Curvularia* spp., *Cladosporium* spp. e *Rhizopus* sp., de fungos leveduriformes utilizamos *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Exophiala werneckii* (*Hortaea werneckii*), *Rhodotorula* spp., *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichosporon* spp., e de dimórficos foi incluído *Sporothrix* spp.. Todos os isolados utilizados encontravam-se armazenados na Coleção de Fungos do Grupo de Micologia Médica da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

Preparação de meios e Cultivo Micológico

Para crescimento das colônias fúngicas filamentosas foi utilizado o meio de cultivo Ágar Batata Dextrose (PDA, KASVI®, São José dos Pinhais, PR, Brasil) e para colônias leveduriformes foi utilizado o meio de cultivo Ágar Sabouraud Dextrose (KASVI®, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Adicionalmente, para *Cryptococcus* spp. e *Candida* spp. foram utilizados os meios diferenciais Ágar Niger e *Chromagar Candida*® (BD – Becton Dickinson, Franklin Lakes, Nova Jersey, Estados Unidos), respectivamente. Os fungos filamentosos foram cultivados em placas de Petri, semeados em um ou dois pontos equidistantes, a partir do preparo de inóculo fúngico em solução salina e semeadura de 20uL em cada ponto. Enquanto espécies leveduriformes foram cultivadas a partir de desenhos representativos dos nomes de cada espécie e/ou

utilizando a técnica de semeadura por estriamento simples com alça de platina estéril. Todas as colônias fúngicas foram incubados à 25°C, acompanhando-se por 2 a 15 dias até o crescimento satisfatório conforme peculiaridades de cada espécie/gênero fúngica(o).

Fixação dos cultivos

Após o crescimento satisfatório das colônias fúngicas, cerca de 2ml de resina epóxi de alta transparência (COMFIBRAS®, Porto Alegre, Brasil) foi adicionada à superfície dos cultivos fúngicos, cobrindo-os totalmente. Para isso, o sistema de moldagem foi composto por dois componentes: a resina epóxi (com base em bisfenol A e epicloridrina) e o agente endurecedor (triethylenetetramine e álcool benzílico). A proporção utilizada foi de 2:1 (resina: endurecedor), conforme especificações do fabricante. A mistura foi realizada em recipiente limpo, com auxílio de espátula plástica, durante aproximadamente 3 a 5 minutos, até completa homogeneização sendo posteriormente adicionada aos cultivos fúngicos. As peças foram mantidas a temperatura ambiente por até 48 horas para secagem total do material (Figura 3).

Protótipos para ensino da microscopia fúngica (impressão 3D e *Lithophane*)

Para representação microscópica dos fungos a partir de protótipos foi inicialmente realizada a modelagem tridimensional das estruturas fúngicas, realizada em colaboração com o Laboratório de Ciência 3D (Ci3D), localizado no Instituto de Matemática, Estatística e Física (IMEF) da FURG.

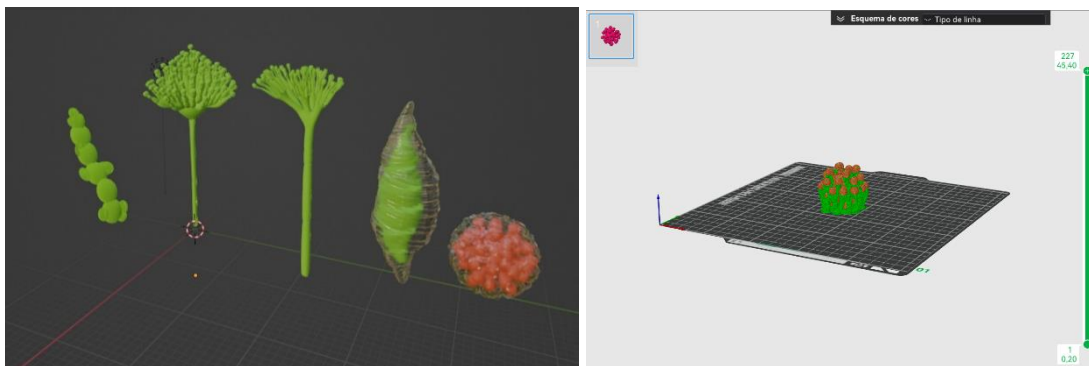
Para assegurar a precisão dos modelos, foram utilizadas referências de imagens microscópicas e descrições morfológicas¹⁰. Ao longo do processo, ajustes contínuos foram realizados para adaptar as características dos modelos às limitações das tecnologias de impressão, como espessura mínima de camada e resolução. Essa etapa de criação dos modelos envolveu o uso de *softwares* de design assistido por computador (CAD), como o *Blender* (**Figura 1Aa**), para criar modelos digitais precisos das estruturas dos fungos. A modelagem digital permitiu ajustar fatores como escala, simetria e espessura, além de garantir que os modelos fossem compatíveis com os requisitos técnicos das impressoras 3D.

Concluída a modelagem, os arquivos foram exportados no formato STL (*Standard Triangle Language*) (**Figura 1Ab**), amplamente utilizado em impressão 3D por sua capacidade de descrever superfícies tridimensionais por meio de malhas triangulares, passando assim à etapa de prototipagem física, utilizando duas principais tecnologias: FDM (Modelagem por Fusão e Deposição)¹¹ e a impressão com resina¹². A escolha da tecnologia foi feita com base nas especificidades de cada modelo. Para os modelos impressos por FDM (**Figura 1Ba**), que utilizam filamentos de polímeros termoplásticos, foram ajustadas a estabilidade das estruturas e parâmetros como temperatura, velocidade de impressão e o material.

Nos casos em que era necessário maior detalhamento, foi utilizada a impressão 3D com resina, que emprega uma resina líquida fotossensível solidificada por luz ultravioleta (UV) (**Figura1 Bb**). Essa técnica permitiu obter alta resolução e detalhes mais refinados, reproduzindo com maior precisão as características das estruturas microscópicas dos fungos filamentosos (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., e *Microsporum* sp.), dimórficos (*Sporothrix* sp. e *Histoplasma* sp.), fungo leveduriforme (*Candida* sp.) e fungo macroscópico do gênero *Amanita*. A escolha da espessura das camadas e da resolução final foi ajustada conforme a complexidade dos modelos.

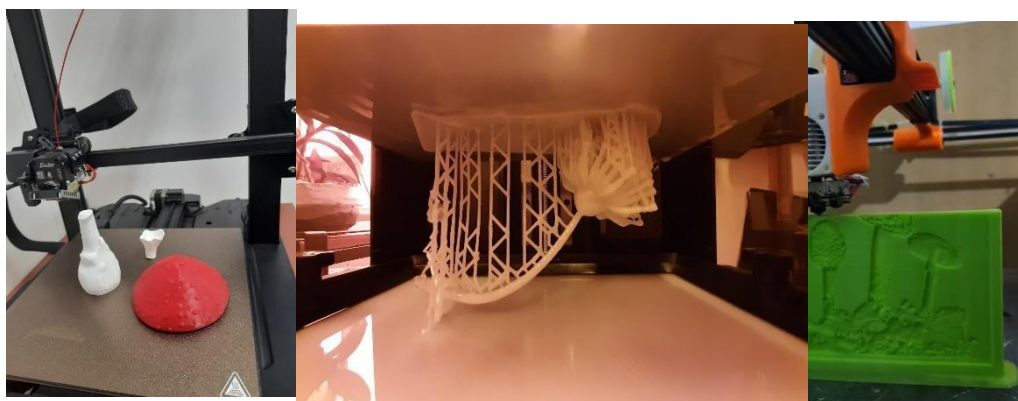
Além dos modelos tridimensionais, o projeto também abrangeu a produção de materiais didáticos, como placas de moldes fúngicos utilizando a FDM (**Figura 1Bc**). A técnica de *Lithophane*¹³, que gera imagens tridimensionais visíveis por meio de variações de espessura, foi aplicada para criar materiais que facilitam a visualização das estruturas fúngicas sob iluminação, sendo produzido material do fungo macroscópico do gênero *Amanita*, fungos microscópicos filamentosos (*Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.) e leveduriformes (*Candida* sp.).

Figura1A) Processo de criação de modelos tridimensionais de fungos para impressão 3D: **(a)** Visualização no software Blender; **(b)** Arquivo no formato STL pronto para impressão.



Fonte: Acervo dos autores, 2025.

Figura **1B)** Construção de protótipos de fungos **(a)** Prototipação, usando a impressora FDM, da *Amanita* sp. **(b)** Prototipação do *Penicillium* spp. utilizando a impressora em resina. **(c)** Confeccção, com a impressora FDM, do lithophane da *Amanita* sp.



Fonte: Acervo dos autores, 2025.

Elaboração de guia teórico

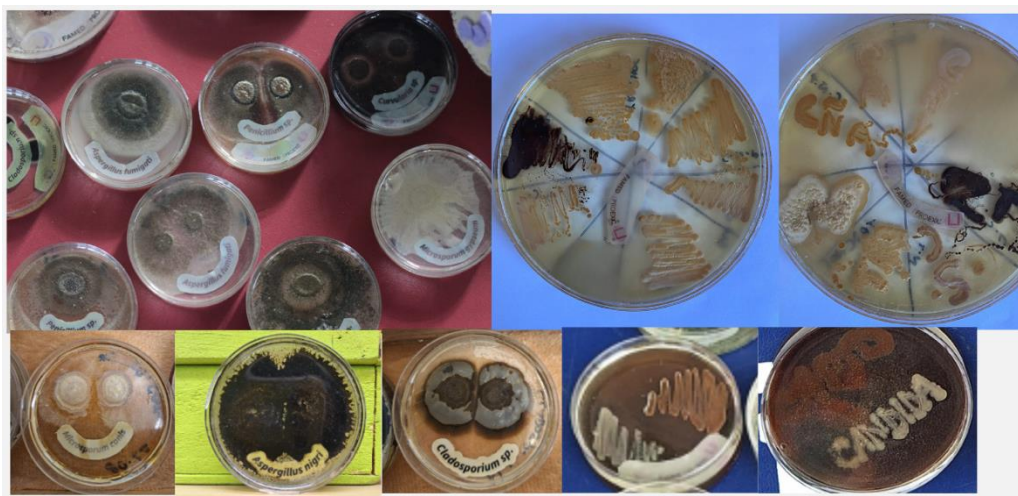
Para complementar o recurso didático físico desenvolvido, foi confeccionado um do guia teórico. Para tal, foi utilizado a plataforma *Canva*® (CANVA PTY LTD, Sydney, Austrália) e foram elaborados textos simplificados e didáticos. O guia conteve informações básicas de cada espécie/gênero fúngica(o), tais como nome científico, seu benefício para o meio ambiente e/ou seu potencial biotecnológico (indústria alimentícia, farmacêutica, têxtil, entre

outros) ou seu malefício (descrição da doença ocasionada pelo gênero/espécie), habitat (ar, solo, água, animais ou humanos), velocidade de crescimento, e características macroscópicas (coloração do verso e reverso, textura e topografia) e micromorfológicas (filamentosos: espessura das hifas e coloração, presença de septos ou não e formato e disposição dos conídios; levedura: brotamento e formato dos blastoconídios). Durante a elaboração do material teórico foram consultados livros didáticos sobre micologia médica^{6,10,14}.

RESULTADOS

Ao todo foram produzidos 64 cultivos fúngicos em resina, representando treze gêneros/espécies fúngicas filamentosas (n=60): *M. gypseum* (*N. gypsea*) (n=7), *M. canis* (n=3), *Penicillium* sp. (n=6), *Fusarium* sp. (n=4), *T. rubrum* (n=4), *Rhizopus* sp. (n=3), *Trichoderma* sp. (n=2), *A. secção Nigri* (n=10), *A. secção Flavi* (n=3), *A. secção Fumigati* (n=3), *Cladosporium* sp. (n=6), *Curvularia* sp. (n=4), *Sporothrix* sp. (cultivado em fase filamentosa, n=5), (Figura 1), e leveduriformes (n=4): cultivados em ágar Niger - *Candida* spp. e *Cryptococcus* sp. (n=1); cultivados em *Chromagar Candida*® - *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* (n=1), e semeados (n=2) em ágar Sabouraud Dextrose - *Candida* sp., *Cryptococcus* sp., *Rhodotorula* sp., *S. cerevisiae* e *Trichosporon* sp. (Figura 3).

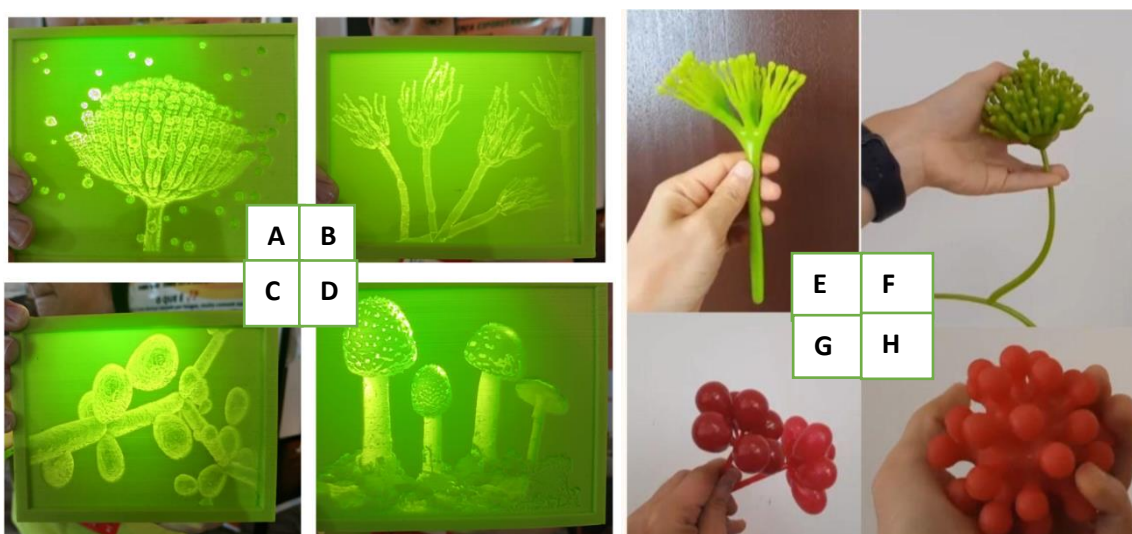
Figura 2: Cultivos fúngicos de fungos filamentosos e leveduriformes conservado em resina para finalidade de apoio ao ensino de micologia básica.



Fonte: Acervo dos autores, 2025.

Em relação aos protótipos impressos em 3D (n=11) (Figura 4) foi realizado em média três tentativas por espécie fúngica (mínimo uma tentativa e máximo seis tentativas) - tendo em vista que durante a impressão não conseguia ser observado os detalhes das estruturas fúngicas ou quebrava no momento em que era realizado a remoção dos suportes. A técnica de *Lithophane* foi realizada com sucesso em 100% das tentativas, totalizando quatro exemplares.

Figura 3: Material de apoio alternativo e auxiliar para o ensino da Micologia, *Lithophane* de fungos e Protótipos em resina de fungos microscópicos em 3D. A) Placa com características microscópicas de *Aspergillus* sp.; B) Placa com características microscópicas de *Penicillium* sp.; C) Placa com características microscópicas de *Candida* sp.; D) Placa com características de um fungo macroscópico do gênero *Amanita* sp. E) *Penicillium* sp.; F) *Aspergillus* sp.; G) *Sporothrix* sp. e H) *Histoplasma* sp.



Fonte: Acervo dos autores, 2025.

Adicionalmente, o guia teórico foi elaborado contendo 28 páginas, elencando as características de todos os fungos abordados nas placas de resina e nos protótipos em impressão 3D (n=20 gêneros/espécies fúngica). Destes, 75% são associados a benefícios a vida humana, animal e/ou ambiental tais como *Rhizopus* sp. e *Penicillium* sp., os quais são importantes enquanto decompositores e no processo de reciclagem de nutrientes, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *S. cerevisiae*, *Fusarium* sp. e *Trichoderma* sp. utilizados na produção de alimentos, medicamentos ou na indústria têxtil e *Candida* sp.

associada a absorção de alimentos e no processo digestivo. Adicionalmente, 85% dos fungos abordados são associados a infecções fúngicas superficiais, subcutâneas, sistêmicas ou oportunistas para humanos e/ou animais, tais como, *Aspergillus* sp. (quadros alérgicos a doenças sistêmicas graves), *Candida* sp., (agente etiológico de micose cutânea, onicomicose ou de quadros mais graves como sepse), *Cryptococcus* sp. (meningite e/ou doença pulmonar), *Fusarium* sp. (ceratite ou infecção sistêmica grave), *Histoplasma* sp. (doença pulmonar) *Microsporum* sp. (dermatofitoses), *Trichophyton rubrum* (onicomicoses) e *Sporothrix* sp. (micose subcutânea) (Figura 5).

Figura 4: Material teórico de apoio com a finalidade de ser utilizado juntamente com os materiais didáticos desenvolvidos, placas com colônias fúngicas em resina e protótipos em impressão 3D.



Fonte: Elaborado pelos autores, 2025.

DISCUSSÃO

Levando em consideração que infecções fúngicas são globalmente associadas a impactos significativos na morbi/mortalidade de pacientes, especialmente devido a emergência de novos patógenos, à expansão

epidemiológica de agentes já estabelecidos e ao aumento de resistência antifúngica de forma global, é urgente a necessidade de medidas que enfrentem esse cenário¹⁵. Nesse contexto, um dos pilares para enfrentamento é associado a promoção de ações educativas conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde¹⁶ para diferentes patógenos incluídos em nosso estudo (*A. secção Fumigati*, *Candida spp*, *Cryptococcus spp.*, *Histoplasma spp.*). Dessa forma, o reporte de produção de materiais duradouras e cativantes possui potencial em auxiliar a disseminação do conhecimento micológico em diferentes esferas educacionais, contribuindo a longo prazo como a educação em saúde e consequentemente incremento na prevenção e controle de patógenos fúngicos prioritários ou causadores de Doenças Tropicais Negligenciadas¹⁶⁻¹⁷. Diversos estudos ressaltam à importância do desenvolvimento de programas educacionais como ferramenta para prevenção e gestão de problemas de saúde pública, o que reforça a necessidade de investir em iniciativas que aproximem a ciência e a pesquisa científica da sociedade como um todo¹⁸⁻²⁰.

