UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

Patógenos emergentes, um desafio de Saúde Única: contaminação de ambientes públicos e insulares por oocistos de *Toxoplasma gondii* e diversidade genética de *Sporothrix* spp. de humanos e animais

POLLYANNE RAYSA FERNANDES DE OLIVEIRA

RECIFE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

Patógenos emergentes, um desafio de Saúde Única: contaminação de ambientes públicos e insulares por oocistos de *Toxoplasma gondii* e diversidade genética de *Sporothrix* spp. de humanos e animais

POLLYANNE RAYSA FERNANDES DE OLIVEIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

RECIFE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48p Oliveira, Pollyanne Raysa Fernandes de
Patógenos emergentes, um desafio de Saúde Única: contaminação de ambientes públicos e insulares por oocistos de Toxoplasma gondii e diversidade genética de Sporothrix spp. de humanos e animais / Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira. - 2022.
155 f. : il.

Orientador: Rinaldo A. Mota.
Inclui referências e anexo(s).

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2022.

1. Epidemiologia. 2. solo. 3. zoonoses emergentes. 4. Esporotricose. 5. Toxoplasmose. I. Mota, Rinaldo A., orient. II. Título

CDD 636.089

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Patógenos emergentes, um desafio de Saúde Única: contaminação de ambientes públicos e insulares por oocistos de *Toxoplasma gondii* e diversidade genética de *Sporothrix* spp. de humanos e animais

_____
Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira

Aprovada em: ___/____/_____

BANCA EXAMINADORA

_____
Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota (Orientador)
Departamento de Medicina Veterinária (DMV/UFRPE)

_____
Profª. Drª. Thais Ferreira Feitosa
Departamento de Educação Superior (DES-SS/ IFPB)

_____
Profª. Drª. Jaqueline Bianque de Oliveira
Departamento de Biologia (DB/UFRPE)

_____
Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior
Departamento de Medicina Veterinária (DMV/UFRPE)

_____
Prof. Dr. Wagnner José Nascimento Porto
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS/UFAL)

Aos meus pais e irmãs com todo amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida.

À minha família por prover todo o apoio necessário para que a caminhada fosse percorrida sem percalços. Amo vocês.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota, que é mais do que professor e orientador, obrigada por todo o suporte, pela credibilidade e confiança depositadas em mim e pelas oportunidades ao longo desses anos de trabalho e amizade. Meu respeito e admiração.

Ao Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior, pela confiança, ensinamentos e amizade. Gratidão por tudo.

Aos amigos e professores do setor de Medicina Veterinária Preventiva da UFRPE, pelos ensinamentos e orientações fundamentais na minha formação.

A equipe do Laboratório de Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos da UFRPE, gratidão pela acolhida, pelos bons momentos vividos e pelos amigos que fiz.

Ao Dr. Fernando Magalhães e a equipe da vigilância epidemiológica da Ilha de Fernando de Noronha; ao Prof. Dr. Anderson Messias Rodrigues e toda sua equipe do Laboratório Patógenos Fúngicos Emergentes da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP; ao Prof. Dr. Brivaldo Gomes de Almeida e toda sua equipe do Laboratório de Física de Solos da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE; ao biólogo Umberto Diego Rodrigues Oliveira do Programa de Pós-graduação em Ecologia, Teoria, Aplicações e Valores da Universidade Federal da Bahia; Profª. Drª. Fernanda Pinto Ferreira e a médica veterinária Ana Clécia Silva da Universidade Estadual de Londrina – UEL; ao Prof. Dr. Leucio Camara Alves do Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, gratidão a todos pela contribuição no desenvolvimento desta pesquisa e pela acolhida, paciência, dedicação e carinho.

Ao Laboratório de Endemias (Labend), unidade do Laboratório Central de Pernambuco (Lacen-PE), por ceder as culturas fúngicas de humanos.

A Coordenação e a todos os profissionais do Programa de Pós-graduação Biociência Animal da UFRPE pela oportunidade e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

Por fim, a todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

“É preciso estudar muito para saber um pouco.”

Barão de Montesquieu

RESUMO

Os estudos epidemiológicos das doenças emergentes e reemergentes devem considerar, de maneira integrada, os componentes da tríade epidemiológica e a emergência sanitária, como um problema compartilhado de Saúde Única. Nesse contexto, estão inseridos os agentes infeciosos *Toxoplasma gondii* e *Sporothrix* spp., onde humanos e animais suscetíveis podem se infectar pelo contato com ambiente contaminado e/ou animais infectados. Diante disso, objetivou-se avaliar a contaminação por oocistos de *T. gondii* em amostras de solo de ambientes públicos da cidade do Recife e da Ilha de Fernando de Noronha e aplicar o modelo de distribuição de espécies para prever a adequabilidade ambiental do Arquipélago para a permanência do coccídio, além de investigar a diversidade genética por meio de marcadores AFLP (#5 EcoRI-FAM-GA/MseI-AG) e o tipo de acasalamento de isolados de *Sporothrix* recuperados de casos clínicos de humanos e animais, assim como a distribuição espacial de casos de Esporotricose em gatos da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco no período de 2016 a 2021. Para isso, foram realizados três experimentos que compuseram três capítulos da tese referentes ao estudo de *T. gondii* no solo, a diversidade genética e a distribuição espacial de *Sporothrix* spp. No primeiro estudo, foram analisadas 120 amostras de solo coletadas em 24 locais como praças, parques, universidade e hospitais da cidade do Recife, nas quais foi identificado o gene de protozoários Apicomplexa em 37,50% (9/24) dos locais amostrados, com similaridade no sequenciamento para *T. gondii*. O segundo estudo contemplou os 15 bairros da Ilha de Fernando de Noronha e suas quatro principais praças, totalizando 19 locais. Em 21,05% (4/19) dos locais amostrados foram obtidas amostras positivas e em dois deles confirmou-se a viabilidade dos oocistos de *T. gondii*. Também se comprovou a adequação de toda a extensão do Arquipélago para a manutenção do coccídio, por meio de modelos de distribuição de espécie. No terceiro estudo, 100% (60/60) dos isolados de *Sporothrix* spp. foram classificados geneticamente por PCR espécie-específica como *S. brasiliensis*, além de apresentarem com baixa diversidade genética (*H*=0.2928 e *PIC*=0.2499) segundo marcadores AFLP. Quanto ao idiomorfo de acasalamento o *MAT 1-2* foi identificado por PCR em 100% (60/60) dos isolados de humanos e de animais. Foram registrados 1176 casos de Esporotricose em gatos no período de 2016 a 2021 na Região Metropolitana do Recife, com um quantitativo maior de casos procedentes de Olinda,

Jaboatão dos Guararapes e Recife. Os resultados obtidos nesses estudos contribuem com informações epidemiológicas importantes que servem como base para o desenvolvimento de políticas públicas intersetoriais direcionadas a saúde única.

Palavras-chave: Epidemiologia; solo; zoonoses emergentes; Esporotricose; Toxoplasmose.

ABSTRACT

Epidemiological studies of emerging and reemerging diseases must consider the components of the epidemiological triad in an integrated manner and consider the health emergency as a shared problem of One Health. In this context, the infectious agents *Toxoplasma gondii* and *Sporothrix spp.* are inserted, where humans and susceptible animals can become infected through contact with a contaminated environment and/or infected animals. Therefore, the objective was to evaluate the contamination by oocysts of *T. gondii* in soil samples from public environments in the city of Recife and Fernando de Noronha Island and apply the species distribution modeling to predict the environmental suitability of the archipelago for coccidia permanence. In addition to investigating the genetic diversity through AFLP markers (#5 EcoRI-FAM-GA/MseI-AG) and the mating type of *Sporothrix* isolates recovered from clinical cases of humans and animals, as well as the distribution spatial analysis of sporotrichosis cases in cats from the Metropolitan Region of Recife, Pernambuco from 2016 to 2021. For this, three experiments were carried out that composed three chapters of the thesis referring to the study of *T. gondii* in the soil and the genetic diversity in addition to the spatial distribution of *Sporothrix* spp. In the first study, 120 soil samples collected in 24 places such as squares, parks, universities and hospitals in the city of Recife were analyzed, in which the Apicomplexa protozoan gene was identified in 37.50% (9/24) of the sampled places, with similarity in the sequencing for *T. gondii*. The second study included the 15 districts of Fernando de Noronha Island and its four main squares, totaling 19 locations. In 21.05% (4/19) of the sampled sites, positive samples were obtained and in two of them the viability of *T. gondii* oocysts was confirmed. It was also confirmed the suitability of the entire length of the Archipelago for the maintenance of coccidia through species distribution modeling. In the third study, 100% (60/60) of *Sporothrix* spp. isolates were genetically classified by species-specific PCR as *S. brasiliensis*, in addition to having low genetic diversity (*H*=0.2928 and *PIC*=0.2499) according to AFLP markers. As for the mating idiomorph, *MAT 1-2* was identified by PCR in 100% (60/60) of human and animal isolates. A total of 1176 cases of Sporotrichosis in cats were registered in the period 2016 to 2021 in the Metropolitan Region of Recife with a larger share of cases of cats coming from Olinda, Jaboatão dos Guararapes and Recife. The results obtained in these studies

contribute with important epidemiological information that serve as a basis for the development of intersectoral public policies aimed at single health.

Keywords: Epidemiology; soil; emerging zoonoses; Esporotricosis; Toxoplasmosis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....15

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18

3. *Toxoplasma gondii*.....18

3.1. Histórico 18

3.2. Taxonomia e organização estrutural de *Toxoplasma gondii* 19

3.3. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* 21

3.4. Epidemiologia ambiental de *Toxoplasma gondii* e surtos de Toxoplasmose 26

4. *Sporothrix* spp.....35

4.1. Histórico.....35

4.2. Taxonomia e organização estrutural de *Sporothrix* spp.....37

4.3. Esporotricose humana e animal.....39

4.4. Epidemiologia molecular de *Sporothrix* spp.....42

5. OBJETIVOS 45

5.1. Objetivo geral.....45

5.2. Objetivos específicos.....45

6. REFERÊNCIAS 47

7. CAPÍTULO 1.....85

8. CAPÍTULO 2.....103

9. CAPÍTULO 3.....128

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....151

11. ANEXO I 152

12. ANEXO II..... 153

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. Ciclo enteroepitelial de *Toxoplasma gondii* no hospedeiro definitivo e no ambiente..... 22

Figura 2. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii.*..... 26

Figura 3. Distribuição geográfica de 34 surtos de Toxoplasmose humana no mundo, segundo Ferreira *et al.* (2019)..... 32

Figura 4. Registro de casos e fontes de infecção de *Toxoplasma gondii* no Brasil no período de 1965 a 2020, de acordo com Balbino; Breganó; Ferreira (2021) 33

Figura 5. Ocorrência da Esporotricose humana e animal no Brasil..... 37

Figura 6. Ciclo de transmissão de espécies do gênero *Sporothrix.*..... 40

Capítulo 1

Figura 1. Distribuição das áreas amostradas na cidade de Recife, Pernambuco, Brasil..... 90

Figura 2. Características de umidade, temperatura e pH de amostras de solo positivas para *Toxoplasma gondii.*..... 95

Capítulo 2

Figura 1. Distribuição das áreas amostradas na Ilha de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil..... 111

Figura 2. Distribuição espacial de oocistos de *T. gondii*. Registros positivos da ocorrência de oocistos de *T. gondii* no solo em todo o mundo são representados..... 112

Figura 3. Influência da precipitação e dos níveis de carbono orgânico do solo na variação ambiental da presença de oocistos de *T. gondii* no solo. Valores climáticos e de solo dados para todos os locais de coleta de oocistos de *T. gondii*..... 113

Figura 4. Modelo de distribuição baseado em variáveis climáticas. Modelo de distribuição do oocisto de *Toxoplasma gondii* baseado em variáveis climáticas (temperatura média e precipitação média). Acima: o modelo projetado para toda a extensão terrestre com valores de adequação do habitat entre 0 e 1 e a localização da área de interesse (ponto preto). Abaixo: destaque para a área de interesse (Arquipélago de Fernando de Noronha)..... 113

Figura 5. Modelo de distribuição baseado em variáveis do solo Modelo de distribuição do oocisto de *Toxoplasma gondii* baseado em variáveis do solo (densidade aparente e carbono orgânico do solo). Acima: o modelo projetado para toda a extensão terrestre com valores de adequação de habitat entre 0 e 1 e a localização da área de interesse (ponto preto). Abaixo: destaque para a área de interesse (Arquipélago de Fernando de Noronha)..... 114

Capítulo 3

Figura 1. Dendrograma baseado na impressão digital AFLP gerada pela combinação #5 EcoRI-GA/MseI-AG para 90 isolados de *Sporothrix*. Os dendrogramas mostram o perfil de agrupamento das 60 amostras de *Sporothrix* pertencentes a Pernambuco descritas neste estudo. A análise foi realizada no BioNumerics v7.6, utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método UPGMA..... 138

Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) e análise de escala multidimensional (MDS) do #5 EcoRI-GA/MseI-AG. As análises foram realizadas usando Bionumerics v7.6. (A) PCA. (B) MDS..... 139

Figura 3. Árvore geradora mínima (MST) mostrando a relação genética entre 90 isolados de *Sporothrix* usando a combinação #5 EcoRI-GA/MseI-AG. As 139

análises foram realizadas usando Bionumerics v7.6. A distância entre os genótipos não reflete qualquer relação entre a distância genética do genótipo.

Figura 4. Mapa auto-organizado (SOM) baseado na impressão digital AFLP de 90 isolados de *Sporothrix*. As análises de dimensionamento mostram a distribuição dos genótipos AFLP. As análises foram realizadas usando BioNumerics v7.6. (A) SOM baseado em dados de caracteres (matriz binária). (B) SOM com base na matriz de similaridade..... 140

Figura 5. Distribuição geográfica e número de casos de esporotricose em gatos entre os anos de 2016 e 2021 na Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, nordeste do Brasil..... 141

LISTA DE TABELAS

Revisão de literatura

Tabela 1. Surtos de Toxoplasmose humana de 1960 a março de 2018, descritos por Ferreira *et al.* (2019) 30

Capítulo 1

Tabela 1. Características utilizadas na inclusão das áreas para amostragem.... 90

Tabela 2. Análise estatística descritiva das amostras positivas para *Toxoplasma gondii* na análise molecular de acordo a temperatura (ºC), umidade (cm³) e pH..... 95

Capítulo 3

Tabela 1. *Primers* utilizados neste estudo para a caracterização molecular de *Sporothrix* spp..... 133

Tabela 2. Estatísticas polimórficas calculadas para a combinação #5 EcoRI-GA/MseI para *Sporothrix* spp..... 137

1. INTRODUÇÃO

Um conceito bastante difundido atualmente é o de Saúde Única, que enfatiza que a saúde humana, animal e ambiental estão intimamente relacionadas (DESTOUMIEUX-GARZÓN *et al.*, 2018). Essa integração se tornou mais importante nos últimos anos com o crescimento e expansão das populações humanas para novas áreas geográficas, alterações no clima e no manejo da terra, como o desmatamento e práticas agrícolas intensivas. Estes e outros fatores desencadearam mudanças nas interações entre pessoas, animais, plantas e o ambiente (ANDRIVON; MONTARRY; FOURNET, 2022; ZINSSTAG, 2012). Nesse sentido, os problemas de saúde não podem ser efetivamente tratados de forma isolada, ou seja, a abordagem da saúde deve ser colaborativa, multidisciplinar e multissetorial, incentivando a adoção de políticas públicas efetivas para a prevenção e controle de zoonoses e outras ameaças à saúde, trabalhando nos níveis local, regional, nacional e global (DESTOUMIEUX-GARZÓN *et al.*, 2018; ZINSSTAG *et al.*, 2015).

Nas últimas décadas, a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) deram início ao desenvolvimento de estratégias conjuntas para promover a interação entre os sistemas de saúde humana, animal, vegetal e ambiental, com o objetivo de reduzir os riscos emergenciais e a disseminação de doenças infecciosas na interface entre animais, humanos, plantas e ecossistemas. Essas estratégias englobam a vigilância, planejamento de atividades de resposta a surtos e a criação de estratégias de prevenção de doenças para reduzir a morbimortalidade em pessoas e animais (FAO; OIE; WHO, 2017).

No Brasil, ainda são poucas as políticas públicas de saúde que abordam todos os pilares da Saúde Única para prevenção de doenças e promoção da saúde por meio da colaboração multidisciplinar. Os fatores institucionais e sociopolíticos ainda não são considerados na implementação das políticas públicas na abordagem Saúde Única (COUTO; BRANDESPIM, 2020). A elaboração de políticas públicas de saúde a partir do conhecimento produzido em ações integradas, resulta em uma melhor governança, uma vez que essas ações articuladas garantem a relevância, aceitabilidade e implementação das medidas de saúde pública (COUTO; BRANDESPIM, 2020). A prevenção de zoonoses é uma das vertentes da Saúde Única que merece atenção e incentivo de políticas públicas intersetoriais, como o estudo da

identificação e caracterização genética de agentes patogênicos em animais, humanos, plantas e no ambiente (ZINSSTAG, 2012).

Nesse contexto, inserem-se os agentes infeciosos *Toxoplasma gondii* e espécies do clado patogênico do gênero *Sporothrix*, responsáveis por graves problemas de saúde devido à ampla disseminação no mundo, principalmente em regiões tropicais (DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ *et al.*, 2019; ROSSOW *et al.*, 2020). Estima-se que mais de 70% de algumas populações de mulheres em idade fértil já foram infectadas por *Toxoplasma gondii* (DUBEY *et al.*, 2012), enquanto a Esporotricose, causada por espécies de fungos do gênero *Sporothrix*, destaca-se pela diversidade genética e ecológica das espécies do clado patogênico, que apresentam diferentes perfis genotípicos (CARVALHO *et al.*, 2020).

Levantamentos epidemiológicos sobre a Toxoplasmose e Esporotricose em humanos e animais demonstraram que essas estão entre as principais enfermidades emergentes, com fatores de riscos associados com a água, o solo e alimentos contaminados, assim como felídeos que podem eliminar os oocistos de *T. gondii* que no ambiente tornam-se infectantes (MALEKI *et al.*, 2020; RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016), além dos gatos domésticos que albergam uma alta carga fúngica de *Sporothrix* spp. quando infectados (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016).

