



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE  
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA (ILACVN)  
BIOTECNOLOGIA**

**ESTUDO AMBIENTAL DE *SPOROTHRIX SPP.* DE LOCAIS COM ANIMAIS  
POSITIVOS PARA ESPOROTRICOSE, NO MUNICÍPIO DE FOZ DO  
IGUAÇU**

**GHADIR WISSAM RIZK**

Foz do Iguaçu

2025



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE  
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA (ILACVN)  
BIOTECNOLOGIA**

**ESTUDO AMBIENTAL DE *SPOROTHRIX SPP.* DE LOCAIS COM ANIMAIS  
POSITIVOS PARA ESPOROTRICOSE, NO MUNICÍPIO DE FOZ DO  
IGUAÇU**

**GHADIR WISSAM RIZK**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

**BANCA EXAMINADORA**

Orientadora: Prof. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos (UNILA)

Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini (UNILA)

Prof. Dra. Nathalia Corrêa Chagas de Souza (UNILA)

Foz do Iguaçu, 17 de dezembro de 2025.

## RESUMO

A esporotricose, micose emergente de preocupação em saúde pública, tem sua transmissão tradicionalmente associada a traumas ambientais e, mais recentemente e de forma predominante no Brasil, à transmissão zoonótica mediada por gatos infectados. Este estudo visou investigar a possível relação entre a presença ambiental de *Sporothrix* spp. e casos da doença em Foz do Iguaçu/PR, utilizando uma abordagem integrada de metabarcoding e técnicas clássicas de isolamento fúngico. Foram coletadas 2 amostras de solo de residências com casos felinos confirmados e 2 de ambientes controle. A análise metagenômica via sequenciamento do DNAr da região ITS e processamento bioinformático com QIIME2 e DADA2 não detectou DNA do gênero *Sporothrix* em nenhuma amostra, revelando, contudo, comunidades fúngicas similares entre locais com e sem doença, com predominância dos filos Ascomycota e Basidiomycota e alta abundância de famílias como Trichocomaceae. Em paralelo, o isolamento seletivo em meios SDA e BDA resultou em cinco isolados fúngicos com morfologias filamentosas e leveduriformes, porém nenhum apresentou características macro e microscópicas típicas de *Sporothrix* spp., nem transição dimórfica ou produção de melanina em cultivo líquido. Os resultados conjuntos indicam que, nas áreas estudadas, o solo pode ter atuado como reservatório detectável do patógeno, reforçando a hipótese de que a transmissão da esporotricose, particularmente por *Sporothrix brasiliensis*, ocorre principalmente via contato direto entre animais (rota zoonótica), sustentando a necessidade de estratégias de controle focadas no manejo animal e no isolamento de felinos infectados, alinhadas à perspectiva de Saúde Única. Contudo, *S. brasiliensis* é um patógeno reconhecido pela dificuldade tanto de isolamento a partir de amostras ambientais quanto de amplificação de seu DNA. Nesse contexto, torna-se necessária a obtenção de novas amostras, bem como a avaliação de estratégias alternativas de cultivo e o desenvolvimento ou validação de primers específicos para análises diretas do DNA ambiental.

**Palavras-chave:** esporotricose; saúde única; análises metagenômicas

## ABSTRACT

Sporotrichosis, an emerging mycosis of public health concern, is traditionally associated with environmental trauma and, more recently and predominantly in Brazil, with zoonotic transmission mediated by infected cats. This study aimed to investigate the possible relationship between the environmental presence of *Sporothrix spp.* and cases of the disease in Foz do Iguaçu/PR, using an integrated approach of metabarcoding and classical fungal isolation techniques. Two soil samples were collected from residences with confirmed feline cases and two from control environments. Metagenomic analysis via ITS region rDNA sequencing and bioinformatic processing with QIIME2 and DADA2 did not detect DNA of the genus *Sporothrix* in any sample, revealing, however, similar fungal communities between sites with and without disease, with a predominance of the phyla Ascomycota and Basidiomycota and high abundance of families such as Trichocomaceae. In parallel, selective isolation in SDA and BDA media resulted in five fungal isolates with filamentous and yeast-like morphologies, but none presented macro- and microscopic characteristics typical of *Sporothrix spp.*, nor dimorphic transition or melanin production in liquid culture. The combined results indicate that, in the areas studied, the soil may have acted as a detectable reservoir for the pathogen, reinforcing the hypothesis that the transmission of sporotrichosis, particularly by *Sporothrix brasiliensis*, occurs mainly via direct contact between animals (zoonotic route), supporting the need for control strategies focused on animal management and the isolation of infected cats, in line with the One Health perspective. However, *S. brasiliensis* is a pathogen recognized for the difficulty of both isolating it from environmental samples and amplifying its DNA. In this context, it is necessary to obtain new samples, as well as to evaluate alternative cultivation strategies and develop or validate specific primers for direct analysis of environmental DNA.

**Keywords:** sporotrichosis; one health; metagenomic analyses

## LISTA DE ABREVIações

<b>BHI</b>	<i>Brain Heart Infusion</i>
<b>CLSI</b>	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
<b>CMI</b>	Concentração Mínima Inibitória
<b>°C</b>	<i>Graus Celsius</i>
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ITS</b>	<i>Internal Transcribed Spacer</i>
<b>mM</b>	Milímetro
<b>NCBI</b>	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>PCR</b>	<i>Polymerase chain reaction</i>
<b>rDNA</b>	DNA recombinante
<b>S.</b>	<i>Sporothrix</i>
<b>SDA</b>	Sabouraud Dextrose-Ágar Suscetível
<b>SDD</b>	dependente da dose espécies
<b>spp.</b>	Unidade Formadora de Colônias
<b>UFC</b>	Microlitro
<b>uL</b>	Universidade Federal da Integração Latino-Americana
<b>UNILA</b>	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
<b>BLAST</b>	

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Lesão em animal felino causada por esporotricose.....	13
<b>Figura 2:</b> Lesões causadas pela esporotricose. ....	15
<b>Figura 3:</b> Distribuição geográfica isolamentos ambientais de espécies de gênero <i>Sporothrix</i> *.....	16
<b>Figura 4.</b> Morfologia de fungos do gênero <i>Sporothrix</i> .....	17
<b>Figura 5:</b> Tabela de abundância referente aos filos de maior abundância nas amostras ambientais de residências com casos positivos e negativos (controles) de esporotricose.....	34
<b>Figura 6:</b> Tabela de abundância referente às famílias presentes nas amostras ambientais de residências com casos positivos e negativos (controles) de esporotricose.....	35
<b>Figura 7:</b> Tabela de abundância referente aos gêneros presentes nas amostras.....	36
<b>Figura 8:</b> Placas de Petri contendo os fungos isolados .....	38
<b>Figura 9:</b> Observação microscópica dos fungos isolados em objetiva de 40x.....	39
<b>Figura 10:</b> Cultivo dos fungos isolados em meio líquido SDA a 37°C para análise morfológica e preparo de extração de DNA leveduriforme.....	41

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Características das principais formas clínicas da manifestação da esporotricose.....	14
<b>Quadro 2:</b> Composição do meio de cultivo Batata-Dextrose Ágar.....	27
<b>Quadro 3:</b> Composição do meio de cultivo Sabouraud-Dextrose Ágar.....	27
<b>Quadro 4:</b> Códigos para análise das amostras, condições de cultivo e características macroscópicas.....	29
<b>Quadro 5:</b> Identificação das amostras coletadas.....	33
<b>Quadro 6:</b> Perfil de crescimento dos isolados em meio líquido Sabouraud a 37 °C.....	40

## AGRADECIMENTOS

Para mim, que sempre usei a comunicação como forma de conexão, nunca entendi aqueles que ignoram a manutenção de seus elos mais intrínsecos por não saber se declarar.

Comunicar-se vai além da expressão verbal com outrem, é dizer o que sente da maneira mais natural do seu ser, seja através das artes, das brincadeiras, das risadas ou dos choros. A minha escolha sempre foi a escrita porque é ela que me permite ser prolixa e rodopiar com as palavras sem medo de alguém me limitar.

Apresentar o meu trabalho de conclusão de curso é uma forma de honrar aqueles que, mesmo que minimamente, cuidaram de mim e me ajudaram a me reconstruir em todos os momentos que a vida simplesmente funciona como vida.

Gostaria de iniciar meus agradecimentos direcionando a toda à minha família por nunca ter medido esforços para me criar em um ambiente onde os estudos são prioridade e o conhecimento é poder, mas, para além disso, por me ensinar a ter orgulho das minhas raízes e verdadeiras paixões. Minha família me apresentou o amor muito cedo, felizmente nunca saberei o que a falta dele pode me fazer. Todas as palavras são poucas para descrever o quanto sou grata por ter sido criada com cada um de vocês me acompanhando.

Agora, aos meus amigos, Ana, Julia, Anali, Eduardo, Jovana, Tainá e Ali, por todos os dias que compartilhei com vocês, mesmo naqueles que os surtos falavam mais alto. Os baralhos, o tererê, as jantãs, as noites de músicas 2000, as caminhadas e outras mil coisas me permitiram entender que casa também pode ser amizade. Vocês são a minha morada, da mais confortável e com muito aconchego. Obrigada por serem vocês e me permitirem ser eu.

À minha dupla da faculdade Jamily, porque a melhor experiência do mundo foi te encontrar e compartilhar essa rotina contigo. Além de colega, tornou-se parte de mim, da mais linda, carinhosa e do melhor encaixe. Sou grata e orgulhosa de poder fazer parte da sua jornada, todos os dias.

Ao meu time do coração, SynFronteras, por ter me dado uma outra família, mas principalmente por ser o motivo de ter conhecido duas das minhas pessoas favoritas do mundo, meu professor Cristian Rojas e meu grandíssimo amigo Matheus Araujo. Não existe um momento que eu pense em vocês sem me emocionar porque relações leves merecem o carregamento dos nossos sentimentos.

À minha orientadora Rafaella Bonugli, por ser uma inspiração acadêmica, por me permitir criar na máxima potencialidade do meu ser e por ter me incentivado a buscar novas formas de fazer ciência. Sou muito feliz que Deus cruzou o meu caminho com o seu e anseio pelo que vamos trilhar ainda.

Às colegas de laboratório mais prestativas, Mayara, Camila, Larissa e Maria, por todas as vezes que me ajudaram quando eu tava perdida e por torcerem tanto por mim. Os dias de trabalho foram mais leves por ter compartilhado com vocês.

E, pra finalizar, gostaria de agradecer àquela que veio devagar mas com toda a doçura que alguém pode trazer, minha professora Nathalia Corrêa, por todas as falas atenciosas e por colaborar com o meu projeto tão sonhado.

Nosso ser é moldado por tudo o que vivemos e por aqueles que permearam em algum momento da nossa vida. Obrigada por existirem, porque assim eu existo.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	13
2.1 ESPOROTRICOSE	13
2.2 SPOROTHRIX SPP	16
2.2.1 Transmissão e Virulência	18
2.2.1.1 Diferença de transmissão entre espécies	19
2.3 ESTUDOS METAGENÔMICOS	20
2.3.1 Metabarcoding	21
2.4 ONE HEALTH	22
<b>3 OBJETIVOS</b>	24
3.1 OBJETIVOS GERAIS	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
<b>4 METODOLOGIA</b>	24
4.1 COLETA DAS AMOSTRAS	24
4.2 ESTUDO METAGENÔMICO	25
4.2.1 Extração do DNA Total	25
4.2.2 Análise Bioinformática	25
4.3 ISOLAMENTO DE FUNGOS DO GÊNERO SPOROTHRIX SPP	26
4.3.1 Preparação de Placas Contendo Meio de Cultivo	26
4.3.2 Diluição Seriada	27
4.3.3 Caracterização Microbiológica dos Fungos Seleccionados	28
4.3.3.1 Isolamento das culturas fúngicas	28
4.3.3.2 Preparação de lâminas para confirmação morfológica	29
4.3.3.3 Cultivo dos fungos isolados em meio líquido	30
4.4 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS FUNGOS SELECIONADOS	30
4.4.1 Extração de DNA	30
4.4.2 Reação em Cadeia Polimerase (PCR)	31
4.4.3 Eletroforese em Gel de Agarose	31
4.4.5 Sequenciamento da Região ITS	32
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	32
5.1 COLETA DAS AMOSTRAS	32

5.2 ANÁLISE METAGENÔMICA	33
5.3 ISOLAMENTO DAS CULTURAS FÚNGICAS	37
5.4 ANÁLISE MOLECULAR DOS FUNGOS ISOLADOS	43
<b>6. CONCLUSÃO</b>	43
<b>REFERÊNCIAS</b>	45
<b>ANEXOS</b>	51

## 1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix spp.*, sendo uma preocupação crescente na saúde pública, especialmente em regiões urbanas. A transmissão ocorre principalmente por contato com solos contaminados, material vegetal ou por arranhaduras e mordidas de animais infectados, especialmente gatos, que desempenham um papel fundamental na disseminação da doença (ROSSOW *et al.*, 2020). Nos últimos anos, os casos de esporotricose aumentaram significativamente no Brasil, tornando necessário um maior entendimento sobre a presença ambiental desses fungos e seu papel na epidemiologia da infecção (SCHECHTMAN *et al.*, 2022). Apesar da ampla distribuição geográfica, a relação entre os microrganismos causadores e os fatores ambientais ainda não está completamente esclarecida (RAMÍREZ-SOTO *et al.*, 2018).

Entre as espécies patogênicas do gênero, o *Sporothrix brasiliensis* apresenta alta virulência e resistência a antifúngicos, sendo a principal responsável pelos surtos zoonóticos registrados no Brasil. Diferenças estruturais, como a composição da parede celular e a formação de biofilmes, conferem maior potencial infeccioso a essa espécie (Lopes-Bezerra *et al.*, 2018). Além disso, sua capacidade de alternar entre a forma micelial, presente no ambiente, e a forma leveduriforme, desenvolvida no hospedeiro, contribui para a adaptação e a persistência no meio (Teixeira *et al.*, 2011). Pesquisas demonstram que a *S. brasiliensis* pode persistir em materiais ambientais, não apenas em hospedeiros animais. Isso amplia a compreensão de sua ecologia e destaca a necessidade de métodos de detecção aprimorados e estratégias de saúde pública para lidar com as vias de transmissão zoonótica e ambiental (ALMEIDA-SILVA *et al.*, 2022; DA COSTA *et al.*, 2022; NAHAL *et al.*, 2024).

Sob a perspectiva da Saúde Única, a emergência e expansão da *S. brasiliensis* revelam a interdependência entre saúde humana, animal e ambiental (MELO *et al.*, 2023). A transmissão zoonótica, especialmente envolvendo gatos, associada à capacidade do fungo de persistir no ambiente, evidencia que o controle da esporotricose não pode ser restrito ao tratamento dos casos clínicos (SOUZA, 2025). Torna-se fundamental integrar ações veterinárias, vigilância ambiental e políticas de saúde pública para monitorar focos de infecção, aprimorar métodos diagnósticos e promover estratégias de prevenção (MELO *et al.*, 2023). Assim, compreender a ecologia do patógeno e suas interações nos diferentes ambientes, torna-se essencial para reduzir a disseminação e mitigar impactos sociais e sanitários.