Além disso, ressalta-se que materiais didáticos utilizados no ensino básico por vezes contém informações defasadas sobre fungos microscópicos, principalmente associadas a falta de conexão desses patógenos com a saúde humana e animal, explicando a base de negligência das doenças fúngicas²¹⁻²³. Destaca-se que, diferentes formações da área da saúde (enfermagem, ciências biológicas, entre outras) não abordam no seu quadro de sequência lógica, os fungos como patógenos e há escassez, ou mesmo até ausência, da abordagem da micologia nas disciplinas referentes a área de microbiologia e/ou doenças infecciosas, trazendo uma grave defasagem de conhecimento sobre estes patógenos²⁴⁻²⁵. Nesse sentido, o material proposto no presente estudo é uma alternativa para ser utilizado na sala de aula (ensino básico, técnico e/ou superior), aportado por conteúdo prático, bem como em eventos que promovam educação em saúde para a sociedade.

Nesse cenário, o material didático, desenvolvido com modelos tridimensionais de estruturas microscópicas fúngicas e cultivos fúngicos em resina, representa uma alternativa viável e inovadora para a educação em micologia. Ao possibilitar a visualização concreta e o manuseio de estruturas antes restritas à microscopia, esse recurso contribui para ampliar a compreensão

sobre os fungos e fortalecer a relação entre o conteúdo científico e o cotidiano, promovendo uma aprendizagem mais significativa, sensorial e contextualizada. A proposta responde diretamente aos desafios apontados por diversos autores quanto ao ensino de Microbiologia, frequentemente caracterizado como abstrato, invisível aos sentidos e pouco conectado à realidade dos estudantes²⁶⁻²⁸. A predominância de metodologias expositivas, centradas na transmissão teórica de conteúdos, tem se mostrado insuficiente para instigar o interesse e promover uma aprendizagem efetiva²⁶. Em adição, a limitação de recursos, principalmente com equipamentos como microscópios, nas instituições de ensino, sobretudo as públicas de ensino básico, dificulta a realização de práticas laboratoriais que são atividades fundamentais para consolidar o conhecimento e desenvolvimento de habilidades²⁷, contudo, recursos como o desenvolvido e reportado nesse estudo são uma alternativa para aprofundar o aprendizado teórico, podendo contribuir para o despertar do interesse dos alunos pela área da micologia e ampliar sua percepção sobre a importância dos fungos no cotidiano e seu impacto para a saúde pública.

Além da contribuição pedagógica, o material desenvolvido também se destaca pelo seu alinhamento com os princípios de sustentabilidade e inovação. A durabilidade dos modelos em resina e dos materiais impressos em ciência 3D e a possibilidade de reuso ilimitado reduzem o consumo recorrente de insumos descartáveis, o que vai ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), como o ODS 4 (Educação de Qualidade) e o ODS 12 (Consumo e Produção Sustentáveis)²⁹. Somado a isso, vale ressaltar que o material desenvolvido tem potencial de expansão para contextos de ensino com menor infraestrutura, como escolas públicas e projetos comunitários, ampliando o acesso ao conhecimento científico.

CONCLUSÃO

Em suma, frente a escassez de materiais didáticos para o ensino da micologia e o grave impacto das doenças fúngicas, as placas cultivadas em resina e os protótipos impressos pela ciência 3D oferecem vantagens de serem recursos manuseáveis, duráveis e que oferecem uma melhor visualização, auxiliando no processo de ensino-aprendizagem. Além de suprir uma lacuna

educacional, o material desenvolvido visa estimular e reforçar a necessidade de inovação no ensino da micologia com criação de novos recursos didáticos e sustentáveis. Essa iniciativa pode impulsionar estudos futuros que explorem a conservação de cultivos fúngicos em diferentes tipos de resina e/ ou outros métodos, bem como novas abordagens para o desenvolvimento de materiais na interface entre impressão, ciência 3D e micologia.

REFERÊNCIAS

1. GAFFI. Global Action Fund for Fungal Infections [Internet]. [citado 2023 jun]. Disponível em <<https://gaffi.org/>>.
2. Dos Santos Ferreira, Jeocarla; Dos Santos Ferreira, Alexandre. Atividades Teórico-Práticas com ênfase em fungos: uma proposta para o Ensino Médio. *Rev de Ens de Ciên e Matemát*. 2017; 8 (2), p. 1-13.
3. Rodrigues ML, Nosanchuk JD. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(2):e0007964.
4. Santana RR, et al. Extensão Universitária como Prática Educativa na Promoção da Saúde. *Educ Realidade*. 2021;46, p. e98702.
5. Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micol Méd contemporânea*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
6. Zaitz C. Introdução ao Estudo da Micologia Médica. In: Zaitz C, Marques SA, Ruiz LRB, Framil VMS, orgs. *Compêndio micol médica*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. p. 1-3.
7. Sousa AB, Salgado TDM. Memória, aprendizagem, emoções e inteligência. *Rev Liberato*. 2015;16(26):141-152.
8. De Carvalho AC, Pereira M. Coleção zoológica didática: incrustação de artrópodes em resina acrílica. *Rev Sci Vitae*. 2023;13(37):60-74.
9. Przybysz C, Scolin E. Técnica anatômica: confecção de modelos em resina a partir de vértebras humana. *F@ PCiencia*. 2008;2(10).
10. Zaitz C, Ruiz LR, Souza VM. *Atlas micol médica: diagnóstico laboratorial*. 2 ed. São Paulo: Medsi; 2004.
11. Kun K. Reconstruction and development of a 3D printer using FDM technology. *Procedia Eng*. 2016; 149:203-211.
12. Gupta P, et al. Designing of cost effective resin 3D printer using UV LED. In: 2020 International Conference on Convergence to Digital World-Quo Vadis (ICCDW). IEEE; 2020. p. 1-4.
13. Reddy SRA. A lithophane model making process to 3D printers. *Int J Mech Eng Technol*. 2020;11(5):48-53.
14. Xavier MO, Poester VR, Severo CB. *Fungos Microscópicos: Heróis ou Vilões: Fungopédia em: os dois lados da mesma moeda*. Porto Alegre: Casa Letras; 2023.

15. Parsons MG, Diekema DJ. What is new in fungal infections? *Mod Pathol*. 2023;36(6):100187.
16. World Health Organization. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. *World Health Organization*; 2022.
17. World Health Organization. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third WHO report on neglected tropical diseases 2015. *World Health Organization*; 2015.
18. Ribeiro KG, et al. Educação e saúde em uma região em situação de vulnerabilidade social: avanços e desafios para as políticas públicas. *Interface (Botucatu)*. 2018;22(supl 1):1387-1398.
19. Butala C, Fyfe J, Welburn SC. The contribution of community health education to sustainable control of the neglected zoonotic diseases. *Front. Public Health*. 2021;9:729973.
20. Scagliarini A, Peltoniemi O, Michel AL. Taking a fresh look at old zoonoses, what have we been missing in One Health research and education? *Front. Public Health*. 2022;10:895277.
21. Rosa MD, Mohr A. Os fungos na escola: análise dos conteúdos de micologia em livros didáticos do ensino fundamental de Florianópolis. *Exper Ciências*. 2010;5(3):90-98.
22. Rosa MD, et al. A Micologia como conteúdo da disciplina de Biologia no Ensino Médio: uma análise dos livros didáticos aprovados no PNLD-2018. *Rev Thema*. 2019;16(3):617-635.
23. Gomes BS. Análise do processo de ensino e aprendizagem sobre os fungos em livros didáticos do Ensino Médio. *Sci Electron Arch*. 2022;15(5).
24. Oda W, Delizoicov D. Docência no Ensino Superior: as disciplinas Parasitologia e Microbiologia na formação de professores de Biologia. *Rev Bras Pesq Educ Ciênc*. 2011;11(3):101-121.
25. Estrela KB, Weiser VL, Ganiko-Dutra M. Quais são as áreas de atuação em Micologia? Percepções de estudantes da formação inicial em Ciências Biológicas. *Ciênc Educ (Bauru)*. 2023;29:e23032.
26. Silva AS, Fraga NM. A Arte aplicada ao ensino de Biologia: confecção de modelos didáticos de microrganismos. *Educ Pública*. 2017;17(11).
27. Stamm TFT, De Castro Martins JL. Abordagem de microorganismos nos livros didáticos de ciências. *Res Soc Dev*. 2020;9(4):e50942825.
28. De Sousa Alves FA, et al. Uso de modelo didático no ensino de morfologia das bactérias. *Ens Ciênc Tecnol Rev-ENCITEC*. 2022;12(2):38-50.
29. Organização das Nações Unidas (ONU). Transformando nosso mundo: a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. [Internet]. [citado 2025 8 jun]. Disponível em <<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>>

Correspondência para/Reprint request to:

Vanice Rodrigues Poester e Melissa Orzechowski Xavier

Laboratório de Micologia, FAMED, FURG, Campus Saúde. Visconde de
Paranaguá 102

Centro, Rio Grande/RS, Brasil

CEP: 96201-900

vanicerp@gmail.com e melissaxavierfurg@gmail.com

8. CONCLUSÕES

- O estudo desenvolvido no Manuscrito 1 destaca importantes desafios no manejo e tratamento dos gatos acometidos por esporotricose em área hiperendêmica no sul do RS, evidenciando limitações na adesão ao tratamento, alta taxa de mortalidade/recidiva e alto impacto na renda das famílias. Os resultados reforçam a necessidade urgente de medidas de saúde pública voltadas ao controle da esporotricose, incluindo vigilância epidemiológica, fortalecimento dos serviços de assistência, ampliação do acesso à terapêutica antifúngica e ações contínuas de educação em saúde para tutores e profissionais;
- Os achados do Manuscrito 1 também apontam a carência de conhecimento da população sobre a doença e o impacto disso na evolução clínica dos animais, indicando a importância de programas educativos e campanhas de conscientização. Essas evidências contribuem para orientar políticas públicas e futuras investigações que apoiem estratégias mais eficientes de prevenção e controle da esporotricose felina e zoonótica na região;
- O estudo apresentado no Manuscrito 2 fornece evidências inéditas da presença de *Sporothrix* spp. em peixes provenientes de diferentes origens, espécies, estágios de vida e ambientes, em uma região reconhecidamente hiperendêmica para a esporotricose. A utilização de uma abordagem integrada, combinando metagenômica, cultivo micológico, sequenciamento de genoma completo e genotipagem, permitiu a detecção consistente de *S. brasiliensis* e *S. schenckii*, bem como o isolamento de cepas geneticamente relacionadas a linhagens clínicas humanas e animais descritas no Brasil;
- Os achados do Manuscrito 2 ampliam o entendimento sobre os possíveis nichos ambientais e ciclos de manutenção de *Sporothrix* spp., sugerindo que ambientes aquáticos podem atuar como compartimentos até então pouco explorados na epidemiologia da esporotricose. Esses resultados reforçam a necessidade de incorporar a dimensão ambiental e aquática nas estratégias de vigilância e investigação da doença, especialmente em áreas endêmicas;
- Além disso, estudo realizado do Manuscrito 2 levanta hipóteses relevantes sobre potenciais rotas de exposição ocupacional e ambiental, particularmente no contexto da cadeia produtiva do pescado e de atividades de pesca. Dessa forma, o

estudo contribui para o avanço do conhecimento científico sobre a ecologia de *Sporothrix* spp. e fundamenta futuras pesquisas voltadas à avaliação do risco sanitário, à interface saúde humana, animal, ambiental e ao desenvolvimento de estratégias preventivas sob a perspectiva de Saúde Única.

- Frente à escassez de recursos didáticos voltados ao ensino da micologia, o Artigo 3 demonstrou que placas de cultivos micológicos resinadas e modelos anatômicos produzidos por impressão 3D constituem ferramentas pedagógicas inovadoras, manuseáveis e de alta durabilidade, capazes de facilitar a visualização e compreensão de estruturas macro e micromorfológicas dos fungos. Esses materiais se mostram especialmente úteis para estudantes do ensino básico, técnico e superior, reduzindo lacunas formativas existentes;
- O desenvolvimento e validação dos materiais de ensino apresentados no Artigo 3 evidenciam o potencial da interface entre ciência 3D, impressão e micologia como estratégia para modernizar práticas pedagógicas. A iniciativa incentiva a produção de novos recursos educacionais sustentáveis e abre caminho para pesquisas futuras envolvendo conservação de cultivos fúngicos em diferentes tipos de resina e desenvolvimento de protótipos didáticos avançados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARENKOV, Kessy et al. The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. D1, p. D791-D797, 2024.

AGUIAR, Belisa Araújo et al. First case report of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in the state of Ceará–Brazil. **Medical Mycology Case Reports**, v. 40, p. 12-15, 2023.

ALMEIDA, F. De et al. Statistical data on sporotrichosis; analysis of 344 cases. 1955.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Biosynthesis and Functions of a Melanoid Pigment Produced by Species of the *Sporothrix* Complex in the Presence of L-Tyrosine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. a 78, n. 24, p. 8623–8630, 15 dez. 2012.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* is associated with atypical clinical presentations. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v.8, p. e3094, 2014.

ALMEIDA-PAES, Rodrigo et al. The present and future research agenda of sporotrichosis on the silver anniversary of zoonotic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 119, p. e230208, 2024.

ALMEIDA-SILVA, Fernando et al. Evaluation of Five Non-Culture-Based Methods for the Diagnosis of Meningeal Sporotrichosis. *Journal of Fungi*, v. 9, n. 5, 1 maio 2023.

ALVAREZ, Carmen Magaly; OLIVEIRA, Manoel Marques Evangelista; PIRES, Regina Helena. Sporotrichosis: a review of a neglected disease in the last 50 years in Brazil. **Microorganisms**, v. 10, n. 11, p. 2152, 2022.

ALVES, Sydney Hartz et al. *Sporothrix schenckii* associated with armadillo hunting in Southern Brazil: epidemiological and antifungal susceptibility profiles. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 523-525, 2010.

AMAZONAS. Lei Ordinária nº 5.410, de 24 de fevereiro de 2021. Acesso em: <https://sapl.al.am.leg.br/media/sapl/public/normajuridica/2021/11238/5410.pdf>, 30 de dezembro de 2024.

ARANTES-FERREIRA, G.S. et al. Disseminated sporotrichosis in a liver transplant patient: a case report. In: **Transplantation Proceedings**. Elsevier, 2019. p. 1621-1624.

ARAÚJO, Aurélio A. et al. Mathematical model of the dynamics of transmission and control of sporotrichosis in domestic cats. **Plos one**, v. 18, n. 2, p. e0272672, 2023.

ARAUJO, Marcella Donadel et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification for the Diagnosis of Sporotrichosis by *Sporothrix brasiliensis*. *Mycopathologia*, v. 189, n. 5, p. 73, 3 ago. 2024

Argenta FF. Tecnologia de pescado: características e processamento da matéria-prima. [Work completion of specialization]. In press 2012.

ARRILLAGA-MONCRIEFF, I. et al. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, n. 7, p. 651–655, 2009.

BARCELOS, Gabriel Prado; WEISER, Veridiana de Lara; GANIKO-DUTRA, Matheus. Representativeness of Mycology in initial training in biological sciences: a documentary analysis of syllabi and teaching materials. **Ensaio Pesquisa em Educação em Ciências (Belo Horizonte)**, v. 27, p. e53640, 2025.

BARNACLE, J. R. et al. The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America. **Medical Mycology Case Reports**, v. 39, p. 14-17, 2023.

BARROS, Mônica Bastos de Lima et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 777-779, 2001.

BARROS, Monica Bastos de Lima et al. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 455-460, 2010.

BARROS, M. B. L.; PAES, R. A.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* e Esporotricose. *Clin Microbiol Rev.*, v. 24, n. 4, p. 633-654, 2011.

BASTOS, Fernanda de Andrade Galliano Daros et al. Spread of *Sporothrix* spp. through respiratory droplets from infected cats: A potential route of transmission. **Medical Mycology**, v. 60, n. 11, nov. 2022.

BAO, Fangfang et al. An Outbreak of Sporotrichosis Associated With Tying Crabs. **JAMA dermatology**, v. 161, n. 8, p. 883-885, 2025.

BEAMAN, M. H. Sporotrichosis in Western Australia. **Microbiology Australia**, v. 23, p. 16, 2002.

BENTO, A. et al. The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 8, p. e0009693, 2021

BENVEGNÚ, A. M. et al. Disseminated cutaneous sporotrichosis in patient with alcoholism. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2017.

BERNARDES-ENGEMANN, Andréa Reis et al. Validation of a serodiagnostic test for sporotrichosis: A follow-up study of patients related to the Rio de Janeiro zoonotic outbreak. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 28–33, 16 dez. 2014.

BRANDOLT, T. M. et al. Human sporotrichosis: A zoonotic outbreak in southern Brazil, 2012–2017. **Medical mycology**, v. 57, n. 5, p. 527-533, 2019.

BRASIL. Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 19 ago. 2020.

BRASIL. Decreto nº 12.342, de 30 de dezembro de 2024, que dispõe sobre o valor do salário mínimo a vigorar a partir de 1º de janeiro de 2025. Diário Oficial da União. Acesso

em http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2023-2026/2024/decreto/d12342.htm, 30 de Dezembro de 2024.

BRAZIL, Ministério da Saúde. (2025, March 18). Portaria GM/MS nº 6.734/2025, de 18 de março de 2025. Acess em <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-6.734-de-18-de-marco-de-2025-620767223>, 18 de março de 2025.

BUTALA, Caitlin; FYFE, Jenna; WELBURN, Susan Christina. The contribution of community health education to sustainable control of the neglected zoonotic diseases. **Frontiers in public health**, v. 9, p. 729973, 2021.

