



IDENTIFICAÇÃO DE EPÍTOPOS DE FUNGOS DO GÊNERO *Sporothrix* PARA O DIAGNÓSTICO DA ESPOROTRICOSE FELINA

Andressa Rauber¹, Luís Felipe Minozzo Figueiredo², Viviane da Silva Lobo³

¹ Programa de Pós-Graduação em Tecnologias em Biociências (PPGBIO), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Toledo, Paraná, Brasil E-mail:rauber042@gmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Tecnologias em Biociências (PPGBIO), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Toledo, Paraná, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Tecnologias em Biociências (PPGBIO), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Toledo, Paraná, Brasil.

Resumo: A esporotricose felina é uma zoonose causada por fungos do gênero *Sporothrix* e representa um importante problema de saúde pública. Este trabalho tem como objetivo identificar moléculas antigênicas e anticorpos específicos para a padronização de um ensaio diagnóstico. Serão utilizadas cepas de *Sporothrix* spp., antígenos fúngicos e soros felinos positivos e negativos. Espera-se contribuir para o desenvolvimento de um diagnóstico mais rápido e específico da doença.

Palavras-chave: Esporotricose felina; *Sporothrix*; Epítopos; Imunodiagnóstico; ELISA.

INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma condição causada por um fungo patogênico do gênero *Sporothrix* e se caracteriza como uma zoonose de importância médica, se trata de uma micose cutânea e nota-se ser um fungo de alta virulência (Nascimento; Pinto, 2022).

É uma patologia fúngica, provocada geralmente pelo fungo da espécie *Sporothrix schenckii* em gatos, que se implanta na pele de maneira traumática por meio de mordidas, arranhões e lesões gerais, mas também pode afetar o sistema linfático, e acomete em grande maioria felídeos em idade reprodutiva com acesso a ambientes externos onde estão outros animais contaminados, como as ruas (Santos *et al.*, 2023).

Considerada uma doença endêmica, pelo fato de seus agentes etiológicos estarem dispersos no ambiente onde se multiplicam, e por seus aspectos de manifestação como os atributos clínicos, ecologia e epidemiologia serem diferentes variando do âmbito geográfico em que se encontra, se destaca também por sua via de contaminação não ser por fluídos pulmonares como muitas das zoonoses de importância médica (Lima; Guerra, 2023).

Sua distribuição dá-se principalmente em regiões tropicais e subtropicais, ocorrendo em maior número no Brasil e no México, e também pode infectar seres humanos, caninos, equinos, artrópodes, aves, primatas, suínos, animais de vida livre, porém, afeta principalmente os felinos, e por isso, estes últimos geram grande preocupação no meio veterinário e médico geral, por sua capacidade de proliferação da doença (Martignago; Assis; Krolkowski, 2024).

Em contrapartida, os métodos de diagnóstico como as culturas micológicas tem se evidenciado um pouco lentos comparados ao crescimento de casos da doença, o que torna viável meios mais eficazes e rápidos de análise dos casos, já os ensaios sorológicos mostram-se mais rápidos, porém, o antígenos precisam ser padronizados para tal utilização, pois apresentam variação, como comumente observado (Sarrassini *et al.*, 2025).

MATERIAL E MÉTODOS

1.0 Cultivo do fungo

As cepas de *Sporothrix* spp. serão inoculadas em ágar Sabouraud dextrose acrescido com cloranfenicol e incubados a 25 °C por dez dias. Caso a morfologia esteja correta, os fungos serão inoculados em ágar BHI, que será mantido em temperatura de 37 °C por sete dias.

1.1 Extração de proteínas

Os antígenos *Sporothrix* spp. brutos serão obtidos utilizando procedimento semelhante ao descrito por Camargo *et al.* (1988), porém utilizando as cepas de *Sporothrix* spp. Após a inativação, as células serão rompidas em tampão contendo inibidores de proteases e o antígeno bruto obtido por após centrifugação.

As amostras serão caracterizadas bioquimicamente através da determinação de massa



molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE).

1.2 Obtenção de soros

De acordo com o planejamento experimental previamente realizado, será necessário 32 amostras positivas de cada local de análise, e o mesmo número de amostras negativas.

O trabalho com amostras de soros animais foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Secretaria de Saúde/Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CEUA SESA/CPPI) sob o parecer nº 10.2022.

Para o controle alguns animais, como coelhos poderão ser imunizados através de via subcutânea com antígenos a serem selecionados e purificados durante o projeto.

1.3 Identificação de antígenos e anticorpos

Para identificar as moléculas antigênicas será utilizado o antígeno bruto de *Sporothrix* spp., ou ainda as proteínas purificadas após procedimentos cromatográficos, em imunoenaios. Esses imunoenaios consistem na realização de imunoenensaio de adsorção enzimática (do inglês, ELISA) ou ainda *Western blot*.

Para o ELISA, o antígeno será adsorvido em uma microplaca de 96 poços, que após o bloqueio, será incubada com soros de gatos (positivos e negativos), seguido pela incubação com um anticorpo conjugado a uma enzima, de forma que seja possível detecção a imunorreação (Wild, 2013).