A identificação e caracterização de *Sporothrix* spp. em amostras ambientais é rara e tecnicamente desafiadora, porém pode possibilitar uma compreensão mais ampla da dinâmica da transmissão da esporotricose. Nesse sentido, o presente projeto tem como objetivo investigar áreas com registros de esporotricose por meio da coleta de amostras de solo, tanto para o isolamento de fungos do gênero *Sporothrix* quanto para a análise da diversidade microbiana presente no DNA ambiental, permitindo identificar potenciais associações entre o patógeno, outros microrganismos e fatores ecológicos relacionados.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ESPOROTRICOSE

A crescente incidência de doenças associadas à degradação ambiental está se tornando cada vez mais evidente, e a esporotricose se destaca como um exemplo clássico desse fenômeno. A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix* spp. que afeta humanos e outros animais, infectados através de aberturas nas barreiras físicas, como feridas e cortes (FERNANDES, 2018). Geralmente, as lesões são localizadas na pele (Figura 1), tecido celular subcutâneo, vasos linfáticos próximos e, em casos raros, pode haver disseminação para outros órgãos, inclusive por inalação de esporos. A maioria dos casos de transmissão para seres humanos estão associados a mordidas ou arranhões de gatos infectados, sendo considerada uma dermatopatia zoonótica até recentemente negligenciada no Brasil (ROSSOW *et al.*, 2020).

**Figura 1:** Lesão em animal felino causada por esporotricose



Fonte: BAZZI (2016).

Esta doença apresenta diferentes formas clínicas, cuja manifestação depende principalmente do estado imunológico do hospedeiro, do inóculo e da virulência da espécie envolvida, podendo se manifestar de três formas principais, descritas no Quadro 1: cutânea fixa, caracterizada pela formação de lesões cutâneas localizadas no local da inoculação (Imagem 1A); linfocutânea, caracterizada pela formação de lesões nódulo-ulcerativas no local da inoculação (Imagem 2B); cutânea disseminada, caracterizada pela formação de mais de três lesões envolvendo dois ou mais locais anatômicos diferentes do local da inoculação (Imagem 2C) (FERREIRA, 2018; MAHAJAN, 2014).

**Quadro 1:** Características das principais formas clínicas da manifestação da esporotricose.

<b>Forma clínica</b>	<b>Características</b>	<b>Frequência relativa</b>
Esporotricose linfocutânea	Lesão inicial no local da inoculação, geralmente nodular ou ulcerada, seguida por surgimento de nódulos subcutâneos ao longo dos vasos linfáticos regionais (“cadeia linfática”). Evolução típica em trajeto ascendente.	Mais frequente; considerada a forma clássica da doença.
Esporotricose cutânea fixa	Lesão única e localizada, sem disseminação linfática. Pode apresentar-se como nódulo, placa verrucosa ou úlcera restrita ao ponto de inoculação.	Segunda forma mais comum.
Esporotricose cutânea disseminada	Presença de múltiplas lesões cutâneas não contíguas, podendo acometer diferentes regiões do corpo; ocorre predominantemente em indivíduos imunossuprimidos.	Rara, associada à imunossupressão.

Fonte: Adaptado de FERREIRA (2018); MAHAJAN (2014).

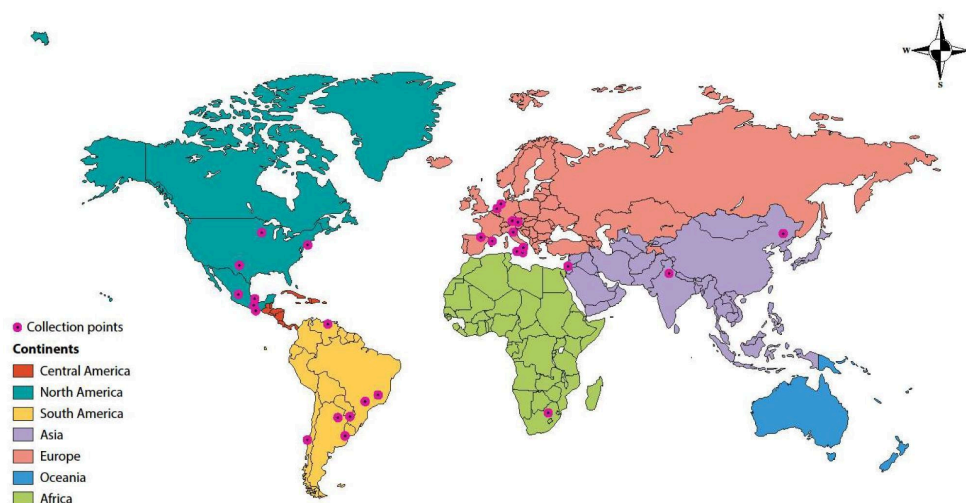
**Figura 2:** Lesões causadas pela esporotricose. A) esporotricose cutânea fixa; B) esporotricose linfocutânea; C) esporotricose cutânea disseminada.



Fonte: Adaptado de FERREIRA (2018); MAHAJAN (2014).

Em 2025, embora ainda seja frequentemente descrita como negligenciada, houve uma mudança significativa no seu status: a esporotricose humana passou a ser de notificação compulsória em todo o território nacional. Esta mudança, implementada pela Portaria GM/MS nº 6.734, de 18 de março de 2025 (BRASIL, 2025), representa um reconhecimento formal da crescente preocupação com a doença e visa melhorar a vigilância epidemiológica e o controle dos casos no Brasil. A esporotricose, embora mais comum em climas tropicais e subtropicais, tem sido documentada globalmente, com casos relatados em diversos ambientes e populações em todo o mundo (BAZZI, 2016). Embora a distribuição geográfica de isolamentos ambientais de espécies do gênero *Sporothrix* seja bem documentada (Figura 3), a relação precisa entre os microrganismos causadores e os elementos ecológicos permanece em grande parte desconhecida (RAMÍREZ-SOTO *et al.*, 2018).

**Figura 3:** Distribuição geográfica de isolamentos ambientais de espécies de gênero *Sporothrix*\*



Fonte: RAMÍREZ-SOTO ET AL. (2018). \*Dados parciais até 2018.

## 2.2 SPOROTHRIX SPP.

A taxonomia do gênero *Sporothrix* é organizada dentro do reino Fungi, especificamente na divisão Ascomycota. Esse gênero pertence à classe Sordariomycetes e está incluído na ordem Ophiostomatales, sendo parte da família Ophiostomataceae. O gênero *Sporothrix* abrange diversas espécies, como *Sporothrix schenckii*, *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix albicans* e *Sporothrix luriei*, que são amplamente estudadas devido à sua relevância clínica e ecológica (SILVA *et al.*, 2022).

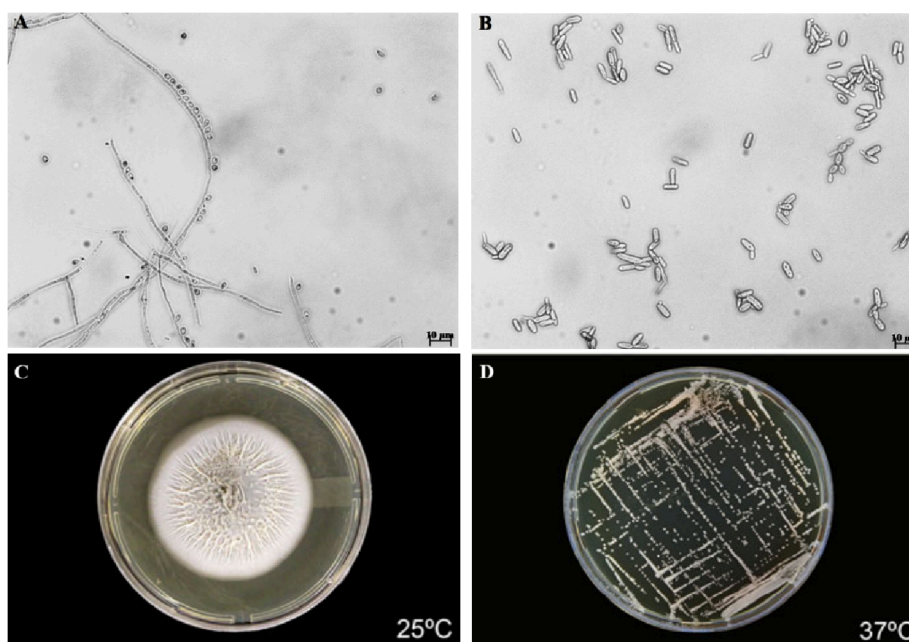
O dimorfismo do gênero *Sporothrix* é um fator crucial para o seu sucesso na infecção de mamíferos. Essa capacidade de transição entre uma forma micelial saprófita, presente no ambiente a 25 °C, e uma forma de levedura parasitária, desenvolvida em temperaturas mais elevadas (35 °C–37 °C), como as encontradas em hospedeiros de sangue quente, permite ao fungo adaptar-se a diferentes nichos ecológicos (GREMIÃO *et al.*, 2019).

Na fase micelial (Figura 4.A), o fungo apresenta hifas delgadas, hialinas, septadas e ramificadas, com conidióforos que produzem conídios globosos a ovoides, organizados em estruturas características semelhantes a margaridas, que podem crescer diretamente sobre as

hifas, dispondo-se bilateralmente. Na fase parasitária (Figura 4.B), o fungo assume a forma de levedura, caracterizada por células pleomórficas que se reproduzem por mitose. As células apresentam formato fusiforme, semelhante a um charuto, ou arredondado, com tamanho variando entre 2,5 a 5  $\mu\text{m}$ , e podem exibir pequenas células em brotamento (DA CRUZ *et al.*, 2013; TEIXEIRA, 2011). Essa transição morfológica é essencial para a patogenicidade do fungo, permitindo-lhe sobreviver e proliferar no ambiente hostil do hospedeiro mamífero (DUARTE *et al.*, 2021).

Comumente, características macroscópicas das colônias filamentosas, em meios como ágar extrato de malte ou ágar dextrose de batata, são lisas e enrugadas, brancas a cremosas no início, tornando-se marrons a pretas após alguns dias (Figura 4.C). Algumas cepas, no entanto, têm a capacidade de formar colônias escuras desde o início do crescimento (BARROS, 2011). Em sua forma de levedura (Figura 4.D), em parasitismo, a colônia se mostra com consistência cremosa, aspecto úmido e de coloração variando de branco a creme (FERREIRA, 2018).

**Figura 4.** Morfologia de fungos do gênero *Sporothrix*.



A) Micélio da espécie *Sporothrix brasiliensis* cultivado a 28°C, com presença de conídios e hifas septadas ramificadas, visualizadas microscopicamente usando uma escala de 10  $\mu\text{m}$ ; B) Células leveduriformes da espécie *Sporothrix brasiliensis* cultivadas a 37°C, com o formato alongado visualizadas microscopicamente usando uma escala de 10  $\mu\text{m}$ . C) Aspectos macroscópicos do fungo *Sporothrix schenkkii* em placa de petri contendo meio Batata-Dextrose Ágar, em sua forma filamentososa cultivada a 28°C; D) Aspectos macroscópicos do fungo *Sporothrix schenkkii* em placa de petri contendo meio Batata-Dextrose Ágar, em sua forma leveduriforme cultivada a 37°C. **Fonte:** GÓMEZ-GAVIRIA *et al.* (2023); RODRIGUES *et al.* (2018).

### 2.2.1 Transmissão e Virulência

Os fungos do gênero *Sporothrix* encontram-se principalmente no solo e a infecção ocorre geralmente por inoculação do fungo através de espinhos, estipes ou pequenas lesões durante atividades como a agricultura, a jardinagem, a horticultura e o contato zoonótico, especialmente relacionado com cães e gatos. Os gatos domésticos são os principais reservatórios da doença no Brasil (SCHECHTMAN *et al.*, 2022).

No Brasil, a espécie *Sporothrix brasiliensis* está associada à infecção felina e apresenta a maior virulência em epizootias (surtos ou ocorrências de doenças que afetam muitos animais em uma determinada área geográfica ou população animal) de esporotricose (GREMIÃO *et al.*, 2017). Acredita-se que um dos fatores de aumento significativo dos casos no Brasil é a urbanização, quando associada à falta de controle da proliferação de animais domésticos errantes, como cães e gatos, em paralelo com a falta de predadores no ambiente urbano. Esse impacto favorece não só a esporotricose como outras zoonoses (HADDAD JUNIOR *et al.*, 2021).

Contudo, evidências demonstram que a esporotricose também pode ocorrer por meio de inoculação traumática, o estudo de Nahal e colaboradores (2024), envolvendo 43 casos de esporotricose não zoonótica, analisou dados epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. Quase metade dos pacientes (48,8%) relatou trauma envolvendo plantas e/ou contato direto com o solo como provável fonte de infecção. A espécie predominante foi *S. brasiliensis* (39 casos), seguida por *S. globosa* (3 casos) e *S. schenckii* (1 caso), confirmando que *S. brasiliensis* está associada tanto à transmissão ambiental quanto às diversas formas clínicas, incluindo quadros graves. Esses achados reforçam que a transmissão ambiental segue sendo um componente relevante da epidemiologia da esporotricose, e que *S. brasiliensis* possui ampla capacidade de persistir no ambiente, infectando humanos mesmo na ausência de contato com gatos.

Um dos fatores de virulência do *Sporothrix spp.* é a sua capacidade de se converter em fase de levedura quando em contato com o sangue humano (RAMÍREZ-SOTO *et al.*, 2018), como citado anteriormente. Entretanto, a origem e manutenção da virulência em fungos dimórficos é enigmática porque uma interação com um hospedeiro mamífero não é um requisito para a sobrevivência e virulência do fungo, efeito conhecido como “fenômeno de virulência pronta” (TÉLLEZ, 2014).

O fungo *Sporothrix* modifica sua morfologia em resposta à temperatura, adotando a forma de levedura no hospedeiro (35–37 °C), crucial para sua fase parasitária. Essa transição

termodimórfica possibilita a mudança de um estado filamentosos no ambiente para uma forma patogênica no hospedeiro vertebrado, uma adaptação também observada em outros fungos patogênicos humanos, como os das ordens Onygenales e Eurotiales, evidenciando sua importância evolutiva na infecção de mamíferos (RODRIGUES *et al.*, 2015).

A membrana celular fúngica é o ponto inicial de interação entre o hospedeiro e o patógeno, desempenhando assim uma função crucial na patogênese e na resposta imunológica (RUIZ-BACA *et al.*, 2021). Em fungos patogênicos, diversas glicoproteínas desempenham um papel significativo na infecção, influenciando a capacidade do patógeno de invadir o hospedeiro, garantir sua sobrevivência e evadir a resposta imune do hospedeiro (LEAL, 2019). Embora as proteínas da parede celular do *Sporothrix spp.* ainda não estejam completamente caracterizadas, há relatos documentados sobre a presença de adesinas de paredes celulares Gp70 que se ligam às proteínas da matriz extracelular do hospedeiro, como a fibronectina, a laminina e o colágeno tipo II. A proteína Gp70 pode ser encontrada tanto na parede celular quanto secretada e como parte de vesículas extracelulares, desempenhando um papel crucial na patogênese do fungo, atuando na adesão às células hospedeiras e na modulação da resposta imune (GARCÍA-CARNERO *et al.*, 2022).

#### 2.2.1.1 Diferença de transmissão entre espécies de *Sporothrix*

A esporotricose, uma micose subcutânea que pode se manifestar nas formas disseminada e extracutânea, foi historicamente atribuída ao agente etiológico *Sporothrix schenckii*, descrito em 1898, com sua fase parasitária de levedura isolada no Brasil em 1907 (LOPES-BEZERRA *et al.*, 2018). Estudos recentes de sequenciamento multilocus esclareceram os limites das espécies dentro do gênero *Sporothrix*, revelando a existência de grupos crípticos clinicamente relevantes além do *S. schenckii*, abrangendo diversas espécies, como *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. albicans* e *S. luriei* (RODRIGUES *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2022).