BROWN, Lottie et al. The molecular diagnosis of invasive fungal diseases with a focus on PCR. **Diagnostics**, v. 15, n. 15, p. 1909, 2025.

CALLAHAN, Benjamin J. et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods**, v. 13, n. 7, p. 581-583, 2016.

CASTRO, R. A. et al. Differences in Cell Morphometry, Cell Wall Topography and Gp70 Expression Correlate with the Virulence of *Sporothrix brasiliensis* Clinical Isolates. **PLOS ONE**, v. 8, n. 10, p. e75656, 7 out. 2013.

CAVALCANTI, E. et al. Esporotricose: Revisão. **Pubvet**, v. 12, p. 133, 2018.

CHAKRABARTI, Arunaloke et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical mycology**, v. 53, n. 1, p. 3-14, 2015.

CHUNG, Dawoon; KIM, Haryun; CHOI, Hyun Seok. Fungi in salterns. **Journal of Microbiology**, v. 57, p. 717-724, 2019.

CIVILA, Eduardo S. et al. Importance of the direct fresh examination in the diagnosis of cutaneous sporotrichosis. **International journal of dermatology**, v. 43, n. 11, p. 808-810, 2004.

COGNIALLI, Regielly et al. A lateral flow assay for the immunodiagnosis of human cat transmitted sporotrichosis. **Mycoses**, 2022.

COGNIALLI, Regielly Caroline Raimundo et al. *Sporothrix brasiliensis* Atypical Dimorphism in Tissue. **Mycopathologia**, v. 190, n. 6, p. 111, 2025a.

COGNIALLI, Regielly CR et al. New Insights on Transmission of *Sporothrix brasiliensis*. **Mycoses**, v. 68, n. 3, p. e70047, 2025b.

COLOMBO, Salene Angelini et al. The emergence of new *Sporothrix brasiliensis* genotypes in current epidemic of sporotrichosis in Southeastern Brazil. **Mycoses**, v. 67, n. 9, p. e13792, 2024.

CÓRDOBA, S. et al. Molecular identification and susceptibility profile of *Sporothrix schenckii* sensu lato isolated in Argentina. **Mycoses**, v. 61, n. 7, p. 441–448, 2018.

COSTA, Flávia de Fátima et al. New Insights on Environmental Occurrence of Pathogenic Fungi Based on Metagenomic Data from Brazilian Cerrado Biome. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. e22210097, 2022.

- CRESTANI, Larissa et al. Therapeutic failure with itraconazole in sporotrichosis due to bariatric surgery. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 95, n. 2, p. 241-243, 2020.
- DA COSTA, G. L. et al. Soil samples from sporotrichosis transmission belt area: Searching for fungal species and their antagonistic activity against *Sporothrix brasiliensis*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 1033969, 2022.
- DE ALBUQUERQUE COSTA, Mônica et al. Cutaneous sporotrichosis on a tattoo: two simultaneous unusual case reports. **Revista Médica de Minas Gerais**, 2025.
- DE ANDRADE GALLIANO DAROS BASTOS, Fernanda et al. Spread of *Sporothrix* spp. through respiratory droplets from infected cats: a potential route of transmission. **Medical Mycology**, v. 60, n. 11, p. myac079, 2022.
- DE CARVALHO, Jamile Ambrósio et al. Trends in molecular diagnostics and genotyping tools applied for emerging *Sporothrix* species. **Journal of fungi**, v. 8, n. 8, p. 809, 2022.
- DE CARVALHO, Angela Caroline; PEREIRA., Márcio. Coleção zoológica didática: incrustação de artrópodes em resina acrílica. **Revista Scientia Vitae**, v. 13, n. 37, p. 60-74, 2023.
- DE CARVALHO, Mariana Cruzetta et al. Potential Clinical Use of Maldi-Tof Ms for Identification of *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenkii*. **Available at SSRN 5357295**.
- DE LIMA, Rafaela Silva; LIMA, Renato Abreu. Concepção de estudantes sobre fungos em escolas estaduais do município de Humaitá–Amazonas (Brasil). **Educamazônia-Educação, Sociedade e Meio Ambiente**, v. 15, n. 2, jul-dez, p. 283-295, 2022.
- DELLA TERRA, P. P. et al. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 8, p. e0005903, 30 ago. 2017.
- DELLA TERRA, Paula Portella et al. Development and evaluation of a multiplex qPCR assay for rapid diagnostics of emerging sporotrichosis. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 4, p. e704–e716, 1 jul. 2022.
- DE MACÊDO-SALES, Pâmella Antunes et al. Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina em amostras coletadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil: limitações da citopatologia por imprint. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 9, n. 2, p. 7-7, 2018.
- DE MIRANDA, Luisa Helena Monteiro et al. Monitoring fungal burden and viability of *Sporothrix* spp. in skin lesions of cats for predicting antifungal treatment response. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 92, 2018.
- DE SOUSA ALVES, Francisca Aparecida et al. Uso de modelo didático no ensino de morfologia das bactérias. **Ensino de Ciências e Tecnologia em Revista–ENCITEC**, v. 12, n. 2, p. 38-50, 2022
- DE SOUZA, Elaine Waite et al. Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 9074, 2018.

- DE SOUZA, Bianca Moreira et al. Responsible ownership and health education can reduce the time of sporotrichosis treatment in domestic cats. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 227, p. 106211, 2024.
- DO CARMO SILVA, Livia et al. Veterinary application of LAMP: a simple and visual detection tool for feline sporotrichosis. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 1-11, 2025.
- DO PRADO, Carolina Melchior et al. First cases of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Paraguay. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 10, p. 972, 2023.
- DOS SANTOS FERREIRA, Jeocarla; DOS SANTOS FERREIRA, Alexandre. Atividades Teórico-Práticas com ênfase em fungos: uma proposta para o Ensino Médio. **Revista de Ensino de Ciências e Matemática**, v. 8, n. 2, p. 1-13, 2017.
- DOS SANTOS, Amanda Ribeiro et al. Emergence of zoonotic sporotrichosis in Brazil: a genomic epidemiology study. **The Lancet Microbe**, v. 5, n. 3, p. e282-e290, 2024.
- DUMONT-VIOLLAZ, Ailén; SANTOS, dos Amanda Ribeiro; THOMSON, Pamela. Zoonotic sporotrichosis: Systematic review and clinical aspects of feline and canine cases. **Medical Mycology**, v. 63, n. 7, p. myaf060, 2025.
- EUDES FILHO, João et al. A novel *Sporothrix brasiliensis* genomic variant in Midwestern Brazil: evidence for an older and wider sporotrichosis epidemic. **Emerging microbes & infections**, v. 9, n. 1, p. 2515-2525, 2020.
- ETCHECOPAZ, A. N. et al. *Sporothrix brasiliensis*: A growing hazard in the Northern area of Buenos Aires Province?. **Rev. Argent. Microbiol**, v. 52, p.350 351.2020.
- ESTRELA, Kevin Borges; WEISER, Veridiana de Lara; GANIKO-DUTRA, Matheus. Quais são as áreas de atuação em Micologia? Percepções de estudantes da formação inicial em Ciências Biológicas. **Ciência & Educação (Bauru)**, v. 29, p. e23032, 2023.
- FERNANDES, Geisa Ferreira et al. Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. **Veterinary Microbiology**, v. 147, n. 3–4, p. 445–449, 27 jan. 2011.
- FERNANDES, B. et al. A case of disseminated sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Medical mycology case reports**, v. 21, p. 34-36, 2018.
- FERNANDEZ, Norma B. et al. Genotyping and clonal origin of *Sporothrix brasiliensis* in human sporotrichosis cases in Argentina. **Medical Mycology Case Reports**, v. 43, p. 100633, 2024.
- FERREIRA, Francisco HG; LEITE, Phillippe G.; LITCHFIELD, Julie A. The rise and fall of Brazilian inequality: 1981–2004. **Macroeconomic Dynamics**, v. 12, n. S2, p. 199-230, 2006.
- FICHMAN, Vivian et al. Severe sporotrichosis treated with amphotericin B: A 20 year cohort study in an endemic area of zoonotic transmission. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p. 469, 2022a.

- FICHMAN, Vivian et al. Sporotrichosis after tattooing caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Mycopathologia**, v. 187, n. 1, p. 137-139, 2022.
- FONTOURA, Nelson Ferreira et al. How far upstream: A review of estuary-fresh water fish movements in a large neotropical basin. **Frontiers in Marine Science**, v. 6, p. 39, 2019.
- FREITAS, D. FS et al. Increase in virulence of *Sporothrix brasiliensis* over five years in a patient with chronic disseminated sporotrichosis. **Virulence**, v. 6, n. 2, p. 112-120, 2015.
- FUCHS, Taygen et al. *Sporothrix* and Sporotrichosis: a South African perspective on a growing global health threat. **Mycoses**, v. 67, n. 10, p. e13806, 2024.
- GAFFI. Global Action Fund for Fungal Infections. Disponível em <<https://gaffi.org/>>. Acesso junho de 2023.
- GARCÍA DUARTE, Jesús Manuel et al. Esporotricosis transmitida por gato doméstico. Reporte de un caso familiar. **Revista del Nacional (Itauguá)**, v. 9, n. 2, p. 67-76, 2017.
- GEZUELE, Elbio; DA ROSA, Daniel. Relevancia del cuerpo asteroide esporotricósico en el diagnóstico rápido de la esporotricosis. **Revista iberoamericana de micología**, v. 22, n. 3, p. 147-150, 2005.
- GODOY-MARTÍNEZ, Patricio et al. Zoonotic sporotrichosis by *Sporothrix brasiliensis* in Chile: evidence of emerging transmission under a One Health perspective. **Journal of Fungi**, Basel, v. 12, n. 1, p. 51, 2026.
- GOMES, Bruno Severo. Análise do processo de ensino e aprendizagem sobre os fungos em livros didáticos do Ensino Médio. **Scientific Electronic Archives**, v. 15, n. 5, 2022.
- GOMES, Amanda L. et al. Fish feed mycobiota and aflatoxins in round fish tissues. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 4, p. 1391-1396, 2022.
- GONSALES, F. F. et al. Direct PCR of lesions suggestive of sporotrichosis in felines. **Arq. bras. med. vet. zootec.** (Online), v. 72, n. 5, p. 2002–2006, set. 2020.
- GOVENDER, Nelesh P. et al. An outbreak of lymphocutaneous sporotrichosis among mine-workers in South Africa. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 9, p. e0004096, 2015.
- GREMIÃO, I.D.F et al. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. **Medical mycology**, v. 53, n. 1, p. 15-21, 2015.
- GREMIÃO, I.D. F. et al. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 1, p. e1006077, 2017.
- GREMIÃO, I. D. F. et al. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 26, n. 3, p. 621–624, mar. 2020a.
- GREMIÃO, I. D. F et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian journal of Microbiology**, v. 52, p. 107-124, 2020b.

- GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira et al. Advances and challenges in the management of feline sporotrichosis. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 39, n. 3-4, p. 61-67, 2022.
- GROSSART, Hans-Peter et al. Fungi in aquatic ecosystems. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 6, p. 339-354, 2019.
- GUPTA, A. K.; RYDER, J. E.; JOHNSON, A. M. Cumulative meta-analysis of systemic antifungal agents for the treatment of onychomycosis. **British Journal of Dermatology**, v. 150, n. 3, p. 537-544, 2004.
- GUPTA, P. et al. Designing of Cost Effective Resin 3D Printer using UV LED. In: **2020 International Conference on Convergence to Digital World-Quo Vadis (ICCDW)**. IEEE, 2020. p. 1-4.
- GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. et al. Epidemiological aspects of sporotrichosis epidemic in Brazil. **Current Fungal Infection Reports**, v. 9, n. 4, p. 238-245, 2015.
- HADDAD, Vidal. Infecções cutâneas e acidentes por animais traumatizantes e venenosos ocorridos em aquários comerciais e domésticos no Brasil: descrição de 18 casos e revisão do tema. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 79, p. 157-167, 2004.
- HATAI, Kishio. Diseases of fish and shellfish caused by marine fungi. In: **Biology of marine fungi**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 15-52.
- HAY, Rod J.; MORRIS-JONES, Rachel. Outbreaks of sporotrichosis. **Current opinion in infectious diseases**, v. 21, n. 2, p. 119-121, 2008.
- HAYASHI, S. et al. Diagnostic value of a nested polymerase chain reaction for diagnosing cutaneous sporotrichosis from paraffin-embedded skin tissue. **Mycoses**, v. 62, n. 12, p. 1148-1153, 2019.
- HU, Sindy et al. Detection of *Sporothrix schenckii* in clinical samples by a nested PCR assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1414-1418, 2003.
- JAUREGUIZAR, Andres J.; MILITELLI, M. Ines; GUERRERO, Raúl. Distribution of *Micropogonias furnieri* at different maturity stages along an estuarine gradient and in relation to environmental factors. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 88, n. 1, p. 175-181, 2008.
- JAUREGUIZAR, A. J.; RAUL, Guerrero. Striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*) population structure in waters adjacent to Rio de la Plata, environmental influence on its inter-annual variability. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 85, n. 1, p. 89-96, 2009.
- KAUFFMAN, C. A. et al. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 10, p. 1255-1265, 2007.
- KUN, Krisztián. Reconstruction and development of a 3D printer using FDM technology. **Procedia Engineering**, v. 149, p. 203-211, 2016.

KURN, H.; WADHWA, R. Itraconazole. In: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, 2022

LACAZ, Carlos da Silva; PORTO, Edward; MARTINS, José Eduardo Costa; HEINSVACCARI, Elisabeth Maria; MELO, Natalina Takahashi de. **Tratado de micologia médica**. 9. Ed., São Paulo: Sarvier, 2002.

LACERDA FILHO, Armando Marsden et al. High-virulence cat-transmitted ocular sporotrichosis. **Mycopathologia**, v. 184, p. 547-549, 2019.

LEME, Fabio Caetano Oliveira et al. Evaluation of pathogenic fungi occurrence in traumatogenic structures of freshwater fish. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 182-185, 2011.

LEMOS, Valéria Marques et al. Migration and reproductive biology of *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in south Brazil. **Journal of fish biology**, v. 85, n. 3, p. 671-687, 2014.

LISBOA, Viviana et al. Acclimation of juvenile *Mugil liza* Valenciennes, 1836 (*Mugiliformes: Mugilidae*) to different environmental salinities. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, p. 591-598, 2015.

LOCKHART, Shawn R.; GUARNER, Jeannette. Emerging and reemerging fungal infections. In: **Seminars in diagnostic pathology**. WB Saunders, 2019. p. 177-181.

LOCKHART, S. R. et al. Endemic and other dimorphic mycoses in The Americas. **J Fungi**, 7: 151, 2021.

LOPES-BEZERRA, L. M. et al. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. **Medical Mycology**, v. 56, n. suppl.1, p. S126–S143, 2018.

LOSADA, Luiza Chaves de Miranda Leonhardt et al. High-throughput microsatellite markers development for genetic characterization of emerging *Sporothrix* species. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 3, p. 354, 2023.

LÜCKING, Robert et al. Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding?. **IMA fungus**, v. 11, n. 1, p. 14, 2020.

LUIZ, Raul Leal Faria et al. Nested PCR for the diagnosis of feline sporotrichosis from formalin-fixed and paraffin-embedded samples using different DNA extraction protocols. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 755897, 2022.

LUTZ, D. A.; SPLENDORE, A. Sobre uma micose observada em homens e ratos: contribuição para o conhecimento das assim chamadas esporotricoses. *Revista Médica de São Paulo*, v. 21, p. 433–450, 1907.

MACÊDO-SALES, Pâmella A. et al. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. **BMC veterinary research**, v. 14, n. 1, p. 19, 2018.

MADRID, I. M. et al. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. **Mycopathologia**, v. 173, n. 4, p. 265-273, 2012.

MAKRI, Nikoleta et al. First case report of cutaneous sporotrichosis (*Sporothrix* species) in a cat in the UK. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 6, n. 1, p. 2055116920906001, 2020.

MARIMON, R. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 10, p. 3198-3206, 2007.

MARQUES DE MACEDO, Priscila et al. Development and validation of a new quantitative reverse transcription PCR assay for the diagnosis of human sporotrichosis. **Medical mycology**, v. 61, n. 7, p. myad063, 6 jul. 2023.

MARTINS, J. E. C.; MELO, N. T.; HEINS-VACCARI, E. M. Atlas de Micologia Médica. São Paulo: Manole, 2005.

MATTEI, Antonella S. et al. *Sporothrix schenckii* in a hospital and home environment in the city of Pelotas/RS-Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, p. 1359-1362, 2011.

MATOS, Aline M.F. et al. Identification by MALDI-TOF MS of *Sporothrix brasiliensis* isolated from a subconjunctival infiltrative lesion in an immunocompetent patient. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 22, 2019.

MATUTE, Daniel R.; TEIXEIRA, Marcus de Melo. *Sporothrix* is neglected among the neglected. **PLoS pathogens**, v. 21, n. 3, p. e1012898, 2025.

MAYORGA, R. et al. Etude d'une zone d'endémie sporotrichosique au Guatemala [An endemic area of sporotrichosis in Guatemala]. **Sabouraudia**. 1978 Sep;16(3):185-98. French.

MELO, Maria Eduarda Resende et al. Bariatric surgery complicating the treatment of choice for Sporotrichosis: report of two cases. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 100, n. 1, p. 202407005, 2025.

MENEZES, Naercio A.; OLIVEIRA, C. de; NIRCHIO, Mauro. An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (*Teleostei: Perciformes: Mugilidae*). **Zootaxa**, v. 2519, n. 1, p. 59-68, 2010.

MIGAKI, George et al. Sporotrichosis in a Pacific white-sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*). **American journal of veterinary research**, v. 39, n. 12, p. 1916-1919, 1978.

MONTENEGRO, H. et al. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC veterinary research**, v. 10, p. 269, 2014.