Os estudos epidemiológicos de doenças emergentes e reemergentes devem considerar, de maneira integrada, a investigação ambiental, social e cultural, fatores que estão associados à ocorrência das doenças infecciosas (KEESING *et al.*, 2010; LEBOV *et al.*, 2017), principalmente em países como o Brasil, onde existe uma rica biodiversidade e um grande número de patógenos circulantes (ALHO, 2012). Condições ambientais adequadas são necessárias para que um patógeno se estabeleça em uma nova população e tenha a capacidade de causar um surto ou até mesmo uma epidemia, não bastando que este seja simplesmente introduzido no ambiente (SHAKIBA *et al.*, 2021).

Com um inquestionável papel na caracterização dos agentes infecciosos, as técnicas de biologia molecular são utilizadas na pesquisa e prática clínica das doenças infecciosas (SPEERS, 2006). Com a utilização da abordagem molecular, é possível a rápida identificação do agente infecioso, utilizando diferentes metodologias, como a técnica de polimorfismo por tamanho de fragmento de restrição (RFLP), DNA polimórfico amplificado ao acaso (RAPD), sequenciamento do DNA, Reação em Cadeia da Polimerase convencional (PCR convencional), *Amplified Fragment Length*

Polymorphism (AFLP) (FRANCO-DUARTE *et al.*, 2019). Estas técnicas quando utilizadas em isolados de *T. gondii* (EKAWASTI *et al.*, 2021) e *Sporothrix* spp. (CARVALHO *et al.*, 2020) têm demonstrado que estes agentes apresentam polimorfismo.

Diante do impacto causado pela Toxoplasmose e Esporotricose na população humana e animal, objetivou-se realizar a identificação e análise geoepidemiólogica de *T. gondii* em amostras de solo de ambientes públicos na cidade do Recife e na Ilha de Fernando de Noronha, estado de Pernambuco, além de utilizar a abordagem de Modelagem de Distribuição de Espécies (MDE) para avaliar a adequabilidade ambiental a permanência do coccídio. Ainda, propusemos avaliar a diversidade genética e o tipo de acasalamento de isolados de *Sporothrix* recuperados de casos clínicos de humanos e animais, bem como estudar a distribuição espacial de casos de Esporotricose em gatos, no período de 2016 a 2021 na Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. Os resultados obtidos nesses estudos aportam informações epidemiológicas importantes que servirão como base para o desenvolvimento de políticas públicas intersetoriais direcionadas para o controle da Toxoplasmose e da Esporotricose.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. *Toxoplasma gondii*

3.1. Histórico

Os primeiros relatos da identificação de *Toxoplasma gondii* foram realizados em 1908 em um roedor do Norte da África, *Ctenodactylus gundi* (FERGUSON, 2009) e em um coelho no Brasil (SPLENDORE, 2009). Inicialmente acreditava-se que o parasito identificado pertencia ao gênero *Leishmania*, mas logo depois, os pesquisadores perceberam que haviam descoberto um novo microrganismo. Em 1909, Nicolle e Manceaux propuseram o nome *Toxoplasma gondii,* considerando a morfologia (do grego toxon = arco e plasma = corpo) e o hospedeiro do protozoário (gundi = gondii) (FERGUSON, 2009).

Após a descrição do novo microrganismo, Chatton e Blanc, em 1917, levantaram uma hipótese, sem sucesso, de uma possível transmissão por vetor ao observarem taquizoítos no interior de macrófagos na corrente sanguínea de roedores da espécie *Ctenodactylus gundi* não infectados naturalmente (FRENKEL, 1970, 1973). Deste modo, Chatton e Blanc em 1917, na Tunísia (FRENKEL, 1970, 1973), (WOKE *et al.*, 1953) e outros pesquisadores nos EUA investigaram a possibilidade de uma transmissão por artrópodes. Assim carrapatos, larvas, pulgas e moscas pretas foram avaliados, contudo, o parasito não foi encontrado.

Em 1937, Wolf e Cowen ao descreverem um caso fatal de encefalite em crianças, elucidaram pontos importantes da infecção em humanos, resultando em uma intensificação dos estudos sobre o protozoário (WOLF; COWEN; PAIGE, 1939). Inicialmente, *T. gondii* foi alocado em um grupo de parasitos de filogenia desconhecida e, ao avaliar sua morfologia, o parasito foi denominado trofozoíto em sua fase proliferativa e cistozoíto para aqueles encontrados no interior dos cistos teciduais (LEVINE, 1997; TENTER; JOHNSON, 1997). A presença do patógeno no tecido sugeriu uma possível transmissão a partir da ingestão de carne crua ou mal cozida (WEINMAN; CHANDLER, 1954), não explicando a ocorrência em indivíduos estritamente vegetarianos e nos herbívoros (JACOBS, 1962).

Na década de 70, ocorreram importantes avanços epidemiológicos, destacando-se a descrição da fase sexual do parasito no epitélio do intestino delgado do gato (FRENKEL; DUBEY; MILLER, 1970) e a ratificação de sua importância como

um patógeno oportunista, principalmente para indivíduos com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e usuários de drogas imunossupressoras (COHEN, 1970; RUSKIN; REMINGTON, 1976).

3.2. Taxonomia e organização estrutural de *Toxoplasma gondii*

Existe apenas uma espécie do gênero *Toxoplasma*, *Toxoplasma gondii,* coccídio intracelular obrigatório (DUBEY, 2010), pertencente ao reino Chromista, sub-reino Harosa (supergrupo SAR, compreendendo: Stramenopiles, Alveolata e Rhizaria), superfilo Alveolata, filo Miozoa, subfilo Myzozoa, infrafilo Apicomplexa, superclasse Sporozoa, classe Coccidiomorphea, subclasse Coccidia e ordem Eimeriida (RUGGIERO *et al.*, 2015). Apresenta três estágios morfológicos infectantes distintos: taquizoítos, bradizoítos e oocistos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Os taquizoítos possuem formato elíptico (6μm x 2μm) e são encontrados no citoplasma de células nucleadas, no interior de vacúolos, podendo eventualmente, serem identificados em núcleos (CALDAS; SOUZA, 2018; DUBEY; LINDSAY, 1996). Esse estágio morfológico tem como característica uma replicação rápida (do Grego *tachos* = rápido) (FRENKEL, 1973) e assexuada por endodiogenia, onde duas células filhas se formam no interior da célula-mãe (GOLDMAN; CARVER; SULZER, 1958).

Após invasão celular e replicação intracelular, os taquizoítos completam seu ciclo lítico ao romperem as células hospedeiras, e pela via hematogênica ou linfática invadem diversos tecidos como sistema nervoso central (SNC), placenta, olhos, musculatura esquelética e cardíaca (CARRUTHERS, 2002; DUBEY, 1998). Os taquizoítos induzem uma forte resposta inflamatória e lesão tecidual, desencadeando as manifestações clínicas da doença e caracterizando a fase aguda da infecção (MONTOYA; LIESENFELD, 2004).

Ainda no interior das células, os taquizoítos dão origem a outro estágio evolutivo denominado bradizoíto; alterações morfológicas da membrana e da matriz do vacúolo parasitóforo ocorrem para o desenvolvimento da parede cística e formação do cisto tecidual (CALDAS; SOUZA, 2018; CARRUTHERS, 2002; DUBEY; FRENKEL, 1972). Considerado como o estágio latente de reprodução lenta do parasito (bradi = lento, em grego), estes medem aproximadamente 7μm x 1,5μm e são estruturas que caracterizam a fase crônica da infecção (FRENKEL, 1973). Em resposta ao sistema imunológico, ocorre a formação dos cistos contendo os bradizoítos. Contudo, a reativação da infecção latente pode ocorrer e os cistos teciduais se rompem com a

diferenciação de bradizoítos em taquizoítos, invadindo novas células e formando um novo cisto tecidual (DUBEY, 1993; SULLIVAN; JEFFERS, 2012).

O estágio de resistência no ambiente é o oocisto, responsável por inúmeras ocorrências de infecções no mundo (MALEKI *et al.*, 2020). O oocisto é o resultado da fase sexuada do protozoário que ocorre no trato intestinal dos hospedeiros definitivos (felídeos), a partir de processos de esquizogonia e gametogonia. Os hospedeiros definitivos eliminam os oocistos que esporulam no ambiente e se tornam infectantes para os hospedeiros, incluindo os humanos (BLACK; BOOTHROYD, 2000; FERGUSON, 2009). O processo de esporulação sofre influência de fatores ambientais, como temperatura, umidade, oxigenação, devendo esses apresentarem faixas ótimas para ocorrência do processo que pode durar de um a cinco dias (DUBEY *et al.*, 2011; FRENKEL; RUIZ; CHINCHILLA, 1975; GAO *et al.*, 2016).

Os oocistos têm uma densidade específica que varia entre 1,050 e 1,100, apresentam um formato esferóide ou subesferóide e é constituído por duas camadas, sendo a externa mais fina que a interna (DUMÈTRE *et al.*, 2012). Na camada externa é possível observar diversas estruturas proteicas como cisteína e tirosina, sendo a última responsável por uma autofluorescência azul (DUMÈTRE *et al.*, 2013; FRITZ, *et al.*, 2012). A camada interna do oocisto é a mais grossa e sua complexa organização estrutural confere ao protozoário uma resistência ao estresse físico/químico, podendo permanecer até 54 meses viáveis na água (DUBEY, 2010; DUMÈTRE *et al.*, 2013; WAINWRIGHT *et al.*, 2007).

Do ponto de vista de saúde pública, as características intrínsecas do protozoário são preocupantes, pois estas conferem resistência dos oocistos aos tratamentos físicos e químicos tradicionais em estações de tratamento de água, incluindo a cloração, o tratamento com ozônio e os raios ultravioletas (JONES; DUBEY, 2010; WAINWRIGHT *et al.*, 2007). Outra característica resultante da conformação da parede dos oocistos é a carga negativa, que impossibilita a agregação a outras partículas presentes em água doce, porém em água salobra e marinha essa premissa não é verdadeira, contudo nesses últimos ambientes essas interações podem ser consideradas como um dos fatores responsáveis pela incrível persistência do parasito (DUMÈTRE *et al.*, 2012).

3.3. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*

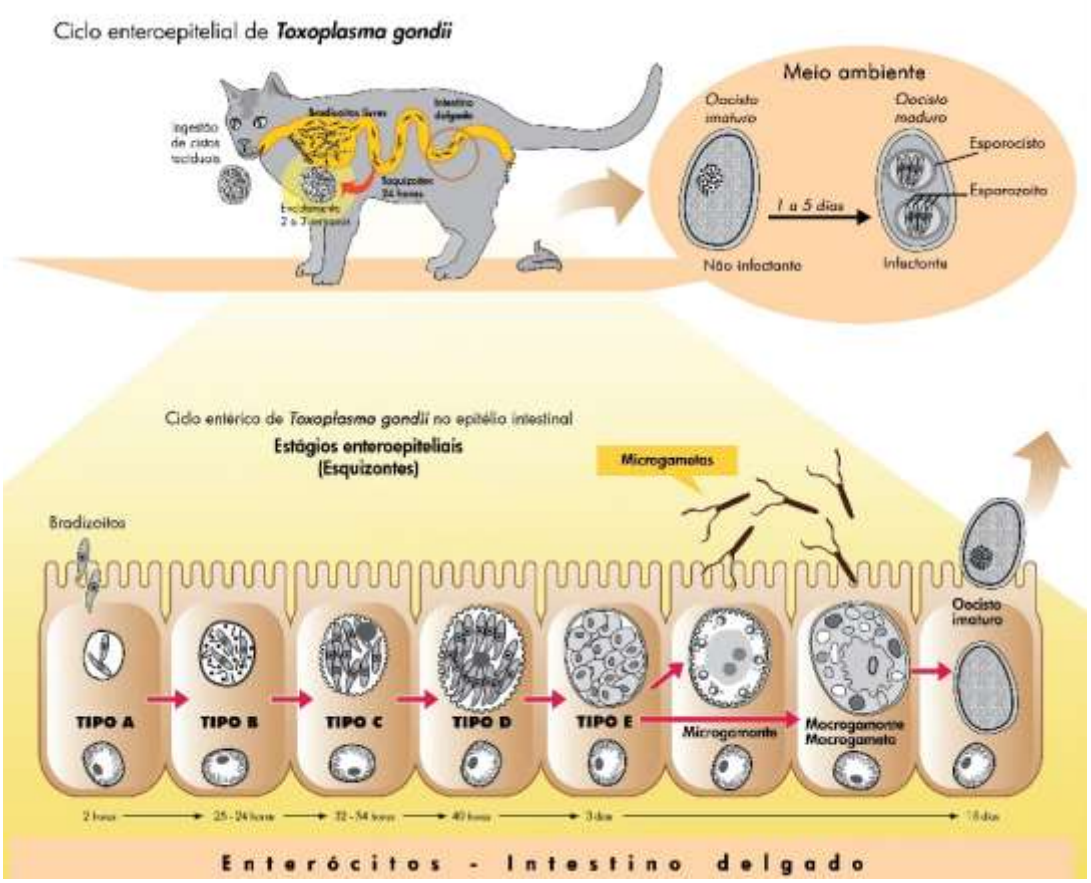
Toxoplasma gondii apresenta um ciclo biológico heteroxênico, que inclui um hospedeiro definitivo (felídeos) e os intermediários, que são os animais de endotérmicos (de sangue quente), dos quais incluem vertebrados aéreos, herbívoros e carnívoros terrestres, além de mamíferos marinhos (DUBEY, 2002, 2010, 2020; FAYER; DUBEY; LINDSAY, 2004). A fase assexuada do protozoário ocorre nos linfonodos, tecidos e epitélio intestinal dos hospedeiros intermediários e definitivos, contudo, a fase sexuada está restrita ao epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos (MILLER; FRENKEL; DUBEY, 1972; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Os felídeos, principalmente os gatos domésticos, devido à sua numerosa população, ampla dispersão mundial e estreita relação com os humanos, desempenham um papel importante no processo de contaminação do ambiente (CHALKOWSKI *et al.*, 2019; ELMORE *et al.*, 2010; GERHOLD; JESSUP, 2013).

A infecção dos hospedeiros definitivos se inicia pela ingestão de qualquer forma infectante do parasito, sejam os cistos teciduais (contendo bradizoítos), taquizoítos e oocistos esporulados (DUBEY, 2009; JONES; DUBEY, 2010). No hospedeiro definitivo, após sofrer a ação de enzimas proteolíticas, o parasito penetra a parede intestinal, iniciando o desenvolvimento dos cinco estágios enteroepiteliais ou esquizontes distintos, dos tipos A, B, C, D e E que não são observados em outros coccídios conhecidos (DUBEY; FRENKEL, 1972; FERGUSON, 2004, 2009; FERGUSON; HUTCHISON; SIIM, 1975; MOURA; AMENDOEIRA; BARBOSA, 2009) (Figura 1).

Os estágios enteroepiteliais ocorrem entre a superfície interna e o núcleo dos enterócitos de maneira sequencial onde ocorre a multiplicação por esquizogonia (BLACK; BOOTHROYD, 2000; DUBEY; FRENKEL, 1972). Após 12 a 18 horas da ingestão do parasito, o estágio de esquizonte do tipo A é observado nos enterócitos superficiais e em alguns casos na lâmina própria intestinal. Em seguida, 12 a 54 horas pós-infecção, surge o tipo B, que se multiplica por um processo de esquizogonia (DUBEY; FRENKEL, 1972). Entre 24 e 32 horas pós-infecção, multiplicam-se por esquizogonia no interior de vacúolos parasitóforos em uma organização em formato de roseta, dando origem ao tipo C (DUBEY; FRENKEL, 1972). O tipo D é observado entre 32 horas e 15 dias pós-infecção, são numerosos nas células epiteliais da base das vilosidades intestinais, além de serem precursores de organismos de vários

aspectos morfológicos e com múltiplos núcleos. O tipo E surge a partir do tipo D em um processo de invasão das células vizinhas, resultando em ultraestruturas distintas daquela que lhe deu origem (DUBEY; FRENKEL, 1972; FERGUSON, 2004; SPEER; DUBEY, 2005).

Figura 1. Ciclo enteroepitelial de *Toxoplasma gondii* no hospedeiro definitivo e no ambiente.



Fonte: Moura; Amendoeira; Barbosa (2009)

Os dois últimos tipos de esquizontes são considerados como precursores dos gametócitos ou variantes do mesmo estágio biológico evolutivo e caracterizam a fase pré-gametogênese (DUBEY; FRENKEL, 1972; SPEER; DUBEY, 2005). Na gametogênese ocorre a formação dos macrogametas e microgametas, esse último ao sair das células da parede intestinal, cai na luz intestinal e é atraído por quimiotaxia até os macrogametas (DUBEY; FRENKEL, 1972; FERGUSON, 2002; SPEER; DUBEY, 2005). Após a fecundação que ocorre no interior das células intestinais tem-se a formação do ovo ou zigoto que se diferencia em oocisto não esporulado que rompe a célula hospedeira, alcança a luz intestinal e é eliminado nas fezes dos hospedeiros definitivos (DUBEY; FRENKEL, 1972; SPEER; DUBEY, 2005). No

ambiente, esses oocistos esporulam em um processo assexuado de esporogonia, dando origem a oito esporozoítos (LINDSAY; BLAGBURN; DUBEY, 2002).

Em solos contaminados, a disseminação mecânica pode ocorrer por diversas espécies de anelídeos, além de moscas, baratas e formigas (DUBEY, 2009; FRENKEL; RUIZ; CHINCHILLA, 1975; HADI, 2013; WALLACE, 1972). Estudos realizados para determinar o nível de contaminação do solo por *T. gondii* demonstraram a ocorrência do parasito no ambiente rural (AJMAL *et al.*, 2013; CONG *et al.*, 2020; DUBEY, 2010; FELICIO *et al.*, 2011; SIMON *et al.*, 2017) e urbano, em áreas como parques públicos (AJMAL *et al.*, 2013; CONG *et al.*, 2020; DENG *et al.*, 2021; DU *et al.*, 2012; WIT *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2017). Destaca-se ainda que as escolas que são consideradas áreas de risco, pois as caixas de areia são frequentemente contaminadas por oocistos (CONG *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2010).

As populações de gatos infectados contribuem para a contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*, com aumento no risco de infecção induzida por oocistos em humanos (GERHOLD; JESSUP, 2013). Contudo, não existe um controle quanto ao número de gatos domésticos e de gatos de hábitos ferais infectados que vivam em liberdade e estejam na fase de eliminação do parasito no ambiente (LIBERG *et al.*, 2000).