Historicamente, a transmissão sapronótica era a principal fonte de esporotricose humana. No entanto, com o surgimento de *S. brasiliensis*, as infecções zoonóticas, mediadas principalmente por felinos, tornaram-se cada vez mais frequentes, alterando o panorama epidemiológico da doença (ROSSOW *et al.*, 2020).

Ambas as rotas de transmissão estão associadas a traumas nos tecidos cutâneos ou subcutâneos, que facilitam a introdução de propágulos de *Sporothrix* na pele (RODRIGUES *et al.*, 2016). No local da inoculação, desenvolvem-se lesões que podem se disseminar pelos vasos

linfáticos nas primeiras semanas de infecção, possibilitando a manifestação de forma cutânea ou extracutânea, com a gravidade da doença variando conforme a espécie do fungo *Sporothrix* envolvido e o estado imunológico do hospedeiro (ROSSOW *et al.*, 2020).

O fungo *Sporothrix schenckii*, principal espécie associada à esporotricose, é amplamente encontrado em solos ricos em matéria orgânica, folhas secas, madeira e espinhos de plantas. A transmissão ocorre principalmente por inoculação traumática por meio de matéria vegetal, como perfurações por espinhos ou lascas de madeira, ou pela inalação do fungo, apesar de menos frequente, tornando a doença um risco ocupacional para quem trabalha com solo ou vegetais (BAZZI *et al.*, 2016; ROSSOW *et al.*, 2020). No entanto, a transmissão de *Sporothrix brasiliensis* ocorre principalmente através do contato do animal infectado, a partir de arranhaduras ou mordidas, destacando uma rota zoonótica que tem gerado alerta devido ao aumento de casos e à complexidade do controle epidemiológico (SALES, 2019).

Apesar de ambas as espécies, *S. schenckii* e *S. brasiliensis*, possuem genomas com 97,5% de similaridade, evidências sugerem diferenças associadas à maior virulência e às características estruturais da parede celular desta última (PIÑERO, 2021). Enquanto ambas possuem paredes bicamadas, *S. brasiliensis* apresenta menor quantidade da glicoproteína 70 kDa (gp70), uma parede mais espessa com maior concentração de ramnose e quitina, além de microfibrilas mais longas que favorecem a formação de biofilmes, contribuindo para a maior resistência a medicamentos e um potencial infeccioso mais elevado (LOPES-BEZERRA *et al.*, 2018).

## 2.3 ESTUDOS METAGENÔMICOS

A Metagenômica auxilia na compreensão dos patógenos em seu contexto, revelando suas interações complexas com seu ambiente, hospedeiros e vetores, levando ao conceito de "patobioma". Suas abordagens funcionais oferecem uma oportunidade para explorar o papel do hospedeiro na modulação dessas comunidades microbianas, considerando a resposta do hospedeiro, sua história epidemiológica e as funções imunológicas (VAYSSIER-TAUSSAT *et al.* 2014). Em adição, as análises metagenômicas oferecem ferramentas para investigar a diversidade microbiana em ambientes específicos, permitindo, assim, a análise dos potenciais impactos nos locais de desenvolvimento do *Sporothrix spp.* e associação entre os agentes etiológicos e os fatores ambientais (RAMÍREZ-SOTO *et al.* 2018).

O ambiente em que um organismo vive influencia diretamente os tipos de microorganismos que ele pode abrigar e interagir. Mudanças no ambiente, como variações na temperatura, umidade, disponibilidade de nutrientes e exposição a agentes patogênicos, podem afetar a composição e a função da microbiota associada ao hospedeiro. Conseqüentemente, a patogenicidade deve ser vista como uma característica dinâmica das interações hospedeiro-patógeno (MÉTHOT *et al.* 2014).

Estudos recentes baseados em metagenômica e em análises moleculares têm transformado significativamente a compreensão sobre a esporotricose, oferecendo novas perspectivas sobre a epidemiologia, a diversidade genética, a patogênese e o diagnóstico da doença. As ferramentas metagenômicas e de genotipagem de alta resolução permitiram identificar com precisão as espécies envolvidas em surtos, como *S. brasiliensis* no Brasil e *S. globosa* na China, e mapear sua disseminação geográfica e diversidade genética. Esses métodos também elucidaram padrões de migração e expansão clonal, incluindo a propagação de *S. brasiliensis* a partir do Rio de Janeiro, frequentemente impulsionada pela transmissão gato-humano (DE CARVALHO *et al.*, 2022; RIBEIRO *et al.*, 2024; DE MIRANDA LEONHARDT LOSADA *et al.*, 2023; DE CARVALHO *et al.*, 2021; DA SILVA *et al.*, 2024; FILHO *et al.*, 2020).

No campo diagnóstico, técnicas metagenômicas e ensaios moleculares, como PCR e RT-qPCR, possibilitaram uma detecção mais rápida, sensível e específica de *Sporothrix*, aprimorando a vigilância epidemiológica e o manejo de surtos (DE CARVALHO *et al.*, 2022; RODRIGUES *et al.*, 2015; AMADEI *et al.*, 2025; DE MACEDO *et al.*, 2023; LUIZ *et al.*, 2022).

Em conjunto, essas abordagens têm revolucionado o entendimento da esporotricose ao permitir a identificação precisa das espécies, o rastreamento de surtos, a elucidação de mecanismos de virulência e o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais eficazes, contribuindo diretamente para o controle da doença e a melhoria do atendimento aos pacientes.

### 2.3.1 A técnica de Metabarcoding aplicada às análises de DNA ambiental

A impossibilidade de observar, cultivar ou quantificar organismos raros, extintos ou de difícil detecção impulsionou o desenvolvimento de métodos indiretos para inferir sua presença e características. Nesse contexto, emergiu o conceito de DNA ambiental (eDNA), definido como o material genético obtido diretamente de amostras ambientais, como solo ou água, sem a coleta

física do indivíduo. Entre as linhas da metagenômica está o metabarcoding, que tem como objetivo a identificação de um conjunto de organismos de uma comunidade. O metabarcoding é uma poderosa técnica que aplica os princípios do DNA ambiental para identificar múltiplas espécies simultaneamente, a qual envolve a amplificação em larga escala de fragmentos de DNA específicos. (PADILLA-GARCÍA *et al.*, 2021).

O processo baseia-se na amplificação de regiões curtas de DNA (<200pb) – visando superar a alta degradação do material em amostras ambientais, utilizando primers que se ligam a sequências universais, mas com regiões variáveis que funcionam como código de barras taxonômico. Após a amplificação por PCR, essas amostras são submetidas ao Sequenciamento de Alto Rendimento (HTS), permitindo a identificação em massa de espécies, sem a necessidade de isolamento ou captura individual dos organismos (MENDES, 2023). As sequências obtidas são então submetidas ao sequenciamento e comparadas com um banco de dados de referência para a identificação taxonômica simultânea de todas as espécies presentes. (AYLAGAS *et al.*, 2016).

A etapa bioinformática transforma sequências de DNA ambiental (eDNA) em matrizes de dados ecológicos. Tradicionalmente, isso é feito por agrupamento (*clustering*), onde as sequências são reunidas em Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) com base em um limiar fixo de similaridade (tipicamente 97%). No entanto, uma abordagem mais moderna e precisa é a remoção de ruído, usando algoritmos como DADA2 e Deblur, que distingue erros de sequenciamento da variação biológica real, resultando nas Variantes de Sequência de Amplicon (ASVs), que representam a verdadeira variação de forma mais granular (FURNEAUX *et al.*, 2025).

Ao analisar múltiplas amostras ambientais simultaneamente, a organização dos dados é otimizada pela criação de uma Tabela de Variantes de Sequência de Amplicon (ASV). Essa tabela estruturada consolida as sequências únicas detectadas em todas as coletas, registrando o número de ocorrências de cada ASV em cada parcela de amostragem. Posteriormente, essa matriz pode ser enriquecida com a identificação taxonômica de cada sequência individual, transformando os dados brutos em uma matriz pronta para análises ecológicas (BRÄUNIG *et al.*, 2024)

## 2.4 ONE HEALTH

A abordagem de Saúde Única ou “One Health” reconhece a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental, enfatizando que doenças que atravessam essas fronteiras, especialmente as zoonoses, exigem estratégias colaborativas e interdisciplinares para um

controle e prevenção eficazes. Saúde Única é um modelo transdisciplinar que aborda a interface humano–animal–ambiente, promovendo a colaboração entre médicos, veterinários, cientistas ambientais e profissionais de saúde pública para enfrentar doenças infecciosas emergentes e reemergentes, particularmente zoonoses como a esporotricose. Essa abordagem é endossada por grandes organizações de saúde e tem sido cada vez mais considerada essencial para o enfrentamento de ameaças complexas à saúde pública (ROSSOW *et al.*, 2020; MARKO *et al.*, 2025; GREMIÃO *et al.*, 2020; ANDRADE *et al.*, 2022; RODRIGUES *et al.*, 2022; CHARLES-NIÑO *et al.*, 2022).

Diversos estudos têm demonstrado a relevância da abordagem para a compreensão e o controle da esporotricose, especialmente em regiões onde a doença se tornou hiperendêmica. No campo da vigilância epidemiológica, investigações integradas realizadas no Brasil e no Chile evidenciam que ações articuladas entre médicos, veterinários e autoridades de saúde pública permitem o diagnóstico precoce, a rápida identificação de surtos e a implementação de medidas de controle voltadas simultaneamente para humanos e animais (MOTTA *et al.*, 2025; ROSSOW *et al.*, 2020; ANDRADE *et al.*, 2022; GREMIÃO *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2022; THOMSON *et al.*, 2023). Esses achados reforçam que estratégias isoladas tendem a ser menos eficazes diante de doenças com forte interface zoonótica.

Além disso, pesquisas apontam que a distribuição da esporotricose está intimamente ligada a fatores socioeconômicos e ambientais. A maior concentração de casos em áreas com infraestrutura precária e condições de vida desfavoráveis destaca a importância de políticas públicas alinhadas aos princípios de *One Health*, capazes de integrar intervenções sociais, sanitárias e ambientais (MOTTA *et al.*, 2025; MARKO *et al.*, 2025; GREMIÃO *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2022; GONÇALVES *et al.*, 2024).

Outro eixo central da abordagem é a educação em saúde. Estudos mostram que campanhas educativas voltadas para tutores de animais e comunidades, somadas à capacitação contínua de profissionais da saúde humana e veterinária, desempenham papel fundamental na detecção precoce e na redução da transmissão, especialmente em regiões hiperendêmicas (MOTTA *et al.*, 2025; ROSSOW *et al.*, 2020; ANDRADE *et al.*, 2022; GREMIÃO *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2022; XAVIER *et al.*, 2023).

Por fim, a literatura destaca a necessidade de esforços multidisciplinares e multissetoriais para o enfrentamento sustentável da esporotricose. Avanços em diagnóstico molecular, monitoramento ambiental e formulação de políticas públicas integradas têm sido apontados como componentes essenciais para compreender a dinâmica de disseminação das espécies de

*Sporothrix* e orientar ações de controle mais eficazes (ROSSOW *et al.*, 2020; MARKO *et al.*, 2025; GREMIÃO *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2022; CHARLES-NIÑO *et al.*, 2022; GONÇALVES *et al.*, 2024).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar áreas com registros de esporotricose por meio da coleta de amostras de solo, tanto para o isolamento de fungos do gênero *Sporothrix* quanto para a análise da diversidade fúngica presente no DNA ambiental através do método metagenômico, utilizando a técnica de metabarcoding com primer ITS, permitindo identificar potenciais associações entre o patógeno, outros microrganismos e fatores ecológicos relacionados.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Coletar amostras ambientais de locais com casos suspeitos ou confirmados de esporotricose, além de amostras controle provenientes de ambientes com gatos saudáveis;
2. Extrair o DNA total, sequenciar e realizar a bioinformática das amostras usando a metodologia de metabarcoding;
3. Comparar a composição e a diversidade fúngica de solos de residências com casos de esporotricose com solos controles de residências com gatos saudáveis, a fim de identificar diferenças ecológicas e possíveis associações entre o ambiente microbiano e a presença do patógeno;
4. Realizar o isolamento seletivo para *Sporothrix spp.*;
5. Caracterizar por métodos macroscópicos e microscópicos os isolados;
6. Sequenciar os isolados com características do gênero alvo e realizar análises filogenéticas dos fungos isolados.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 COLETA DAS AMOSTRAS

O estudo foi realizado no município de Foz do Iguaçu, cidade localizada no oeste do estado do Paraná, Brasil, região de tríplice-fronteira com os países Paraguai e Argentina. Foram realizadas coletas de amostras de solo em parceria com o Centro de Controle de Zoonoses Dr. Dorival Jorge Júnior em residências indicadas pela médica veterinária da Prefeitura de Foz do Iguaçu, Dr. Luciana Chiyo, como áreas de maior probabilidade de presença de fungos *Sporothrix*, baseando-se no diagnóstico dos animais presentes com esporotricose e na ocorrência de casos clínicos dessas regiões, especialmente gatos. Para o controle negativo, foram realizadas coletas em locais que possuem gatos com perfis saudáveis e que se limitam ao ambiente residencial com estruturas adequadas de saneamento básico.

Foram realizadas quatro coletas de amostras de solo em diferentes pontos do município de Foz do Iguaçu, Paraná, acompanhadas do Centro de Zoonoses Dr. Dorival Jorge Junior; duas em áreas onde havia forte suspeita da presença de animais com esporotricose, obtidas especificamente em locais de contato intenso destes animais, como áreas adjacentes a caixas de areia e regiões de solo de quintais utilizadas para repouso ou locomoção, e duas em áreas sem histórico aparente da doença, que foram empregadas como controles, sendo estes ambientes em que os animais domésticos não possuem contato com outros animais e limitados ao espaço residencial.

As amostras foram com o auxílio de uma espátula com colher em chapa inox, transferidas para um tubo tipo Falcon de 50 mL e transportadas em caixas de isopor para o Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (LABIMIC), localizado na Universidade Federal da Integração Latino-Americana, campus Jardim Universitário, na cidade de Foz do Iguaçu.

### 4.2 ESTUDO METAGENÔMICO

#### 4.2.1 Extração do DNA Total

A extração do DNA total das amostras ambientais foi realizada utilizando o kit comercial DNeasy PowerSoil Kits (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante. Após a extração do DNA, as amostras purificadas foram encaminhadas para a empresa Bioseq, localizada em São Paulo, Brasil, para o serviço de sequenciamento de alto rendimento (High-Throughput Sequencing – HTS). O sequenciamento foi especificamente direcionado para o marcador ITS, visando a comunidade fúngica, e conduzido utilizando a tecnologia de Sequenciamento de Nova Geração para posterior análise bioinformática de metabarcoding.

#### 4.2.2 Pipeline aplicado para as análises de Bioinformática

A análise bioinformática foi conduzida no ambiente Linux utilizando o Qiime2, versão 2024.10, instalado via Miniforge, seguindo as orientações fornecidas pela documentação oficial da plataforma. O sequenciamento direcionado à região ITS resultou em um total de oito arquivos FASTQ.gz, correspondentes às leituras *forward* e *reverse* dos quatro conjuntos amostrais: 232, 271, C1 e C2. Esses arquivos foram organizados por meio de um arquivo *manifest*, permitindo sua importação como dados pareados (*paired-end*) e garantindo o mapeamento correto das amostras.