MORGADO, Debora Salgado et al. Systematic review of literature to evaluate global distribution of species of the *Sporothrix* genus stored in culture collections. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, p. 1382508, 2024.

MUNHOZ, L. S. et al. Update of the Epidemiology of the Sporotrichosis Epidemic in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, **Mycoses**, 2022.

NAKASU, Ceres Cristina Tempel et al. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 163-171, 2021.

NOBRE, M. O. et al. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Rev Iberoam Micol.*, v.18, p. 137-140, 2001.

ODA, Welton; DELIZOICOV, Demétrio. Docência no Ensino Superior: as disciplinas Parasitologia e Microbiologia na formação de professores de Biologia. **Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**, v. 11, n. 3, p. 101-121, 2011.

OLIVEIRA, Manoel Marques Evangelista et al. Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. **Research in Microbiology**, v. 166, n. 2, p. 102-110, 2015.

OLIVEIRA, Igor Jesus Menezes de. Construção e utilização de um jogo didático para o ensino-aprendizado de micologia no ensino médio. 62 f. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). Transformando nosso mundo: a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em 8 de junho de 2025.

OROFINO-COSTA, Rosane et al. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. *An. bras. dermatol*, v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017.

OROFINO-COSTA, R. et al. Human sporotrichosis: Recommendations from the Brazilian Society of Dermatology for the clinical, diagnostic and therapeutic management. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2022

PAGE, Calvin Gates; FROTHINGHAM, Langdon; PAIGE, James B. *Sporothrix* and epizootic lymphangitis. **The Journal of medical research**, v. 23, n. 1, p. 137, 1910.

Paraná. Nota Técnica Conjunta nº 6/2023 – DAV/CVIA/DVVZI e CEMEPAR. Governo do Estado, Secretaria de Saúde, 2023.

PARSONS, M. G.; DIEKEMA, D. J. What is new in fungal infections?. **Modern pathology**, v. 36, n. 6, p. 100187, 2023.

PASQUALOTTO, Alessandro C. et al. Medical Mycology Education in Brazil: A Cross-Sectional Survey of Medical Schools. In: **Open Forum Infectious Diseases**. US: Oxford University Press, 2025. p. ofaf540.

PEREIRA, Jesualdo Campos. Histórias em quadrinhos (HQ'S): uma metodologia para micologia no ensino médio. 2020. 90 f. Dissertação (Programa de Mestrado Profissional em Ensino de Biologia) - Universidade Estadual do Piauí, Teresina.

PEREIRA, S. A. et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. **Veterinary Record**, v. 166, n. 10, p. 290-294, 2010.

PEREIRA, Sergiane Baes et al. Profile and temporal dynamics of the feline sporotrichosis epidemic in southern Brazil: A forecasting analysis. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 54, p. 101091, 2024.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Sporotrichosis in Southern Brazil, towards an epidemic?. **Zoonoses and public health**, v. 65, n. 7, p. 815-821, 2018a.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Population knowledge on sporotrichosis in an endemic area in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**, v. 20, n. 4, p. 25-30, 2018b.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. *Sporothrix* spp. evaluation in soil of a hyperendemic area for sporotrichosis in southern Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. e-52571, 2018c.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Desconhecimento de profissionais e ações de extensão quanto à esporotricose no extremo Sul do Brasil. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 31, n. 1, p. 8-14, 2019.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Species-specific PCR for the diagnosis of sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Arch. Vet. Sci**, v. 26, n. 3, p. 10, 2021.

POESTER, V. R. et al. P260 Sporotrichosis hyperendemic in Southern Brazil: twelve years of challenges. **Medical Mycology**, v. 60, n. Supplement_1, p. myac072P260, 2022a.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. CATastrophe: Response to the challenges of zoonotic sporotrichosis in southern Brazil. **Mycoses**, v. 65, n. 1, p. 30-34, 2022b.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Tattooing as a gateway to *Sporothrix brasiliensis* infection. **Medical Mycology Case Reports**, v. 37, p. 23-25, 2022c.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. Treatment of human sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 1, p. 70, 2022d.

POESTER, Vanice Rodrigues et al. *Sporothrix brasiliensis* causing atypical sporotrichosis in Brazil: a systematic review. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 4, p. 287, 2024.

PRAZERES JÚNIOR, F. R. et al. Sporotrichosis in guinea pig (*Cavia porcellus*)-case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 76, p. e13132, 2024.

PREFEITURA DE BELO HORIZONTE. *Esporotricose*. Belo Horizonte, 2018. Disponível em: <https://prefeitura.pbh.gov.br/saude/esporotricose>. Acesso em: 23 nov. 2025.

PRZYBYSZ, C.; SCOLIN, Edson. Técnica anatômica: confecção de modelos em resina a partir de vértebras humana. **F@ PCiencia**, v. 2, n. 10, 2008.

QUEIROZ-TELLES, Flavio et al. Mycoses of implantation in Latin America: an overview of epidemiology, clinical manifestations, diagnosis and treatment. **Medical mycology**, v. 49, n. 3, p. 225-236, 2011.

QUEIROZ-TELLES, Flavio; BUCCHERI, Renata; BENARD, Gil. Sporotrichosis in immunocompromised hosts. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 1, p. 8, 2019.

QUEIROZ-TELLES, Flavio et al. *Sporothrix* and sporotrichosis. **Encyclopedia of Infection and Immunity**, v. 2, p. 376-396, 2022.

RABELLO, V.B.S. et al. The historical burden of sporotrichosis in Brazil: a systematic review of cases reported from 1907 to 2020. **Brazilian journal of microbiology**, 2022a.

RABELLO, Vanessa Brito Souza et al. Environmental isolation of *Sporothrix brasiliensis* in an area with recurrent feline sporotrichosis cases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, p. 550, 2022b.

RABELLO, Vanessa Brito et al. Multi-locus sequencing typing reveals geographically related intraspecies variability of *Sporothrix brasiliensis*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 170, p. 103845, 2024.

RACHMAN, R. et al. Zoonotic acquisition of cutaneous *Sporothrix brasiliensis* infection in the UK. **BMJ Case Reports CP**, v. 15, n. 5, p. e248418, 2022.

RAMÍREZ-SOTO, M. C. et al. Ecological determinants of sporotrichosis etiological agents. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 95, 2018.

RANJANA, K. H. et al. Sporotrichosis in Manipur: Report of two cases. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 67, p. 86, 2001.

REDDY, S. R. A lithophane model making process to 3D printers. **International Journal of Mechanical Engineering and Technology**, v.11, n. 5, pp. 48-53, 2020.

RIBEIRO, K. G. et al. Educação e saúde em uma região em situação de vulnerabilidade social: avanços e desafios para as políticas públicas. **Interface-Comunicação, Saúde, Educação**, v. 22, n. suppl 1, p. 1387–1398, 2018.

RIBEIRO, Carolina Lopes. *Diversificando as estratégias no ensino de micologia*. 2024. Dissertação (Mestrado Profissional em Ensino de Biologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ensino de Biologia, Florianópolis, 2024. RIO GRANDE DO SUL, Secretaria da Saúde. Nota Técnica nº 3/2024. 28 de junho de 2024.

RIO DE JANEIRO. Resolução SES-RJ n.º 674, de 12 de julho de 2013. Estabelece a notificação compulsória da esporotricose humana. *Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, 12 jul. 2013.

Rio de Janeiro, R. J. (2024). Lei Ordinária nº 3.492, de 2024. <https://www.1746.rio/hc/pt-br/articles/10735450548635-Atendimento-cl%C3%ADnico-para-animais-com-Esporotricose>

RODRIGUES, Anderson Messias et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 6, p. e2281, 2013.

RODRIGUES, Anderson Messias et al. *Sporothrix schenckii* sensu stricto isolated from soil in an armadillo's burrow. **Mycopathologia**, v. 177, n. 3, p. 199-206, 2014.

RODRIGUES, A. M.; HOOG, G. S.; CAMARGO, Z. P. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 12, p. e0004190, 2015.

RODRIGUES, Anderson Messias; DE HOOG, G. Sybren; DE CAMARGO, Zoilo Pires. *Sporothrix* species causing outbreaks in animals and humans driven by animal–animal transmission. **PLoS pathogens**, v. 12, n. 7, p. e1005638, 2016.

RODRIGUES, M. L.; NOSANCHUK, J. D. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 14, n. 2, p. e0007964, 2020.

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

RODRIGUES, Anderson Messias; HAGEN, Ferry; DE CAMARGO, Zoilo Pires. A spotlight on *Sporothrix* and sporotrichosis. **Mycopathologia**, v. 187, n. 4, p. 407-411, 2022.

RODRIGUES, Marcio L.; NOSANCHUK, Joshua D. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. In: **Advances in Clinical Immunology, Medical Microbiology, COVID-19, and Big Data**. Jenny Stanford Publishing, 2021. p. 399-411.

ROGERS, A. L.; BENEKE, E. S. Human pathogenic fungi recovered from Brazilian soil. **Mycopathologia et mycologia applicata**, v. 22, n. 1, p. 15-20, 1964.

ROSA, Marcelo D.'Aquino; MOHR, Adriana. Os fungos na escola: análise dos conteúdos de micologia em livros didáticos do ensino fundamental de Florianópolis. **Experiências em Ensino de Ciências**, v. 5, n. 3, p. 90-98, 2010.

ROSA, M. D. et al. A Micologia como conteúdo da disciplina de Biologia no Ensino Médio: uma análise dos livros didáticos aprovados no PNLD-2018. **Revista Thema**, v. 16, n. 3, p. 617-635, 2019.

RUDRAMURTHY, S. M.; CHAKRABARTI, A. Sporotrichosis: Update on diagnostic techniques. **Current Fungal Infection Reports**, v. 11, n. 3, p. 134-140, 2017.

RYDER, N. S. Terbinafine: mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. **British Journal of Dermatology**, v. 126, p. 2-7, 1992.

SALEM-BANGO, Zackary et al. Fungal whole-genome sequencing for species identification: from test development to clinical utilization. **Journal of fungi**, v. 9, n. 2, p. 183, 2023.

SANCHOTENE, K. O. et al. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. **Mycoses**, v. 58, n. 11, p. 652-658, 2015.

- SANCHOTENE, Karine Ortiz et al. In vitro susceptibility of *Sporothrix brasiliensis*: comparison of yeast and mycelial phases. **Medical Mycology**, v. 55, n. 8, p. 869-876, 2017.
- SANTANA, R. R. et al. Extensão Universitária como Prática Educativa na Promoção da Saúde. **Educação & Realidade**, v. 46, 2021.
- SANTOS, Agna F. et al. Feline sporotrichosis: Characterization of cutaneous and extracutaneous lesions using different diagnostic methods. **Veterinary Pathology**, v. 61, n. 2, p. 221-231, 2024.
- SANTOS, Cassiane Ferreira Lessa dos. Georreferenciamento da esporotricose e sua relação com vulnerabilidade social em um município de região hiperendêmica da doença do extremo sul do Brasil. 2025. **68 f.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2025.
- SAQUAREMA, R. J. Lei Ordinária nº 2.643, de 21 de outubro de 2024. Acesso em https://transparencia.saquarema.rj.leg.br/arquivos/3720/_0000001.pdf, 21 Outubro de 2024.
- SCAGLIARINI, A.; PELTONIEMI, O.; MICHEL, A. L. Taking a Fresh Look at Old Zoonoses, What Have We Been Missing in One Health Research and Education? **Frontiers in public health**, v. 10, p. 895277, 2022.
- SHABIR, Uzma et al. The hidden world of fish fungal pathogens: molecular identification and phylogenetic analysis in common carp, *Cyprinus carpio*. **Archives of Microbiology**, v. 205, n. 9, p. 311, 2023.
- SCHENCK, B. R. On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the Sporotricha. *Bull John Hopkins Hosp*, v. 9, p. 286-290, 1898.
- SCHUBACH, T. M. P. et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). **Medical mycology**, v. 39, n. 1, p. 147-149, 2001.
- SCHUBACH, Tânia Maria Pacheco et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Mycopathologia**, v. 153, n. 2, p. 83-86, 2002.
- SCHUBACH, T. M. et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). *Jornal American Veterinary Medical Association*, n. 224, p. 1623- 1629, 2004.
- SCORZONI, L. et al. Antifungal therapy: new advances in the understanding and treatment of mycosis. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 36, 2017.
- SIDRIM, José Júlio Costa; ROCHA, Marcos Fábio Gadelha. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Guanabara Koogan, 2004.
- SILVA, Andréia Santos; FRAGA, Nayara Marylin. A Arte aplicada ao ensino de Biologia: confecção de modelos didáticos de microrganismos. **Educação Pública**, v. 17, n. 11, 2017.

- SILVA, Cybelle E. et al. Epidemiological features and geographical expansion of sporotrichosis in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. **Future microbiology**, v. 16, n. 18, p. 1371-1379, 2021.
- SINGH, A. K. et al. Fabrication of personalized lithophane via additive manufacturing. **Sustainable Operations and Computers**, v. 3, p. 17-21, 2022.
- SPANAMBERG, Andréia et al. *Sporothrix brasiliensis* on cats with skin ulcers in Southern Brazil. **Medical Mycology**, v. 59, n. 3, p. 301-304, 2021.
- SPRUIJTENBURG, Bram et al. *Sporothrix brasiliensis* genotyping reveals numerous independent zoonotic introductions in Brazil. **Journal of Infection**, v. 86, n. 6, p. 610-613, 2023.
- SPRUIJTENBURG, Bram et al. Short tandem repeat genotyping of medically important fungi: a comprehensive review of a powerful tool with extensive future potential. **Mycopathologia**, v. 189, n. 5, p. 72, 2024.
- SOUSA, A. B.; SALGADO, T. D. M. Memória, aprendizagem, emoções e inteligência. **Revista Liberato**, v. 16, n. 26, p. 141-152, 2015.
- STAMM, Tauane Farias Telles; DE CASTRO MARTINS, Joana Laura. Abordagem de microorganismos nos livros didáticos de ciências. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. e50942825-e50942825, 2020.
- STEINBACH, William J. et al. Status of medical mycology education. **Medical mycology**, v. 41, n. 6, p. 457-467, 2003.
- STEPHENS, Brent et al. Microbial exchange via fomites and implications for human health. **Current Pollution Reports**, v. 5, n. 4, p. 198-213, 2019.
- SU, Qing et al. Atypical conjunctival sporotrichosis secondary to Mooren's ulcer: a case report. **BMC Infectious Diseases**, v. 25, n. 1, p. 71, 2025.
- TERÇOLA, Anderson Luis et al. Ultraviolet light C prototype device against *Sporothrix brasiliensis* as a potential physical method for surface disinfection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 1619-1623, 2024.
- TORIELLO, Concepción; BRUNNER-MENDOZA, Carolina; PARRA-JARAMILLO, Laura. Climate change and Its impact on sporotrichosis. In: **The Impact of Climate Change on Fungal Diseases**. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 87-97.
- TRÁPAGA, Mariana Rodrigues et al. *Sporothrix brasiliensis*-specific polymerase chain reaction for the diagnosis of cat and human sporotrichosis through non-invasive samples. **Medical Mycology**, v. 62, n. 8, p. myae075, 2024.
- TRÁPAGA, Mariana Rodrigues et al. First report of sporotrichosis by *Sporothrix brunneoviolacea*. **Medical Mycology Case Reports**, p. 100756, 2025.
- TRÁPAGA, Mariana Rodrigues et al. *Sporothrix brasiliensis* from the southernmost state of Brazil reveals high genotypic diversity and worrying antifungal susceptibility profile. In 12th Trends in Medical Mycology (TIMM2025), Bilbao, 2025.

THOMSON, P. et al. Sporotrichosis outbreak due to *Sporothrix brasiliensis* in domestic cats in Magallanes, Chile: A one-health-approach study. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 2, p. 226, 2023.

VALDEZ, Alessandro F. et al. A Review on Sporotrichosis and the Emergence of *Sporothrix brasiliensis* as a Pathogen. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 10, n. 4, p. 252-261, 2023.

VEGGI, Naiani Domingos Gasparetto et al. First Allochthonous Record of Feline and Human Sporotrichosis in the City of Cuiaba, Mato Grosso, Central-West Region of Brazil. **Acta Veterinaria-Beograd**, v. 75, n. 3, p. 421-428, 2025.

VETTORATO, Rodrigo et al. Sporotrichosis by *Sporothrix schenckii* sensu stricto with itraconazole resistance and terbinafine sensitivity observed in vitro and in vivo: case report. **Medical mycology case reports**, v. 19, p. 18-20, 2018.

VIANA, Paula Gonçalves et al. Successful treatment of canine sporotrichosis with terbinafine: case reports and literature review. **Mycopathologia**, v. 183, n. 2, p. 471-478, 2018.

VIANA, Paula Gonçalves et al. Is terbinafine an effective treatment for feline sporotrichosis?. **Veterinary Record**, v. 195, n. 4, p. no-no, 2024.

VIDAL, Graciela; RODRÍGUEZ DE KOP, Norma. Esporotricosis: enfoque epidemiológico, clínico y terapéutico. **Arch. argent. dermatol**, p. 221-34, 1993.

VIEIRA, Thaís Badini et al. Allochthonous zoonotic sporotrichosis in the Brazilian Central-West: diagnostic challenges in a nonendemic area. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 67, p. e30, 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third WHO report on neglected tropical diseases 2015**. World Health Organization, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action**. World Health Organization, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Neglected tropical diseases**. Acesso em: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/global-report-on-neglected-tropical-diseases-2023>

XAVIER, Melissa Orzechowski et al. Esporotricose felina com envolvimento humano na cidade de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1961-1963, 2004.

XAVIER, Melissa Orzechowski et al. Atypical presentation of sporotrichosis: report of three cases. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, p. 116-118, 2013.

XAVIER, M. O. et al. *Sporothrix brasiliensis*: epidemiology, therapy, and recent developments. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 9, p. 921, 2023.