A eliminação de oocistos de *T. gondii* é associada a gatos jovens, entretanto uma segunda eliminação de oocistos de *T. gondii* por esses hospedeiros, após a primo-infecção, pode ser considerada se levarmos em consideração a diversidade de genótipos atípicos, relatados no Brasil (GALAL *et al.*, 2019). As características genéticas dos genótipos atípicos lhes conferem a possibilidade de interferirem no processo de reinfecção dos felinos, assim como já descrito em camundongos (COSTA *et al.*, 2018; JENSEN *et al.*, 2015). Gatos domésticos submetidos a estudo experimental já foram capazes de eliminar oocistos quando expostos a um segundo desafio com uma nova cepa de *T. gondii* (DUBEY, 1995).

Após a ingestão pelos hospedeiros intermediários, incluindo o homem, os oocistos esporulados são digeridos por enzimas digestivas e excistam, liberando os esporozoítos (DUBEY *et al.*, 1997; SPEER *et al.*, 1995). Ao invadirem as células epiteliais intestinais, os esporozoítos do parasito se multiplicam assexuadamente (BLACK; BOOTHROYD, 2000; DUBEY, 1998). A reprodução assexuada ocorre por um processo denominado endodiogenia, gerando taquizoítos que se disseminam pela via hematogênica ou linfática, infectando diversos tecidos (FRENKEL, 1949; SOUZA,

1974). No interior das células parasitadas, os taquizoítos formam o vacúolo parasitóforo e a partir daí o parasito pode seguir se multiplicando e infectando novas células ou ficar no estágio latente de reprodução denominado endopoligenia, como resultado da pressão imunológica do hospedeiro, mediada por células produtoras de interferon gama (IFN-γ), formando bradizoítos (BETANCOURT *et al.*, 2019; BLACK; BOOTHROYD, 2000; SULLIVAN; JEFFERS, 2012). Na condição de bradizoíto, o parasito se mantém por um período indefinido durante a vida do hospedeiro, contudo na ocorrência de imunossupressão, ao longo da vida, tem-se a reativação ou recrudescência da infecção que consiste em um processo de reconversão a taquizoítos, que podem se multiplicar, disseminar e causar a Toxoplasmose aguda (SULLIVAN; JEFFERS, 2012).

Nos hospedeiros intermediários e definitivos, a transmissão pode ser vertical e/ou horizontal (DUBEY, 2010). A forma horizontal ocorre pela ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos esporulados, consumo de bradizoítos em cistos teciduais de hospedeiros infectados cronicamente, além da ingestão de taquizoítos provenientes de hospedeiros intermediários com infecção aguda, como por exemplo, através do consumo de leite ou colostro de fêmeas infectadas (FERREIRA *et al.*, 2018, 2019; JACOBS; REMINGTON; MELTON, 1960; SAAD; HUSSEIN; EWIDA, 2018). Nas últimas décadas, diversos estudos epidemiológicos relacionam o risco de infecção por *T. gondii* a partir de diferentes ambientes contaminados com oocistos, com destaque para o solo, alimentos e água (ALMEIDA *et al.*, 2011; CONG *et al.*, 2020; DATTOLI *et al.*, 2011; DENG *et al.*, 2021; FERREIRA *et al.*, 2018, 2019; HAGHPARAST-KENARI *et al.*, 2020; JONES; DUBEY, 2010; MALEKI *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2010; SHAPIRO *et al.*, 2019; WIT *et al.*, 2019).

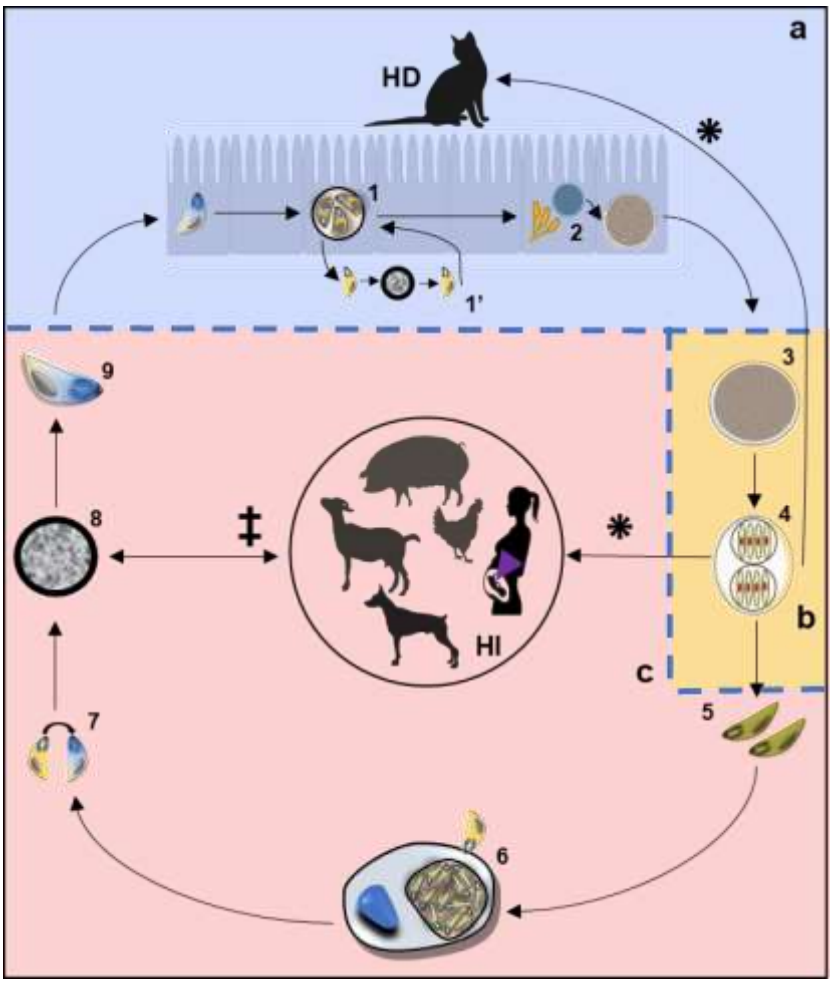
A exposição aos oocistos presentes no solo, água ou alimentos contaminados representa um risco de infecção humana devido à longa persistência do agente no ambiente e da diversidade de hospedeiros paratênicos que podem ser ingeridos como alimento (BAHIA-OLIVEIRA; GOMEZ-MARIN; SHAPIRO, 2017; SCHOTT *et al.*, 2016). Os oocistos sobrevivem em água marinha, assim moluscos podem atuar como fonte potencial de infecção de *T. gondii*. Em um estudo com peixes marinhos realizado por Marino *et al.* (2019), foram identificadas 32 amostras (21,8%) positivas de 12 espécies de peixes marinhos (*Boops boops*; *Trachurus trachurus*; *Engraulis encrasicolus*; *Mullus Barbatus*; *Pagellus acarne*; *Pagellus erythrinus*; *Merluccius merluccius*; *Arnoglosso Laterna*; *Diplodus sargus*; *Raja clavata*; *Scorpaena scrofa*;

Spicara maena), fornecendo evidências do possível papel dessas espécies como fonte de infecção do parasito.

A transmissão vertical ocorre durante a gestação, onde o protozoário alcança os tecidos fetais a partir da circulação materna e atravessa a barreira placentária, caracterizando a transmissão transplacentária (AHMED; SOOD; GUPTA, 2020). O parasito se multiplica nos tecidos fetais imunologicamente imaturos causando aborto, morte neonatal ou anormalidades fetais, podendo, ainda, ocorrer uma infecção latente e os sinais clínicos se manifestarem meses ou anos após o nascimento, estando a patogenia da Toxoplasmose congênita associada à fase gestacional do momento da infecção (AHMED; SOOD; GUPTA, 2020; GÓMEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2020; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Vias menos habituais de transmissão como transplante de órgãos (HERMANNS *et al.*, 2001; KHURANA; BATRA, 2016; ROBERT-GANGNEUX *et al.*, 2000, 2018), transfusão de sangue (ALVARADO-ESQUIVEL *et al.*, 2018) e acidentes laborais (HERWALDT, 2001) também já foram descritas em humanos.

Figura 2. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii.*



Fonte: Elaborado por Andrade (2019) baseado em Dubey (2010). Área em azul (a): Fase no hospedeiro definitivo (HD); 1: Multiplicação assexuada de taquizoítos nos enterócitos do HD; 1': ciclo extraintestinal pode ocorrer pela penetração dos tecidos, encistamento e recrudescência; 2: Fase sexual, com formação do microgameta e macrogameta, seguida de fecundação e formação de oocistos não-esporulados; Área amarela (b): fase ambiental; 3: Oocisto não-esporulado eliminado juntamente as fezes do HD; 4: Oocisto esporulado; Área em vermelho (c): Fase no hospedeiro intermediário (HI); *: Transmissão oral de oocisto esporulado; ‡: Transmissão oral de cisto tecidual; 5: Esporozoítos; 6: Taquizoíto penetrando e em vacúolo parasitóforo em uma célula hospedeira; 7: Conversão de taquizoíto para bradizoíto; 8: formação de cisto tecidual; 9: Bradizoítos; seta roxa: Transmissão transplacentária.

3.4 Epidemiologia ambiental de *Toxoplasma gondii* e surtos de Toxoplasmose

A contaminação ambiental por agentes infecciosos é um dos principais fatores que impactam a saúde humana e animal em todo o mundo (STEFFAN *et al.*, 2018). No solo, são encontrados uma infinidade de microrganismos e a rica diversidade de materiais orgânicos são a base para produção de energia necessária para esse microbioma (BREVIK *et al.*, 2018; STEFFAN *et al.*, 2018). Uma atenção especial deve

ser direcionada para aqueles com potencial zoonótico, que podem causar sérios impactos à saúde humana e animal, com destaque para os agentes infecto-parasitários, como *T. gondii* (DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ *et al.*, 2019).

Em todo mundo, pesquisas direcionadas à compreensão da biologia, epidemiologia e ecologia de *T. gondii* no ambiente, além do aprimoramento de técnicas de diagnóstico são esforços para evidenciar a importância do solo como fonte de infecção (MALEKI *et al.*, 2020). Em alguns países, os oocistos de *T. gondii* foram registrados no solo, como no Brasil (COUTINHO; LOBO; SOURCE, 1982; FELICIO *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2010; SILVA; LANGONI, 2016); China (CONG *et al.*, 2020; DU *et al.*, 2012; GAO *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2014); França (AFONSO *et al.*, 2008; GOTTELAND *et al.*, 2014; SIMON *et al.*, 2017); Estados Unidos da América (WIT *et al.*, 2019); Iran (HAGHPARAST-KENARI *et al.*, 2020; SAKI *et al.*, 2017; SOLYMANE *et al.*, 2014; TAVALLA *et al.*, 2013); Paquistão (AJMAL *et al.*, 2013); Polônia (LASS *et al.*, 2009; SROKA; SZYMAŃSKA, 2012); Havaí (DAVIS *et al.*, 2018); México (PACHECO-ORTEGA *et al.*, 2019); Marrocos (BERROUCH *et al.*, 2020); Nigéria (AWOBODE *et al.*, 2020), com frequência variando de 1% a 78,1%.

O risco de infecções decorrentes da ingestão de oocistos de *T. gondii* para humanos e animais está diretamente relacionado à contaminação ambiental (SHAPIRO *et al.*, 2019). Nos hospedeiros intermediários, um oocisto é capaz de induzir infecção, estando a patogenicidade associada a um ou mais fatores como a cepa envolvida, a dose e a via de inoculação (BLACK; BOOTHROYD, 2000). Já nos hospedeiros definitivos, a patogenia por ingestão de oocistos é mais branda (DUBEY, 1996; MILLER; FRENKEL; DUBEY, 1972).

O crescimento da população humana e seu comportamento social tem efeito direto e indireto na contaminação ambiental por patógenos zoonóticos (DESTOUMIEUX-GARZÓN *et al.*, 2018; STEFFAN *et al.*, 2018). Fatores ambientais como umidade, temperatura e outros aspectos ambientais têm se modificado ao longo do tempo, resultando em padrões climáticos flutuantes, com muitas chuvas ou longos períodos de estiagem (BLUNDEN; BOYER, 2021). Oocistos de *T. gondii* podem sobreviver melhor em áreas úmidas tropicais, com interferência direta da temperatura na esporulação (PATZ *et al.*, 2000).

A umidade é favorável à esporulação de oocistos de *T. gondii*, com a alta umidade tem-se um aumento na esporulação e um maior risco de infecção por *T.*

gondii (YAN *et al.*, 2016). Contudo, por apresentar a capacidade de persistir em ambientes adversos, os oocistos conseguem se manter por períodos mais longos na seca e se dispersam na chegada das chuvas a partir do escoamento das águas (DUBEY, 1998; DUMÈTRE *et al.*, 2013). Frenkel; Ruiz; Chinchilla (1975) ao avaliarem a relação umidade e persistência da infectividade de oocistos no solo, observaram que quanto maior a umidade maior foi a taxa de recuperação de oocistos infectantes; em um intervalo de 0% a 19% de umidade relativa, a persistência foi de 2 dias; em 37% a 58% foi de 11 dias, em 80% foi de 18 dias e em 100% o oocisto persistiu por 32 dias. Outra característica descrita foi a capacidade do oocisto esporulado sobreviver ao congelamento a -21°C por 28 dias, que as flutuações de temperatura não são prejudiciais e oocistos esporulados expostos a uma temperatura de 37°C se mantiveram viáveis por até 306 dias.

Os oocistos não esporulados perdem a capacidade de esporulação após congelamento (1 dia a -21°C ou 7 dias a -6°C) e aquecimento (50°C, 10 min) (DUMÈTRE; DARDÉ, 2003; FRENKEL; DUBEY, 1973). Contudo, podem sobreviver no ambiente por pelo menos 3 meses e manter sua capacidade de esporulação quando mantidos em condições favoráveis. Lindsay; Blagburn; Dubey (2002), após submeterem oocistos não esporulados de *T. gondii* a um processo de refrigeração (4°C) seguido de exposição a temperatura ambiente por um período de 6 a 11 semanas, observaram a manutenção da viabilidade do oocisto. Este fato foi confirmado com a presença de DNA de *T. gondii* em tecidos de camundongos inoculados com os oocistos esporulados que foram previamente expostos ao protocolo estabelecido. Lélu *et al.* (2012) avaliaram a viabilidade do oocisto de *T. gondii* no solo ao longo de 21,5 meses em dois níveis de precipitação e relataram uma maior viabilidade de oocistos em condições de maior precipitação, sugerindo que o teor de umidade diferiu entre duas condições de teor de água, refletindo diretamente na permanência do protozoário no ambiente a que foi exposto.

A composição do solo também tem estreita relação com a sobrevivência do oocisto de *T. gondii* (BERROUCH *et al.*, 2020) e pode influenciar no processo de detecção do parasito (LÉLU *et al.*, 2011). Além de interferir na permanência do patógeno, o solo contribui direta e indiretamente no processo de disseminação dos oocistos de *T. gondii* no ambiente (DUMÈTRE; DARDÉ, 2003). Os agentes vetoriais do solo são importantes disseminadores, contudo, requerem padrões adequados para sua permanência e isso pode ser influenciado por características do solo como

granulometria, pH, densidade aparente, carbono orgânico do solo e teor de metais pesados (DUMÈTRE; DARDÉ, 2003).

Considerando as características do solo como fatores influenciadores no processo de esporulação e permanência dos oocistos de *T. gondii,* Gao *et al.* (2016) avaliaram as propriedades físico-químicas do solo da cidade de Harbin, China, com destaque para temperatura, umidade e matéria orgânica. Estes fatores foram de grande influência na probabilidade de contaminação do solo por oocistos, sendo os resultados consistentes com os coeficientes de ganho de treinamento normalizados de MaxEnt. Wit *et al.* (2019) avaliaram áreas da Califórnia, USA, e relataram que a contaminação do solo por *T. gondii* teve relação altamente dependente da localização e estação do ano, com uma maior ocorrência no outono e em áreas costeiras, onde o registro de temperatura foi de 8°C a 24°C.

A ocorrência de oocistos de *T. gondii* tem estreita relação com a distribuição espacial dos hospedeiros definitivos e as características do solo (DU *et al.*, 2012; GILOT-FROMONT *et al.*, 2012; LASS *et al.*, 2009). A densidade felina é um indicativo do nível de contaminação do solo (DU *et al.*, 2012; LÉLU *et al.*, 2010) e as colônias de gatos que vivem em liberdade são importante fonte de *T. gondii*, pois podem contaminar espaços de criação de animais e de cultivo de alimentos (GOTTELAND *et al.*, 2014; SIMON *et al.*, 2017; WIT *et al.*, 2019). Awobode *et al.* (2020) estudaram três comunidades do Ibadan, Nigéria, e descreveram que o nível de contaminação do solo por oocistos foi maior em áreas de concentração de gatos, e, além disso, identificaram anticorpos anti-*T. gondii* em 86,7% dos gatos que circulavam em áreas de intensa atividade humana nas comunidades, sugerindo que tais locais se apresentam como potencial risco para a infecção.

Áreas urbanas ou rurais habitadas e com densas populações de gatos constituem espaços de risco de infecção por oocistos em humanos e animais (LÉLU *et al.*, 2010). Os hospedeiros definitivos, gatos domésticos, selvagens ou qualquer outro felídeo, desde que infectado, contaminam o ambiente (DUBEY, 2010), e uma maior disponibilidade de alimento favorece a permanência do felídeo, aumentando o risco da contaminação ambiental (CONG *et al.*, 2020). Jardins comunitários, *playgrounds* e parques, desde que contaminados, podem representar uma fonte de infecção de *T. gondii* para as crianças que entram em contato com os oocistos e eventualmente podem ingeri-los (CONG *et al.*, 2020; WIT *et al.*, 2019). Além do

manuseio de solo contaminado, o consumo de produtos mal higienizados, dele proveniente, constitui também um risco para a infecção (FERREIRA *et al.*, 2018).

Surtos de Toxoplasmose humana descritos em vários países do mundo (Tabela 1) estão associados à ingestão de bradizoítos, taquizoítos e oocistos esporulados (SMITH *et al.*, 2021) (Figura 3). Segundo Ferreira *et al.* (2019), os oocistos esporulados são reponsáveis por 44,1% (15/34) dos surtos, sendo 17,6% (6/34) por contato com solo contaminado com estimativa de 1.416 pessoas afetadas, das quais 67,0% eram crianças ou adolescentes. No Brasil, de acordo com Balbino; Breganó; Ferreira (2021), a prevalência de surtos por ingestão de oocistos é de 61,9% (26/42), sendo as frutas e vegetais (23,8% - 10/42) as vias de transmissão mais frequentes, seguida por carne (21,4% - 9/42) e água (21,4% - 9/42) (Figura 4).