Após a etapa de importação, realizou-se a inspeção da qualidade das sequências com *qiime demux summarize*, o que possibilitou identificar as regiões de queda de qualidade ao longo dos *reads* (BOLLER *et al.*, 2020). Com base nesse diagnóstico, foram definidos os parâmetros de *trimming* e *truncation*, removendo-se bases de baixa qualidade nas extremidades das sequências. Também foi aplicada uma filtragem inicial para descartar leituras incompatíveis com os critérios mínimos de qualidade estabelecidos para a análise.

Em seguida, o processo de *denoising* foi conduzido utilizando o *plugin* DADA2, no modo *paired-end*, para a correção de erros de sequenciamento, remoção de ruído e artefatos e a filtragem de quimeras, resultando na geração de *amplicon sequence variants* (ASVs) de alta precisão, para a representação da diversidade microbiana presente nas amostras (CALLAHAN *et al.*, 2016).

Para a etapa de classificação taxonômica, empregou-se o banco de dados UNITE específico para ITS, utilizando a versão com 97% de similaridade para eucariotos, adequada para análises amplas de comunidades fúngicas e outras linhagens eucarióticas. Após a atribuição taxonômica, foi produzida a tabela de abundância das ASVs por amostra, a qual serviu como matriz central para as análises ecológicas subsequentes.

#### 4.3 ISOLAMENTO DE FUNGOS DO GÊNERO *SPOROTHRIX SPP.*

##### 4.3.1 Preparação de Placas Contendo Meio de Cultivo

Para o cultivo dos fungos, foram preparadas placas contendo meio de cultura Ágar Batata Dextrose (BDA), proveniente da LABORCHEMIKER (LCK-3200272), e Ágar Sabouraud Dextrose Sabouraud Dextrose Ágar (SDA), provenientes da KASVI (K25-1024), suas respectivas composições descritas pelos fornecedores foram formuladas nos quadros 2 e 3 (KENYON et al., 1984). Foram utilizando aproximadamente 20-25 mL de meio por placa de Petri de 9 mm e adicionou-se 0,05 mg/L cloranfenicol como antibiótico padrão para inibir o crescimento de contaminantes bacterianos (ALMEIDA, 2023).

**Quadro 2:** Composição do meio de cultivo Batata-Dextrose Ágar

<b>Compostos</b>	<b>Quantidades (g/L)</b>
Infusão de Batata	200,0
Glicose	20,0
Ágar	17,0
<b>pH: 5.6 + 0.1 a 25°C</b>	

**Quadro 3:** Composição do meio de cultivo Sabouraud-Dextrose Ágar

<b>Compostos</b>	<b>Quantidades (g/L)</b>
Dextrose	40,0
Digestão peptídica de tecido animal	5,0
Digestão pancreática de caseína	5,0
Ágar	15,0
<b>pH: 5.6 + 0.2 a 25°C</b>	

Todas as preparações foram realizadas em cabine de fluxo laminar, seguindo protocolos de esterilização e assepsia para garantir a integridade das amostras. O meio BDA foi utilizado para favorecer o crescimento da forma leveduriforme a 37 °C, enquanto o meio SDA foi empregado para o desenvolvimento da forma filamentosa a 28-30 °C (BARROS, 2011).

Após a preparação, as placas foram armazenadas em geladeira até o momento da inoculação das amostras.

#### 4.3.2 Diluição Seriada

Para a realização da diluição seriada seguiu-se o protocolo operacional baseado em métodos descritos por Ben-David e Davidson (2014), adaptado para o isolamento de fungos. Inicialmente, pesou-se 1 grama de amostra, que foi transferida para um tubo Falcon contendo 9 mL de água destilada estéril, previamente autoclavada. A mistura foi homogeneizada utilizando um vórtex por 3 minutos para garantir a dispersão uniforme do material. Em seguida, em cabine de fluxo laminar, realizou-se uma série de diluições decimais, transferindo 1 mL da suspensão inicial para 9 mL de água destilada estéril autoclavada, repetindo o processo até atingir a diluição  $10^{-4}$ .

Para o plaqueamento, foram selecionadas as diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  para a observação do crescimento fúngico. Cada diluição foi semeada em triplicata tanto no meio Ágar Batata Dextrose, quanto no meio Sabouraud, utilizando o método de plaqueamento por profundidade. Ambas foram mantidas nas estufas durante 7 dias.

#### 4.3.3 Caracterização Microbiológica dos Fungos Selecionados

##### 4.3.3.1 Isolamento das culturas fúngicas

Após o período de incubação de 7 dias, as placas contendo os meios de cultura BDA e SDA foram analisadas para o isolamento de fungos com características morfológicas macroscópicas compatíveis com o gênero *Sporothrix* (CARVALHO *et al.*, 2022).

Nas placas contendo meio BDA, incubado a 37 °C, buscou-se identificar colônias na forma leveduriforme. As colônias foram selecionadas com base em características como superfície predominantemente lisa e úmida, mas também considerando variações levemente rugosas ou com bordas irregulares, e coloração variando de esbranquiçada a levemente amarelada.

Nas placas contendo meio Sabouraud, incubado a 28-30 °C, observou-se o crescimento micelial dos fungos filamentosos. A seleção foi baseada em textura aveludada, bordas bem definidas e coloração variando de branco a bege, com algumas exibindo tons marrons, sendo aspectos consistentes com a morfologia do gênero *Sporothrix*.

Os fungos selecionados foram isolados e semeados em novas placas contendo meios BDA e SDA a fim de purificar as amostras e confirmar a morfologia, incubadas a 37 °C e 28-30 °C, respectivamente, por 7 dias.

Cada isolado recebeu um código de rastreio, composto pela identificação da amostra original (nº 271 ou 232), seguido pela diluição utilizada, o número da placa em triplicata e, quando aplicável, o número sequencial do isolado dentro da mesma placa. Paralelamente, cada isolado recebeu também um código de identificação próprio, atribuído de forma numérica (1 a 5), visando padronizar a análise comparativa entre as culturas. Esse sistema permitiu documentar a procedência de cada colônia e facilitar sua posterior comparação morfológica e cultivo complementar (Quadro 4).

**Quadro 4:** Códigos para análise das amostras, condições de cultivo e características macroscópicas.

<b>Código de rastreio</b>	<b>Código de identificação</b>	<b>Meio de cultivo</b>	<b>Temperatura</b>
<b>232 10<sup>-3</sup> 3 10<sup>-3</sup></b>	1	SDA	28°C
<b>271 10<sup>-4</sup> 1.1</b>	2	BDA	28°C
<b>271 10<sup>-4</sup> 2</b>	3	BDA	28°C
<b>271 10<sup>-4</sup> 1.3</b>	4	BDA	28°C

271 10 <sup>-3</sup> 1	5	SDA	28°C
------------------------	---	-----	------

Fonte: Aatoria (2025).

#### 4.3.3.2 Preparação de lâminas para confirmação morfológica

Após o isolamento e o crescimento dos fungos selecionados, procedeu-se à análise morfológica por meio da preparação de lâminas para observação microscópica. Para isso, para cada isolado, uma pequena porção do crescimento micelial ou das colônias leveduriformes foi coletada com o auxílio de uma alça de platina estéril e depositada sobre uma lâmina de vidro. Adicionou-se uma gota de azul de lactofenol para auxiliar na visualização das estruturas fúngicas e cobriu-se a amostra com uma lamínula (LECK, 1999).

A observação microscópica foi realizada utilizando a lente objetiva de 40x, buscando identificar características morfológicas típicas do gênero *Sporothrix*. Para a forma filamentosa, procurou-se por hifas septadas, hialinas e ramificadas, além de conidióforos com conídios sésseis ou dispostos em arranjos característicos em forma de "flor" ou "margarida". Para a forma leveduriforme, buscou-se a presença de células alongadas, em formato de "charuto", além de células ovais ou arredondadas, que podem estar em processo de brotamento (Barros *et al.*, 2011).

#### 4.3.3.3 Cultivo dos fungos isolados em meio líquido

Os fungos isolados foram cultivados em caldo Sabouraud-Dextrose (SDB) a 37°C, durante 10 dias, para análise morfológica e obtenção de biomassa para a extração de DNA leveduriforme. Segundo Schechtman *et al.* (2022), o crescimento de fungos do gênero *Sporothrix* é variável, sendo visível entre três a sete dias, podendo ser estendido a depender da amostra. Procurou-se colônias iniciais lisas e úmidas, de cor creme com centro mais escurecido, como características de células leveduriformes destas espécies que, com um tempo maior de incubação, produzem melanina, tornando-se marrons.

## 4.4 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS FUNGOS SELECIONADOS

### 4.4.1 Extração de DNA

Após a confirmação das características morfológicas dos fungos selecionados, procedeu-se à caracterização molecular para confirmar a identificação das espécies dos isolados. Para isso, realizou-se a extração de DNA a partir dos isolados que foram previamente cultivados em caldo Sabouraud Dextrose (SDB) a 28 °C, visando obter biomassa fúngica. Em seguida, a suspensão foi lavada com água Milli-Q autoclavada e centrifugada para remover impurezas, descartando-se o sobrenadante. A lise celular foi realizada com a adição de um tampão de extração contendo 1% de SDS, 25 mM de EDTA, 250 mM de NaCl e 200 mM de Tris-HCl (pH 8,0), seguida de trituração mecânica com bastão de plástico e incubação a 65 °C por 20 minutos. A purificação do DNA foi realizada por meio de extrações sequenciais com 30g/mol de fenol e 30 mL de clorofórmio (1:1), seguidas de centrifugação para separação das fases. O DNA foi então precipitado com isopropanol e lavado com etanol 70% gelado para remover contaminantes. Após a secagem do *pellet* a 37 °C, o DNA foi ressuspenso em água Milli-Q autoclavada e tratado com RNase (10 mg/mL) para digestão do RNA residual, com incubação a 37 °C por 1 hora (PINTO, 2018).

### 4.4.2 Reação em Cadeia Polimerase (PCR)

Para confirmar a identificação molecular dos fungos isolados, realizou-se a amplificação da região D1-D2 do DNA ribossômico (DNAr) 28S.

O protocolo de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizado seguiu a recomendação do kit GoTaq Master Mix (Promega), com modificações, sendo a reação conduzida em um volume final de 25 uL. A composição da reação incluiu 12 uL do Master Mix (2X) da Promega, que contém a Taq Polimerase, nucleotídeos (dNTPs) e MgCl<sub>2</sub>, 5 uL do DNA genômico (molde), 1,25 uL do iniciador forward NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'), 5 uL do iniciador reverse NL2 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') e 1,25 uL de água ultrapura para ajuste de volume (O'DONNELL, 1993).

O processo foi realizado em termociclador sob as seguintes condições: uma desnaturação inicial de 5 minutos a 94 °C, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 55°C por 45 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto, finalizando com uma extensão final de 7 minutos a 72°C.

A amplificação da região de DNA ribossômico 28S com os primers NL1 e NL4 produz um *amplicon* de aproximadamente 600 pb, tamanho esperado para a maioria das espécies do gênero *Sporothrix* (LAZAMETH-DINIZ *et al.*, 2025).

#### 4.4.3 Eletroforese em Gel de Agarose

Após a amplificação da região D1-D2 do DNAr 28S por PCR, os produtos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose para confirmação do tamanho e da qualidade dos *amplicons*.

Para realizar a corrida em gel de agarose, um total de 2 µL de cada reação de PCR foi misturado com corante de carregamento (azul de bromofenol) e aplicado nos poços de um gel de agarose a 1,2%, preparado em tampão TBE 0.5X pH 8,0 (Tris-base 45 mM, ácido bórico 45 mM, EDTA 1 mM) e corado com 1µL de azul de bromofenol para a visualização das bandas de DNA sob luz ultravioleta. Como padrão de tamanho molecular, foi utilizado um DNA *ladder* de 1 kb, que permitiu a estimativa do tamanho dos fragmentos amplificados.

#### 4.4.5 Sequenciamento da Região ITS

Posterior à amplificação da região D1-D2 do DNAr 28S por PCR e a confirmação da presença de amplicons por eletroforese em gel de agarose, as amostras foram preparadas para sequenciamento (ESPARZA-NARANJO *et al.*, 2021).

O sequenciamento foi realizado pela Professora Dra. Nathalia Corrêa, no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (LABIMIC), G008, localizado na Universidade Federal da Integração Latino-Americana, *campus* Jardim Universitário, na cidade de Foz do Iguaçu, utilizando o

sequenciador Applied Biosystems 3500 da Thermo Fisher Scientific. Seguiu-se o protocolo do fabricante com alterações.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Para as amostras coletadas em locais com confirmação de caso de esporotricose, classificou-se como amostra positiva, identificadas pelos códigos 271 e 232, números idênticos aos dos códigos que o Centro de Zoonoses Dr. Dorival Jorge Junior selecionou para rastrear as coletas histológicas, a fim de manter a integridade do reconhecimento das amostras. Para as amostras coletadas em locais sem suspeita da doença e onde os animais não tinham contato com o ambiente externo ou com outros animais, classificou-se como amostra controle, identificadas pelos códigos C1 e C2 (Quadro 5).

**Quadro 5:** Identificação das amostras coletadas

<b>Código da amostra coletada</b>	<b>Bairro da coleta</b>	<b>Avaliação patológica do animal para esporotricose</b>	<b>Contato com o ambiente externo</b>
<b>271</b>	Jardim Universitário	Positiva	Sim
<b>232</b>	Jardim São Paulo	Positiva	Sim
<b>C1</b>	Jardim Ipê	Negativa	Não
<b>C2</b>	Jardim Ipê	Negativa	Não

Fonte: Aatoria (2025).

### 5.2 ANÁLISE METAGENÔMICA

A análise não detectou sequências atribuídas ao gênero *Sporothrix* nas amostras ambientais avaliadas. Mesmo assim, observou-se a presença de outros fungos oportunistas capazes de influenciar o equilíbrio imunológico dos animais. Embora não sejam diretamente relacionados à esporotricose, esses organismos podem contribuir para um estado de maior

susceptibilidade, favorecendo infecções secundárias quando o contato com *Sporothrix* ocorre por outras vias.

A ausência de *Sporothrix* no solo pode reforçar a hipótese já sustentada pela literatura de que, no Brasil, a transmissão ocorre majoritariamente pela via zoonótica, especialmente envolvendo *Sporothrix brasiliensis*, reforçando a importância de estratégias de controle focadas em reduzir a exposição dos animais ao contato externo, diminuindo disputas, ferimentos e interações com animais infectados, sendo medidas alinhadas às políticas de manejo recomendadas pela Nota Técnica N° 60/2023-CGZV/DEDT/SVSA/MS (BRASIL. Ministério da Saúde, 2021).

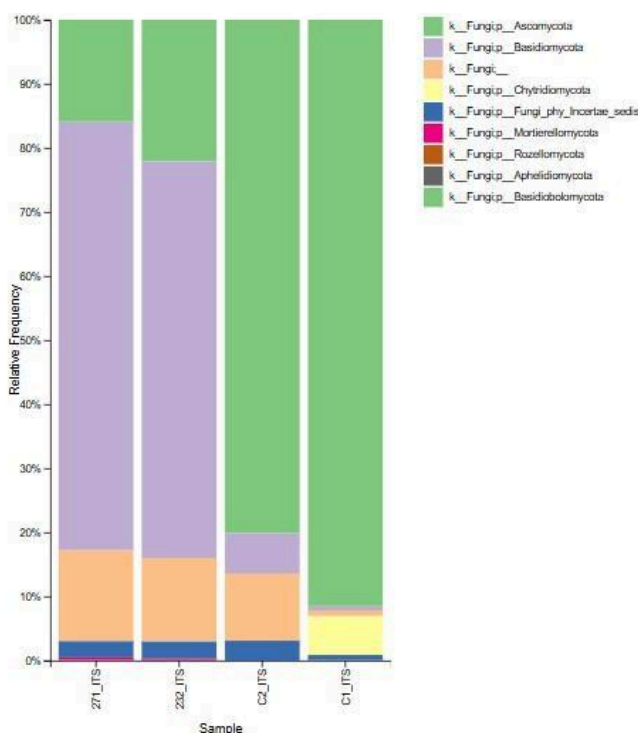
A etapa inicial de processamento resultou na organização de arquivos de sequenciamento referentes à região ITS, correspondentes às leituras *forward* e *reverse* das quatro amostras analisadas (232, 271, C1 e C2). Após a importação no Qiime2, a avaliação da qualidade das sequências revelou quedas progressivas de *score* nas extremidades 3' dos *reads*, o que orientou a definição dos pontos de corte empregados durante o *trimming* e *truncation*. Esses ajustes permitiram a remoção das regiões de baixa qualidade, assegurando que apenas as porções mais informativas e consistentes das sequências fossem mantidas para as etapas subsequentes.