XAVIER, Melissa Orzechowski; POESTER, Vanice Rodrigues; SEVERO, Cecília Bittencourt. *Fungos Microscópicos: Heróis ou Vilões: Fungopédia em: os dois lados da mesma moeda*. Casa letras, Porto Alegre, 2023.

YANONG, Roy PE. Fungal diseases of fish. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**, v. 6, n. 2, p. 377-400, 2003.

ZAITS, C.; RUIZ, L. R.; SOUZA, V. M. **Atlas de micologia médica: Diagnóstico laboratorial**. 2.ed. São Paulo: Medsi, 2004.

ZAITS, C. Introdução ao Estudo da Micologia Médica. In: Zaitz, C.; Marques S. A.; Ruiz, L. R. B.; Framil, V. M. S. (org.). *Compêndio de micologia médica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 1-3.

ZHANG, Mingrui et al. Fast diagnosis of sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa*, *Sporothrix schenckii*, and *Sporothrix brasiliensis* based on multiplex real-time PCR. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 2, 1 fev. 2019.

ZHAO, Xiaohong; LI, Panpan; YANG, Jianxun. Clinical Presentation and Histopathological Characteristics of Sporotrichosis. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 24, n. 3, p. e70059, 2025.

ZIARATI, Mina et al. Zoonotic diseases of fish and their prevention and control. **Veterinary Quarterly**, v. 42, n. 1, p. 95-118, 2022.

APÊNDICE A

Guia teórico desenvolvido como material educativo de apoio para atividades de extensão e aulas, documento complementar ao descrito no manuscrito 3.

Autores: Bruna Muradás Esperon, Fernando Bertazzo-Silva, Jéssica Estefania Davila Hidalgo, Laís da silva Malheiros, Melissa Orzechowski Xavier, Vanice Rodrigues Poester.

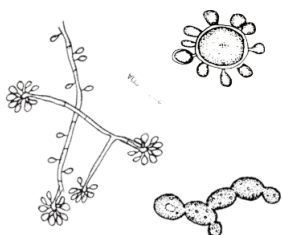




Prefácio

Querido leitor,

Este **Guia Teórico** foi preparado especialmente para **estudantes e educadores** que desejam conhecer melhor o incrível mundo dos fungos. Ele foi elaborado para ser usado junto com o kit educativo desenvolvido pelo **Grupo de Micologia Médica da FAMED-FURG**, trazendo informações de forma **simples, clara e divertida**, sem deixar de lado o **conhecimento científico**.



Ao longo do guia, você vai descobrir que existem diferentes tipos de **fungos**. Vamos observar como eles crescem, quais são suas cores e formas, onde vivem, como podem **ajudar o planeta** e, em alguns casos, como podem causar **doenças**.

Tudo isso foi organizado para despertar a **curiosidade**, incentivar a **observação** e tornar o aprendizado mais **interessante**.

Mais do que aprender nomes difíceis, este guia convida você a enxergar os **fungos** como seres vivos muito importantes para o equilíbrio da **natureza** e para a **vida** das pessoas. Esperamos que este material ajude a aprender a **ciência** dos fungos, chamada de **micologia**, de forma leve, curiosa e divertida, despertando o interesse pelo mundo microscópico.



Desejamos uma ótima leitura e uma linda descoberta sobre o universo dos **fungos**.

Introdução

A **Micologia** é a ciência que estuda os fungos. É por meio dela que os cientistas aprendem como esses seres vivos crescem, onde vivem e sua ampla importância para a natureza e para a nossa vida.



Quando pensamos em **fungos**, geralmente lembramos dos lindos **cogumelos**, que são fungos macroscópicos, ou seja, que conseguimos ver a olho nu.

Mas você sabia que existe um **mundo microscópico**, invisível aos nossos olhos, cheio de **fungos** ainda mais **coloridos** e com muitas **formas diferentes**?

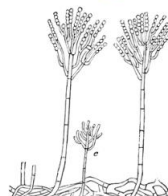


Dentro desse **mundo microscópico**, os **fungos** podem ser organizados em alguns grupos:



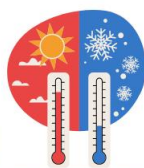
Fungos leveduriformes

formados por Leveduras com apenas uma célula.



Fungos filamentosos

formados por muitas células.



Fungos dimórficos, podem aparecer como leveduras ou como filamentos, dependendo da temperatura do ambiente.

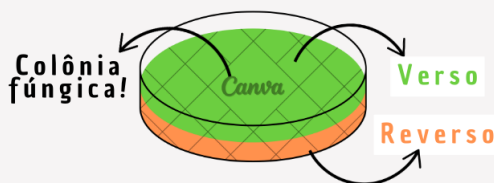
Introdução

Mas, se esses **fungos** microscópicos são tão pequenos, como conseguimos conhecer e observar toda essa beleza? Isso é possível graças ao **microscópio**, um instrumento que nos ajuda a enxergar o que não conseguimos ver a olho nu.

Para estudar melhor esses seres vivos, os **cientistas** fazem o cultivo dos **fungos**, geralmente usando uma **placa de Petri**, que contém uma gelatina especial chamada ágar. Quando o **fungo** cresce nesse ágar, ele forma **colônias**, que podem ter diferentes **cores, texturas e topografias**, dependendo do tipo de **fungo**.

Para **identificar** cada **fungo**, observamos duas coisas muito importantes:

Macroscopia: mostra como a colônia é vista sem o microscópio.



Microscopia: permite ver como são as células do fungo, suas formas e como elas se reproduzem, tudo isso com a ajuda do microscópio.



Depois de conhecer esse incrível **mundo microscópico** e descobrir que os **fungos** podem ter formas bem diferentes, surge uma nova pergunta. Como os **cientistas** conseguem identificar cada um desses **fungos**?

Introdução

Os **fungos** também têm nome, assim como as **pessoas**. E não é só um nome: cada fungo tem um tipo de “nome e sobrenome” que ajuda os **cientistas** a saber exatamente de qual **fungo** estão falando, em **qualquer lugar do mundo**.

Cada **fungo** recebe um nome formado por duas palavras:

A primeira é o **gênero**, que reúne fungos parecidos.

Candida

A segunda é a **espécie**, que identifica aquele fungo em especial.

tropicalis

Juntas, essas duas palavras formam o **nome científico** do **fungo**.

Candida tropicalis

Esses nomes são escritos em *latim* para que **cientistas** de diferentes **países** possam se entender. Existe também uma forma certa de escrever esses nomes, com a **primeira palavra começando com letra maiúscula** e a **segunda com letra minúscula**.

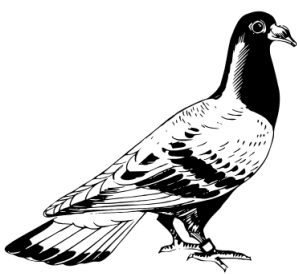
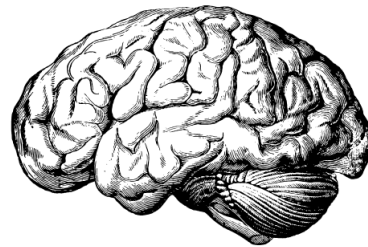
Além do **nome científico**, alguns **fungos** também têm **nomes populares**. Mas, para a ciência, é o nome científico que garante que todos estejam falando do mesmo **ser**.

Agora que **você** já sabe como os **cientistas** estudam os **fungos** e observam suas **colônias** e **células**, é hora de conhecer mais de perto os diferentes grupos de **fungos** e descobrir como cada um deles é **especial**.



Fungos

Leveduriformes

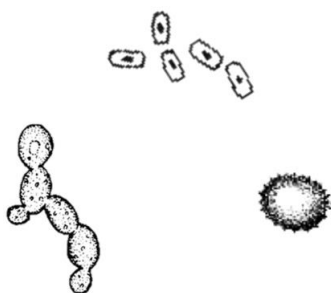


Conhecendo os fungos mais de perto: Fungos Leveduriformes

As **leveduras** formam colônias que podemos ver a olho nu. Elas podem parecer **creme**, como um chantilly, **meleca** (bem escorregadia), **secas** ou até **rugosas**, como uma parede antiga. Algumas brilham e outras são mais opacas.



A maioria é branca, mas existem leveduras muito estilosas, que podem ser **rosas**, **laranjas** ou até **pretas**!



Quando usamos um **microscópio**, descobrimos que essas leveduras são feitas de células que podem ter formato redondinho, oval ou mais comprido, como pequenas pílulas.

Leveduras: fungos pequenos que fazem coisas gigantes!

As **leveduras** são **fungos** tão pequenos que só conseguimos ver os detalhes de suas células com um **microscópio**. Mas não se deixe enganar pelo tamanho... elas são poderosíssimas!

Mesmo sendo formadas por apenas **uma célula**, as leveduras conseguem **trabalhar em grupo**. Quando muitas leveduras se juntam, elas formam colônias e fazem coisas incríveis acontecerem.

Você já viu um pão crescer antes de ir ao forno?
Isso acontece por causa das **leveduras**!

Elas se alimentam do **açúcar** da massa e liberam um gás chamado gás carbônico. Esse gás forma bolhinhas dentro da massa, **fazendo o pão crescer** e ficar fofinho.



Sem as leveduras, o pão seria duro e achatado!

As **leveduras** funcionam como **mini fábricas vivas** e, enquanto se alimentam, produzem **substâncias** usadas na fabricação de **pães** e **bolos**, **iogurtes**, **queijos**, **sucos** fermentados e outras bebidas.

Leveduras: quando o fungo pode causar problemas

As **leveduras** **fazem muitas coisas boas**, mas algumas delas **também podem causar problemas** quando crescem no lugar errado ou em maior quantidade do que o normal.

Algumas **leveduras** vivem naturalmente no nosso corpo, como na pele, na boca e no intestino, **sem causar nenhum mal**. O **problema** aparece quando elas se multiplicam demais ou quando o corpo está mais fraco para se defender.

Quando as leveduras causam doenças



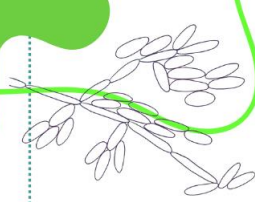
Em **algumas situações**, certas leveduras podem causar infecções, chamadas de **micoses**, frequentes quando a pessoa está com o sistema de defesa enfraquecido

Para evitar **problemas** com **leveduras**, é importante manter a pele limpa e seca, trocar roupas molhadas ou suadas, cuidar bem da higiene do corpo e procurar um profissional de saúde sempre que algo não parecer normal.



As **leveduras** fazem parte da **natureza** e do nosso **dia-a-dia**. A maioria é **inofensiva** ou **muito útil**, mas algumas precisam ser **controladas**. **Conhecer é o primeiro passo para cuidar!**

Agora, vamos conhecer alguns exemplos de **leveduras**, suas características e onde podem ser encontradas.



Verso da colônia



Reverso

Candida sp.

Principais espécies: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kruzei*, *C. auris*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*.



Colônia: cor branca ou amarelada, com aparência lisa ou um pouco enrugada, parecendo pequenos montinhos.



No microscópio: pequenas células que se reproduzem como “brotinhos” (blastoconídios). Em algumas situações, ela pode formar fios alongados (pseudo-hifas ou hifas).



Tempo de crescimento: 24 a 72 horas



Benefício: Quando está em equilíbrio no nosso corpo, *Candida* ajuda na digestão dos alimentos e na absorção de nutrientes.

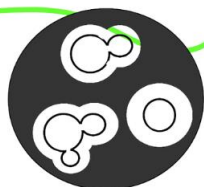


Doença: Candidíase



Onde pode causar doença: pele, unhas, boca, região íntima, esôfago e, em casos graves, no sangue.

11



Cryptococcus sp.

Verso da colônia



Reverso



Principais espécies: *C. neoformans*, *C. gattii*.



Colônia: brilhante, escorregadia (com aparência de muco), de cor branca ou creme e com bordas lisas.



No microscópio: células redondas envolvidas por uma cápsula protetora.



Tempo de crescimento: 48 a 72 horas



Benefício: Reciclagem de nutrientes, especialmente ajudando no ciclo do nitrogênio



Doença: Criptococose - meningite e/ou dano nos pulmões.



Onde é encontrado: excretas de aves, principalmente de pombos, além do solo e de árvores.



Malassezia sp.

Principais espécies: *Malassezia pachydermatis*, *Malassezia furfur*

Verso da colônia



Reverso



Colônia: lisa, com cor que vai do branco-amarelado ao bege, com aspecto seco.



No microscópio: células arredondadas ou ovais, com parede grossa, lembrando pinos de boliche.



Tempo de crescimento: 24 a 72h



Benefício: faz parte dos fungos normais da pele. Ajuda a proteger a pele, compete com micróbios ruins e contribui para o equilíbrio da microbiota.



Doença: Pitiríase versicolor (“pano branco”), Dermatite seborreica e caspa. Em cães e gatos causa otite externa e dermatite.



Onde é encontrado: na pele e nas mucosas de humanos e de animais de sangue quente.

Saccharomyces sp.

Verso da colônia



Reverso



Principais espécies: *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *S. bulderi*.



Colônia: branca a bege, lisa e cremosa ou um pouco enrugada.



No microscópio: células únicas, arredondadas, ovais ou alongadas.



Tempo de crescimento: 24 a 48 horas



Benefício: ajuda na reciclagem de nutrientes, pode restaurar a microbiota intestinal e é muito usado na produção de pães, vinho e cerveja.



Doença: raramente causa doença, somente em pessoas com o sistema imunológico bem enfraquecido.



Trichosporon sp.

Verso da colônia



Reverso



Colônia: branca a amarelada; e aspecto rugoso.



No microscópio: células arredondadas (blastosporangios) e fios alongados (hifas); também forma estruturas em formato de pequenos barris (artrósporos).



Tempo de incubação: 2 a 5 dias.



Benefício: ajuda a limpar o ambiente (despoluição) e pode ser usado na produção de compostos com aroma.



Doença: Piedra-branca (afeta os pelos) e infecções mais graves em pessoas com baixa imunidade



Onde é encontrado: solo, água, plantas e no corpo de humanos e animais, como no intestino, pele e vias respiratórias.

Encerrando o mundo das leveduras

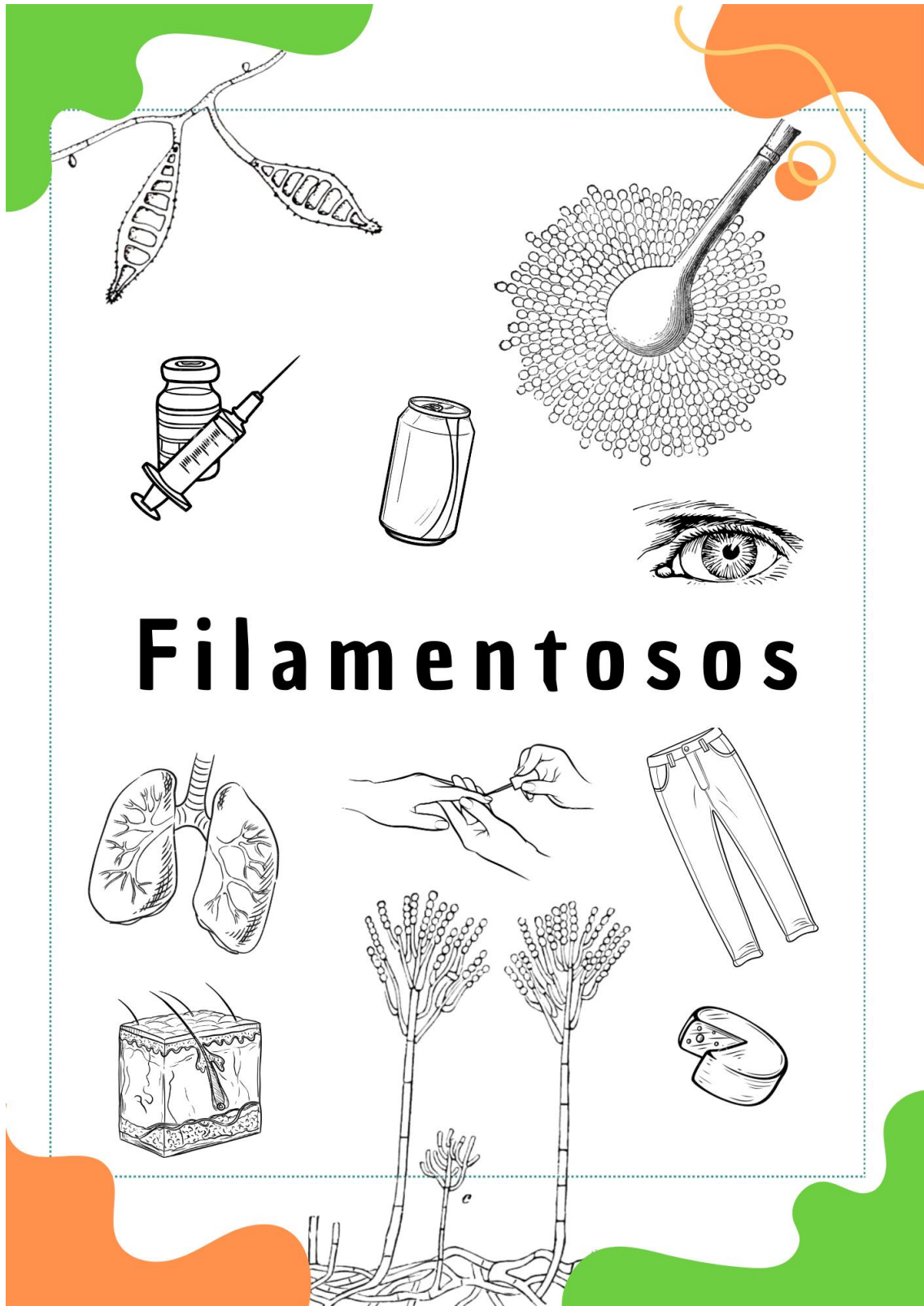
Até aqui, você conheceu algumas **leveduras**, **fungos** formados por apenas **uma célula**, mas capazes de realizar tarefas enormes

Vimos que, mesmo sendo microscópicas, elas **trabalham em grupo**, formam **colônias**, ajudam na produção de alimentos, cuidam do equilíbrio do nosso corpo e, em algumas situações, podem causar doenças.