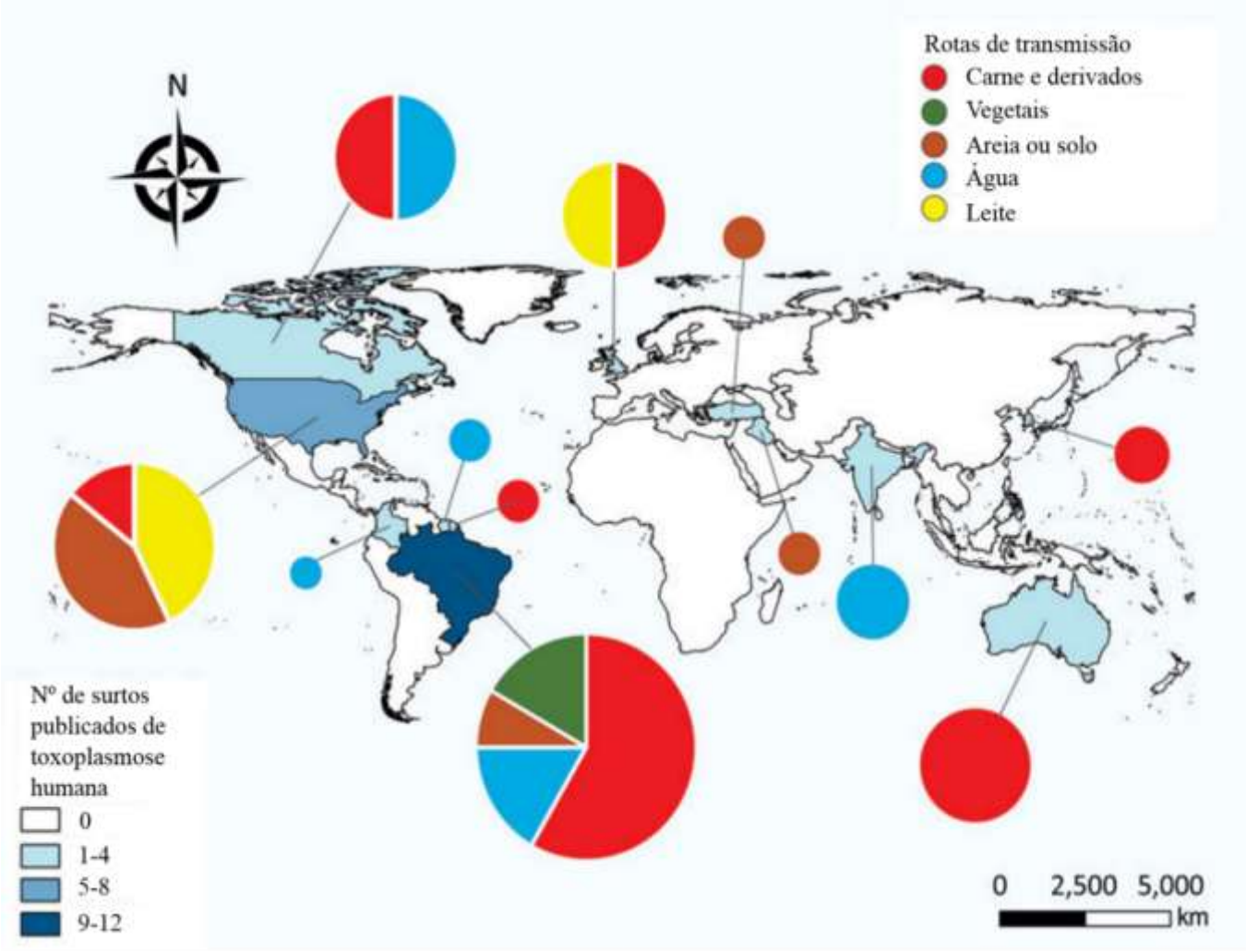
Tabela 1. Surtos de Toxoplasmose humana de 1960 a março de 2018, descritos por Ferreira *et al.* (2019).

Referência	Ano	Nº casos	Via de transmissão	Forma parasitária de *Toxoplasma gondii*	País	Grupo acometido
Magaldi *et al.* (1967)	1965	9	Carne	Bradizoítos	Brasil	Participantes do seminário
Magaldi *et al.* (1969)	1966	99	Carne	Bradizoítos	Brasil	Estudantes universitários e professores
Kean; Kimball; Christenson (1969)	1968	5	Carne	Bradizoítos	Estados Unidos	Clientes de lanchonete
Mawr (1978)	1975	6	Cordeiro cru	Bradizoítos	Estados Unidos	Intrafamiliar
Fertig; Selwyn; Tibble (1977)	1976	3	Cordeiro cru	Bradizoítos	Inglaterra	Intrafamiliar r
Coutinho *et al.* (1982)	1976	21	Carne de porco	Bradizoítos	Brasil	Intrafamiliar
Silva; Mulcahy; Kamath (1984)	1979	4	Cordeiro cru	Bradizoítos	Austrália	Intrafamiliar
Sacks *et al.* (1983)	1980	3	Carne de veado	Bradizoítos	Estados Unidos	Caçadores
Mcdonald *et al.* (1990)	1987	22	Rena crua	Bradizoítos	Canadá	Mulheres grávidas
Bonametti *et al.* (1997)	1993	17	Cordeiro cru	Bradizoítos	Brasil	Participantes da festa
Choi *et al.* (1997)	1994	3	Vísceras de porco selvagem	Bradizoítos	Coreia do Sul	Comerciantes
Choi *et al.* (1997)	1994	5	Vísceras de porco	Bradizoítos	Coreia do Sul	Soldados
Carme *et al.* (2002)	1995	16	Carne de caça	Bradizoítos	Guiana Francesa	Pacientes hospitalizados
Almeida *et al.* (2006)	2005	10	Salsicha de porco	Bradizoítos	Brasil	Intrafamiliar
Eduardo *et al.* (2007)	2006	6	Carne	Bradizoítos	Brasil	Participantes da festa
Renoiner *et al.* (2007)	2006	61	Cordeiro cru	Bradizoítos	Brasil	Participantes da festa

Sacks; Roberto; Brooks (1982)	1978	10	Leite de cabra	Taquizoíto	Estados Unidos	Intrafamiliar
Chiari; Neves (1984)	1983	3	Leite de cabra	Taquizoíto	Brasil	Intrafamiliar
Skinner *et al.* (1990)	1988	2	Leite de cabra	Taquizoíto	Escócia	Intrafamiliar
Stagno *et al.* (1980)	1976	10	Areia ou solo	Oocisto	Estados Unidos	Intrafamiliar
Teutsch *et al.* (1979)	1977	37	Areia ou solo	Oocisto	Estados Unidos	Cavaleiros
Benenson *et al.* (1982)	1979	35	Água	Oocisto	Panamá	Soldados
Shenep *et al.* (1984)	1982	9	Areia ou solo	Oocisto	Estados Unidos	Intrafamiliar
Abood (1992)	1990	4	Areia ou solo	Oocisto	Iraque	Intrafamiliar
Bell *et al.* (1995)	1995	110	Água	Oocisto	Canadá	Residentes do município
Moura *et al.* (2006)	2001	426	Água	Oocisto	Brasil	Residentes do município
Doganci *et al.* (2006)	2002	171	Areia ou solo	Oocisto	Turquia	Alunos de internato
Demar *et al.* (2007)	2003	11	Água	Oocisto	Suriname	Vizinhos da comunidade
Balasundaram *et al.* (2010)	2004	248	Água	Oocisto	Índia	Residentes do município
Palanisamy *et al.* (2006)	2004	213	Água	Oocisto	Índia	Residentes do município
Carmo *et al.* (2010)	2004	40	Areia ou solo	Oocisto	Brasil	Residentes do município
Pino; Salinas; López (2009)	2008	18	Água	Oocisto	Colômbia	Soldados
Ekman *et al.* (2012)	2009	11	Vegetais crus	Oocisto	Brasil	Funcionários de restaurantes industriais
Morais *et al.* (2016)	2013	73	Açaí	Oocisto	Brasil	Residentes do município

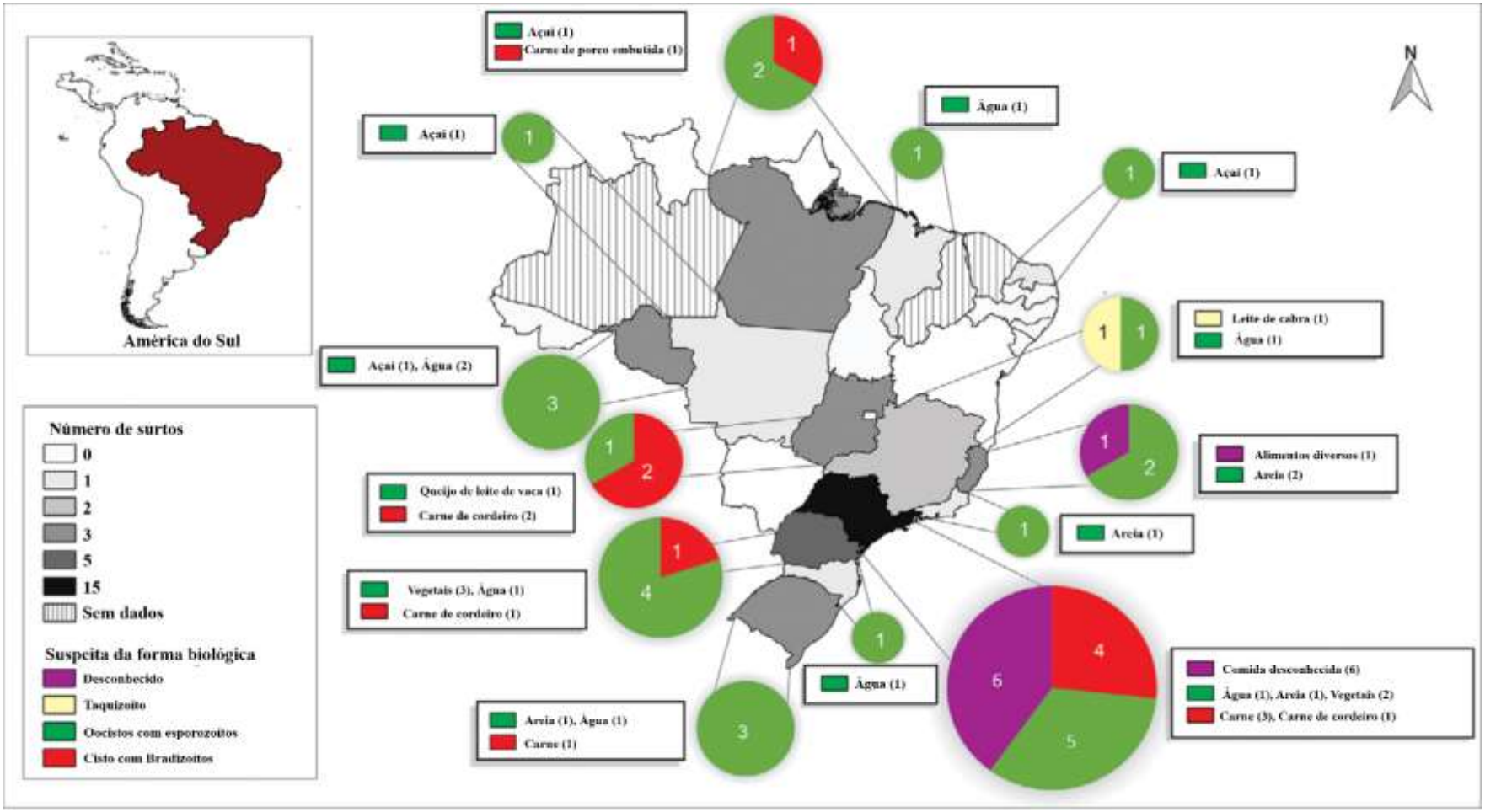
Fonte: Adaptado de Ferreira *et al.* (2019)

Figura 3. Distribuição geográfica de 34 surtos de Toxoplasmose humana no mundo, segundo Ferreira *et al.* (2019).



Fonte: Adaptado Ferreira *et al.* (2019).

Figura 4. Registro de casos e fontes de infecção de *Toxoplasma gondii* no Brasil no período de 1965 a 2020, de acordo com Balbino; Breganó; Ferreira (2021).



Fonte: Adaptado de Balbino; Breganó; Ferreira (2021).

No Brasil, os surtos de Toxoplasmose têm ocorrido com relativa frequência nas diferentes regiões e estima-se que entre 50 a 80% da população adulta esteja infectada por *T. gondii* (DUBEY *et al.*, 2012; MEIRELES *et al.*, 2015). Entre os anos 1967 a março de 2018, já foram registrados 12 surtos de Toxoplasmose no Brasil (FERREIRA *et al.*, 2019). O maior e mais grave da história ocorreu no município de Santa Maria, Rio Grande do Sul. De acordo com o boletim epidemiológico publicado em maio de 2018, foram notificados 1.116 casos, sendo 168 gestantes e os principais sintomas identificados foram febre, dor muscular e nas articulações, cefaleia, além de anomalia congênita grave e aborto (ARQUILLA *et al.*, 2019). Embora existam suspeitas de que a via de transmissão teria sido a água dos reservatórios municipais e hortaliças, a causa do surto não foi determinada. Com os isolados clínicos de *T. gondii*, obtidos de placenta, identificou-se um novo genótipo atípico de alta virulência (MINUZZI *et al.*, 2020). O segundo maior surto no Brasil ocorreu em 2001, em Santa Isabel do Ivaí, Paraná, onde pelo menos 426 pessoas estavam infectadas, estando associado a uma cisterna contaminada que servia como principal fonte de abastecimento de água no município (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Outro surto de grande repercussão ocorreu em 2011 no estado de Rondônia, onde foram identificados 141 casos de Toxoplasmose, com registro de três casos de aborto e 12 casos de Toxoplasmose ocular. O consumo de açaí (OR=22,47; IC95%: 5,65-89,94) e água mineral (OR=7,15; IC95%: 1,96-26,01) foram identificados como fatores de risco associados à ocorrência da Toxoplasmose (DUTRA *et al.*, 2012). Ainda relacionado ao consumo de açaí, em 2013, no município de Ponta de Pedras, no estado do Pará, ocorreu um surto de Toxoplasmose envolvendo 90 casos (MORAIS *et al.*, 2016).

Oocistos de *T. gondii* desempenham um papel importante na epidemiologia desta zoonose, principalmente no que diz respeito à documentação de *T. gondii* em diversos nichos ecológicos, incluindo espécies terrestres e marítimas (GIBSON *et al.*, 2011; MORATAL *et al.*, 2020; SHAPIRO *et al.*, 2019). A presença de um agente infeccioso no ambiente pode gerar um desequilíbrio sistêmico, desencadeando prejuízos à fauna e flora (MALEKI *et al.*, 2020).

4. *Sporothrix* spp.

4.1. *Histórico*

Em 1896, Benjamin Schenck, descreveu o primeiro caso clínico de Esporotricose cutânea em um paciente de 37 anos atendido no Hospital Johns Hopkins em Baltimore, Estados Unidos. O agente infeccioso envolvido foi classificado pelo micologista Erwin Smith como uma espécie pertencente ao gênero *Sporotrichum* (HEKTOEN; PERKINS, 1900). Quatro anos depois, um outro caso foi relatado na cidade de Chicago por Hektoen e Perkins (1900) que propuseram uma nova denominação, *Sporothrix schenckii,* mas a designação anterior perdurou por décadas (HEKTOEN; PERKINS, 1900). Só em 1962 ocorreu a correção da classificação e o fungo é nomeado de *Sporothrix schenckii* (CARMICHAEL, 1962).

No Brasil, em 1907, Lutz e Splendore descreveram o primeiro relato de Esporotricose animal. Os pesquisadores avaliaram ratos que apresentavam sinais clínicos compatíveis com a doença, além de humanos o que resultou na primeira descrição da enfermidade em humanos no país. Os pesquisadores ainda descreveram o agente como “corpos de asteroides” presente nos tecidos, definição útil no diagnóstico histopatológico desta micose (LUTZ; SPLENDORE, 1907).

Até então, os gatos não tinham relação epidemiológica com o agente infeccioso, mas Beurmann e colaboradores em 1909 descreveram a suscetibilidade dos gatos à infecção por *S. schenckii* a partir de um estudo experimental (BEURMANN; MACKENNA, 1912). Contudo, somente em 1952, na cidade de Nova York, Estados Unidos, foi descrito o primeiro caso de Esporotricose humana causado por contato com um gato doente (SINGER; MUNCIE, 1952). No Brasil, o primeiro relato de Esporotricose felina ocorreu no ano de 1956 em São Paulo (FREITAS; MIGLIANO; NETO, 1956).

Entre os anos de 1938 e 1949 foi registrada uma grande epidemia de Esporotricose na África do Sul, onde aproximadamente 3.000 trabalhadores de minas adquiriram a infecção pelo contato com fungo das vigas de madeira de sustentação dos túneis das minas (QUINTAL, 2000). Diversos surtos associados ao contato com ambiente e/ou material contaminado foram registrados ao longo dos anos em países como Brasil, EUA, México, Guatemala, Colômbia, Bolívia, Peru, Paraguai, Chile, Uruguai, Argentina, Venezuela, África do Sul, Madagascar, Moçambique, França,

Portugal, Germânia, Reino Unido, Espanha, Itália, Iran China, Índia, Japão, Tailândia, Malásia e Austrália (CARVALHO *et al.*, 2021a; CDC, 1988; DOOLEY; BOSTIC; BECKIUS, 1997; FEENEY *et al.*, 2007; FELICIO *et al.*, 2011). Um importante surto envolvendo um grupo de trabalhadores que manipulava mudas de pinheiro e musgo foi registrado no vale do Mississipi, Estados Unidos (CDC, 1988). Ainda nos EUA, entre os anos de 1992 e 1993, ocorreu uma epidemia relacionada ao contato de pessoas com feno estocado em uma casa abandonada, onde eram realizadas festas de *Halloween* (DOOLEY; BOSTIC; BECKIUS, 1997). O feno também foi a fonte de infecção em um surto no Sudoeste da Austrália entre os anos de 2000 e 2003 (FEENEY *et al.*, 2007).