Durante o *denoising*, o *plugin* DADA2 corrigiu erros de sequenciamento, eliminou ruídos e removeu quimeras, resultando em um conjunto refinado de ASVs. Essa filtragem reduziu significativamente o volume inicial de sequências, refletindo a exclusão eficiente de artefatos e leituras de baixa confiabilidade. A reconstrução das ASVs permitiu uma representação mais precisa da diversidade microbiana presente em cada amostra, preservando apenas sequências biologicamente relevantes.

A etapa de classificação taxonômica, conduzida com o banco de dados UNITE, 97% de similaridade para eucariotos, possibilitou a identificação de uma ampla diversidade fúngica. O processamento resultou na identificação de 744 táxons.

Dentre os táxons, os filos identificados mais abundantes presentes nas amostras foram: o Ascomycota (15,94% - 271; 22,09% - 232; 80,12% C1; 91,58% C2), Basidiomycota (66,83% 271; 61,92% 232; 6,31% C1; 0,65% C2) e Chytridiomycota (0% 271; 0% 232; 0% C1; 6,1% C2) (Figura 5).

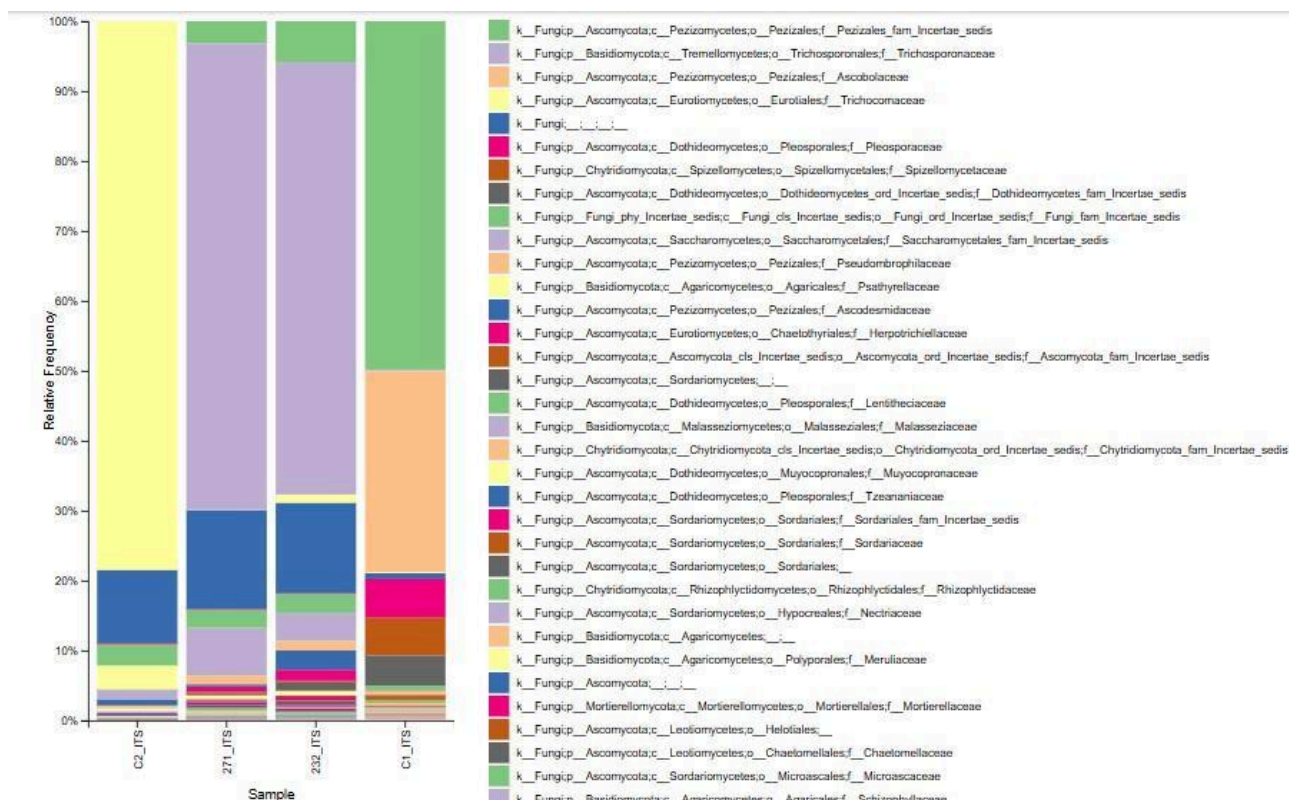
**Figura 5:** Tabela de abundância referente aos filos de maior abundância nas amostras ambientais de residências com casos positivos e negativos (controles) de esporotricose.



Fonte: Aatoria (2025).

A nível de família, foram listadas 174 (Anexo I), sendo a mais abundante passível de identificação a Trichocomaceae, pertencente ao filo Basidiomycota, à classe Eurotiomycetes e à ordem Eurotiales, presente nas amostras 271, 232 e C, representando 66,66% 61,83%, respectivamente (Figura 6). A família Trichocomaceae abrange gêneros como o *Penicillium* e o *Aspergillus*, fungos que crescem rapidamente e produzem grandes quantidades de conídios, que são facilmente dispersos. Por isso, esses fungos ocorrem em uma ampla variedade de ambientes (FRAGA et al., 2012). Entretanto, seu alto índice pode indicar uma deterioração do solo e liberação de micotoxinas e compostos tóxicos que, quando acumulados, podem comprometer diferentes aspectos da criação animal, incluindo processos reprodutivos e a resposta imune, além de impactar negativamente o desempenho geral da desintoxicação hepática (KEPIŃSKA-PACELIK et al., 2021).

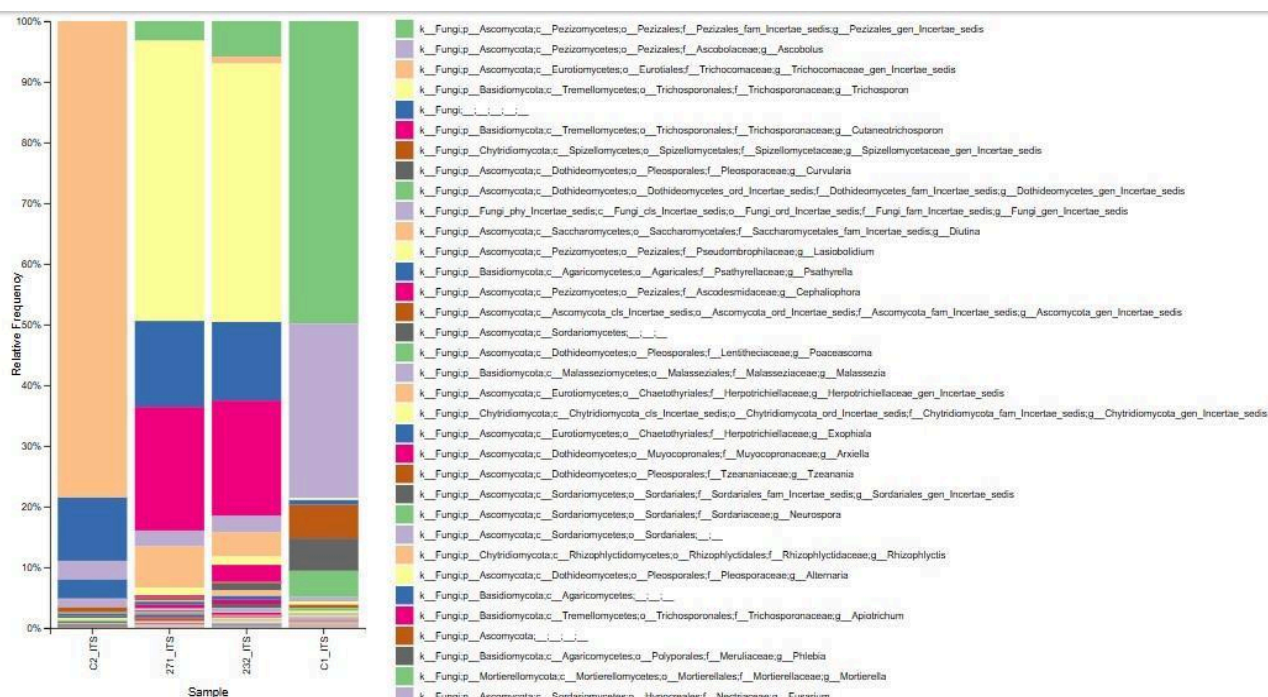
**Figura 6:** Tabela de abundância referente as famílias presentes nas amostras ambientais de residências com casos positivos e negativos (controles) de esporotricose.



Fonte: Aatoria (2025).

Foram listados 273 gêneros entre as quatro amostras, sendo os mais abundantes e passíveis de identificação o *Trichosporon* e o *Cutaneotrichosporon*, ambos pertencentes ao filo Basidiomycota, à classe Eurotiomycetes, à ordem Eurotiales e gênero *Trichocomaceae*, presentes somente nas amostras 271 e 232, representando 66,45% e 61,49% dos gêneros identificados, respectivamente (Figura 7). Espécies de *Trichosporon* e *Cutaneotrichosporon* são leveduras ambientais encontradas em solo e água e como parte da microbiota animal, descritas como patógenos oportunistas especialmente importantes em condições de imunossupressão. A presença destas espécies nas amostras analisadas, portanto, sugere a possibilidade de que, em animais com sistema imunológico comprometido ou submetidos a estresse, esse fungo possa exercer papel patogênico relevante, contribuindo para deterioração da saúde ou predispondo a infecções oportunistas (KEPIŃSKA-PACELIK *et al.*, 2021).

**Figura 7:** Tabela de abundância referente aos gêneros presentes nas amostras



Fonte: Aatoria (2025).

As espécies de *Trichosporon* são patógenos fúngicos raros, porém significativos em gatos, capazes de causar infecções tanto localizadas quanto sistêmicas. Embora a maior parte da atenção veterinária se concentre nos tricomonados protozoários (por exemplo, *Tritrichomonas foetus*), as infecções verdadeiras por leveduras *Trichosporon*, embora incomuns, podem ser graves e de difícil tratamento. A tricosporonose em gatos pode manifestar-se como infecções localizadas, como dermatite granulomatosa, massas nasais e cistite urinária, ou como infecções sistêmicas. Casos relatados incluem *Trichosporon pullulans* causando uma massa nasal, *Trichosporon beigeli* associado à dermatite e cistite, e *Trichosporon loubieri* responsável por infecção sistêmica grave com dificuldade respiratória, lesões cutâneas ulcerativas, nódulos mediastinais e derrame pleural (RISSI *et al.*, 2016).

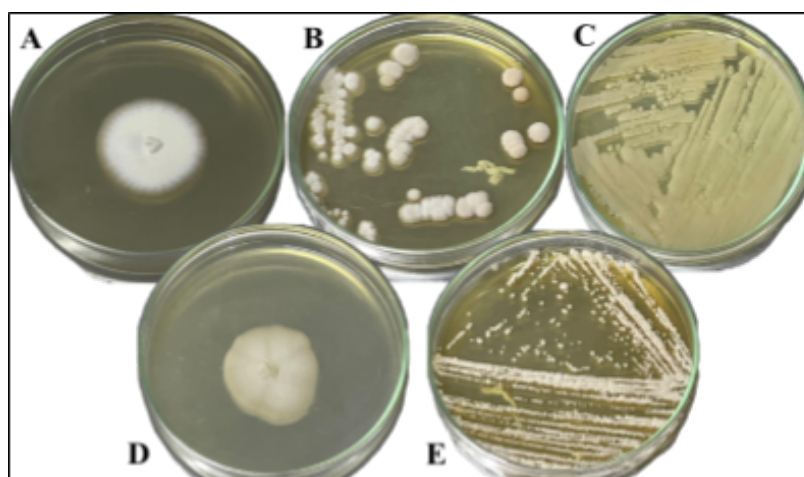
Até o momento nenhum estudo relata interação direta, relação genética ou sobreposição clínica entre *Trichosporon* e *Sporothrix*. Contudo, embora a esporotricose não predisponha diretamente à tricosporonose, estados de imunossupressão, comuns em quadros graves de esporotricose ou em gatos debilitados, podem favorecer infecções oportunistas por *Trichosporon*, tornando a relação entre ambas essencialmente indireta e mediada pela diminuição da imunidade.

### 5.3 ISOLAMENTO DAS CULTURAS FÚNGICAS

A partir das amostras de solo coletadas nos dois pontos estabelecidos, procedeu-se ao isolamento de fungos ao final do processo e cinco isolados fúngicos foram obtidos (Quadro 3), todos apresentando morfologia compatível com os critérios definidos para a seleção.

Dentre estes, dois foram recuperados de placas contendo Sabouraud Dextrose Agar (28 °C), apresentando crescimento predominantemente micelial, com coloração entre branco e creme e textura aveludada, características esperadas para fungos filamentosos em fase micelial. Três isolados foram provenientes de placas contendo BDA, incubadas nas diferentes condições de avaliação, exibindo colônias leveduriformes com superfície lisa a rugosa, brilho variável e coloração branco-creme amarelada (Figura 8).

**Figura 8:** Placas de Petri contendo os fungos isolados.

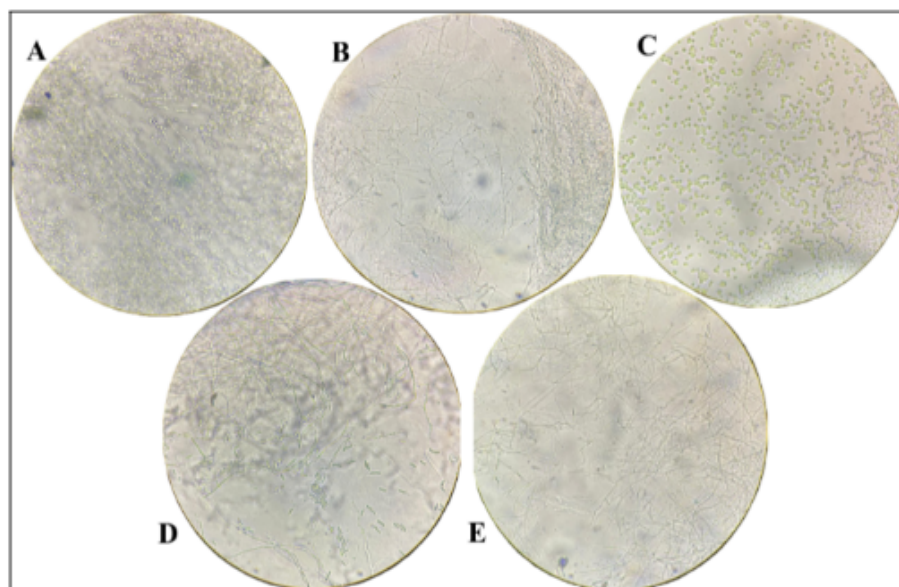


A) Fungo 1, cultivado em meio SDA a 28°C; B) Fungo 2, cultivado em meio BDA a 37°C; C) Fungo 3, cultivado em meio BDA a 37°C; D) Fungo 4, cultivado em meio SDA a 28°C; E) Fungo 5, cultivado em meio BDA a 37°C. Fonte: Aatoria (2025).