Aprendemos que observar as **leveduras** no **microscópio** nos ajuda a entender suas formas, seu crescimento e como se reproduzem. Também descobrimos que elas fazem parte da **natureza** e do **nosso dia-a-dia**, vivendo no ambiente e até no nosso próprio corpo.

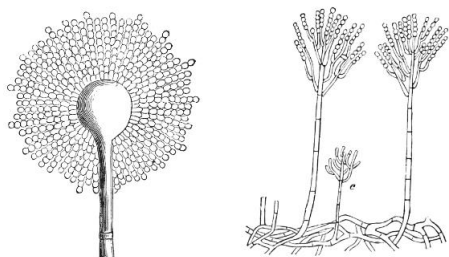


Agora que você já entende como são os **fungos** formados por uma **única célula**, é hora de conhecer **fungos** que crescem de um jeito bem diferente, os **fungos filamentosos**!



Filamentosos

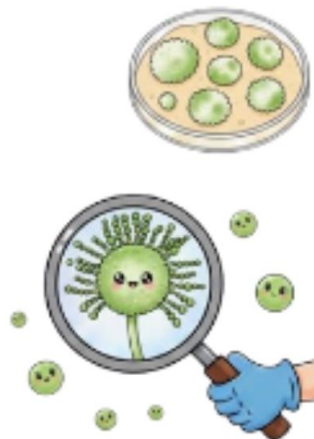
Conhecendo os fungos mais de perto: Filamentosos



Os **fungos filamentosos** são formados por muitas células ligadas, parecendo fios (hifas e micélio). Quando crescem, podem formar colônias que lembram algodão, veludo ou até um amontoado de grãos de areia.

Eles podem ter cores muito variadas, como **verde**, **azul**, **preto**, **amarelo** ou **branco**, e essas cores podem mudar com o tempo.

Os **fungos filamentosos** se reproduzem por meio de estruturas especiais chamadas conídios e **esporos**. Eles funcionam como **estruturas microscópicas**, que podem ser levadas pelo vento, pela água ou até grudadas em animais e pessoas, ajudando o **fungo** a se espalhar para novos lugares.



No **microscópio**, vemos os fios chamados **hifas**, que juntos formam uma grande rede chamada **micélio**. É essa **rede** que ajuda o **fungo** a absorver alimento do ambiente.

Uma rede tão grande que virou o maior ser vivo do mundo

Na página anterior, você aprendeu que os **fungos filamentosos** formam uma grande rede de fios chamada **micélio**.

Agora imagine essa rede crescendo, se espalhando pelo solo e ocupando um espaço enorme... tão grande que forma o **maior ser vivo do planeta Terra!**

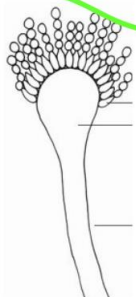


Esse ser vivo é o **fungo** *Armillaria ostoyae*, um **fungo filamentoso** que vive escondido debaixo do chão. Sua rede de **micélio** é formada por milhões de **hifas**, que se estendem como caminhos invisíveis, **conectando o solo, as plantas e os nutrientes**.



Os **cogumelos** que aparecem na superfície são apenas pequenas partes do **fungo**, enquanto a maior parte do organismo fica escondida no subsolo, trabalhando silenciosamente.

Mas além da *Armillaria* há vários **fungos filamentosos microscópicos**. A seguir, vamos conhecer outros **exemplos** desses **fungos** incríveis e descobrir como eles **vivem, crescem e transformam** o **ambiente** ao seu redor.



Aspergillus fumigatus

Verso da
colônia



Reverso



Colônia: aspecto pulverulento, com cor azul-esverdeada.



No microscópio: forma estruturas com “cabeça” cheia de esporos, presas a um fio alongado.



Tempo de crescimento: 48 a 72 horas



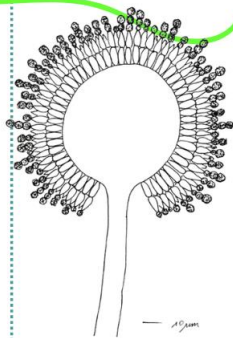
Benefício: ajuda na reciclagem de nutrientes da natureza e é usado na produção de alimentos e medicamentos.



Doença: aspergilose pulmonar, que pode variar de quadros alérgicos a graves; pode produzir toxinas chamadas aflatoxinas.



Localização: Todos os lugares (ar, poeira, solo..)



Aspergillus seção *Nigri*

Verso da
colônia



Reverso



Colônia: preta, com textura arenosa; a parte de baixo pode ser amarelada ou marrom-clara.



No microscópio: fios alongados que produzem esporos, com paredes lisas e grossas.

Tempo de crescimento: 3 a 4 dias



Benefício: ajuda na reciclagem de nutrientes e é usado na produção de alimentos e medicamentos.



Doença: aspergilose pulmonar, podendo causar alergias ou infecções graves; pode produzir toxinas chamadas aflatoxinas.



Localização: Todos os lugares (ar, poeira, solo..)



Verso da
colônia



Reverso



Cladosporium sp.



Colônia: marrom ou preta, com aspecto aveludado; a parte de baixo também é preta.



No microscópio: forma fios e estruturas ramificadas que lembram pequenas arvorezinhas e até mesmo um lápis.



Tempo de crescimento: 03 a 7 dias.



Benefício: ajuda a reduzir a radiação no ambiente, transformando energia radioativa em energia química (micodespoluição do ambiente).



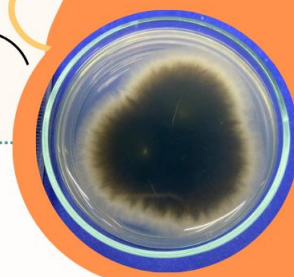
Doença: doença em plantas. Esses fungos são comuns em sementes de várias culturas, como o trigo e o feijão.



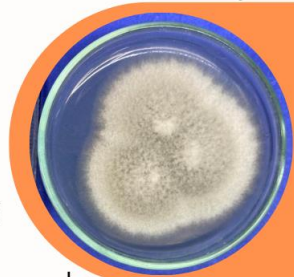
Localização: plantas, solo, alimentos e ar livre.

Curvularia

Verso da colônia



Reverso



Colônia: marrom ou preta, com aspecto aveludado, a parte de baixo é preta.



No microscópio: forma fios escuros e esporos com várias partes, curvados, parecendo um pequeno croissant.



Tempo de crescimento: 03 a 7 dias.



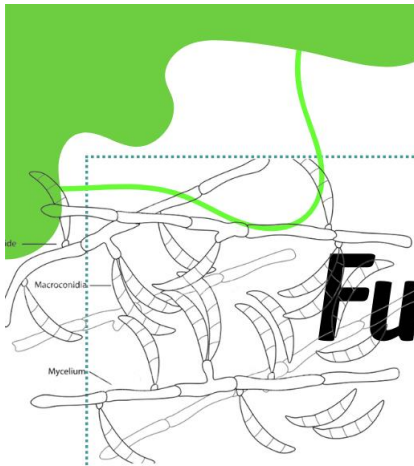
Benefício: produz substâncias importantes, como enzimas, e ajuda a limpar solos contaminados.



Doença: infecção nos olhos (ceratite), geralmente após machucados com plantas. Sinusite, pneumonia e infecções na pele e nas unhas



Localização: Solo, ar, vegetação, grãos, restos orgânicos



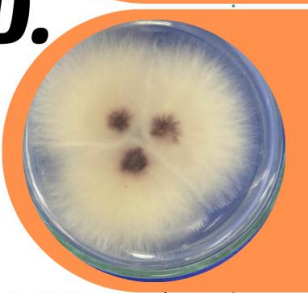
Macroconidia
Mycelium

Fusarium sp.

Verso da colônia



Reverso



Colônia: aspecto algodonososo, com cores que podem variar entre branco, cinza, rosa ou violeta; a parte de baixo pode ser amarela, rosada, avermelhada, alaranjada ou marrom-clara.

 **No microscópio:** forma fios transparentes com divisões, que se ramificam como um “Y”.

 **Tempo de crescimento:** 2 a 4 dias

 **Benefício:** usado na produção de alimentos e biocombustíveis, além de ajudar a reduzir poluentes no ambiente (biorremediação)

 **Doença:** fusariose, que pode causar infecção nos olhos e doenças graves em pessoas com a saúde fragilizada

 **Localização:** Solo e plantas.

24

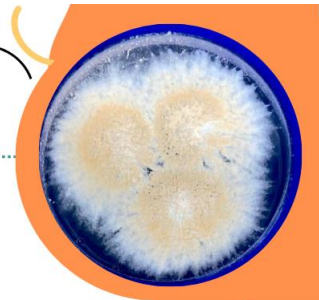
Microsporum sp.



Classificação: Fungo filamentoso.

Principal espécie: *M. canis*

Verso da
colônia



Reverso



Colônia: aspecto aveludado ou algodinoso, com cores que variam do branco ao alaranjado ou marrom; a parte de baixo pode ser amarelada.



No microscópio: forma esporos grandes, em formato de fuso como uma bola de futebol americano, com várias divisões internas.



Tempo de crescimento: de 5 15 dias



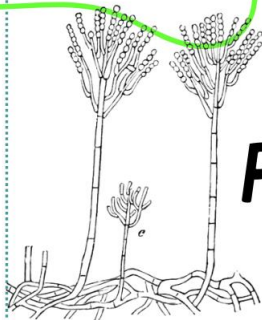
Benefício: ajuda a reciclar nutrientes e a decompor pelos, cabelos e restos de pele no ambiente.



Doença: dermatofitose, que afeta a pele, os pelos, o cabelo e, raramente, as unhas.

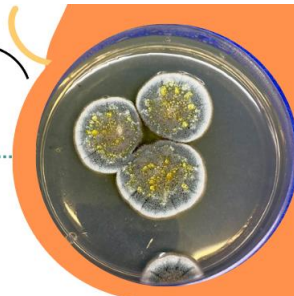


Localização: principalmente na pele e pelos de animais infectados (gatos)



Penicillium sp.

Verso da
colônia



Reverso



Colônia: pode apresentar textura arenosa, aveludada, com cores como verde, amarelo, laranja, roxo ou marrom; a parte de baixo pode ser amarelada, marrom ou avermelhada.



No microscópio: forma estruturas ramificadas que lembram um pincel, com fios divididos.



Tempo de crescimento: de 2 a 7 dias.



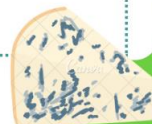
Benefício: ajuda na reciclagem de nutrientes e é muito importante na produção de antibióticos e queijos.



Doença: peniciliose e alergias respiratórias.



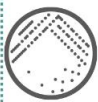
Localização: Todos os lugares (ar, poeira, solo..)



No microscópio



Rhizopus sp.



Colônia: começa branca e depois fica cinza ou preta, com aspecto algodinoso



No microscópio: forma fios largos sem divisões, com estruturas parecidas com raízes e bolinhas cheias de esporos.



Tempo de crescimento: de 1 a 7 dias.



Benefício: ajuda na decomposição da matéria orgânica.



Doença: Mucormicose



Onde é encontrado: no solo, em frutas e vegetais em decomposição, no ar e na poeira.

Trichoderma sp.

Verso da
colônia



Reverso



Colônia: começa branca e depois fica verde-escura ou amarelada; a parte de baixo pode ser amarelada, marrom-clara ou sem cor.



No microscópio: forma fios transparentes com divisões, bem ramificados. Nas pontas, aparecem pequenas estruturas que produzem esporos ovais, formando agrupamentos verdes.



Tempo de crescimento: 2 a 5 dias



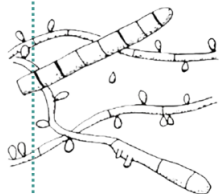
Benefício: ajuda no controle de pragas na agricultura, na decomposição de resíduos e é usado na fabricação de jeans rasgado.



Doença: raramente pode causar doença em pessoas com o sistema imunológico enfraquecido.

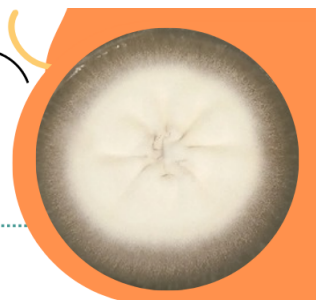


Localização: solo.

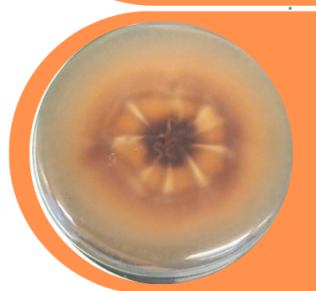


Tricophyton rubrum

Verso da colônia



Reverso



Colônia: aparência de algodão fofinho, geralmente branca com tons rosados ou avermelhados. Na parte de baixo, a colônia costuma ter cor vermelha escura, parecida com vinho.



No microscópio: estruturas pequenas, redondas ou em forma de gotinha, agrupadas como um cacho de uvas. Também pode formar estruturas maiores, alongadas e separadas em partes.



Tempo de incubação: 7a 14 dias



Benefício: Na natureza, ajuda na reciclagem de nutrientes, quebrando restos de pele, cabelos e pelos que ficam no ambiente.



Doença: Pode causar dermatofitose, uma infecção que afeta a pele, os cabelos e as unhas.



Localização: pele, pelo, unhas de pessoas infectadas.

Diferentes formas de crescer no mundo dos fungos

Ao longo deste guia, você aprendeu que os **fungos** podem crescer de maneiras diferentes.

Primeiro, conheceu as **leveduras**, formadas por uma **única célula**, capazes de realizar funções importantes para a **natureza** e para o nosso dia a dia.

Depois, observou os **fungos filamentosos**, que crescem formando fios microscópicos chamados **hifas**, unidos em uma grande rede chamada **micélio**.

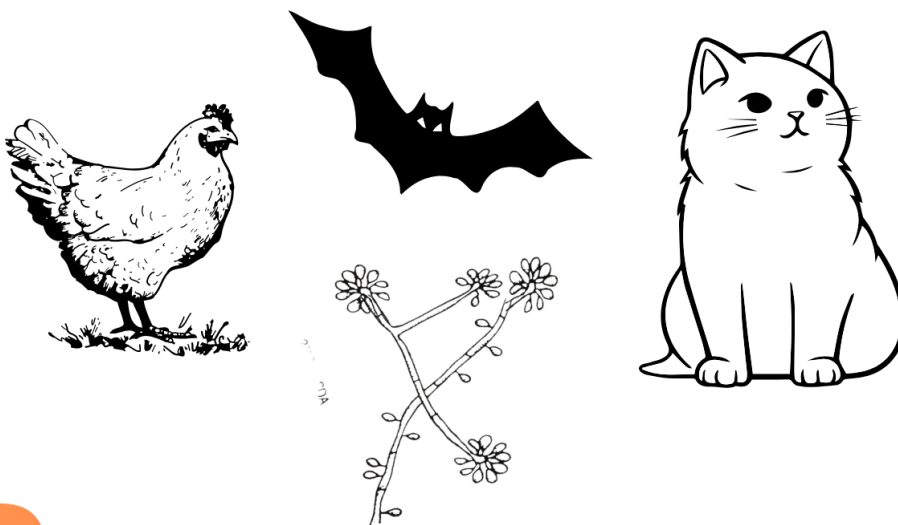


Entretanto, nem todos os **fungos** crescem sempre do mesmo jeito. Existem espécies capazes de **mudar sua forma de crescimento**.

Os **fungos** com essa capacidade de **transformação** são chamados de **dimórficos**. A seguir, vamos conhecer como essa **mudança** acontece e por que ela é tão **importante**.



Dimórficos



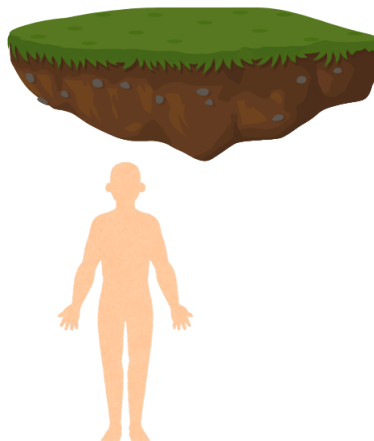
Fungos que se transformam: mudando de forma para sobreviver!

Os **fungos dimórficos** recebem esse nome porque conseguem **viver de duas formas diferentes** ao longo da vida: como **fungos filamentosos**, no ambiente, e como **leveduras**, dentro do corpo de humanos ou animais.

Essa **mudança** acontece principalmente por causa da **temperatura** e do **local** onde o fungo está.

No **solo**, em **plantas** ou em **ambientes** mais frios, eles crescem formando **filamentos microscópicos**.

Quando entram no **corpo**, onde a temperatura é **mais alta** e as condições são diferentes, passam a crescer como **leveduras**.



Essa **capacidade** de **mudar** de forma é uma grande estratégia de **sobrevivência**. Ao se **transformar**, o **fungo** consegue se **adaptar** melhor, aproveitar os nutrientes disponíveis e **continuar vivo** mesmo em condições desafiadoras.

Nos próximos exemplos, você vai conhecer alguns **fungos dimórficos** e entender por que eles são tão **importantes** tanto para a **natureza** quanto para a **saúde**.



Sporothrix sp.

Verso da colônia



Reverso



Principais espécies: *S. shenckii*; *S. brasiliensis* e *S. globosa*.



Colônia filamentosa: cor branca a marrom com textura membranosa



Microscopia: forma fiozinhos bem finos, com pequenas bolinhas nas pontas. Essas bolinhas ficam organizadas de um jeito que lembra uma margarida



Tempo de crescimento: 05 a 14 dias



Benefício: ajuda na reciclagem de nutrientes da natureza.