Ao longo dos anos, observou-se que a ocorrência da Esporotricose estava associada ao trabalho agrícola, reflorestamentos, atividades envolvendo manipulação de solo, vegetais contaminados com o fungo, além do contato com gatos infectados (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016). No Brasil, os surtos associados à transmissão clássica pelo solo ou matéria orgânica foram descritos no Espírito Santo, onde a incidência média aproximada foi de 4,9 casos por 100.000 habitantes no período de 1982 a 2012 (CAUS *et al.*, 2019) e no Rio Grande do Sul, onde 74,3% (226/304) dos casos tinham associação com categorias ocupacionais mais tradicionalmente expostas ao fungo (risco ocupacional) (ROSA *et al.*, 2005).

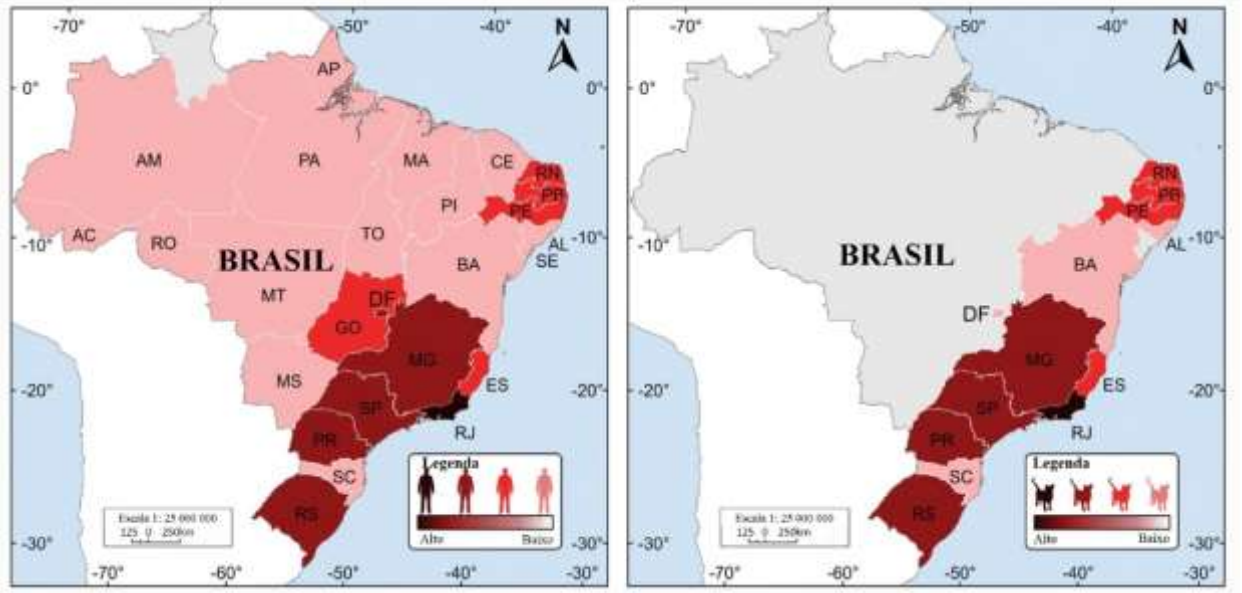
As epidemias recentes no Brasil demonstraram que os gatos são a principal fonte de infecção para humanos, cães e outros gatos (Figura 5). Em 25 dos 26 estados brasileiros, já foi relatada a ocorrência da Esporotricose, com destaque para os estados das regiões Sul e Sudeste onde uma epidemia foi instalada, entretanto, desde 2015, observa-se uma expressiva expansão geográfica para as regiões Norte (GREMIÃO *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2020) e Nordeste do país (ARAUJO; LEAL, 2016; BENTO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2018, 2021).

Os felinos têm destaque na transmissão do fungo desde a década de 1980 (READ; SPERLING, 1982; WERNER; WERNER, 1994) e a transmissão zoonótica por esses animais registrou sua primeira epidemia no Brasil na década passada (RODRIGUES *et al.*, 2020). A partir de 2013 em alguns estados brasileiros a Esporotricose passa a ser de notificação compulsória em humanos, sendo eles o Rio de Janeiro (BRASIL, 2013), Pernambuco (BRASIL, 2016), Salvador (BA) (BRASIL,

2018a) e na cidade de Guarulhos (SP) (BRASIL, 2018b), com inclusão da notificação em animais nos dois últimos.

Figura 5. Ocorrência da Esporotricose humana e animal no Brasil.

A. **B.**



Fonte: Adaptado de Rodrigues *et al.* (2020). **A.** Expansão do número de casos de esporotricose humana, registrados até o ano 2019, relatados em 25 dos 26 estados brasileiros, com incidência variando em uma escala de alta a baixa. **B.** Expansão do número de casos de esporotricose em gatos em alguns estados brasileiros registrados até o ano 2019, com incidência variando em uma escala de alta a baixa.

4.2. Taxonomia e organização estrutural de *Sporothrix* spp.

O gênero *Sporothrix* pertencente ao Reino Fungi, Subreino Dikarya, Filo Ascomycota, Subfilo Pezizomycotina, Classe Sordariomycetes, Subclasse Sordariomycetidae, Ordem Ophiostomatales, Família Ophiostomataceae (MYCOBANK, 2021), onde estão incluídas 53 espécies (RODRIGUES *et al.*, 2020). Amplamente distribuídos em diversas zonas climáticas do mundo (LOPES-BEZERRA *et al.*, 2018), esses organismos eucarióticos são heterotróficos e imóveis (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011). Há registros de espécies em casca de árvores, solo, ácaros e exoesqueleto de artrópodes (ERRASTI *et al.*, 2016; MARMOT.EJO; BUTIN, 1990; OSTAFIŃSKA *et al.*, 2021; POESTER *et al.*, 2018; ROETS *et al.*, 2008; ROMÓN *et al.*, 2014; TROLLIP *et al.*, 2021). Existem várias espécies patogênicas para humanos e animais (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Considerando os traços morfológicos (ZHAO *et al.*, 2015), fisiológicos (FERNANDES *et al.*, 2009; RUDRAMURTHY *et al.*, 2021), genéticos (HUANG; ZHOU, 2020), epidemiológicos (OROFINO-COSTA *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2020), de virulência (IKEDA *et al.*, 2018) e suscetibilidade a antifúngicos (WALLER *et al.*, 2021), entre outros aspectos, as espécies clinicamente relevantes são agrupadas no chamado clado monofilético. O termo "clado clínico" ou "clado patogênico" é utilizado para designar o grupo das espécies *S. brasiliensis*, *S. schenckii* (*s.str.*), *S. globosa* e *S. luriei*, frequentemente isoladas de lesões em humanos e animais (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016). Já as demais espécies que raramente determinam infecções ou que nunca foram reportadas em mamíferos, são agrupadas no “clado ambiental”. Estas espécies são isoladas frequentemente em amostras de solo, matéria orgânica em decomposição, insetos e plantas e organizadas em diferentes clados como o complexo *S. pallida*, complexo de *S. stenoceras*, complexo *S. candida*, complexo *S. gossypina*, complexo *S. inflata*, Grupo E, Grupo F, Grupo G, Grupo H, Grupo I (RODRIGUES *et al.*, 2020).

As espécies do gênero *Sporothrix* causadoras da Esporotricose em humanos e animais são termodimórficas, ou seja, em condições de 25-30°C apresentam uma morfologia micelial e a temperatura entre 35-37°C produzem uma morfologia semelhante a das leveduras (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; ZHAO *et al.*, 2015). No solo, as espécies patogênicas se desenvolvem em diferentes nichos ecológicos, em meio rico em celulose com padrões de umidade que variam de 37,5% a 99,06%, temperatura entre 6,6°C a 31°C (NORIEGA *et al.*, 1993; RAMÍREZ-SOTO *et al.*, 2018) e faixa de pH entre 3,5 a 9,4 (NORIEGA *et al.*, 1993; TÉLLEZ *et al.*, 2014). As colônias na fase micelial são inicialmente brancas e glabras, podendo desenvolver aspecto enrugado e membranoso. Com o passar dos dias de cultivo escurecerem, passando de coloração marrom para preto. A coloração da colônia também está associada à quantidade de conídios dermáceos produzidos pelas espécies que podem apresentar colônias escuras desde o início do crescimento (ZHAO *et al.*, 2015).

Microscopicamente é possível observar hifas hialinas, septadas e finas com conídios de diferentes formatos entre os diferentes clados (MARIMON *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2015). Quanto às células conidiogêneas são classificadas em conídios primários, hialinos de parede fina e conídios secundários ou sésseis, marrom-escuros e parede espessa (MARIMON *et al.*, 2007). De ovais a elípticos e com um arranjo

semelhante a um buquê de margaridas no final dos conidióforos, estão dispostos os conídios hialinos. Os conídios secundários podem apresentar diferentes formas como piriformes e ovoides a esféricos, que emergem de hifas indiferenciadas (MARIMON *et al.*, 2007). Já na fase de levedura, essas apresentam um aspecto liso com coloração castanha ou creme, contudo, podem se apresentar escuras com o tempo, e microscopicamente exibem vários tamanhos e formas (OROFINO-COSTA *et al.*, 2017). Com a análise dos padrões morfológicos das espécies de *Sporothrix* e a observação da ocorrência de sobreposições, é crucial a correlação entre dados moleculares e características fenotípicas (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

4.3. Esporotricose humana e animal

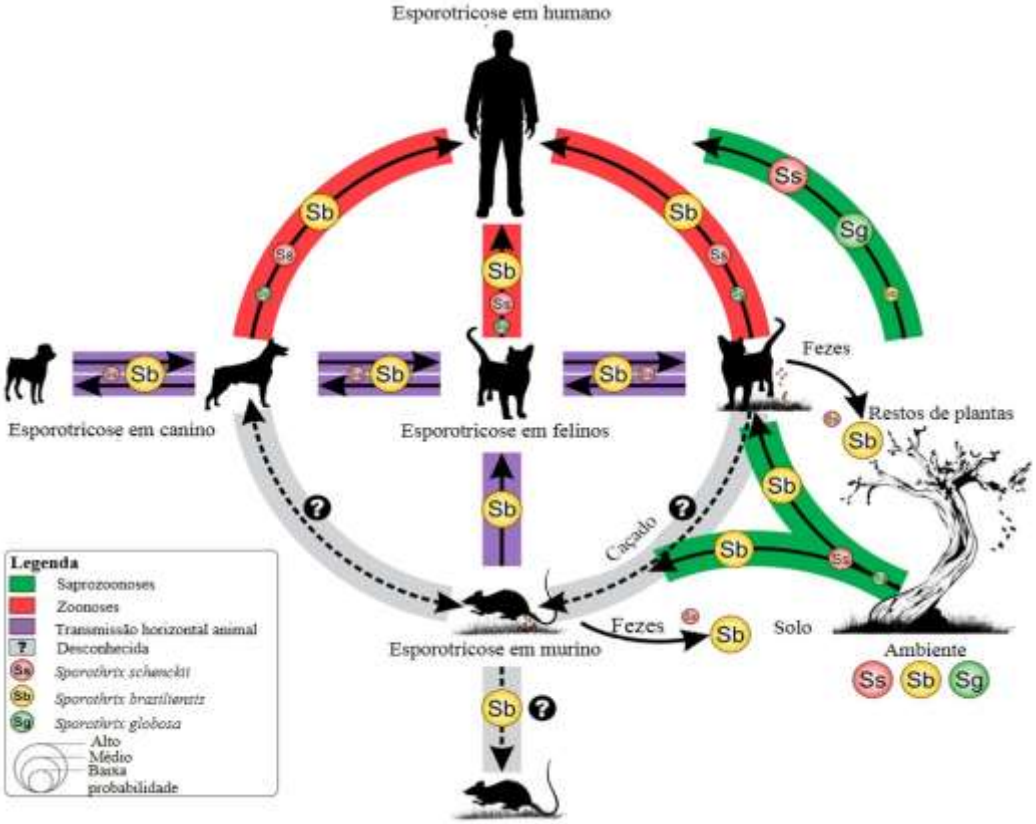
A Esporotricose é uma micose piogranulomatosa negligenciada, que acomete humanos e animais (RODRIGUES *et al.*, 2020), com relatos em ratos (LUTZ; SPLENDORE, 1907), gatos (GREMIÃO *et al.*, 2020), cães (BOECHAT *et al.*, 2020), esquilos (SARAVANAKUMAR; ESLAMI; ZAR, 1996), cavalos (COPETTI *et al.*, 2002), pássaros (FICHMAN *et al.*, 2018), bovinos, camelos, suínos (PEREIRA; GREMIÃO; MENEZES, 2015), tatus (KAPLAN; BRODERSON; PACIFIC, 1982; WENKER *et al.*, 1998), insetos (CLAVIJO-GIRALDO *et al.*, 2016), animais marinhos como peixes (HADDAD *et al.*, 2002) e golfinhos (MIGAKI *et al.*, 1978).

A infecção é adquirida por duas vias: a clássica (saprozoonose) e a alternativa (zoonose) (Figura 6), com a possibilidade de transmissão de ambas as formas morfológicas do fungo (GREMIÃO *et al.*, 2017; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2020). A via clássica é definida como uma infecção de caráter ocupacional, adquirida por inoculação traumática a partir de material vegetal contaminado com propágulos fúngicos e de ocorrência em indivíduos cuja atividade inclui contato com solo e/ou vegetação (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016).

A via alternativa está associada aos casos de infecção a partir da rota traumática, com transmissão direta por arranhões ou mordidas de animais em humanos, incluindo os ratos, gatos e cães, assim como a transmissão horizontal entre animais como gato-gato, gato-cão e rato-gato (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016). Em áreas endêmicas, existe uma preocupação quanto à ocorrência da zoonose em gatos devido à proximidade desses com os humanos (BENTO *et al.*, 2021; GREMIÃO *et al.*, 2017), além do fato de os gatos apresentarem uma alta carga fúngica

em infecções ativas (GREMIÃO *et al.*, 2014, 2020), em contraste com outras espécies de importância epidemiológica (GREMIÃO *et al.*, 2020).

Figura 6. Ciclo de transmissão de espécies do gênero *Sporothrix*.



Fonte: Adaptado de Rodrigues; Hoog; Camargo (2016).

Além da rota traumática, existe a rota não traumática, caracterizada pelo contato direto com exsudato de lesões cutâneas de gatos doentes, exposição das membranas mucosas a gotículas contaminadas e inalação de conídios (ROSSOW *et al.*, 2020). Diferente da transmissão gato-gato, a transmissão inter-humana é muito rara e de baixa ocorrência, com apenas alguns registros na literatura (JIN *et al.*, 1990; KIM *et al.*, 2018; SMITH, 1945; UMEMOTO *et al.*, 2005), assim como os raros registros de acidentes ocupacionais entre os profissionais que atuam em laboratório (COOPER; DIXON; SALKIN, 1992; LANDELL *et al.*, 2011).

A partir da descrição da infecção em *Rattus norvegicus* realizada por Lutz e Splendore em 1907, sugeriu-se que espécies do gênero *Sporothrix* podem ser transmitidas pela ingestão de roedores infectados (LUTZ; SPLENDORE, 1907). Tal acontecimento foi importante como base na compreensão epidemiológica dos gatos

como hospedeiros, tendo em vista que o felino é o principal predador de ratos e que se destacam epidemiologicamente na cadeia de transmissão (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016). Características intrínsecas dos gatos funcionam como facilitadores de dispersão do fungo, como o hábito de se esconder em plantas, revolver o solo, cavar buracos, enterrar dejetos, arranhar as unhas em árvores, se lamber e disputar território (SCHUBACH *et al.*, 2001, 2002). Mesmo na ausência de uma infecção ativa, o felino pode transportar o patógeno, fato já descrito em casos de gatos contactantes clinicamente saudáveis e com as patas contaminadas com o fungo (SCHUBACH *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2006). Ademais, a ecologia do fungo sofre forte influência de fatores ambientais, como as temperaturas flutuantes (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2016).

A Esporotricose é uma micose subcutânea que pode afetar hospedeiros imunocompetentes e imunocomprometidos, com um amplo espectro de manifestações clínicas (FALCÃO *et al.*, 2019; POESTER *et al.*, 2020). A apresentação clínica está associada à via de inoculação (traumática ou não traumática), dose infectante, espécie envolvida (espécie do clado patogênico ou ambiental) e estado imunológico do hospedeiro (imunocompetentes ou imunocomprometidos) (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011).

Segundo Orofino-Costa *et al*. (2017), as apresentações clínicas podem ser classificadas em: cutânea (linfocutânea, cutâneo fixa e inoculação múltipla); membrano-mucosa (ocular, nasal e outras); sistêmica (ostearticular, cutânea disseminada, pulmonar, neurológica, outras localizações/sepse) e imunorreativa (eritema nodoso, eritema multiforme, Síndrome de Sweet e artrite reativa). Um maior número de casos foi relatado para a apresentação cutânea, embora ocorra a descrição das demais formas clínicas em humanos com histórico de alcoolismo ou pessoas com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida ou em tratamento com quimioterápicos ou corticoides (FALCÃO *et al.*, 2019; OROFINO-COSTA *et al.*, 2017; ROSSOW *et al.*, 2020). Em contraste, em gatos não há associação entre a gravidade da Esporotricose ou até a carga fúngica em lesões cutâneas e a ocorrência de infecções como a do vírus da imunodeficiência felina ou vírus da leucemia felina (MIRANDA *et al.*, 2018).

No tecido ou órgão alvo, o fungo se converte para forma leveduriforme e pode induzir uma reação granulomatosa supurativa com formação de nódulos, úlceras e placas verrucosas, com ou sem disseminação linfática, em indivíduos

imunocompetentes (OROFINO-COSTA *et al.*, 2017; ROSSOW *et al.*, 2020). Em mais de 75% dos humanos doentes, as lesões são comumente linfocutânea e estão presentes nos locais mais expostos a traumas, como extremidades superiores, face ou membros inferiores (ROSSOW *et al.*, 2020). As lesões se caracterizam por um aspecto eritematopapuloso ou pustular, com evolução para nodular e um aumento de tamanho seguida de ulceração e presença de secreção purulenta. Com a evolução do quadro clínico, surge a linfangite e nódulos no trajeto dos vasos linfáticos (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; OROFINO-COSTA *et al.*, 2017; RAMOS-E-SILVA *et al.*, 2007).

Nos gatos, a infecção pode variar de subclínica à apresentação de múltiplas lesões cutâneas e formas sistêmicas disseminadas fatais (PEREIRA; GREMIÃO; MENEZES, 2015). As lesões são em sua maioria observadas em áreas de membros, cauda e região cefálica (PEREIRA; GREMIÃO; MENEZES, 2015; ROSSOW *et al.*, 2020), podendo ocorrer evolução da lesão com exposição de tecido ósseo, além da ocorrência de miíases causadas por moscas dos gêneros *Cochliomyia* ou *Chrysomya* (GREMIÃO *et al.*, 2020). Lesões no plano nasal em gatos infectados também são comumente descritas e associadas a recidivas (SOUZA *et al.*, 2018). Segundo Malik *et al*. (2004), essa área é pouco vascularizada, o que interfere no processo de cicatrização e um bom prognóstico.