Na análise microscópica (Figura 9) o fungo 1(A) apresentou um conjunto de hifas hialinas, finas, predominantemente septadas e pouco ramificadas, distribuídas de forma difusa, compondo um micélio pouco compacto. O fungo 2(B) exibiu hifas septadas, longas e intensamente ramificadas, formando um emaranhado micelial mais denso e organizado, com variação sutil no calibre das hifas. O fungo 3(C) mostrou padrão claramente leveduriforme, composto por células arredondadas a ovais, de tamanho homogêneo, compatíveis com blastoconídios isolados, sem evidência de hifas verdadeiras ou pseudohifas. O fungo 4(D) revelou micélio espesso, com hifas septadas bem definidas e ramificação mais compacta, formando agregados hifais extensos. Por

fim, o fungo 5(E) apresentou um micélio formado por hifas hialinas, delgadas, septadas e moderadamente ramificadas

**Figura 9:** Observação microscópica dos fungos isolados em objetiva de 40x.



A) Fungo 1; B) Fungo 2; C) Fungo 3; D) Fungo 4; E) Fungo 5. Fonte: Aatoria (2025).

O fungo 3, proveniente de cultivo a 37 °C, apresentou exclusivamente células leveduriformes, sem hifas ou pseudohifas. Nos isolados cultivados em Sabouraud a 28 °C, as morfologias predominantemente filamentosas, dos fungos 1 e 4, eram esperadas, pois temperaturas mais baixas favorecem o desenvolvimento micelial, especialmente de fungos saprofitos do solo. O fungo 5, obtido em BDA a 28 °C, manteve padrão filamentoso semelhante, reforçando que as condições moderadas desse meio favorecem o crescimento hifal mesmo em fungos com potenciais variações fisiológicas (BRAVIM *et al.*, 2021).

A ausência, em todos os isolados, das estruturas miceliais e leveduriformes características de *Sporothrix spp.* reforça a conclusão de que nenhuma das amostras correspondeu morfologicamente ao gênero. No presente estudo, nenhum isolado apresentou hifas delgadas, hialinas, septadas e ramificadas associadas a conidióforos simples, tampouco conídios globosos a ovoides organizados em arranjos típicos em “margarida”, que constituem padrões morfológicos essenciais na fase micelial do fungo. Da mesma forma, não foram observadas estruturas compatíveis com a fase parasitária, como células leveduriformes pleomórficas, fusiformes (em “charuto”) ou arredondadas, variando entre 2,5 e 5 µm, frequentemente associadas a brotamentos laterais.

A ausência desses elementos morfológicos, descritos amplamente na literatura como fundamentais para o reconhecimento de *Sporothrix* (DA CRUZ *et al.*, 2013; TEIXEIRA, 2011; DUARTE *et al.*, 2021), em conjunto com os resultados negativos obtidos nas análises metagenômicas, reforça que, nas áreas amostradas, o solo não apresenta indicativos da presença de *S. brasiliensis*, fortalecendo a hipótese de que, nessas localidades, a transmissão da esporotricose permanece predominantemente associada à rota zoonótica, uma vez que o ambiente não demonstrou sinais da presença do agente etiológico.

No perfil de crescimento em meio líquido, a incubação dos cinco isolados em SDB a 37 °C, durante dez dias, resultou em crescimento lento e pouco expressivo, com variações apenas no tempo necessário para o início do desenvolvimento: os isolados 1, 3 e 4 apresentaram crescimento inicial entre dois a três dias, enquanto os isolados 2 e 5 necessitaram de cerca de sete dias (Quadro 6).

**Quadro 6:** Perfil de crescimento dos isolados em meio líquido Sabouraud a 37 °C

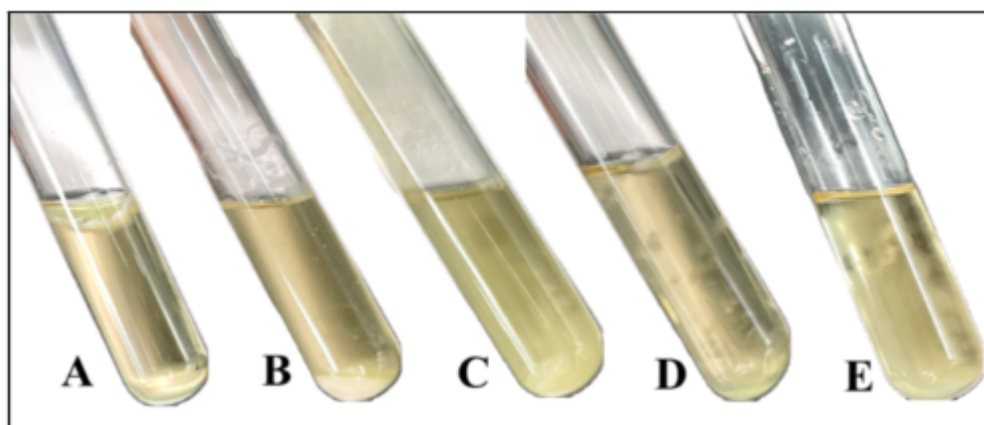
Amostra	Caldo de cultivo	Temperatura (°C)	Tempo de crescimento inicial (dias)	Tempo total de incubação (dias)	Produção de melanina
1	Sabouraud Dextrose	37°C	3	10	Ausente
2	Sabouraud Dextrose	37°C	7	10	Ausente
3	Sabouraud Dextrose	37°C	3	10	Ausente
4	Sabouraud Dextrose	37°C	2	10	Ausente
5	Sabouraud Dextrose	37°C	7	10	Ausente

Fonte: Aatoria (2025).

Os isolados 1 e 4, previamente identificados como filamentosos, formaram sedimento micelial compacto, aderido ao fundo do tubo. O isolado 2 apresentou crescimento floculento, com fragmentos hifais dispersos em suspensão. O isolado 3, cuja morfologia microscópica foi leveduriforme, exibiu turbidez homogênea, compatível com células unicelulares em suspensão. O isolado 5 demonstrou um padrão intermediário, com micélio leve e fragmentado, formando sedimento frágil e fácil de dispersar. Em nenhum dos tubos foi observada produção de melanina,

ausência verificada tanto pela coloração clara do sedimento quanto pela falta de escurecimento do meio, o que reforça o afastamento do perfil típico de espécies melanotróficas do gênero *Sporothrix*. (Figura 10). Quando comparados ao padrão descrito para as espécies do complexo *Sporothrix* em cultivo líquido a 35–37 °C, no qual se espera conversão para a fase leveduriforme, formação de blastoconídios abundantes e, em muitas cepas, produção de melanina, os resultados obtidos não apresentaram características compatíveis (ZHEN-YING ZHANG *et al.*, 2017).

**Figura 10:** Cultivo dos fungos isolados em meio líquido SDA a 37°C para análise morfológica e preparo de extração de DNA leveduriforme.



A) Fungo 1; B) Fungo 2; C) Fungo 3; D) Fungo 4; E) Fungo 5. Fonte: Autoria (2025).

A comparação entre morfologia microscópica e condições de cultivo revela padrões fisiológicos importantes sobre os isolados obtidos. Destaca-se o fungo 2, que mesmo sendo recuperado em BDA a 37 °C, apresentou morfologia exclusivamente filamentosa, com hifas septadas e intensamente ramificadas. Esse comportamento indica termotolerância com manutenção da fase micelial, característica observada em alguns fungos ambientais capazes de sustentar o desenvolvimento filamentoso em temperaturas próximas à corporal (CONGCONG *et al.*, 2022). Essa propriedade sugere maior plasticidade fisiológica, podendo refletir maior capacidade de sobrevivência em ambientes biológicos, ainda que não esteja associada diretamente à virulência.

A ausência de transição para a fase leveduriforme das amostras 1 e 4 também pode estar associada às limitações do meio SDB, que, embora adequado para o crescimento geral de fungos, não é o meio ideal para induzir o dimorfismo térmico. O meio SDB possui baixo teor de nutrientes complexos, o que favorece a manutenção da fase micelial em muitos fungos filamentosos. Para confirmação dos isolados como termotolerantes na fase micelial, ou se apenas não receberam

estímulo adequado para o dimorfismo, seria necessária a reincubação em meios mais ricos e indutores da fase leveduriforme, como o meio de cultivo Infusão Cérebro-Coração enriquecido, possuindo maior disponibilidade de aminoácidos e peptonas, os quais fornecem condições bioquímicas que estimulam a conversão de micélio para levedura em fungos dimórficos (DOLAN, 1972; GONÇALVES *et al.*, 2020; SHEIBAN, 1975).

Dessa forma, os resultados obtidos indicam que os isolados não exibem o comportamento esperado para fungos dimórficos do gênero *Sporothrix*.

Pode-se dizer que o não isolamento do gênero alvo é compatível com o verificado na literatura, pois diversos estudos que tentaram cultivar *Sporothrix spp.* a partir de solo em áreas endêmicas tiveram, em grande parte, resultados negativos, sem isolamentos bem-sucedidos relatados em várias investigações recentes, apesar da ampla amostragem e do uso de técnicas micológicas clássicas (ALMEIDA-SILVA *et al.*, 2022; DA COSTA *et al.*, 2022; POESTER *et al.*, 2018). Uma exceção é um estudo realizado na Itália, que relatou o isolamento de *S. schenckii* de solos comerciais e de jardim, confirmado por métodos fenotípicos e moleculares (CRISEO *et al.*, 2010). No entanto, tais achados são raros e não amplamente replicados.

Técnicas moleculares, como PCR e amplificação isotérmica mediada por alça (LAMP), têm demonstrado eficácia na detecção de DNA de *Sporothrix* em amostras de solo, mesmo quando os métodos de cultivo apresentam resultados negativos. No Brasil, PCR espécie-específico confirmou a presença de DNA de *S. brasiliensis* em amostras de solo; contudo, os métodos tradicionais de cultura não permitiram o isolamento de colônias viáveis, conforme descrito por Almeida-Silva *et al.* (2022). É possível observar que o PCR espécie-específico, utilizado no estudo, possivelmente ofereceu maior sensibilidade e especificidade para detectar *Sporothrix* no solo, o que explica sua eficácia mesmo quando o metabarcoding e os métodos de cultura não conseguem identificar o patógeno. Essas diferenças metodológicas justificam o sucesso do PCR em estudos ambientais de esporotricose. Neste trabalho, os autores investigaram 18 amostras ambientais provenientes de áreas rurais de dois municípios do estado do Rio de Janeiro onde a esporotricose zoonótica é endêmica, mas com baixa presença de gatos domésticos. Embora nenhuma colônia de *Sporothrix* tenha sido obtida por cultivo, a nested-PCR direcionada à região ITS e a PCR espécie-específica voltada ao gene da calmodulina para *S. brasiliensis* apresentaram resultados positivos em 18 e 5 amostras, respectivamente.

## 5.4 ANÁLISE MOLECULAR DOS FUNGOS ISOLADOS

Após a amplificação da região D1-D2 do DNAr 28S por PCR, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1,2% para confirmação da presença de amplicons. Somente as amostras 1, 3 e 4 resultaram na visualização de bandas de fragmentos de DNA, observadas sob exposição de luz ultravioleta. Sendo assim, preparou-se as reações de sequenciamento para estas amostras e, até o presente momento do projeto, não foram enviados os resultados do procedimento. Portanto, deve-se realizar a análise bioinformática dos arquivos produtos do sequenciamento em etapas posteriores e, assim, desenvolver um estudo mais detalhado sobre os fungos isolados durante o projeto executado.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstram, por meio de duas abordagens metodológicas complementares, a ausência de *Sporothrix spp.* nas amostras de solo coletadas em áreas de Foz do Iguaçu, Paraná, com casos confirmados de esporotricose felina. A análise metagenômica por metabarcoding, apesar de não identificar o patógeno-alvo nas amostras, revelou um perfil fúngico ambiental similar entre os locais com ocorrência da doença, caracterizado pela elevada abundância de fungos oportunistas das famílias Trichocomaceae e dos gêneros *Trichosporon* e *Cutaneotrichosporon*. Apesar destes microrganismos não estarem etiologicamente ligados à esporotricose, sua alta abundância em ambientes associados a animais doentes pode indicar um desequilíbrio microbiológico no solo, potencialmente relacionado a condições sanitárias inadequadas ou a um estado de imunossupressão na população animal, que poderia atuar como um fator de susceptibilidade para infecções.

Apesar do desenho metodológico ter sido específico para o isolamento de *Sporothrix*, os cinco fungos recuperados nos cultivos seletivos não corresponderam morfológica ou culturalmente ao gênero-alvo. A ausência de estruturas características como conidióforos em "margarida", células leveduriformes fusiformes e produção de melanina, somada à falta de transição térmica típica, reforça que se tratam de outros fungos dimórficos ou termotolerantes ambientais, que aproveitaram as condições de cultivo sem, no entanto, serem o agente etiológico em investigação. Este achado ressalta a complexidade do estudo microbiológico ambiental e a importância da confirmação molecular para além da triagem morfológica.

A não detecção de *Sporothrix spp.* no ambiente fortalece significativamente a indicação que, pelo menos nas regiões estudadas, a transmissão da esporotricose pode ocorrer predominantemente pela via zoonótica direta, especialmente mediada por *S. brasiliensis*, corroborando com a literatura que descreve esta espécie como altamente adaptada à transmissão entre animais e apoia as diretrizes de saúde pública que recomendam o controle da doença através do manejo animal, incluindo o isolamento de animais infectados, a castração e a restrição de acesso à rua, em detrimento de medidas focadas apenas na descontaminação ambiental.

Portanto, este projeto evidencia tanto o potencial quanto os desafios da metagenômica aplicada à Saúde Única. A técnica permitiu um amplo perfil da comunidade fúngica do solo, mas a ausência de sinal do patógeno pode estar relacionada à baixa carga fúngica, à degradação do DNA no ambiente ou à alta especificidade da transmissão zoonótica. Os dados gerados são preliminares e indicam a necessidade de estudos longitudinais que integrem análises ambientais, clínicas e moleculares, ampliando o número de amostras e associando-as a variáveis ecológicas e sanitárias locais. Assim, tornará possível a compreensão do nicho ecológico de *Sporothrix spp.* e a elaboração de estratégias mais precisas de vigilância e controle dentro do paradigma da Saúde Única.