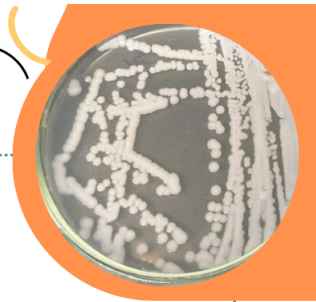
Doença: esporotricose, causa feridas na pele.



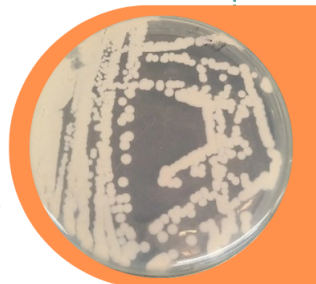
Localização: gatos infectados (principal vítima); espinhos de roseiras, vegetação e madeiras.

Sporothrix sp.

Verso da
colônia



Reverso



Principais espécies: *S. shenckii*; *S. brasiliensis* e *S. globosa*.



Colônia leveduriforme: cor branca a marrom, com aspecto liso e cremoso.



No microscópio: aparece como pequenas células de formato ovalado ou alongado, parecendo grãosinhos ou até mesmo um charuto.



Tempo de crescimento: 5 dias.



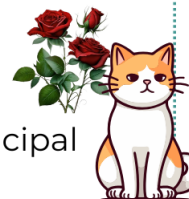
Benefício: reciclagem de nutrientes.



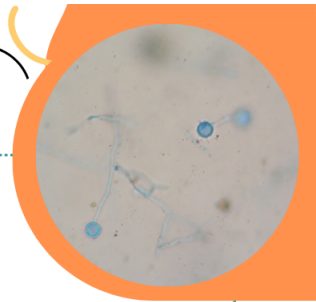
Doença: esporotricose



Onde é encontrado : gatos infectados (principal vítima); espinhos de roseiras, vegetação e madeiras.



No microscópio



Histoplasma sp.

Principal espécie: *H. capsulatum*

Colônia



Colônia filamentosa : cor branca, bege ou marrom-clara no início. Com o tempo, podem ficar mais escuras, apresentando tons de cinza ou verde-acinzentado, com textura aveludada ou algodonosa, parecendo algodão.



Microscopia: macroconídios tuberculados.



Tempo de crescimento: 7 a 20 dias



Benefício: ajuda na reciclagem de nutrientes da matéria orgânica, principalmente do nitrogênio, colaborando com o equilíbrio da natureza.



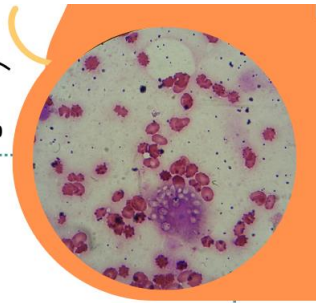
Doença: Histoplasmose - doença pulmonar



Onde é encontrado: Cavernas e outros ambientes escuros e ricos em excretas de morcegos ou galinhas.

Histoplasma sp.

No microscópio



Principal espécie: *H. capsulatum*

Colônia



Colônia leveduriforme: cor bege a amarelada, com textura lisa e cremosa, parecendo um creme.



Microscopia: pequenas células redondinhas ou ovais, parecendo grãosinhos.



Tempo de crescimento: 5-15 dias



Benefício: na natureza, ajuda na reciclagem de nutrientes da matéria orgânica, principalmente do nitrogênio.



Doença: Histoplasmose - doença pulmonar



Localização: Cavernas e outros ambientes escuros e ricos em excretas de morcegos ou galinhas.

No microscópio



***Paracoccidioides* spp.**

Principal espécie: *P. brasiliensis*; *P. lutzii*

Cólônia



Colônia filamentosa: Branca a creme inicialmente, evoluindo para tons bege, acinzentados ou amarronzados. Textura aveludada a cotonosa, podendo tornar-se membranosa com o tempo. Reverso claro a castanho escuro.



Microscopia: fios muito finos e alongados, com várias divisões, apresentando pequenas bolinhas claras presas ao longo dos fios e, principalmente, nas pontas.



Tempo de crescimento: 15 a 30 dias. Crescimento pleno pode requerer 4 a 8 semanas



Benefício: Reciclagem de nutrientes.



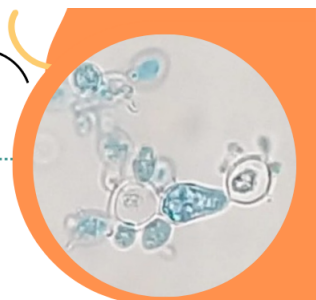
Doença: Paracoccidioidomicose. Afeta pulmões e pode causar também feridas na boca que não curam.



Localização: Solo e plantações - zona rural; tocas de tatus.



No microscópio



Paracoccidioides spp.



Principal espécie: *P. brasiliensis*; *P. lutzii*

Côlonia



Colônia leveduriforme: coloração branca, creme ou bege, cremosa a pastosa, com superfície lisa a rugosa.



Microscopia: células grandes semelhante a “roda de leme” ou “timão de navio”.



Tempo de crescimento: 10 a 20 dias



Benefício: Reciclagem de nutrientes.



Doença: Paracoccidioidomicose. Afeta pulmões e pode causar também feridas na boca que não curam.



Localização: Solo e plantações - zona rural; tocas de tatus.

Aprender também é descobrir palavras novas

Durante a **leitura** deste **guia**, você entrou em um mundo cheio de **descobertas**.

Algumas delas vieram acompanhadas de **palavras diferentes**, que talvez você nunca tivesse visto antes.

Essas palavras fazem parte da linguagem da **ciência**.

Para te ajudar, preparamos um **glossário**, com explicações simples e claras.

Ele está aqui para te acompanhar, não para complicar.

**Use sempre que quiser, quantas vezes precisar.
A curiosidade é o primeiro passo para aprender.**



Glossário

Colônia: Conjunto de fungos crescendo juntos sobre um meio de cultivo. Pode ser cremosa ou algodonosa.

Conídios: Tipo de esporo produzido pelos fungos filamentosos, ajudando na reprodução e espalhamento.

Dimórficos: Fungos que conseguem mudar de forma para sobreviver. No ambiente, crescem como filamentos; dentro do corpo, como leveduras.

Espécie: Tipo específico de fungo dentro de um grupo maior.

Esporos: Estruturas microscópicas usadas pelos fungos para se espalhar e se reproduzir.

Filamentosos: Fungos formados por muitas células ligadas em fios fininhos, formando colônias parecidas com algodão ou veludo.

Hifas: Fios microscópicos que formam o corpo dos fungos filamentosos, parecidos com raízes.

Leveduriformes: Fungos formados por uma única célula, que crescem formando colônias lisas e cremosas.

Macroscopia: Observação do fungo a olho nu, sem microscópio, analisando cor, textura e topografia.

Micélio: Grande rede formada pelas hifas, que constitui o corpo principal do fungo.

Microscopia: Observação dos fungos com auxílio do microscópio.

Patógenos: Fungos que podem causar doenças em pessoas ou animais.

spp.: Abreviação usada para indicar várias espécies de um mesmo fungo.

Zoonose: Doença que pode ser transmitida entre animais e humanos.

Finalizando nossa aventura pelo mundo dos fungos

Chegamos ao **fim** da nossa jornada pelo **incrível** mundo dos **fungos**.

Ao longo deste guia, você descobriu que esses **seres vivos**, muitas vezes invisíveis aos nossos olhos, estão por toda parte e fazem coisas **muito importantes**.

Aprendemos que existem **fungos** bem pequeninos, como as **leveduras**, e outros que formam **grandes redes** escondidas no solo e nos alimentos. Vimos também que eles ajudam a **reciclar nutrientes, cuidar do solo, produzir alimentos e até remédios**. Em algumas situações, porém, alguns fungos podem causar **doenças**, e por isso é importante conhecê-los.

Mais do que aprender nomes difíceis, este **guia** quis despertar a **curiosidade**, incentivar a **observação** e mostrar que aprender **ciência** pode ser algo **simples, interessante e divertido**.

Agora, sempre que você ver um **cogumelo** ou sentir o cheiro de **pão quentinho**, lembre-se de que existe um mundo invisível trabalhando em silêncio, e que os **fungos** fazem parte dessa **história**.

A ciência começa com a curiosidade e pode estar escondida nos lugares mais inesperados.

Até a próxima descoberta.

PRODUÇÃO:

BRUNA MURADÁS ESPERON
FERNANDO BERTAZZO-SILVA
JÉSSICA ESTEFANIA DAVILA HIDALGO
LAÍS DA SILVA MALHEIROS

REVISÃO E EDIÇÃO:

MELISSA ORZECOWSKI XAVIER
VANICE RODRIGUES POESTER

SOB ORIENTAÇÃO DO GRUPO DE MICOLOGIA
MÉDICA FAMED - FURG



FAMED
FACULDADE DE MEDICINA

PROEXC
PRÓ-REITORIA DE
EXTENSÃO E CULTURA

 **FURG**
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE

APÊNDICE B

Manuscrito complementar com enfoque em outra doença fúngica, porém desenvolvido em paralelo durante o período do doutoramento. Submetido na data 24 de dezembro de 2025 ao periódico Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology) ISSN 2229-2225.

TÍTULO: **COMMERCIAL FISH AS RESERVOIRS OF PATHOGENIC *Candida* spp.**

|AUTORES: Bruna Muradás Esperon, Livia Silveira Munhoz, Diulien Canary de Lima, Mônica Campos dos Santos, Emilia Ferreira Andrade, Vanice Rodrigues Poester, Cecília Bittencourt Severo, Melissa Orzechowski Xavier

Inserido no contexto da Saúde Única, o estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de espécies patogênicas do gênero *Candida* em peixes comercializados em um município do litoral sul do Brasil, avaliando seu potencial impacto na interface saúde animal–saúde humana–ambiente e sua relevância para a segurança alimentar. A doutoranda foi responsável pela concepção e elaboração integral do projeto de pesquisa, incluindo delineamento metodológico, definição dos critérios de amostragem e estruturação do plano analítico. Também realizou a aquisição dos exemplares junto ao ponto comercial previamente definido. No âmbito experimental, conduziu o processamento microbiológico dos pescados, incluindo manipulação asséptica, semeadura em meios seletivos, monitoramento do crescimento fúngico, purificação dos isolados, armazenamento e preservação das cepas em condições adequadas para posterior caracterização. Os isolados obtidos foram encaminhados para identificação por espectrometria de massas (MALDI-TOF) em colaboração com pesquisadora parceira em Porto Alegre, fortalecendo a integração interinstitucional do estudo. A doutoranda foi responsável pela organização e curadoria do banco de dados, tabulação das variáveis microbiológicas e epidemiológicas, análise descritiva e interpretação dos resultados. Também realizou a redação do manuscrito científico, sob supervisão da orientadora.

COMMERCIAL FISH AS RESERVOIRS OF PATHOGENIC *Candida* spp.

[AUTHORS: Bruna Muradás Esperon^[1,2], Livia Silveira Munhoz^[2], Diulien Canary de Lima^[1,2], Mônica Campos dos Santos^[1,2,3], Emilia Ferreira Andrade^[1,2], Vanice Rodrigues Poester^[1,2], Cecília Bittencourt Severo^[4], Melissa Orzechowski Xavier^[1,2]

[1] Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brazil.

[2] Laboratório de Micologia, Faculdade de Medicina (FaMed), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), RS, Brazil.

[3] Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Jr., vinculado à Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), Rio Grande, RS, Brazil.

[4] Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brasil

Corresponding author: Prof^ª Dr^ª Melissa Orzechowski Xavier. Laboratório de Micologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, Campus Saúde. General Canabarro 102, Centro, 96200-200, Rio Grande, RS, Brasil. **Phone:** (+55) 53-32374636/ 4634 **e-mail:** melissaxavierfurg@gmail.com

ABSTRACT

Candidiasis is a globally distributed disease that negatively impacts quality of life, with prevalence rates reaching 50% among workers in the fishing industry. Focused in the one health context this study aimed to investigate the occurrence of pathogenic *Candida* species in commercially available fish from a city on the southern coast of Brazil. Mycological analyses were performed on 34 fresh fish specimens obtained from a local public market. Yeast colonies were identified by protein profile using MALDI-TOF MS. Among the 34 fishes, at least one pathogenic specie of *Candida* was isolated in 19 (56%), and from the three species of fish analyzed. Seven pathogenic *Candida* species were detected, with *C. parapsilosis* being the most prevalent (55%). Our study reveals the high presence of pathogenic *Candida* species, especially of *Candida* non-albicans in fish and

underscores the need for continuous monitoring and educational strategies focused on preventing fungal infections of occupational and public health concern.

KEYWORDS: fishery product, fishermen, mycology, One Health, seafood, yeast.

INTRODUCTION

The fish production chain plays a strategic role in food security and the global economy, encompassing everything from fishing and aquaculture to processing, distribution, and subsequent consumption [1,2]. In 2022, global production reached 223.2 million tons, of which 89% was destined for human consumption, resulting in an average consumption of 20.7 kg per capita/year [3]. The sector generated approximately USD 472 billion and employment for 61.8 million people, demonstrating its socioeconomic importance [3].

One of the occupational hazards that affect workers in the sector, particularly due to constant exposure to humidity and direct or prolonged hand contact with water and fish, are skin diseases [4]. Cutaneous fungal infections in fisherman are highlighted, being mostly associated with *Candida* spp. and especially in the interdigital regions, hands, and nails [4,5]. In fact, candidiasis is a worldwide distributed disease associated with a decrease quality of life in around 14,000 human patients annually [6], reaching prevalence rates of 50.5% in workers in the fishing chain and may even limiting their work activities [4].

Pathogenic *Candida* have been identified in various environmental sources, including seawater [7-9]. In this context, fishes may act as potential source of infection of these yeasts, since colonization by *Candida* spp. has been increasingly reported in aquatic organisms [10-12]. Moreover, human infections are not associated to a specific genotype of the fungal species, as recently showed in studies including isolates from environment, animals and humans [13].

The detection of clinically relevant species, mainly as *C. auris*, a multidrug species, in marine environments reinforces concerns about the interface between environmental, animal, and human health [14]. Thus, considering the direct and frequent handling of fishes by workers in the sector, this study aimed to investigate the occurrence

of pathogenic *Candida* species in commercially available fishes from a city of the Southern coast of Brazil.

METHODS

Fish samples

During a period of five months (November 2023 to March 2024), fresh whole fishes were obtained from the local public market of Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brazil (32°02'06"S, 52°05'55"W). A total of 34 fish specimens were included, being 30 *Mugil liza*, 2 *Menticirrhus americanus* and 2 *Pomatomus saltatrix*. To ensure sample freshness, organoleptic characteristics were assessed at all the time of purchase. Each fish was placed in an individual plastic bag and transported on ice in insulated polystyrene containers to the mycology laboratory (*Faculdade de Medicina - FAMED - Universidade Federal do Rio Grande*, Rio Grande do Sul, Brazil), where they were promptly processed.

Mycological analyses

Samples from all specimens were cultured for mycological analyses. An amount of 25 g of tissues pool (pool of gills, fillet, fins, dorsal fin, and spines) of each fish was homogenized in 250 ml of Phosphate-Buffered Saline (PBS) plus chloramphenicol (0,30 mg/mL) (Alamar Tecno-Científica Ltda, SP, Brazil) and gentamicin (100mg/mL) (Hypofarma®, Belo Horizonte, Brazil) and macerated by Mixer in Nox (Oster®, United States) [15,16]. Then, 500 µl of the solution was spread in Petri dishes containing Sabouraud dextrose agar (KASVI®, São José dos Pinhais, Paraná, Brazil) plus chloramphenicol (30 mg/100mL), in duplicate, and chromogenic media agar (CHROMagar Candida®, BD – Becton Dickinson, Franklin Lakes, Nova Jersey, United States) (Figure 1). Plates were incubated at 30 °C for 72 hours. All yeast colonies were purified and species identification was confirmed by protein profile, using MALDI-TOF MS (Bruker Corporation™, Massachusetts, USA), according to the manufacturer's instructions.

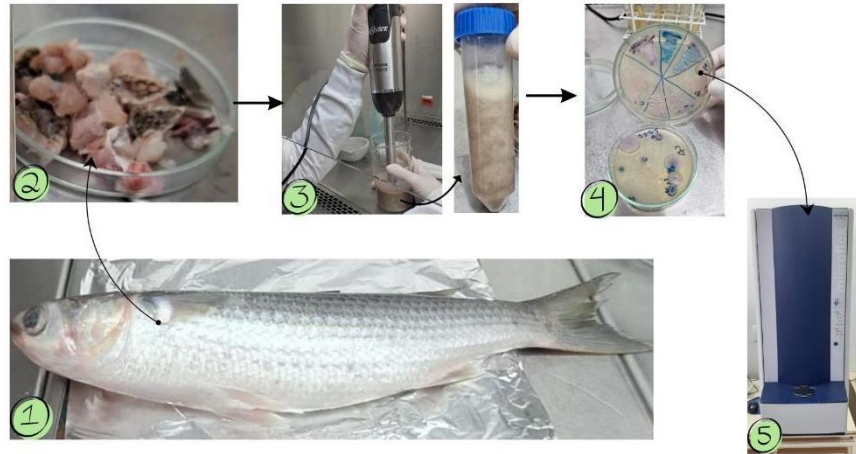


Figure 1: Workflow of fish sample processing for mycological analysis. 1: Fish specimen (*Mugil liza*) used for sample collection; 2: Tissue fragments from gills, fillet, fins, dorsal fin, and spines (25 g pool); 3: Homogenization of tissue pool in PBS with antibiotics using a mixer; 4: Fungal growth on CHROMagar *Candida*® after incubation at 30 °C for 72 hours and isolates were purified. 5: Yeasts identification was confirmed by protein profile, using MALDI-TOF MS.

Data analyzes

Data were analyzed using Microsoft Excel 2016 and GraphPad Prism 8.0 software. The data were organized by fish species and yeast genus/species, and descriptive statistics were applied to determine absolute and relative frequencies, medians, and standard deviations.