4.4. Epidemiologia molecular de *Sporothrix* spp.

Estudos sobre a estrutura populacional de *Sprorothrix* spp. contribuem para a compreensão genética e epidemiológica da Esporotricose que, por muito tempo foi associada a uma única espécie (CARVALHO *et al.*, 2021a). A concepção da diversidade genética e das relações filogenéticas entre os organismos, possibilita a identificação de novas espécies, além de sua distribuição fora das áreas de endemicidade (CARVALHO *et al.*, 2021b; RODRIGUES *et al.*, 2020).

A genotipagem por meio da técnica de *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) pode ser aplicada para fungos, algas, animais e plantas (SHEEJA *et al.*, 2021). O método é empregado com sucesso em estudos de espécies de *Sporothrix* (CARVALHO *et al.*, 2021a; NEYRA *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2015; ZHAO *et al.*, 2017) e outros fungos de importância clínica (BOEKHOUT *et al.*, 2001; BOGALE *et al.*, 2006; BORST *et al.*, 2003; DURÁN *et al.*, 2010; GRIL *et al.*, 2010; HERKERT *et al.*, 2016; NAJAFZADEH *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2020;

WARRIS *et al.*, 2003), com uma classificação mais confiável, além de estudos aprofundados de distribuição e ecologia do fungo.

Com o transcorrer do tempo, a aplicação da AFLP a espécies do gênero *Sporothrix* definiu as espécies interconectadas por relações genéticas (CARVALHO *et al.*, 2020). Isso permitiu uma análise cladística, envolvendo marcadores de todo o genoma, resultando em bases estruturadas para o delineamento das espécies (MEUDT; CLARKE, 2007; SHEEJA *et al.*, 2021; VOS *et al.*, 1995). O processo envolve uma combinação de digestão por enzimas de restrição de DNA genômico, além de uma amplificação pela PCR, tendo como possíveis resultados a identificação de uma mutação ou deleção/inserção no fragmento amplificado (SHEEJA *et al.*, 2021).

Rodrigues *et al*. (2013) realizaram uma análise filogenética de isolados de *S. brasiliensis* provenientes das regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste e identificaram que os estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná compartilham o genótipo do surto do Rio de Janeiro. Por outro lado, diferiram do clone do Rio Grande do Sul, indicando uma circulação de pelo menos dois genótipos da espécie *S. brasiliensis* envolvidos na epidemia brasileira. Zhang *et al*. (2015), ao avaliarem 116 cepas de diferentes países por meio da AFLP, agruparam aquelas identificadas como *S. brasiliensis* nos grupos A, B e C, com cepas de origem brasileira presentes em todos os três. As espécies *S. mexicana* e *S. schenckii* (*s.str.*) também foram identificadas e acomodadas em mais de um grupo.

Em isolados de *S. schenckii* (*s.str.*), por exemplo, já foi possível observar que o perfil de virulência estava associado às condições de maior variabilidade genética intraespecífica (FERNANDES *et al.*, 2013). A espécie *S. schenckii* (*s.str.*) ganha destaque dentre as pertencentes ao clado patogênico por apresentar uma maior diversidade genética (MARIMON *et al.*, 2006, 2007; ZHANG *et al.*, 2015), chegando à identificação de cinco grupos com evidências de recombinação genética (CARVALHO *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2015). Em contraste, *S. globosa* apresenta diversidade sutil, ampla distribuição em regiões temperadas e quentes (MADRID *et al.*, 2009; MARIMON *et al.*, 2006, 2007) e registro de diversidade críptica na análise AFLP (ZHANG *et al.*, 2015).

Para a espécie *S. brasiliensis,* Terra *et al*. (2017) descreveram uma diversidade genética críptica a partir da análise dos resultados de virulência observados em modelo biológico murino. No Brasil, a espécie *S. brasiliensis* é responsável pelo maior

número de infecções em gatos e humanos, sendo relatada como a mais virulenta e com elevadas taxas de mortalidade (CARVALHO *et al.*, 2021b). Em estudo recente desenvolvido por (CARVALHO *et al.*, 2020), com padrão genotípico obtido na técnica AFLP, as cepas do Rio Grande do Sul apresentaram alto nível de similaridade entre os isolados de *S. brasiliensis*, com um padrão que diverge dos demais identificados no país. Além disso, relataram que os isolados de *S. brasiliensis* apresentavam variações significativas no padrão genotípico e muitas bandas polimórficas. Com o estudo das rotas de transmissão, a partir da investigação de variação genética, políticas públicas podem ser melhor formuladas (SHEEJA *et al.*, 2021), auxiliando no controle do avanço da Esporotricose (CARVALHO *et al.*, 2020).

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo geral

Contribuir com dados epidemiológicos sobre a ocorrência, viabilidade, distribuição e adequabilidade ambiental de *Toxoplasma gondii* em amostras de solo de ambientes públicos e insulares, além de investigar a diversidade genética e estrutura populacional de espécies do gênero *Sporothrix* de humanos e animais.

5.2. Objetivos específicos

- Detectar o DNA de protozoários Apicomplexa (*Neospora caninum*, *Hammondia hammondi*, *Sarcocystis* spp. e *Eimeiria* spp.) em amostras de solo de ambientes públicos da cidade do Recife e da Ilha de Fernando de Noronha, estado de Pernambuco;

- Identificar, por sequenciamento genético, as espécies de protozoários Apicomplexa de amostras de solo provenientes de ambientes públicos da cidade do Recife e da Ilha de Fernando de Noronha estado de Pernambuco;

- Avaliar a viabilidade de oocistos de *T. gondii* em amostras de solo de ambientes públicos da Ilha de Fernando de Noronha, estado de Pernambuco;

- Aplicar a Modelagem de Distribuição de Espécies (MDE) para prever a adequabilidade ambiental do Arquipélago de Fernando de Noronha para permanência de oocistos de *T. gondii*;

- Identificar espécies do gênero *Sporothrix* em isolados recuperados de humanos e animais do estado de Pernambuco;

- Investigar a diversidade genética por meio de marcadores AFLP (#5 EcoRI-FAM-GA/MseI-AG) e o tipo de acasalamento de isolados de *Sporothrix* recuperados de casos clínicos de humanos e animais do estado de Pernambuco;

- Avaliar a distribuição espacial de casos de Esporotricose felina registrados no período de 2016 a 2021 na Região Metropolitana do Recife, estado de Pernambuco.

6. REFERÊNCIAS

ABOOD, A. A small outbreak of spontaneous abortion in four patients from two households. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, [*s. l.*], v. 13, n. 8, p. 451, 1992. Disponível em: https://doi.org/10.1086/646569. Acesso em: 29 jan. 2022.

AFONSO, E. *et al.* Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 38, n. 8–9, p. 1017–1023, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.01.004. Acesso em: 29 jan. 2022.

AHMED, M.; SOOD, A.; GUPTA, J. Toxoplasmosis in pregnancy. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, [*s. l.*], v. 255, p. 44–50, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.10.003. Acesso em: 29 jan. 2022.

AHN, H. J. *et al.* Seroprevalence of toxoplasmosis in the residents of Cheorwon-gun, Gangwon-do, Korea. **Korean Journal of Parasitology**, Gyeonggi-do, v. 50, n. 3, p. 225–227, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.3347/kjp.2012.50.3.225. Acesso em: 29 jan. 2022.

AJMAL, A. *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* in environmental matrices (water, soil, fruits and vegetables). **African Journal of Microbiology Research**, [*s. l.*], v. 7, n. 16, p. 1505–1511, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.5897/AJMR12.925. Acesso em: 29 jan. 2022.

ALHO, C. J. R. Importância da biodiversidade para a saúde humana: uma perspectiva ecológica. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 151–166, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0103-40142012000100011. Acesso em: 29 jan. 2022.

ALMEIDA, M. J. de *et al.* Socio-political aspects of toxoplasmosis epidemic in Santa Isabel do Ivaí, Paraná State, Brazil. **Ciencia & saude coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16 Suppl 1, p. 1363–1373, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1590/s1413-81232011000700071. Acesso em: 29 jan. 2022.

ALMEIDA, M. A. B. de *et al.* Surto intra familiar de toxoplasmose, Santa Vitória do Palmar-RS, julho de 2005. **Boletim eletrônico epidemiológico da secretária de vigilância em saúde**, Rio grande do Sul, v. 18, p. 1–7, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim_eletronico_epi_ano06_n03.pdf.

Acesso em: 29 jan. 2022.

ALVARADO-ESQUIVEL, C. *et al.* Association between *Toxoplasma gondii* infection and history of blood transfusion: a case-control seroprevalence study. **Journal of International Medical Research**, [*s. l.*], v. 46, n. 4, p. 1626–1633, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1177/0300060518757928. Acesso em: 29 jan. 2022.

ANDRADE, M. R. **Perfil fenotípico de cepas típicas e recombinantes de *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) isoladas de animais de produção: infectividade, cistogênese e relação com a virulência molecular**. 2019. 134 f. Tese (Doutorado em Biociência Animal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

ANDRIVON, D.; MONTARRY, J.; FOURNET, S. Plant health in a One Health world: missing links and hidden treasures. **Plant Pathology**, [*s. l.*], v. 71, p. 23–29, 2022. Disponível em: https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/ppa.13463. Acesso em: 29 jan. 2022.

ARAUJO, A. K. L.; LEAL, C. A. de S. Esporotricose felina no município de Bezerros, Agreste Pernambucano: Relato de caso. **Pubvet**, Maringá, v. 10, n. 11, p. 816–820, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.22256/pubvet.v10n11.816-820. Acesso em: 29 jan. 2022.

ARQUILLA, B. *et al.* Outbreak of Toxoplasmosis in the City of Santa Maria, Brazil. **Journal of Infectious Diseases & Preventive Medicine**, Barcelona, v. 07, n. 02, p. 7–9, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.35248/2329-8731.19.07.191. Acesso em: 29 jan. 2022.

AWOBODE, H. O. *et al.* Shedding proportion of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in feral cats and soil contamination in Oyo State, Nigeria. **Parasite Epidemiology and Control**, [*s. l.*], v. 11, p. e00181, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00181. Acesso em: 29 jan. 2022.

BAHIA-OLIVEIRA, L.; GOMEZ-MARIN, J.; SHAPIRO, K. *Toxoplasma gondii*. In: J.B. ROSE; B. JIMÉNEZ-CISNEROS (EDS), **Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project). (R. Fayered and W. Jakubowski (eds),Part 3:**

Specific Excreted Pathogens: Environmental and Epidemiology Aspects - Section 3: Protists), Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO, 2017. Disponível em: https://www.waterpathogens.org/sites/default/files/*Toxoplasma gondii*_0.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

BALASUNDARAM, M. *et al.* Outbreak of Acquired Ocular Toxoplasmosis Involving 248 Patients. **Archives of Ophthalmology**, Londres, v. 128, n. 1, p. 28–33, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2009.354. Acesso em: 29 jan. 2022.

BALBINO, L. S.; BREGANÓ, R. M.; FERREIRA, F. P. Epidemiological study of toxoplasmosis outbreaks in Brazil Beatriz de Souza Lima Nino. **Transboundary and emerging diseases**, [*s. l.*], v.69, n. 4, p. 1–8, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1111/tbed.14214. Acesso em: 29 jan. 2022.

BARRO, A. S. *et al.* Redefining the Australian Anthrax Belt: Modeling the Ecological Niche and Predicting the Geographic Distribution of *Bacillus anthracis*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 10, n. 6, p. 1–16, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004689. Acesso em: 29 jan. 2022.

BARROS, M. B. de L.; PAES, R. de A.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **Clinical Microbiology Reviews**, [*s. l.*], v. 24, n. 4, p. 354–633, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1128/CMR.00007-11. Acesso em: 29 jan. 2022.

BELL, A. *et al.* Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water—British Columbia. **Lancet,** Londres, v. 21, n. 18, p. 161–164, 1995. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)11105-3. Acesso em: 29 jan. 2022.

BENENSON, M. *et al.* Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 307, n. 11, p. 666–669, 1982. Disponível em: https://doi.org/10.1056/NEJM198209093071107. Acesso em: 29 jan. 2022.

BENTO, A. de O. *et al.* The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 15, n. 8, p. 1–20, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009693. Acesso em: 29 jan. 2022.

BERROUCH, S. *et al.* Detection methods and prevalence of transmission stages of

Toxoplasma gondii, *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in fresh vegetables: A review. **Parasitology**, [*s. l.*], v. 147, n. 5, p. 516–532, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1017/S0031182020000086. Acesso em: 29 jan. 2022.

BETANCOURT, E. D. *et al.* From entry to early dissemination-*Toxoplasma gondii*'s Initial Encounter with Its Host. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, Londres, Madri, Chaoyang, Pequim, v. 9, n., p. 1–9, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00046. Acesso em: 29 jan. 2022.

BEURMANN, L. De; MACKENNA, R. W. On Sporotrichosis. **British Medical Journal**, Londres, v. 2, n. 2693, p. 289–296, 1912. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/25298134. Acesso em: 29 jan. 2022.

BLACK, M. W.; BOOTHROYD, J. C. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii* . **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [*s. l.*], v. 64, n. 3, p. 607–623, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.607-623.2000. Acesso em: 29 jan. 2022.

BLUNDEN, J.; BOYER, T. State of the climate in 2020. **Bulletin of the American Meteorological Society**, Boston, v. 102, n. 8, p. 1–481, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1175/2021BAMSStateoftheClimate.1. Acesso em: 29 jan. 2022.

BOECHAT, J. S. *et al.* Canine sporotrichosis: polyphasic taxonomy and antifungal susceptibility profiles of *Sporothrix* species in an endemic area in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 135–143, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s42770-020-00328-8. Acesso em: 29 jan. 2022.

BOEKHOUT, T. *et al.* Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. **Microbiology**, Londres, v. 147, n. 4, p. 891–907, 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1099/00221287-147-4-891. Acesso em: 29 jan. 2022.

BOGALE, M. *et al.* Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from Ethiopia using AFLP, SSR and DNA sequence analyses. **Fungal Diversity**, Yunnan, v. 23, p. 51–66, 2006. Disponível em: https://www.fabinet.up.ac.za/publication/pdfs/292-2006_bogale_wingfield_wingfield_steenkamp_fun_div.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

BONAMETTI, A. M. *et al.* Surto de Toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 30, n. 1, p. 21–25, 1997. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0037-86821997000100005. Acesso em: 29 jan. 2022.

BORST, A. *et al.* Use of amplified fragment length polymorphism analysis to identify medically important *Candida* spp., including *C. dubliniensis*. **Journal of Clinical Microbiology**, [*s. l.*], v. 41, n. 4, p. 1357–1362, 2003. Disponível em: https://doi.org/10.1128/JCM.41.4.1357-1362.2003. Acesso em: 29 jan. 2022.

BRASIL. Portaria-municipal n° 191 de maço de 2018. **Secretaria Municipal de Saúde de Salvador**, 2018a. Disponível em: https://emevz.ufba.br/sites/emevz.ufba.br/files/portaria-municipal-191-de-2018-inclusao-da-esporotricose-na-lista-de-doencas-e-agravos-de-notificacao-compulsoria.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

BRASIL. Projeto de Lei n° 3656/2017. Guarulhos. **Ministerio da Saúde. Diário Oficial do Município de Guarulhos**, 2018b. Disponível em: https://diarios.s3.amazonaws.com/DOM-GRU/2018/04/Legal/pdf/20180406_1.pdf?AWSAccessKeyId=AKIARMMD5JEAO67SMCVA&Expires=1643996578&Signature=76TRwxgOcwCcmsVDimZAV1z3YYk%3D. Acesso em: 29 jan. 2022.

BRASIL. Portaria SES n° 390, de 14 de setembro de 2016. **Ministerio da Saúde. SES-PE, Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco**, 2016. Disponível em: https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=328576%0D. Acesso em: 29 jan. 2022.

BRASIL. Resolução SES nº 674 DE 12/07/2013. **Ministério da Saúde. SES-RJ, Secretaria do Estado de Sáude - Rio de Janeiro**, 2013. Disponível em: http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/4364979/4115670/ResolucaoSESN674DE12.07.2013.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

BREVIK, E. C. *et al.* Soil ecosystem services and human health. **Current Opinion in Environmental Science and Health**, [*s. l.*], v. 5, p. 87–92, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.07.003. Acesso em: 29 jan. 2022.

CALDAS, L. A.; SOUZA, W. A window to *Toxoplasma gondii* Egress. **Pathogens**, Basiléia, v. 7, n. 3, p. 1–13, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3390/pathogens7030069. Acesso em: 29 jan. 2022.

CARME, B. *et al.* Severe Acquired Toxoplasmosis in Immunocompetent Adult Patients in French Guiana. **Journal of Clinical Microbiology**, [*s. l.*], v. 40, n. 11, p. 4037–4044, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1128/JCM.40.11.4037-4044.2002. Acesso em:

29 jan. 2022.

CARMICHAEL, J. W. Chrysosporium and some other aleuribsporic hyphomycetes. **Canadian Journal of Botany**, Ontario, v. 40, p. 1137–1181, 1962. Disponível em: https://doi.org/10.1139/b62-104. Acesso em: 29 jan. 2022.

CARMO, E. L. do *et al.* Surto de toxoplasmose humana no Distrito de Monte Dourado, Município de Almeirim, Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 1, n. 1, p. 61–66, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000100009 . Acesso em: 29 jan. 2022.

CARRUTHERS, V. B. Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. **Acta Tropica**, [*s. l.*], v. 81, n. 2, p. 111–122, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0001-706x(01)00201-7. Acesso em: 29 jan. 2022.

CARVALHO, J. A. *et al.* A new duplex PCR assay for the rapid screening of mating-type idiomorphs of pathogenic *Sporothrix* species. **Fungal Biology**, [*s. l.*], v. 125, n. 10, p. 834–843, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.05.005 . Acesso em: 29 jan. 2022.

CARVALHO, M. da C. *et al.* Cross-sectional survey for *Toxoplasma gondii* infection in humans in Fernando de Noronha Island, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 1–8, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1984-29612021062. Acesso em: 29 jan. 2022.

CARVALHO, J. A. de *et al.* Genome-wide mapping using new AFLP markers to explore intraspecific variation among pathogenic *Sporothrix* species. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 14, n. 7, p. 1–26, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008330. Acesso em: 29 jan. 2022.