## REFERÊNCIAS

- Almeida-Silva, F., Rabello, V., De Souza Scramignon-Costa, B., Zancopé-Oliveira, R., De Macedo, P., & Almeida-Paes, R. (2022). Beyond Domestic Cats: Environmental Detection of *Sporothrix brasiliensis* DNA in a Hyperendemic Area of Sporotrichosis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Journal of Fungi*, 8. <https://doi.org/10.3390/jof8060604>.
- Andrade, E., Bastos, C., Da Silva, A., Moreira, S., De Araújo Costa, T., Salvato, L., Colombo, S., Oliveira, C., Soares, D., Keller, K., & Azevedo, M. (2022). Household outbreak of sporotrichosis: towards the One Health approach. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 55. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0021-2022>
- AYLAGAS, Eva et al. Benchmarking DNA metabarcoding for biodiversity-based monitoring and assessment. *Frontiers in Marine Science*, v. 3, p. 96, 2016.
- BARROS, Mônica Bastos de Lima; DE ALMEIDA PAES, Rodrigo; SCHUBACH, Armando Oliveira. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. *Clinical microbiology reviews*, v. 24, n. 4, p. 633-654, 2011. <https://doi.org/10.1128/cmr.00007-11>
- Bazzi T, Melo SMP de, Figuera RA, Kommers GD. Características clínico-epidemiológicas, histomorfológicas e histoquímicas da esporotricose felina. *Pesq Vet Bras* [Internet]. 2016Apr;36(4):303–11. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000400009>
- BEN-DAVID, Avishai; DAVIDSON, Charles E. Estimation method for serial dilution experiments. *Journal of microbiological methods*, v. 107, p. 214-221, 2014.
- BOLLER, A. R. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, v. 38, n. 1, p. 1-10, 2020. Disponível em: [www.nature.com](http://www.nature.com). Acesso em: 16 dez. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 6.734, de 18 de março de 2025. Altera a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional. *Diário Oficial da União*, Seção 1, p. 82, 31 de março de 2025. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2025/prt6734\\_31\\_03\\_2025.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2025/prt6734_31_03_2025.html)
- BRASIL. Ministério da Saúde. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. NOTA TÉCNICA Nº 8/2022-CGZV/DEIDT/SVS/MS informando sobre atualizações no PROTOCOLO DE PROFILAXIA PRÉ, PÓS E REEXPOSIÇÃO DA RAIVA HUMANA NO BRASIL. Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/notas-tecnicas/2023/nota-tecnica-no-60-2023-cgzv-dedt-svsa-ms/view>.
- Bräunig C, Meid S, Quast B, Rduch V, Grobe P. O Registro de ASVs: um lugar para os ASVs estarem. *Metabarcoding and Metagenomics* 8: e124564, 2024. <https://doi.org/10.3897/mbmg.8.124564>
- BRAVIM, Nara Priscila Barbosa et al. Selection of filamentous fungi that are resistant to the herbicides atrazine, glyphosate and pendimethalin. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 43, p. e51656, 2021.

Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Hanage WP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016;13(7):581–583. doi:10.1038/nmeth.3869.

Carvalho, J.A.; Monteiro, R.C.; Hagen, F.; Camargo, Z.P.d.; Rodrigues, A.M. Trends in Molecular Diagnostics and Genotyping Tools Applied for Emerging *Sporothrix* Species. *J. Fungi* 2022, 8, 809. <https://doi.org/10.3390/jof8080809>

Charles-Niño, C., Loera, A., Medina-Guerrero, E., Sanroman-Loza, E., Toledo, B., & Pedroza-Roldán, C. (2022). Sporotrichosis: an Overview in the Context of the One Health Approach. *Current Tropical Medicine Reports*, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s40475-022-00250-z>

Criseo, G., & Romeo, O. (2010). Ribosomal DNA Sequencing and Phylogenetic Analysis of Environmental *Sporothrix schenckii* Strains: Comparison with Clinical Isolates. *Mycopathologia*, 169, 351-358. <https://doi.org/10.1007/s11046-010-9274-9>

Da Costa, G., Ferreira, I., Corrêa-Moreira, D., Marinho, A., De Almeida, A., Pereira, S., Borba, C., & Oliveira, M. (2022). Soil samples from sporotrichosis transmission belt area: Searching for fungal species and their antagonistic activity against *Sporothrix brasiliensis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1033969>.

DA CRUZ, Luiz Celso Hygino. Complexo *Sporothrix schenckii*. Revisão de parte da literatura e considerações sobre o diagnóstico e a epidemiologia. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 08-28, 2013.

De Carvalho, J., Beale, M., Hagen, F., Fisher, M., Kano, R., Bonifaz, A., Toriello, C., Negroni, R., Rego, R., Gremião, I., Pereira, S., De Camargo, Z., & Rodrigues, A. (2021). Trends in the molecular epidemiology and population genetics of emerging *Sporothrix* species. *Studies in Mycology*, 100. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100129>

De Carvalho, J., Monteiro, R., Hagen, F., Camargo, Z., & Rodrigues, A. (2022). Trends in Molecular Diagnostics and Genotyping Tools Applied for Emerging *Sporothrix* Species. *Journal of Fungi*, 8. <https://doi.org/10.3390/jof8080809>

De Miranda Leonhardt Losada, L., Monteiro, R., De Carvalho, J., Hagen, F., Fisher, M., Spruijtenburg, B., Meis, J., De Groot, T., Gonçalves, S., Negroni, R., Kano, R., Bonifaz, A., De Camargo, Z., & Rodrigues, A. (2023). High-Throughput Microsatellite Markers Development for Genetic Characterization of Emerging *Sporothrix* Species. *Journal of Fungi*, 9. <https://doi.org/10.3390/jof9030354>

DE PAIVA VIANA FILHO, Laerte et al. Manejo da esporotricose com uso de Itraconazol: revisão narrativa. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 5, p. 14678-14689, 2020.

DEREEPER, Alexis et al. BLAST-EXPLORER helps you building datasets for phylogenetic analysis. *BMC evolutionary biology*, v. 10, p. 1-6, 2010.

DOLAN, C. Terrence. Evaluation of various media for growth of selected pathogenic fungi and *Nocardia asteroides*. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 58, n. 3, p. 339-342, 1972.

DUARTE, Tallita Lougon; CARVALHO, Gabriel Domingos. Esporotricose no contexto da saúde única. In: Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia. <https://doi.org/10.29327/143026.2-116>. 2021.

Esparza-Naranjo SB, da Silva GF, Duque-Castaño DC, Araújo WL, Peres CK, Boroski M, Bonugli-Santos RC. Potential for the Biodegradation of Atrazine Using Leaf Litter Fungi from a Subtropical Protection Area. *Curr Microbiol.* 2021 Jan;78(1):358-368. doi: 10.1007/s00284-020-02288-6. Epub 2020 Nov 23. PMID: 33230622.

Fernandes B, Caligiorno RB, Coutinho DM, Gomes RR, Rocha-Silva F, Machado AS, Santrer EFR, Assunção CB, Guimarães CF, Laborne MS, Nunes MB, Vicente VA, de Hoog S. A case of disseminated sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. *Med Mycol Case Rep.* 2018 Mar 21;21:34-36. doi: 10.1016/j.mmcr.2018.03.006. PMID: 30046514; PMCID: PMC6058009.

FERREIRA, Jéssica da Silva. Caracterização fenotípica de cepas dentro do complexo *Sporothrix schenckii* e correlação com as formas clínicas da esporotricose. 2018.

FRAGA, Marcelo Elias; PEREIRA, Marcos Gervasio. Diversidade de Trichocomaceae isolada de solo e serrapilheira de Floresta Atlântica. *Floresta e ambiente*, v. 19, p. 405-413, 2012. <http://dx.doi.org/10.4322/floram.2012.045>

FURNEAUX, Brendan et al. OptimOTU: Taxonomically aware OTU clustering with optimized thresholds and a bioinformatics workflow for metabarcoding data. arXiv preprint arXiv:2502.10350, 2025. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2502.10350>

García-Carnero LC, Martínez-Álvarez JA. Virulence Factors of *Sporothrix schenckii*. *J Fungi (Basel)*. 2022 Mar 19;8(3):318. doi: 10.3390/jof8030318. PMID: 35330320; PMCID: PMC8949611.

GÓMEZ-GAVIRIA, Manuela; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, José A.; MORA-MONTES, Héctor M. Current progress in *Sporothrix brasiliensis* basic aspects. *Journal of Fungi*, v. 9, n. 5, p. 533, 2023. <https://doi.org/10.3390/jof9050533>

GONÇALVES, Larissa Naiara Carvalho et al. Biofilm formation by *Histoplasma capsulatum* in different culture media and oxygen atmospheres. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, p. 1455, 2020.

Gonçalves, N., Miranda, C., Souza, B., Rocha, M., Carneiro, F., Maués, M., De Oliveira, D., David, M., Brito, M., & Quaresma, J. (2024). Occurrence of sporotrichosis in Belém, Pará, Brazil: a metaphor for unsustainable socioeconomic development. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 28. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2024.103872>

Gremião, I., Oliveira, M., De Miranda, L., Freitas, D., & Pereira, S. (2020). Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 26, 621–624. <https://doi.org/10.3201/eid2603.190803>

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira et al. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. *PLoS pathogens*, v. 13, n. 1, p. e1006077, 2017.

Haddad Junior V, Mendes AL, Talhari CC, Miot HA. Impact of environmental changes on Dermatology. *An Bras Dermatol.* 2021;96:210–23. [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2025/prt6734\\_31\\_03\\_2025.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2025/prt6734_31_03_2025.html)

Kenyon, E., Russell, L., & McMurray, D. (1984). Isolation of *Sporothrix schenckii* from potting soil. *Mycopathologia*, 87, 128. <https://doi.org/10.1007/bf00436641>

KEPIŃSKA-PACELIK, Jagoda; BIEL, Wioletta. Mycotoxins—prevention, detection, impact on animal health. *Processes*, v. 9, n. 11, p. 2035, 2021. <https://doi.org/10.3390/pr9112035>

LAZAMETH-DINIZ, Nayara Fátima et al. Clinical and Molecular Characterization of Feline Sporotrichosis in the Brazilian Amazon: PCR-Based Identification of *Sporothrix brasiliensis*. *Animals*, v. 15, n. 15, p. 2318, 2025. <https://doi.org/10.3390/ani15152318>

Leal, Juliana Cardoso. Análise proteômica dos secretomas dos fungos *Trichoderma harzianum* e *Fusarium solani*. Diss. 2019.

LECK, Astrid. Preparação de lâminas com azul de algodão lactofenol. **Saúde ocular comunitária**, v. 12, n. 30, p. 24, 1999.

LI, Congcong et al. Progresso da pesquisa sobre os efeitos toxicológicos e o mecanismo da toxina aflatoxina B1. *PeerJ*, v. 10, p. e13850, 2022.

LIMA, Gabryelle Barbosa Cordeiro de et al. Variabilidade genética e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos em espécies de *Candida* isoladas de secreção vaginal. 2012.

Liu, Z., Li, S., Zhang, G., Lv, S., Wang, S., & Li, F. (2024). Whole transcriptome sequencing for revealing the pathogenesis of sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa*. *Scientific Reports*, 14. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50728-7>

MAHAJAN, Vikram K. Sporotrichosis: an overview and therapeutic options. *Dermatology research and practice*, v. 2014, n. 1, p. 272376, 2014.

MARIMON, Rita et al. In vitro antifungal susceptibilities of five species of *Sporothrix*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 52, n. 2, p. 732-734, 2008.

MARIMON, Rita 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.

MARIO, Débora Alves Nunes et al. Interference of melanin in the susceptibility profile of *Sporothrix* species to amphotericin B. *Revista iberoamericana de micologia*, v. 33, n. 1, p. 21-25, 2016.

Marko, D., Da Silva, M., Da Cunha Tubino, L., Tavares, H., & Rodrigues, G. (2025). Feline sporotrichosis in the municipality of Cachoeirinha, Rio Grande do Sul (Brazil). *Pubvet*. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v19n04e1759>

MELO, Náira Alice Vieira et al. A importância da esporotricose felina no contexto da saúde única: Revisão: The importance of feline sporotrichosis in the context of single health. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, v. 6, n. 2, p. 1458-1479, 2023.

MENDES, Izabela Santos et al. DNA ambiental metabarcoding aplicado ao manejo e conservação de peixes. 2023.

Motta, G., Santos, A., Campos, P., De Oliveira, F., Schinemann, M., Da Silva, N., Bruger, P., Campos, K., Santos, L., Moya, C., Seki, M., & Carrasco, A. (2025). One Health: Action in Brazilian Cases of Sporotrichosis in Humans and Cats. *Pathogens*, 14. <https://doi.org/10.3390/pathogens14030225>

Nahal, J., Coelho, R., Almeida-Silva, F., Bernardes-Engemann, A., Procópio-Azevedo, A., Rabello, V., Loureiro, R., Freitas, D., Valle, A., De Macedo, P., Oliveira, M., Da Silva, M., Zancopé-Oliveira,

R., Almeida-Paes, R., Gutierrez-Galhardo, M., & Figueiredo-Carvalho, M. (2024). Non-Zoonotic Transmission of Sporotrichosis: A Translational Study of Forty-Three Cases in a Zoonotic Hyperendemic Area. *Journal of Fungi*, 10. <https://doi.org/10.3390/jof10090610>.

O'DONNELL, K. *Fusarium e seus parentes próximos. O holomorfo fúngico: especiação mitótica, meiótica e pleomórfica na sistemática de fungos*, 1993

OLIVEIRA, Daniele C. et al. Antifungal susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* complex identified in Brazil. *Journal of clinical microbiology*, v. 49, n. 8, p. 3047-3049, 2011.

OROFINO-COSTA, Rosane et al. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. *Anais brasileiros de dermatologia*, v. 92, n. 5, p. 606-620, 2017.

PADILLA-GARCÍA, Cinthia Yedith; CAMACHO-SÁNCHEZ, Fátima Yedith; REYES-LÓPEZ, Miguel Ángel. Metabarcoding de DNA ambiental: un enfoque para el seguimiento de la biodiversidad. *CienciaUAT*, v. 16, n. 1, p. 136-149, 2021.

PIÑEIRO, Martha Bravo Cruz. *Terapêutica da esporotricose felina: revisão de literatura*. 2021.

PINTO, Fernanda Otesbelgue. *Isolamento, seleção e caracterização de leveduras selvagens com potencial para a produção de cerveja*. 2018.

Poester, V., Mendes, J., Groll, A., Klafke, G., Brandolt, T., & Xavier, M. (2018). Sporothrix spp. EVALUATION IN SOIL OF A HYPERENDENIC AREA FOR SPOROTRICHOSIS IN SOUTHERN BRAZIL. *Ciência Animal Brasileira*. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-52571>

QUEIROZ-FERNANDES, Geisiany; DOS SANTOS MAGALHÃES, Jamile Cristine. Perfil de resistência de agentes de micoses oportunistas no Brasil. *InterAmerican Journal of Medicine and Health*, v. 4, 2021

Ramírez-Soto, M., Aguilar-Ancori, E., Tirado-Sánchez, A., & Bonifaz, A. (2018). Ecological Determinants of Sporotrichosis Etiological Agents. *Journal of Fungi*, 4. <https://doi.org/10.3390/jof4030095>.

Ribeiro, A., , S., Misas, E., Min, B., Le, N., Bagal, U., Parnell, L., Sexton, J., Lockhart, S., Chow, N., De Souza, M., Melhem, C., Possatto, J., Takahashi, F., Oliboni, G., Bonfietti, L., Cappellano, P., Luiz, J., Sampaio, M., Araujo, L., Filho, A., Venturini, J., Chiller, T., & Litvintseva, A. (2024). Emergence of zoonotic sporotrichosis in Brazil: a genomic epidemiology study. *The Lancet. Microbe*, 5, e282 - e290. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(23\)00364-6](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(23)00364-6)

Rissi, D., Kirby, K., & Sanchez, S. (2016). Systemic Trichosporon loubieri infection in a cat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28, 350 - 353. <https://doi.org/10.1177/1040638716640313>.