RESULTS

Of the 34 fishes, yeast growth was recovered from 31, representing 91% of positivity. Among the positive samples, colony-forming units (CFUs) of *Candida* spp. ranged from 2×10^2 to 1.2×10^4 CFU/g with a median of 4.5×10^2 CFU/g (standard deviation of 34.59) (Figure 2).

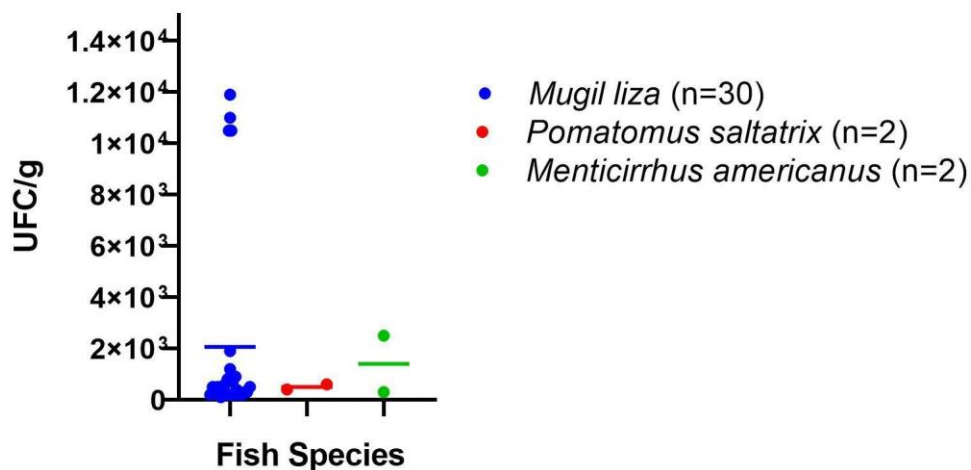


Figure 2: Distribution of CFU/g counts per positive fish sample. The horizontal line indicates the mean.

A total of 83 isolates were purified and evaluated by MALDI-TOF MS, being 61 (73.5%) successfully identified (scores >2.0). *Candida* spp. corresponded for 53% (n=32) of the yeasts identified, followed by *Trichosporon* spp. (20%, n=12); *Debaryomyces hansenii* (12%, n=7); *Rhodotorula mucilaginosa* and *Yarrowia lipolytica* (5% each, n=3); *Diutina catenulata* (3%, n=2) and *Debaryomyces marasmius* and *Pichia* sp. (2% each, n=1).

More than a half of the 34 fishes was colonized by at least one pathogenic species of *Candida*. In three animals (9%, *Mugil liza*= 2 and *P. saltatrix* n=1) more than one *Candida* species was isolated. A total of seven pathogenic species of *Candida* were identified, being *C. parapsillosis* the most common (55%, n=17), followed by *Meyerozyma guilliermondii* (*C. guilliermondii*, 19%, n=6), *C. tropicalis* (10%, n=3), two isolates of *C. intermedia* (n=7%) and one isolate each of *C. dubliniensis*, *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*) and *C. albicans* (3% each) (Figure 3). These pathogenic *Candida* species were isolated from the three species of fishes analyzed (*M. liza* 16/30; *M. americanus* 2/2; and *P. saltatrix* 1/2).

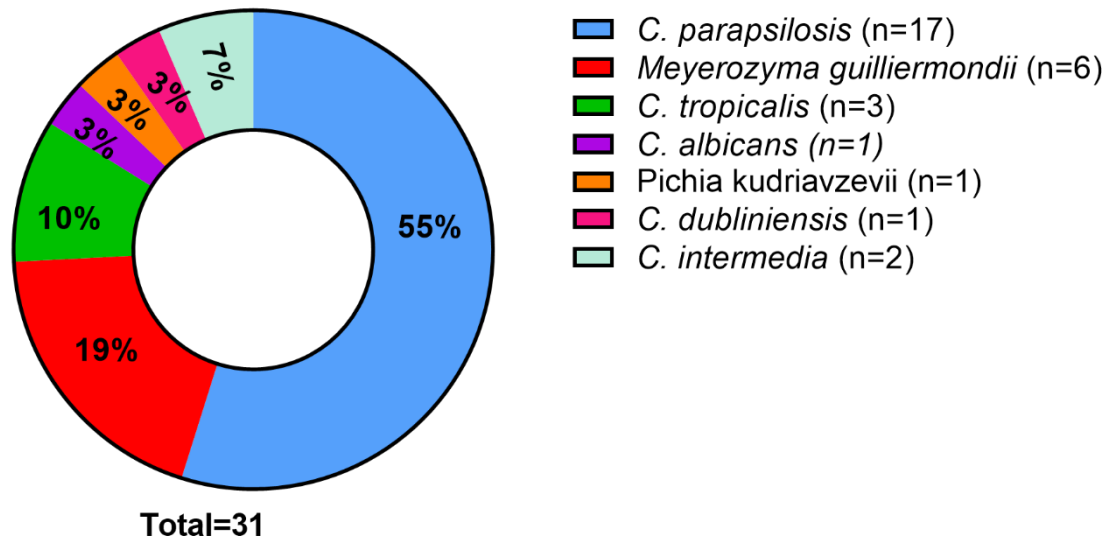


Figure 3: Distribution of pathogenic *Candida* species isolated from fish samples.

DISCUSSION

Cutaneous mycoses constitute significant public health problems, especially among workers exposed to humid conditions and direct contact with aquatic animals, such as fishermen [4]. In these populations, *Candida* spp. are frequent etiological agents, capable of causing chronic, recurrent infections that significantly impact quality of life and work capacity [4]. Since *Candida* species are present in various aquatic niches it raises concern especially for individuals with continuous exposure to these environments [17]. Here we demonstrated the presence of pathogenic *Candida* species in ~50% of the fish samples analyzed, reinforcing the need for attention to the role of these animal food products as potential reservoirs or sources of occupational exposure to medically relevant yeast.

It's interesting to highlight that around 70% of the *Candida* isolates identified in our study belongs to the groups of critical-priority or high-priority pathogens according to the *Fungal Priority Pathogens List to Guide Research, Development and Public Health Action* released by the World Health Organization [18]. The high prevalence of *C. parapsilosis* described in our study is particularly relevant, as this species is showing increasing antifungal resistance, especially to azoles [19,20]. Furthermore, *Pichia kudriavzevii*, which is intrinsically resistant to fluconazole, was also identified in one fish sample [21]. These findings highlight the potential of fish and related environments to

harbor clinically relevant yeasts, warranting attention from both a veterinary and public health perspective. Fortunately, *C. auris*, a multidrug-resistant yeast capable of surviving in saline environments [22,23], was not detected in any of the fish samples analyzed.

The fishing environment represents a dynamic interface between aquatic organisms, their pathogens, and human activities, reinforcing the need for integrated surveillance of the environment, fish, and food handlers [12]. Additionally, there is no specific legislation addressing external hand hygiene for fungal pathogens or standardized methods for the mycological analysis of such products, revealing a critical gap in the control of pathogenic yeasts in the food industry [24].

Considering the scarcity of investigations addressing *Candida* species in fish samples [12,25], our study was conducted in a city with significant fishing activity [26], thus it is noteworthy that pathogenic *Candida* species were detected in all three fish species analyzed (*Mugil liza*, *Menticirrhus americanus*, and *Pomatomus saltatrix*), which are frequently handled in local fisheries [27]. It is worth noting that during processing, workers are commonly exposed to skin abrasions and moisture, conditions that favor fungal colonization and potential transmission. Therefore, the presence of these opportunistic yeasts in fish highlights the importance of adopting personal protective equipment and hygienic handling practices to minimize occupational risks. Implementing control measures, such as the use of gloves, hand disinfection, and environmental cleaning, can reduce the possibility of fungal spread, and accidental infections among fishing industry workers [4, 28-30].

Increased surveillance of aquatic environments and fishery products are necessary, as well as the implementation of hygiene and biosafety measures for food handlers to reduce the risk of fungal contamination and infection. A recent study demonstrated a close genetic relationship between *C. albicans* isolates from humans and animals, suggesting potential cross-transmission, as shown by multilocus sequence analyses in wild and farm animals in southern Italy [13]. These findings underscore the importance of strict hygiene and biosafety measures in handling food and aquatic environments, emphasizing that continuous preventive practices are essential to minimize fungal contamination and protect public health. Moreover, few studies have investigated the occurrence of *Candida* spp. on the hands and nails of food handlers or in final fishery products [4,12,15,25,31].

Although being an unprecedented study, some limitations of this research are related to the inclusion of samples from only one coastal city, over a short period (five months), and including only three fish species commercially sold in the area. Moreover, we could not access the antifungal susceptibility of these isolates, which could also collaborate in the resistance surveillance. Our results cannot be extrapolated for all fishery chain, however it a baseline to emphasize the need for continuous monitoring of these and other fish species, as well as other marine products as sources of *Candida* spp. infections.

Furthermore, this study reveals the importance of integrated surveillance approaches and instigates future studies of mycological investigation of both fish samples and the hands of fish handlers, in addition to the implementation of continuous education programs focused on the prevention and management of these clinically and occupationally relevant mycoses.

DECLARATIONS

Funding

The authors are grateful to the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES), *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPQ), and *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul* (FAPERGS).

Declaration of all possible conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgment

The authors are grateful to the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES), *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul* (FAPERGS), *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPQ) and Brazilian program “*Pesquisas Ecológicas de Longa Duração-PELD*” (Brazilian LongTerm Ecological Program (BR-LTER) through the Ministry of Science and Technology (MCT/CNPQ).

Authors' contributions

BME (Conceptualization, Formal analysis, Methodology, Writing – original draft), LSM (Methodology); DCL (Methodology); MCS (Methodology); EFA (Methodology); VRP

(Writing - review); CBS (Methodology); MOX (Formal analysis, Supervision, Writing – review & editing).

REFERENCES

1. Jennings S, Stentiford GD, Leocadio AM, Jeffery KR, Metcalfe JD, Katsiadaki I, Mander S, Esteves CL, Green M, Burnell G et al. (2016) Aquatic food security: insights into challenges and solutions from an analysis of interactions between fisheries, aquaculture, food safety, human health, fish and human welfare, economy and environment. *Fish and Fisheries*, v. 17:893-938. <https://doi.org/10.1111/faf.12152>
2. Ismail S, Nouman M, Reza H, Vasefi F, Kashani Zadeh H (2024) A blockchain-based fish supply chain framework for maintaining fish quality and authenticity. *IEEE Trans Serv Comput* 17:1877–1886. <https://doi.org/10.1109/TSC.2024.3422897>
3. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2024) *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue Transformation in Action*. FAO, Rome.
4. Le F, Liu B, Si Z, Li S, Qiao J (2020) Prevalence of dermatitis and superficial fungal infection of the hands in seafood workers: an investigation from food markets in Ningbo, China. *Risk Manag Healthc Policy* 13:427–431. <https://doi.org/10.2147/RMHP.S240327>
5. Jabroini A, Eghtedarnejad E, Ghanbarzadeh A, Motamedi M, Jafari M, Kharazi M, Yazdanpanah S, Khodadadi H (2025) Molecular identification and antifungal susceptibility profile of rare and emerging yeast species causing onychomycosis. *BMC Res Notes* 18:167. <https://doi.org/10.1186/s13104-025-07197-0>
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2018) People at high risk of developing flu-related complications. CDC.
https://www.cdc.gov/flu/about/disease/high_risk.htm. Accessed 10 March 2025
7. Bazán-Mora E, Sánchez-Paredes E, Córdoba-Martínez E, Hernández-Hernández F, Manzano-Gayosso P, López-Martínez R (2001) Hallazgo de *Candida albicans* en manos de manejadores de alimentos. *Rev Mex Patol Clin Med Lab* 48:37–41.
8. Zuza-Alves DL, Silva-Rocha WP, Francisco EC, Araújo MCB, Melo ASA, Chaves GM (2019) *Candida tropicalis* geographic population structure maintenance and dispersion in the coastal environment may be influenced by the climatic season and anthropogenic action. *Microb Pathog* 128:63–68. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.12.018>
9. Andrade EF, Poester VR, Esperon BM, Trápaga MR, Hidalgo JED, Ferreira FB, Souza MM, Severo CB, Von Groll A, Xavier MO (2025) Pathogenic *Aspergillus* spp. and *Candida* spp. in coastal waters from southern Brazil: an one health approach. *Braz J Microbiol* 56:179–189. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01604-7>

10. Pang KL, Hassett BT, Shaumi A, Guo SY, Sakayaroj J, Chiang MWL, Yang CH, Jones EBG (2021) Pathogenic fungi of marine animals: a taxonomic perspective. *Fungal Biol Rev* 38:92–106. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.03.008>
11. Ziarati M, Zorriehzahra MJ, Hassantabar F, Mehrabi Z, Dhawan M, Sharun K, Shamsi S (2022) Zoonotic diseases of fish and their prevention and control. *Vet Q* 42:95–118. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2080298>
12. Oliveira MME, Lima VFM, Costa GL, Baptista BO, Augusto JA, Hauser-Davis RA (2025) First report of the emerging pathogenic yeast *Candida palmioleophila* in commercially relevant fish from southeastern Brazil. *Front Fungal Biol* 6:1545572. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2025.1545572>
13. Rhimi W, Giuffrè L, Mendoza-Roldan JA, Laidoudi Y, Iatta R, Romeo O, Barrs V, Otranto D, Alastruey-Izquierdo A, Cafarchia C (2025) Multilocus sequence typing of *Candida albicans* isolates from wild and farm animals from southern Italy. *One Health* 101196. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2025.101196>
14. Soltani S, Nikaeen M, Besharatipour N, Gholipour S, Mirhendi H (2025) Investigation of the presence of *Candida auris* and other *Candida* species in marine waters. *Int J Environ Health Res* 1–8. <https://doi.org/10.1080/09603123.2025.2485425>
15. Leme FCO, Negreiros MMB, Koga FA, Bosco SMG, Bagagli E, Haddad Jr V (2011) Evaluation of pathogenic fungi occurrence in traumatogenic structures of freshwater fish. *Rev Soc Bras Med Trop* 44:182–185. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000007>
16. Wanderley LAS, Bianchin A, Teo CRPA, Fuentefria AM (2013) Occurrence and pathogenicity of *Candida* spp. in unpasteurized cheese. *Rev Bras Biociênc* 11:145–148.
17. Romo JA, Kumamoto CA (2020) On commensalism of *Candida*. *J Fungi* 6:16. <https://doi.org/10.3390/jof6010016>
18. World Health Organization (WHO). 2022 Fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Accessed 10 March 2025.
19. Branco J, Miranda IM, Rodrigues AG (2023) *Candida parapsilosis* virulence and antifungal resistance mechanisms: a comprehensive review of key determinants. *J Fungi* 9:80. <https://doi.org/10.3390/jof9010080>
20. Daneshnia F, de Almeida Júnior JN, Ilkit M, Lombardi L, Perry AM, Gao M, *et al.* (2023) Worldwide emergence of fluconazole-resistant *Candida parapsilosis*: current framework and future research roadmap. *Lancet Microbe* 4:e470–e480. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(23\)00067-8](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00067-8)
21. Jamiu AT, Albertyn J, Sebolai OM, Pohl CH (2021) Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Med Mycol* 59:14–30. <https://doi.org/10.1093/mmy/myaa031>

22. Arora P, Singh P, Wang Y, Yadav A, Pawar K, Singh A, Padmavati G, Xu J, Chowdhary A (2021) Environmental isolation of *Candida auris* from the coastal wetlands of Andaman Islands, India. *mBio* 12:e03181-20. <https://doi.org/10.1128/mbio.03181-20>.
23. Allert S, Schulz D, Kämmer P, Großmann P, Wolf T, Schäuble S, Panagiotou G, Brunke S, Hube B (2022) From environmental adaptation to host survival: attributes that mediate pathogenicity of *Candida auris*. *Virulence* 13:191–214. <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2026037>
24. Ferreira MA, Martins D (2016) Ocorrência de espécies fúngicas isoladas a partir de mãos e unhas de trabalhadores. *Rev Bras Med Trab* 14:60–70.
25. Milanez GDJ, Lirio MRF, Hagosojos BM, Masangkay FR (2019) First report of *Candida tropicalis* in edible freshwater fish in the Philippines. *Asian J Biol Life Sci* 8:117–119. <https://doi.org/10.5530/ajbls.2019.8.19>
26. Rodrigues AR, Abdallah PR, Gasalla MA (2018) Harvesting costs and revenues: Implication of the performance of open-access industrial fishing fleets off Rio Grande, Brazil. *Marine Policy* 93:104–112. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.04.008>
27. FURG/MPA, 2025. Boletim da pesca artesanal desembarcada no Estuário da Lagoa dos Patos – 01/2025. Termo de Execução Descentralizada 11/2013, Ministério da Pesca e Aquicultura / Universidade Federal do Rio Grande. Laboratório de Dinâmica Populacional Pesqueira – LADIPP e Laboratório Interdisciplinar Mapeamento de Ambientes, Resistência, Sociedade e Solidariedade – MARÉSS, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, 23p. Accessed 1 November 2025
28. UCHEGBU, U. N. *Prevalence of Onychomycosis among food handlers in Owerri, Southeast Nigeria*. 2021.
29. Tomićić R, Raspor P (2017) Influence of growth conditions on adhesion of yeast *Candida* spp. and *Pichia* spp. to stainless steel surfaces. *Food Microbiol* 65:179–184. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.02.008>
30. Tomićić R, Tomićić Z, Raspor P (2017) Adhesion of *Candida* spp. and *Pichia* spp. to wooden surfaces. *Food Technol Biotechnol* 55(1):138–142. <https://doi.org/10.17113/ftb.55.01.17.4514>
31. Tartor Y, Taha M, Mahboub H, El Ghamery M (2018) Yeast species associated with diseased fish: Occurrence, identification, experimental challenges and antifungal susceptibility testing. *Aquaculture* 488:134–144. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.01.033>