CARVALHO, J. A. *et al.* Trends in the molecular epidemiology and population genetics of emerging *Sporothrix* species. **Studies in Mycology**, [*s. l.*], v. 100, p. 1–31, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100129. Acesso em: 29 jan. 2022.

CAUS, A. L. O. *et al.* Epidemiological and clinical aspects of sporotrichosis in Espírito Santo State, southeast Brazil: A study of three decades (1982–2012). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Arlington, v. 100, n. 3, p. 706–713, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0667. Acesso em: 29 jan. 2022.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC et al. Multistate outbreak of sporotrichosis in seedling handlers, 1988. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 37, n. 42, p. 652-653, 1988.

CHALGHAF, B. *et al.* Ecological Niche modeling for the prediction of the geographic distribution of cutaneous leishmaniasis in Tunisia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Arlington, v. 94, n. 4, p. 844–851, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0345. Acesso em: 29 jan. 2022.

CHALKOWSKI, K. *et al.* Who let the cats out? A global meta-analysis on risk of parasitic infection in indoor versus outdoor domestic cats (Felis catus). **Biology Letters**, Londres, v. 15, n. 4, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1098/rsbl.2018.0840. Acesso em: 29 jan. 2022.

CHIARI, C.; NEVES, D. Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, p. 337–340, 1984. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0074-02761984000300007. Acesso em: 29 jan. 2022.

CHOI, W.-Y. *et al.* Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. **The Journal of Infectious Diseases**, Northants, v. 175, n. 5, p. 1280–1282, 1997. Disponível em: https://doi.org/10.1086/593702. Acesso em: 29 jan. 2022.

CLAVIJO-GIRALDO, D. M. *et al.* Analysis of *Sporothrix* schenckii sensu stricto and *Sporothrix* brasiliensis virulence in *Galleria mellonella*. **Journal of Microbiological Methods**, [*s. l.*], v. 122, p. 73–77, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2016.01.014. Acesso em: 29 jan. 2022.

COHEN, S. N. Toxoplasmosis in Patients Receiving Immunosuppressive Therapy. **JAMA: Journal of the American Medical Association**, [*s. l.*], v. 211, n. 4, p. 657–660, 1970. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1001/jama.1970.03170040061017. Acesso em: 29 jan. 2022.

CONG, W. *et al.* Prevalence, risk factors and genotype distribution of *Toxoplasma gondii* DNA in soil in China. **Ecotoxicology and environmental safety**, [*s. l.*], v. 189, n. November 2019, p. 109999, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109999. Acesso em: 29 jan. 2022.

COOPER, C. R.; DIXON, D. M.; SALKIN, I. F. Laboratory-acquired sporotrichosis.

Journal of Medical and Veterinary Mycology, [*s. l.*], v. 30, n. 2, p. 169–171, 1992. Disponível em: https://doi.org/10.1080/02681219280000221 Acesso em: 29 jan. 2022.

COPETTI, M. V. *et al.* Esporotricose eqüina. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 30, n.2, p. 135–138, 2002. Disponível em: https://www.ufrgs.br/actavet/30-2/artigo538.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

COSTA, J. G. L. *et al.* Kinetics of parasite distribution after reinfection with genetically distinct strains of *Toxoplasma gondii.* **Experimental Parasitology**, [*s. l.*], v. 184, p. 22–30, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.11.003. Acesso em: 29 jan. 2022.

COSTA, D. G. C. *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Domestic and Wild Animals From the Fernando de Noronha, Brazil. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 98, n. 3, p. 679–680, 2012. 10.1645/GE-2910.1 Acesso em: 29 jan. 2022.

COUTINHO, S. *et al.* Outbreak of human toxoplasmosis in a rural area. A three year serologic follow-up study. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [*s. l.*], v. 77, n. 1, p. 29–36, 1982. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0074-02761982000100004. Acesso em: 29 jan. 2022.

COUTINHO, S. G. .; LOBO, R.; SOURCE, G. D. Isolation of Toxoplasma from the Soil during an Outbreak of Toxoplasmosis in a Rural Area in Brazil. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 68, n. 5, p. 866–868, 1982. Disponível em: http://www.jstor.org/stable/3280995. Acesso em: 29 jan. 2022.

COUTO, R. de M.; BRANDESPIM, D. F. A review of the one health concept and its application as a tool for policy-makers. **International Journal of One Health**, Chandrapur Road, v. 6, n. 1, p. 83–89, 2020. Disponível em: www.doi.org/10.14202/IJOH.2020.83-89. Acesso em: 29 jan. 2022.

DANTAS, D. *et al.* Temperatura do ar e do solo em diferentes profundidades , em Diamantina - MG Air temperature and soil in different depths in Diamantina-MG. **Caderno de Ciências Agrárias**, Montes Claros, v. 9, n. 3, p. 61–66, 2014. Disponível em: https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2978/1809. Acesso em: 29 jan. 2022.

DARRELL, R. W. *et al.* Chorioretinopathy and Toxoplasmosis: An Epidemiologic Study on a South Pacific Island . **Archives of Ophthalmology**, Londres, v. 71, n. 1, 1964.

Disponível em: https://doi.org/10.1001/archopht.1964.00970010079011. Acesso em: 29 jan. 2022.

DATTOLI, V. C. C. *et al.* Oocyst ingestion as an important transmission route of *Toxoplasma gondii* in Brazilian Urban children. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 97, n. 6, p. 1080–1084, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1645/GE-2836.1. Acesso em: 29 jan. 2022.

DAVIS, A. A. *et al. Toxoplasma gondii* detection in fecal samples from domestic cats (*Felis catus*) in Hawai'i. **Pacific Science**, [*s. l.*], v. 72, n. 4, p. 501–511, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.2984/72.4.9. Acesso em: 29 jan. 2022.

DEEM, S. L. *et al.* Exposure to *Toxoplasma gondii* in Galapagos Penguins (*Spheniscus mendiculus*) and Flightless Cormorants (*Phalacrocorax harrisi*) in the Galapagos Islands, Ecuador. **Journal of Wildlife Diseases**, [*s. l.*], v. 46, n. 3, p. 1005–1011, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.1005. Acesso em: 29 jan. 2022.

DEMAR, M. *et al.* Fatal outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: epidemiological, clinical, and parasitological aspects. **Clinical Infectious Diseases**, Northants, v. 45, p. e88–95, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1086/521246. Acesso em: 29 jan. 2022.

DENG, H. *et al.* Digging into *Toxoplasma gondii* infections via soil: A quantitative microbial risk assessment approach. **Science of the Total Environment**, [*s. l.*], v. 755, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143232. Acesso em: 29 jan. 2022.

DESTOUMIEUX-GARZÓN, D. *et al.* The one health concept: 10 years old and a long road ahead. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausanne, Londres, Madri, Chaoyang, Pequim, v. 5, n. FEB, p. 1–13, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00014. Acesso em: 29 jan. 2022.

DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ, O. *et al.* Toxoplasmosis: Overview from a One Health perspective. **Food and Waterborne Parasitology**, [*s. l.*], v. 15, p. 12–15, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00054. Acesso em: 29 jan. 2022.

DOGANCI, L. *et al.* A probable outbreak of toxoplasmosis among boarding school

students in Turkey. **Clinical Microbiology and Infection**, Filadélfia, v. 12, n. 7, p. 672–674, 2006. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01449.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

DONAGEMMA, G. K. *et al.* Manual de Métodos de Análise de Solo. **Embrapa**, ISSN 1517-2627, p. 230, 2011. Disponível em: http://www.cnps.embrapa.br/publicacoes. Acesso em: 29 jan. 2022.

DOOLEY, D. P.; BOSTIC, P. S.; BECKIUS, M. L. Spook house sporotrichosis: A point-source outbreak of sporotrichosis associated with hay bale props in a Halloween haunted house. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v. 157, n. 16, p. 1885–1887, 1997. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1001/archinte.1997.00440370135014. Acesso em: 29 jan. 2022.

DU, F. *et al.* Survey on the contamination of *Toxoplasma gondii* oocysts in the soil of public parks of Wuhan, China. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 184, n. 2–4, p. 141–146, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.08.025. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. A review of toxoplasmosis in wild birds. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 106, n. 2, p. 121–153, 2002. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/s0304-4017(02)00034-1. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 28, n. 3, p. 1019–1024, 1998. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519(98)00023-x. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. Duration of Immunity to Shedding of *Toxoplasma gondii* Oocysts by Cats. **Journal Parasitology**, [*s. l.*], v. 81, n. 3, p. 410–415, 1995. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3283823#metadata_info_tab_contents. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 39, n. 8, p. 877–882, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.01.005. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. Infectivity and Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for Cats. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 82, n. 6, p. 957–961, 1996. Disponível em:

https://www.jstor.org/stable/3284206. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. *et al.* New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: Unexpected findings. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 96, n. 4, p. 709–712, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1645/GE-2425.1. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. *et al.* Oocyst-Induced murine Toxoplasmosis: Life Cycle, Pathogenicity, and Stage Conversion in Mice Fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 83, n. 5, p. 870–882, 1997. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3284282. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. *et al.* Recent epidemiologic and clinical importance of *Toxoplasma gondii* infections in marine mammals: 2009–2020. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 288, p. 2009–2020, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109296. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. *et al.* Sporulation and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in different types of commercial cat litter. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 97, n. 5, p. 751–754, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1645/GE-2774.1. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. **The history and life cycle of *Toxoplasma gondii***. [*S. l.*]: LTD, 2020. *E-book*. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-815041-2.00001-3. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. **Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis, and Other Tissue Cyst-Forming Coccidia of Humans and Animals**. Second Edied. [*S. l.*]: ACADEMIC PRESS, INC., 1993. v. 6 *E-book*. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-426016-0.50006-7. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. *et al.* Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, [*s. l.*], v. 139, n. 11, p. 1375–1424, 2012. Disponível em: 10.1017/S0031182012000765. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of humans and animals**. 2a ed, CRC Press, Florida, 2010. doi:10.1017/S0031182000078914.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-Induced Toxoplasmosis in Cats. **The Journal of Protozoology**, [*s. l.*], v. 19, n. 1, p. 155–177, 1972. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.1972.tb03431.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 67, p. 1–59, 1996. Disponível em: doi: http://dx.doi.org/10.1016/s0304-4017(96)01035-7. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, [*s. l.*], v. 11, n. 2, p. 267–299, 1998. Disponível em: https://doi.org/10.1128/CMR.11.2.267. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUMÈTRE, A. *et al.* Interaction forces drive the environmental transmission of pathogenic protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, [*s. l.*], v. 78, n. 4, p. 905–912, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1128/AEM.06488-11. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUMÈTRE, A. *et al.* Mechanics of the *Toxoplasma gondii* oocyst wall. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [*s. l.*], v. 110, n. 28, p. 11535–11540, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1073/pnas.1308425110. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUMÈTRE, A.; DARDÉ, M. L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples?. **FEMS Microbiology Reviews**, [*s. l.*], v. 27, n. 5, p. 651–661, 2003. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00071-8. Acesso em: 29 jan. 2022.

DURÁN, A. *et al.* AFLP analysis reveals a clonal population of Phytophthora pinifolia in Chile. **Fungal Biology**, [*s. l.*], v. 114, n. 9, p. 746–752, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.06.008. Acesso em: 29 jan. 2022.

DUTRA, L. H. *et al.* Investigação de surto de toxoplasmose transmitido pelo consumo de açaí em Rondônia, Brasil, 2011. **Anais da 12ª EXPOEPI: mostra nacional de experiências bem-sucedidas em epidemiologia, prevenção e controle de doenças**.p. 16-19, 2012. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/anais_12_Expoepi.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

EDUARDO, M. B. de P. *et al.* Investigação de surto de toxoplasmose associado ao consumo de prato de carne crua (“steak tartar”), nos municípios de São Paulo e Guarujá, SP - novembro de 2006. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v.

4, n. 41, p. 2–7, 2007. Disponível em: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/sus-19524#:~:text=Em%208%2F12%2F2006%2C,de%20S%C3%A3o%20Paulo%2C%20entre%20eles%2C. Acesso em: 29 jan. 2022.

EKAWASTI, F. *et al.* Restriction fragment length polymorphism analysis of genes of virulent strain isolate of *Toxoplasma gondii* using enzyme DdeI. **International Journal of One Health**, Chandrapur Road, v. 7, n. 2, p. 196–203, 2021. Disponível em: https://www.onehealthjournal.org/Vol.7/No.2/7.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

EKMAN, C. C. J. *et al.* Case-control study of an outbreak of acute toxoplasmosis in an industrial plant in the state of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 54, n. 5, p. 239–244, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0036-46652012000500001. Acesso em: 29 jan. 2022.

ELMORE, S. A. *et al. Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. **Trends in Parasitology**, [*s. l.*], v. 26, n. 4, p. 190–196, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.009. Acesso em: 29 jan. 2022.

ERRASTI, A. *et al.* Three new species of Ophiostomatales from Nothofagus in Patagonia. **Mycological Progress**, [*s. l.*], v. 15, n. 17, p. 1–15, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11557-016-1158-z. Acesso em: 29 jan. 2022.

ESCOBAR, L. E. Ecological Niche Modeling: An Introduction for Veterinarians and Epidemiologists. **Frontiers in Veterinary Science**, Lausana, Londres, Madri, Chaoyang, Pequim, v. 7, n. October, p. 1–15, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fvets.2020.51905. Acesso em: 29 jan. 2022.

ESCOBAR, L. E.; CRAFT, M. E. Advances and limitations of disease biogeography using ecological niche modeling. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, Londres, Madri, Chaoyang, Pequim, v. 7, n. AUG, p. 1–21, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01174. Acesso em: 29 jan. 2022.

FALCÃO, E. M. M. *et al.* Zoonotic sporotrichosis with greater severity in Rio de Janeiro, Brazil: 118 hospitalizations and 11 deaths in the last 2 decades in a reference institution. **Medical Mycology**, [*s. l.*], v. 58, n. 1, p. 141-143, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1093/mmy/myz024. PMID: 31220310. Acesso em: 29 jan. 2022.

FAO; OIE; WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World

Organisation for Animal Health, World Health Organization. Providing multi-sectoral, collaborative leadership in addressing health challenges. 2017. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/%0AMedia_Center/docs/pdf/Tripartite_2017.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

FAYER, R.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Zoonotic protozoa: From land to sea. **Trends in Parasitology**, [*s. l.*], v. 20, n. 11, p. 531–536, 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.08.008. Acesso em: 29 jan. 2022.

FEENEY, K. T. *et al.* Outbreak of sporotrichosis, Western Australia. **Emerging Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 13, n. 8, p. 1228–1231, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid1308.061462. Acesso em: 29 jan. 2022.

FELICIO, P. S. *et al.* Eco-epidemiology of toxoplasmosis in ruminant and the experimental model evidence from mice bioassay for transmission of infection starting of contaminated soil samples confirmed by polymerase chain reaction (PCR) and indirect immunofluorescence reaction . **Global Veterinaria**, [*s. l.*], v. 6, n. 1, p. 78–90, 2011.

FERGUSON, D. J. P. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 2, p. 133–148, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000200003. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERGUSON, D. J. P. *Toxoplasma gondii* and sex: Essential or optional extra?. **Trends in Parasitology**, [*s. l.*], v. 18, n. 8, p. 351–355, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S1471-4922(02)02330-9. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERGUSON, D. J. P. Use of molecular and ultrastructural markers to evaluate stage conversion of *Toxoplasma gondii* in both the intermediate and definitive host. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 34, n. 3, p. 347–360, 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.11.024. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERGUSON, D. J. P.; HUTCHISON, W. M.; SIIM, J. C. The ultrastructural development of the macrogamete and formation of the oocyst wall of *Toxoplasma gondii*. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology**, [*s. l.*], v. 83, n. 5, p. 491–505, 1975. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1975.tb00130.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERNANDES, G. F. *et al.* Characteristics of 151 Brazilian *Sporothrix schenckii* Isolates from 5 different geographic Regions of Brazil: A Forgotten and Re-Emergent Pathogen. **The Open Mycology Journal**, [*s. l.*], v. 3, n. 1, p. 48–58, 2009. Disponível em: https://benthamopen.com/contents/pdf/TOMYCJ/TOMYCJ-3-48.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERNANDES, G. F. *et al.* Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different *Sporothrix schenckii* sensu stricto isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis* species. **Virulence**, [*s. l.*], v. 4, n. 3, p. 241–249, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.4161/viru.23112. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERREIRA, F. P. *et al.* Patterns of transmission and sources of infection in outbreaks of human toxoplasmosis. **Emerging Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 25, n. 12, p. 2177–2182, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid2512.181565. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERREIRA, F. P. *et al.* The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 327–337, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1984-296120180050. Acesso em: 29 jan. 2022.

FERTIG, A.; SELWYN, S.; TIBBLE, M. Tetracycline treatment in a food-borne outbreak of toxoplasmosis. **British Medical Journal**. Londres, 1977. Disponível em: https://doi.org/10.1136/bmj.1.6068.1064. Acesso em: 29 jan. 2022.

FICHMAN, V. *et al.* Sporotrichosis transmitted by a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*). **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, [*s. l.*], v. 32, n. 4, p. e157–e158, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1111/jdv.14661. Acesso em: 29 jan. 2022.

FONSECA, E. D. S. *et al.* Predicted distribution of sand fly (*Diptera: Psychodidae*) species involved in the transmission of Leishmaniasis in São Paulo state, Brazil, utilizing maximum entropy ecological niche modeling. **Pathogens and Global Health**, [*s. l.*], v. 115, n. 2, p. 108–120, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1080/20477724.2020.1870031. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRANCO-DUARTE, R. *et al.* Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. **Microorganisms**, [*s. l.*], v. 7, n. 5, 2019.

Disponível em: https://doi.org/10.3390/microorganisms7050130. Acesso em: 29 jan. 2022.