Rodrigues, A., De Hoog, G., & De Camargo, Z. (2015). Molecular Diagnosis of Pathogenic Sporothrix Species. *PLoS Neg*

Rodrigues, A., Gonçalves, S., De Carvalho, J., Borba-Santos, L., Rozental, S., & Camargo, Z. (2022). Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *Journal of Fungi*

RODRIGUES, Anderson Messias et al. Análise imunoproteômica revela uma assinatura de resposta humoral convergente no complexo *Sporothrix schenckii*. *Journal of proteomics*, v. 115, p. 8-22, 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.

ROMERO-MARTINEZ, Rafael et al. Biosynthesis and functions of melanin in *Sporothrix schenckii*. *Infection and immunity*, v. 68, n. 6, p. 3696-3703, 2000.

ROSSOW, John A. et al. Uma abordagem de saúde única para combater *Sporothrix brasiliensis*: revisão narrativa de um patógeno fúngico zoonótico emergente na América do Sul. *Journal of Fungi*, v. 6, n. 4, p. 247, 2020.

Ruiz-Baca E, Pérez-Torres A, Romo-Lozano Y, Cervantes-García D, Alba-Fierro CA, Ventura-Juárez J, Torriello C. The Role of Macrophages in the Host's Defense against *Sporothrix schenckii*. *Pathogens*. 2021 Jul 18;10(7):905. doi: 10.3390/pathogens10070905. PMID: 34358055; PMCID: PMC8308788.

SALES, Pâmella Antunes de Macêdo. Avaliações comparativas morfofisiológica e molecular entre isolados clínicos e cepas padrão do gênero *Sporothrix*. 2019.

Schechtman RC, Falcão EMM, Carard M, García MSC, Mercado DS, Hay RJ. Sporotrichosis: hyperendemic by zoonotic transmission, with atypical presentations, hypersensitivity reactions and greater severity. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2022Jan;97(1):1–3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.07.003>

SCHECHTMAN, Regina Casz et al. Esporotricose: hiperendêmica por transmissão zoonótica, com apresentações atípicas, reações de hipersensibilidade e maior gravidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, n. 1, p. 1-13, 2022.

SEYEDMOUSAVI, Seyedmojtaba et al. (Ed.). *Emerging and epizootic fungal infections in animals*. Switzerland AG: Springer International Publishing, 2018. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-72093-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-72093-7_10)

SHEIBAN, Z. B. Morphological conversion of 13 strains of three dimorphic fungi in tap and stream water. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique et de ses Filiales*, v. 68, n. 1, p. 46-50, 1975.

SILVA, J. E.; SHINOHARA, N. K. S.; CUNHA FILHO, M. Levantamento da geoespacialização e estatística do *sporothrix* spp em plataformas digitais acadêmicas no brasil. *SciELO Preprints*, 2022. DOI: 10.1590/SciELOPreprints.4400. Disponível em: <https://preprints.scielo.org/index.php/scielo/preprint/view/4400>

SOUZA, Letícia Dutra de. *Epidemiologia, diagnóstico e tratamento das infecções causadas por fungos do gênero Sporothrix*. 2025.

TEIXEIRA, Pedro Antonio Castelo et al. Estudo da virulência, adesão e características fenotípicas de isolados do complexo *Sporothrix*. 2011.  
Téllez, M. D., Batista-Duharte, A., Portuondo, D., Quinello, C., Bonne-Hernández, R., & Carlos, I. Z. (2014). *Sporothrix schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity. *Microbiology*, 160(11), 2352-2365.

Wang, Y., Wu, X., Fan, X., Han, C., Zheng, F., & Zhang, Z. (2025). Screening and transcriptomic analysis of anti-Sporothrix globosa targeting AbaA. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1546020>

ZHANG, Zhenying et al. Two-component histidine kinase DRK1 is required for pathogenesis in *Sporothrix schenckii*. *Molecular Medicine Reports*, v. 17, n. 1, p. 721-728, 2018.

## ANEXOS





### ANEXO 1 - Lista completa da tabela de abundância referente as famílias dos fungos presentes nas amostras

k_Fungi;p_Ascomycota;c_Pezizomycetes;o_Pezizales,f_Pezizales_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Tremellomycetes;o_Trichosporonales,f_Trichosporonaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Pezizomycetes;o_Pezizales,f_Ascobolaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Eurotiales,f_Trichocomaceae
k_Fungi;_:;_:;
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales,f_Pleosporaceae
k_Fungi;p_Chytridiomycota;c_Spizellomycetes;o_Spizellomycetales,f_Spizellomycetaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis,f_Dothideomycetes_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Fungi_phy_Incertae_sedis;c_Fungi_cls_Incertae_sedis;o_Fungi_ord_Incertae_sedis,f_Fungi_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Saccharomycetes;o_Saccharomycetales,f_Saccharomycetales_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Pezizomycetes;o_Pezizales,f_Pseudombrophilaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Agaricales,f_Psathyrellaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Pezizomycetes;o_Pezizales,f_Ascodesmidaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Chaetothyriales,f_Herpotrichiellaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Ascomycota_cls_Incertae_sedis;o_Ascomycota_ord_Incertae_sedis,f_Ascomycota_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;_:;
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales,f_Lentitheciaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Malasseziomycetes;o_Malasseziales,f_Malasseziaceae
k_Fungi;p_Chytridiomycota;c_Chytridiomycota_cls_Incertae_sedis;o_Chytridiomycota_ord_Incertae_sedis,f_Chytridiomycota_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Muyocoprionales,f_Muyocoproneaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales,f_Tzeananiaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Sordariales,f_Sordariales_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Sordariales,f_Sordariaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Sordariales;_:;
k_Fungi;p_Chytridiomycota;c_Rhizophlyctidomycetes;o_Rhizophlyctidales,f_Rhizophlyctidaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Hypocreales,f_Nectriaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;_:;
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Polyporales,f_Meruliaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;_:;_:;

k\_Fungi;p\_Mortierellomycota;c\_Mortierellomycetes;o\_Mortierellales;f\_Mortierellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Leotiomycetes;o\_Helotiales;\_  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Leotiomycetes;o\_Chaetomellales;f\_Chaetomellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Microascales;f\_Microascaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Agaricales;f\_Schizophyllaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Neopyrenochaetaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Xylariales;f\_Microdochiaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Hyphodermataceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Amphispheeriales;f\_Sporocadaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Didymellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Amphispheeriales;\_  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Hypocreales;f\_Bionectriaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Periconiaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Pleosporales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Auriculariales;f\_Auriculariaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Sordariales;f\_Chaetomiaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Xylariales;f\_Xylariaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Hypocreales;f\_Hypocreaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Chaetothyriales;f\_Chaetothyriales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Chaetothyriales;f\_Trichomeriaceae  
 k\_Fungi;p\_Rozellomycota;c\_Rozellomycota\_cls\_Incertae\_sedis;o\_Rozellomycota\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Rozellomycota\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Agaricomycetes\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Agaricomycetes\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Glomerellales;f\_Glomerellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Venturiales;f\_Symptoventuriaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Polyporaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Polyporales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Didymosphaeriaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Eurotiales;f\_Aspergillaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascocomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Capnodiales;\_

k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Cystobasidiomycetes;o\_Cystobasidiomycetes\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Symmetrosporaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Capnodiales;f\_Capnodiaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Tremellomycetes;o\_Tremellales;f\_Bulleraceae  
 k\_Fungi;p\_Aphelidiomycota;c\_Aphelidiomycetes;o\_Aphelidiomycetes\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Aphelidiomycetes\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Hypocreales;f\_Hypocreales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Mortierellomycota;\_:\_:\_  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Leotiomyces;\_:\_  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Mycosphaerellales;f\_Teratosphaeriaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Sordariomycetes\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Sordariomycetes\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Chytridiomycota;\_:\_:\_  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Myrmecridiales;f\_Myrmecridiaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Tremellomycetes;o\_Tremellales;f\_Bullerbasidiaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Pezizomycetes;o\_Pezizales;f\_Pezizaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Leotiomyces;o\_Leotiomyces\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Leotiomyces\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Hypocreales;f\_Cordycipitaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Ganodermataceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Saccharomycetes;o\_Saccharomycetales;f\_Lipomycetaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Sporormiaceae  
 k\_Fungi;p\_Aphelidiomycota;c\_Aphelidiomycetes;\_:\_  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Tremellomycetes;o\_Tremellales;f\_Tremellales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Tremellomycetes;o\_Tremellales;f\_Trimorphomycetaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Phaeosphaeriaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Mycosphaerellales;f\_Mycosphaerellaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;\_:\_  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Theleporales;f\_Theleporaceae  
 k\_Fungi;p\_Chytridiomycota;c\_Spizellomycetes;o\_Spizellomycetales;f\_Powellomycetaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Xylariales;f\_Diatrypaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Glomerellales;f\_Plectosphaerellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Eurotiales;\_:\_

k\_Fungi;p\_Mortierellomycota;c\_Mortierellomycetes;o\_Mortierellales;f\_Mortierellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Leotiomycetes;o\_Helotiales;\_  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Leotiomycetes;o\_Chaetomellales;f\_Chaetomellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Microascales;f\_Microasceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Agaricales;f\_Schizophyllaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Neopyrenochaetaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Xylariales;f\_Microdochiaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Hyphodermataceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Amphisphaeriales;f\_Sporocadaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Didymellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Amphisphaeriales;\_  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Hypocreales;f\_Bionectriaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Periconiaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Pleosporales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Auriculariales;f\_Auriculariaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Sordariales;f\_Chaetomiaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Xylariales;f\_Xylariaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Hypocreales;f\_Hypocreaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Chaetothyriales;f\_Chaetothyriales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Chaetothyriales;f\_Trichomeriaceae  
 k\_Fungi;p\_Rozellomycota;c\_Rozellomycota\_cls\_Incertae\_sedis;o\_Rozellomycota\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Rozellomycota\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Agaricomycetes\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Agaricomycetes\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Glomerellales;f\_Glomerellaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Venturiales;f\_Sympoventuriaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Polyporaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Polyporales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Pleosporales;f\_Didymosphaeriaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Eurotiales;f\_Aspergillaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Capnodiales;\_

	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Agaricales;f_Agaricales_fam_Incertae_sedis
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Hypocreales;f_Clavicipitaceae
	k_Fungi;p_Basidiomycota;_:_
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Agaricales;f_Hymenogastraceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Arachnomycetales;f_Arachnomycetaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales;f_Cucurbitariaceae
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Atractiellomycetes;o_Atractiellales;f_Hoehnelomycetaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Orbiliomycetes;o_Orbiliales;f_Orbilliaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Onygenales;f_Onygenaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Orbiliomycetes;o_Orbiliales;f_Orbiliales_fam_Incertae_sedis
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Polyporales;f_Irpicaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Onygenales;f_Gymnoascaceae
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Cystobasidiomycetes;o_Sakaguchiales;f_Sakaguchiaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Sordariales;f_Lasiosphaeriaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Hypocreales;_
	k_Fungi;p_Chytridiomycota;c_Spizellomycetes;o_Spizellomycetales;f_Spizellomycetales_fam_Incertae_sedis
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Leotiomycetes;o_Helotiales;f_Helotiales_fam_Incertae_sedis
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Cystobasidiomycetes;o_Cystobasidiales;f_Cystobasidiaceae
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Polyporales;f_Phanerochaetaceae
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Trechisporales;f_Hydodontaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales;f_Coniothyriaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Eurotiomycetes_ord_Incertae_sedis;f_Eurotiomycetes_fam_Incertae_sedis
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Pezizomycetes;o_Pezizales;f_Pyronemataceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales;_
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Hymenochaetales;f_Hyphodontiaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales;f_Roussoellaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis;f_Eremomycetaceae
	k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Geminibasidiomycetes;o_Geminibasidiales;f_Geminibasidiaceae
	k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Dothideomycetes_ord_Incertae_sedis;f_Pseudorobillardaceae

k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Microbotryomycetes;o\_Sporidiobolales;f\_Sporidiobolaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Agaricales;f\_Entolomataceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Ustilaginomycetes;o\_Ustilaginales;f\_Ustilaginaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Russulales;\_  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Hypocreales;f\_Stachybotryaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Saccharomycetes;o\_Saccharomycetales;f\_Dipodascaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Leotiomycetes;o\_Helotiales;f\_Helotiaceae  
 k\_Fungi;p\_Chytridiomycota;c\_Rhizophlyctidomycetes;o\_Rhizophlyctidales;\_  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Xylariales;f\_Hypoxylaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Agaricales;f\_Agaricaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Onygenales;f\_Arthrodermataceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Dothideales;f\_Saccotheciaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Eurotiomycetes;o\_Eurotiales;f\_Eurotiales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Tremellomycetes;o\_Trichosporonales;f\_Tetragoniomycetaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Russulales;f\_Peniophoraceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Cystobasidiomycetes;o\_Erythrobasidiales;f\_Erythrobasidiaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Xylariales;f\_Xylariales\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Conioscyphales;f\_Conioscyphaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Phyllachorales;f\_Phyllachoraceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Agaricales;f\_Omphalotaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Polyporales;f\_Sparassidaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Orbiliomycetes;o\_Orbiliomycetes\_ord\_Incertae\_sedis;f\_Orbiliomycetes\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Sordariomycetes;o\_Sordariales;f\_Podosporaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Hymenochaetales;f\_Oxyporaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Pezizomycetes;o\_Pezizales;f\_Pulvinulaceae  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Mycosphaerellales;f\_Neodevriesiaceae  
 k\_Fungi;p\_Aphelidiomycota;c\_Aphelidiomycetes;o\_GS16;f\_GS16\_fam\_Incertae\_sedis  
 k\_Fungi;p\_Ascomycota;c\_Dothideomycetes;o\_Coniosporiales;f\_Coniosporiaceae  
 k\_Fungi;p\_Basidiomycota;c\_Agaricomycetes;o\_Gloeophyllales;f\_Gloeophyllaceae

k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Agaricales;f_Physalacriaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Auriculariales;__
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Polyporales;f_Cerrenaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Hymenochaetales;f_Hirschioporaceae
k_Fungi;p_Basidiobolomycota;c_Basidiobolomycetes;o_Basidiobolales;f_Basidiobolales_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Russulales;f_Stereaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Amphisphaerales;f_Beltraniaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales;f_Lophiostomataceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Hymenochaetales;f_Schizoporaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Tremellomycetes;o_Tremellales;f_Cryptococcaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Sordariomycetes;o_Coniochaetales;f_Coniochaetaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Agaricales;f_Cystostereaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Wallemiomycetes;o_Wallemiales;f_Wallemiaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Pezizomycotina_cls_Incertae_sedis;o_Pezizomycotina_ord_Incertae_sedis;f_Pezizomycotina_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Chaetothyriales;f_Chaetothyriaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Corticiales;f_Corticaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Sebacinales;f_Serendipitaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Polyporales;f_Meripillaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Agaricales;f_Strophariaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Pleosporales;f_Acrocalymmaeae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;__;__
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Microbotryomycetes;o_Leucosporidiales;f_Leucosporidiaceae
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Saccharomycetes;o_Saccharomycetales;f_Debaryomycetaceae
k_Fungi;p_Basidiomycota;c_Agaricomycetes;o_Hymenochaetales;f_Hymenochaetaceae
k_Fungi;p_Chytridiomycota;c_Rhizophlyctidomycetes;o_Rhizophlyctidales;f_Rhizophlyctidales_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Zeloasperisporiales;f_Zeloasperisporiaceae
k_Fungi;p_Mortierellomycota;c_Mortierellomycota_cls_Incertae_sedis;o_Mortierellomycota_ord_Incertae_sedis;f_Mortierellomycota_fam_Incertae_sedis
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Eurotiomycetes;o_Chaetothyriales;__
k_Fungi;p_Ascomycota;c_Dothideomycetes;o_Botryosphaerales;f_Botryosphaeriaceae