Para o *Western blot*, será realizada uma SDS-PAGE com as amostras proteicas, as quais serão transferidas para membrana de nitrocelulose ou difluoreto de polivinilideno (PVDF). Em seguida, será realizado um procedimento semelhante ao ELISA, composto por: bloqueio, lavagens, incubação com soros e anticorpo conjugado, e revelação. Dessa forma, serão identificadas as moléculas antigênicas.

O *spot-synthesis* consiste em uma técnica similar ao *Western blot*, mas utiliza uma membrana que contém peptídeos sintetizados diretamente na membrana. Essa membrana foi previamente sintetizada para o desenvolvimento do trabalho.

1.4 Padronização do ensaio

Para a padronização do ensaio, as variáveis relevantes serão alteradas de acordo com um planejamento experimental a ser realizado de acordo com os valores dos ensaios preliminares.

1.5 Análise estatística

Para analisar os resultados será utilizado o modelo mais adequado, podendo ser o teste T de Student simples, quando a distribuição foi normal; e o teste de Wilcoxon, quando a distribuição foi não-paramétrica, ou ainda a análise de variância (ANOVA).

Para se determinar o *cut-off* dos ensaios de padronização será realizada uma curva ROC de forma a balancear os valores tanto de especificidade quanto sensibilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espera-se identificar epítomos e moléculas antigênicas capazes de reconhecer especificamente a esporotricose felina, contribuindo para o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais precisos. Também se espera obter anticorpos que possam ser utilizados como controles positivos e em diferentes diagnósticos imunológicos. Além disso, a padronização das condições do ensaio, incluindo moléculas utilizadas, concentrações, tipo de amostra e diluições, poderá fornecer parâmetros adequados para um diagnóstico mais sensível e específico da doença.

Os resultados encontrados por Lazameth-Diniz et al. (2025) estão em concordância com o que se deseja nesta pesquisa, onde utilizaram técnicas baseadas em PCR para identificar *Sporothrix Brasiliensis* em felinos da região Amazônica, corroborando com a importância de encontrar métodos específicos e eficientes para diagnosticar a doença.

CONCLUSÃO

Ao término da pesquisa espera-se encontrar nos resultados obtidos auxílio no aprimoramento das técnicas de diagnóstico da doença esporotricose felina. E conclui-se de antemão que a identificação de epítomos e moléculas antigênicas do fungo do gênero *Sporothrix* spp. tem potencial alto para contribuição no desenvolvimento de novos diagnósticos mais eficazes e rápidos, evidencia-se também que os resultados serão de grande ajuda para ações de vigilância e controle em saúde pública e animal.

REFERÊNCIAS

LAZAMETH-DINIZ, N. F.; ALMEIDA, D. B. de; FERNANDES, F. da S.; et al. **Clinical and molecular characterization of feline sporotrichosis in the Brazilian Amazon: PCR-based identification of *Sporothrix brasiliensis***. *Animals*, Basel, v. 15, n. 15, p. 2318, 2025. DOI: 10.3390/ani15152318. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2615/15/15/2318> Acesso em: 14 jun. 2026.

LIMA O. P. P. B.; GUERRA P. Esporotricose infantil: Relato de caso. **Journal of Medical Residency Review** [São Paulo (SP)] v.2 | e029 | p.01-07 | 2023.



Disponível em:
<file:///C:/Users/Administrator/Downloads/barbara_e_sporotricose_final_jmrr.pdf>. Acesso em 14 de jun. de 2026.

MARTIGNAGO, L.; ASSIS, B. B.; KROLIKOWSKI, G. **Esporotricose em felinos: Artigo de Revisão. Anais do 22º Encontro Científico Cultural Interinstitucional, 2024.** ISSN 1980-7406. Disponível em: <https://www4.fag.edu.br/anais-cientificos>. Acesso em 14 jun. 2026.

NASCIMENTO A.C.L.; PINTO P.C.M; **Esporotricose em Canino: Revisão de Literatura.** Recife: UNIBRA, 2022. Disponível em: <https://www.grupounibra.com/repositorio/MVETI/2022/esporotricose-em-canino-revisao-de-literatura37.pdf>. Acesso em 14 de jun. de 2026..

SANTOS et al. Esporotricose em felino: Revisão. **Pubvet: Medicina Veterinária e zootecnia.** v.16, n.08, a1198, p.1-4, Ago., 2022. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/uploads/37becf27b65871af4c37077d0f040e50.pdf>. Acesso em 14 de jun. de 2026.

SARRASSINI *et al.* Esporotricose: desafios diagnósticos, avanços terapêuticos e impactos na saúde pública em contexto de expansão zoonótica. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 08 n 6, p.01-16, nov./dec., 2025. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/83325/56945> . Acesso em 14 de jun. de 2026.

WILD, D. **The Immunoassay Handbook: Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques.** Oxford: Elsevier Science, 2013. Disponível em: <https://research.ebsco.com/linkprocessor/plink?id=0dc1e4d8-120a-3dac-af2a-4a12eef278ec>. Acesso em 14 de jun. de 2026.