FREITAS, D.; MIGLIANO, M. de; NETO, L. Z. Esporotricose: Observação de caso espontâneo em gato doméstico (*F. catus*). **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 5, n. 4, p. 601–604, 1956. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0036-46651993000400004. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRENKEL, J. K. Pathogenesis, diagnosis and treatment of human toxoplasmosis. **Journal of the American Medical Association**, [*s. l.*], v. 140, n. 4, p. 369–377, 1949. Disponível em: https://doi.org/10.1001/jama.1949.02900390001001. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRENKEL, J. K. Pursuing toxoplasma. **The Journal of Infectious Diseases**, Northants, v. 122, n. 6, p. 553–559, 1970. Disponível em: https://doi.org/10.1093/infdis/122.6.553. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRENKEL, J. K. Toxoplasma In and Around Us. **BioScience** [*s. l.*], v. 23, n. 6, p. 343–352, 1973. Disponível em: https://doi.org/10.2307/1296513. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P. Effects of Freezing on the Viability of Toxoplasma Oocysts. **The Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 59, n. 3, p. 587–588, 1973. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3278803. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in Cats: Fecal Stages Identified as Coccidian Oocysts. **Science**, Washington, v. 167, n. 1, p. 893–896, 1970. Disponível em: https://doi.org/10.1126/science.167.3919.893. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRENKEL, J. K.; RUIZ, A.; CHINCHILLA, M. Soil survival of Toxoplasma oocysts in Kansas and Costa Rica. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Arlington, v. 24, n. 3, p. 439–443, 1975. Disponível em: https://doi.org/10.4269/ajtmh.1975.24.439. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRITZ, H. *et al.* Methods to produce and safely work with large numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts and bradyzoite cysts. **Journal of Microbiological Methods**, [*s. l.*], v. 88, n. 1, p. 47–52, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2011.10.010. Acesso em: 29 jan. 2022.

FRITZ, H. M. *et al.* Proteomic analysis of fractionated toxoplasma oocysts reveals clues to their environmental resistance. **PLoS ONE**, [*s. l.*], v. 7, n. 1, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0029955. Acesso em: 29 jan. 2022.

GALAL, L. *et al.* Diversity of *Toxoplasma gondii* strains at the global level and its determinants. **Food and Waterborne Parasitology**, [*s. l.*], v. 15, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00052. Acesso em: 29 jan. 2022.

GAO, X. *et al.* Land use and soil contamination with *Toxoplasma gondii* oocysts in urban areas. **Science of the Total Environment**, [*s. l.*], v. 568, p. 1086–1091, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.165. Disponível em: . Acesso em: 29 jan. 2022.

GERHOLD, R. W.; JESSUP, D. A. Zoonotic Diseases Associated with Free-Roaming Cats. **Zoonoses and Public Health**, [*s. l.*], v. 60, n. 3, p. 189–195, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01522.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

GIBSON, A. K. *et al.* Polyparasitism is associated with increased disease severity in *Toxoplasma gondii*-infected marine sentinel species. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 5, n. 5, p. 14–16, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001142. Acesso em: 29 jan. 2022.

GILOT-FROMONT, E. *et al.* The Life Cycle of *Toxoplasma gondii* in the Natural Environment. **Toxoplasmosis - Recent Advances**, [*s. l.*], v.10, p. 2845, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.5772/48233. Acesso em: 29 jan. 2022.

GOLDMAN, M.; CARVER, R. K.; SULZER, A. J. Reproduction of *Toxoplasma gondii* by Internal Budding. **The Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 44, n. 2, p. 161–171, 1958. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/pdf/3274692.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

GÓMEZ-CHÁVEZ, F. *et al.* A Proinflammatory Immune Response Might Determine *Toxoplasma gondii* Vertical Transmission and Severity of Clinical Features in Congenitally Infected Newborns. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, Londres, Madri, Chaoyang, Pequim, v. 11, n. March, p. 1–11, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00390. Acesso em: 29 jan. 2022.

GOTTELAND, C. *et al.* Spatial distribution of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil in a rural area: Influence of cats and land use. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 205, n. 3–4, p. 629–637, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.003.

Disponível em: . Acesso em: 29 jan. 2022.

GREMIÃO, I. D. F. *et al.* Feline sporotrichosis: Epidemiological and clinical aspects. **Medical Mycology**, [*s. l.*], v. 53, n. 1, p. 15–21, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myu061. Acesso em: 29 jan. 2022.

GREMIÃO, I. D. F. *et al.* Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix* brasiliensis and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 107–124, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s42770-020-00365-3.. Acesso em: 29 jan. 2022.

GREMIÃO, I. D. F. *et al.* Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathogens**, [*s. l.*], v. 13, n. 1, p. 2–8, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006077. Acesso em: 29 jan. 2022.

GRIL, T. *et al.* Fluoreszenz-AFLP-fingerprinting von Monilinia fructicola. **Journal of Plant Diseases and Protection**, [*s. l.*], v. 117, n. 4, p. 168–172, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1007/BF03356355. Acesso em: 29 jan. 2022.

HADDAD, V. *et al.* Localized lymphatic sporotrichosis after fish-induced injury (*Tilapia* sp.). **Medical Mycology**, [*s. l.*], v. 40, n. 4, p. 425–427, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1080/mmy.40.4.425.427. Acesso em: 29 jan. 2022.

HADI, A. M. The role of Musca domestica in transmission of Toxoplasma in Baghdad. **Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation**, Baghdad, v. 1, n.3, p. 124–127, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/311962944. Acesso em: 29 jan. 2022.

HAGHPARAST-KENARI, B. *et al.* Isolation and genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* based on GRA6 gene from environmental soil samples in Mazandaran province, North of Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, Teerã, v. 15, n. 2, p. 158–167, 2020. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7311813/pdf/IJPA-15-158.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. A new pathogenic fungus. **The Journal of experimental medicine**, Nova York, v. 5, n. 1, p. 77–89, 1900. Disponível em: https://doi.org/10.1084/jem.5.1.77. Acesso em: 29 jan. 2022.

HERKERT, P. F. *et al.* Molecular characterisation and antifungal susceptibility of clinical *Cryptococcus deuterogattii* (AFLP6/VGII) isolates from Southern Brazil. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 35, n. 11, p. 1803–1810, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s10096-016-2731-8. Acesso em: 29 jan. 2022.

HERMANNS, B. *et al.* Fulminant toxoplasmosis in a heart transplant recipient. **Pathology Research and Practice**, [*s. l.*], v. 197, n. 3, p. 211–215, 2001. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1078/0344-0338-00036. Acesso em: 29 jan. 2022.

HERWALDT, B. L. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. **Clinical Microbiology Reviews**, [*s. l.*], v. 14, n. 4, p. 659–688, 2001. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1128/CMR.14.3.659-688.2001. Acesso em: 29 jan. 2022.

HUANG, M.; MA, Z.; ZHOU, X. Comparative Genomic Data Provide New Insight on the Evolution of Pathogenicity in *Sporothrix* Species. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, Londres, Madri, Chaoyang, Pequim, v. 11, p. 1–14, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.565439. Acesso em: 29 jan. 2022.

IKEDA, M. A. K. *et al.* Extracellular vesicles from *Sporothrix* brasiliensisare an important virulence factor that induce an increase in fungal burden in experimental sporotrichosis. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, Londres, Madri, Chaoyang, Pequim, v. 9, n. OCT, p. 1–11, 2018. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6176056/. Acesso em: 29 jan. 2022.

JACOBS, L. Toxoplasma and toxoplasmosis. **Annual Review of Microbiology**, San Mateo, v. 17, p. 429-50, 1962. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1146/annurev.mi.17.100163.002241. Acesso em: 29 jan. 2022.

JACOBS, L.; REMINGTON, J. S.; MELTON, M. L. A Survey of Meat Samples from Swine , Cattle , and Sheep for the Presence of Encysted Toxoplasma. **The Journal of Parasitology**, v. 46, n. 1, p. 23–28, 1960. Disponível em: https://www.jstor.org/stable/3275327. Acesso em: 29 jan. 2022.

JENSEN, K. D. C. *et al. Toxoplasma gondii* superinfection and virulence during secondary infection correlate with the exact ROP5/ROP18 allelic combination. **mBio**, [*s. l.*], v. 6, n. 2, p. 1–15, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1128/mBio.02280-14. Acesso em: 29 jan. 2022.

JIN, X. Z. *et al.* Mother-and-child cases of sporotrichosis infection. **Mycoses**, [*s. l.*], v. 33, n. 1, p. 33–36, 1990. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/myc.1990.33.1.33. Acesso em: 29 jan. 2022.

JOHNSON, E. E.; ESCOBAR, L. E.; ZAMBRANA-TORRELIO, C. An Ecological Framework for Modeling the Geography of Disease Transmission. **Trends in Ecology and Evolution**, [*s. l.*], v. 34, n. 7, p. 655–668, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.03.004. Acesso em: 29 jan. 2022.

JONES, J. L.; DUBEY, J. P. Waterborne toxoplasmosis - Recent developments. **Experimental Parasitology**, [*s. l.*], v. 124, n. 1, p. 10–25, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.013. Disponível em: . Acesso em: 29 jan. 2022.

KAPLAN, W.; BRODERSON, J. R.; PACIFIC, J. N. Spontaneous systemic sporotrichosis in nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*). **International Society for Human and Animal Mycology**, [*s. l.*], v. 20, n. 4, p. 289–294, 1982. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1080/00362178285380421. Acesso em: 29 jan. 2022.

KEAN, B.; KIMBALL, A.; CHRISTENSON, W. An Epidemic of Acute Toxoplasmosis. **JAMA**, [*s. l.*], v. 208, p. 1002–4, 1969. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1001/jama.1969.03160060072008. Acesso em: 29 jan. 2022.

KEESING, F. *et al.* Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. **Nature**, [*s. l.*], v. 468, n. 7324, p. 647–652, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nature09575. Acesso em: 29 jan. 2022.

KHURANA, S.; BATRA, N. Toxoplasmosis in organ transplant recipients: Evaluation, implication, and prevention. **Tropical Parasitology**, Maharashtra, v. 6, n. 2, p. 123–128, 2016. Disponível em: https://www.tropicalparasitology.org/article.asp?issn=2229-5070;year=2016;volume=6;issue=2;spage=123;epage=128;aulast=Khurana. Acesso em: 29 jan. 2022.

KIM, J. G. *et al.* Familial Sporotrichosis Due to Human-to-human. **Journal of Mycolog and Infection**, [*s. l.*], v. 23, n. 2, p. 54–58, 2018. Disponível em: http://dx.doi.org/10.17966/JMI.2018.23.2.54%0AFamilial. Acesso em: 29 jan. 2022.

LANDELL, M. F. *et al.* Evaluation of the Origin of a Sample of *Sporothrix schenckii* that

Caused Contamination of a Researcher in Southern Brazil. **Mycopathologia**, [*s. l.*], v. 171, n. 3, p. 203–207, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s11046-010-9361-y. Acesso em: 29 jan. 2022.

LASS, A. *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental soil samples using molecular methods. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 28, n. 6, p. 599–605, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10096-008-0681-5. Acesso em: 29 jan. 2022.

LEBOV, J. *et al.* A framework for One Health research. **One Health**, [*s. l.*], v. 3, p. 44–50, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.onehlt.2017.03.004. Acesso em: 29 jan. 2022.

LÉLU, M. *et al.* Development of a sensitive method for *Toxoplasma gondii* oocyst extraction in soil. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 183, n. 1–2, p. 59–67, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.06.018. Acesso em: 29 jan. 2022.

LÉLU, M. *et al.* Quantitative estimation of the viability of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, [*s. l.*], v. 78, n. 15, p. 5127–5132, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00246-12. Acesso em: 29 jan. 2022.

LÉLU, M. *et al.* Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* along an urban-rural gradient. **Theoretical Population Biology**, [*s. l.*], v. 78, n. 2, p. 139–147, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.tpb.2010.05.005. Acesso em: 29 jan. 2022.

LEVINE, N. D. Taxonomy of Toxoplasma. **The Journal of Protozoology**, [*s. l.*], v. 4, n. 1, p. 36-41, 1997. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1977.tb05278.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

LIBERG, O. *et al.* (2000) **Density, Spatial Organisation and Reproductive Tactics in the Domestic Cat and Other Felids**. In D. C. Turner, & P. P. G. Bateson (Eds.), The Domestic Cat: The Biology of Its Behaviour (3rd ed., pp. 119-147). New York: Cambridge University Press.

LIMA, E. de A. M. (2020). **Atlas geoquímico de Fernando de Noronha**. (CPRM - Serviço Geológico do Brasil (ed.). Disponível em: https://rigeo.cprm.gov.br/handle/doc/21970. Acesso em: 29 jan. 2022.

LIMA, D. C. V. de *et al. Toxoplasma gondii* in invasive animals on the Island of Fernando de Noronha in Brazil: Molecular characterization and mouse virulence studies of new genotypes. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 67, n. June, p. 101347, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101347. Acesso em: 29 jan. 2022.

LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; DUBEY, J. P. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 103, n. 4, p. 309–313, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00554-4. Acesso em: 29 jan. 2022.

LIU, X. C. *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* in chicken and soil of chicken farms in Nanjing region, China. **Infectious Diseases of Poverty**, [*s. l.*], v. 6, n. 1, p. 1–8, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s40249-017-0277-3. Acesso em: 29 jan. 2022.

LOPES-BEZERRA, L. M. *et al.* Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. **Medical Mycology**, [*s. l.*], v. 56, p. S126–S143, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1093/mmy/myx103. Acesso em: 29 jan. 2022.

LUTZ, D. A.; SPLENDORE, A. Sobre uma micose observada em homens e ratos: contribuição para o conhecimento das assim chamadas esporotricoses. **Revista Médica de São Paulo**, São Paulo, v. 21, p. 433–450, 1907. Disponível em: http://www.bvsalutz.coc.fiocruz.br/lildbi/docsonline/pi/textos/Sobre-micoseobserv-homens-e-ratos.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

MADRID, H. *et al. Sporothrix globosa*, a pathogenic fungus with widespread geographical distribution. **Revista Iberoamericana de Micologia**, [*s. l.*], v. 26, n. 3, p. 218–222, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.riam.2009.02.005. Acesso em: 29 jan. 2022.

MAGALDI, C. *et al.* Epidemic of toxoplasmosis at a university in Sao-José-dos-Campos,S.P., Brazil. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, [*s. l.*], v. 11, n. 1, p. 5–13, 1969.

MAGALDI, C. *et al.* Surto de toxoplasmose em um seminário de Bragança Paulista (estado de São Paulo). aspectos clínicos, sorológicos e epidemiológicos. **Revista de Saúde Pública de São Paulo**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 141–171, 1967. Disponível em:

https://doi.org/10.1590/S0034-89101967000200003. Acesso em: 29 jan. 2022.

MAGALHÃES, F. J. R. *et al.* High prevalence of toxoplasmosis in free-range chicken of the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. **Acta Tropica**, [*s. l.*], v. 159, p. 58–61, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.03.034. Acesso em: 29 jan. 2022.

MAGALHÃES, F. J. R. *et al.* Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle from Fernando de Noronha Island, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, Jaboticabal, v. 25, n. 4, p. 511–515, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1984-29612016051. Acesso em: 29 jan. 2022.

MAGALHÃES, F. J. R. *et al.* Seroprevalence and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* infection in cats, dogs, pigs and equines of the Fernando de Noronha Island, Brazil. **Parasitology International**, [*s. l.*], v. 66, n. 2, p. 43–46, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2016.11.014. Acesso em: 29 jan. 2022.

MALEKI, B. *et al.* Toxoplasma oocysts in the soil of public places worldwide: A systematic review and meta-Analysis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [*s. l.*], v. 115, n. 5, p. 471–481, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1093/trstmh/traa133. Acesso em: 29 jan. 2022.

MALIK, R. *et al.* Infections and some other conditions affecting the skin and subcutis of the naso-ocular region of cats - Clinical experience 1987-2003. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, [*s. l.*], v. 6, n. 6, p. 383–390, 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jfms.2004.02.001. Acesso em: 29 jan. 2022.

MARIMON, R. *et al.* Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*. **Journal of Clinical Microbiology**, [*s. l.*], v. 44, n. 9, p. 3251–3256, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1128/JCM.00081-06. Acesso em: 29 jan. 2022.

MARIMON, R. *et al. Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. **Journal of Clinical Microbiology**, [*s. l.*], v. 45, n. 10, p. 3198–3206, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1128/JCM.00808-07. Acesso em: 29 jan. 2022.

MARINO, A. M. F. *et al. Toxoplasma gondii* in edible fishes captured in the Mediterranean basin. **Zoonoses and Public Health**, [*s. l.*], v. 66, n. 7, p. 826–834, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1111/zph.12630. Acesso em: 29 jan. 2022.

MARMOT.EJO, J. G.; BUTIN, H. New conifer-inhabiting species of Ophiostoma and Ceratocystiopsis (Ascomycetes, Microascales) from Mexico. **Sydowia**, [*s. l.*], v. 42, p. 193–199, 1990. Disponível em: https://www.zobodat.at/pdf/Sydowia_42_0193-0199.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

MAWR, H. Outbreak of Toxoplasmosis in a Family and Documentation of Acquired Retinochoroiditis. **The American Journal of Medicine** [*s. l.*], v. 64, n. 3, p. 396–402, 1978. Disponível em: https://doi.org/10.1016/0002-9343(78)90218-8. Acesso em: 29 jan. 2022.

MCDONALD, J. C. *et al.* An Outbreak of Toxoplasmosis in Pregnant Women in Northern Quebec. **The Journal of Infectious Diseases**, Northants, v. 161, p. 769–774, 1990. Disponível em: https://doi.org/10.1093/infdis/161.4.769. Acesso em: 29 jan. 2022.

MEIRELES, L. R. *et al.* Human Toxoplasmosis Outbreaks and the Agent Infecting Form. Findings From a Systematic Review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 57, n. 5, p. 369–376, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000500001. Acesso em: 29 jan. 2022.

MELO, R. P. B. *et al.* Atypical *Toxoplasma gondii* genotype in feral cats from the Fernando de Noronha Island, northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 224, p. 92–95, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.023. Acesso em: 29 jan. 2022.

MEUDT, H. M.; CLARKE, A. C. Almost Forgotten or Latest Practice? AFLP applications, analyses and advances. **Trends in Plant Science**, Philadelphia, v. 12, n. 3, p. 106–117, 2007. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2007.02.001. Acesso em: 29 jan. 2022.

MIGAKI, G. *et al.* Sporotrichosis in a Pacific white- sided dolphin (Lagenorhynchus obliquidens). **American Journal of Veterinary Research**, [*s. l.*], v. 39, n. 12, p. 1916–1919, 1978.

MILLER, M. A. *et al.* An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is a cause of mortality. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 34, n. 3, p. 275–284, 2004. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.12.008. Acesso em: 29 jan. 2022.

MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P. Oral infections with toxoplasma cysts and oocysts in felines , other mammals , and in birds. **Journal Parasitology**, [*s. l.*], v. 58, n. 5, p. 928–937, 1972.

MINUZZI, C. E. *et al.* Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from placental tissues of pregnant women who received toxoplasmosis treatment during an outbreak in southern Brazil. **PLoS ONE**, [*s. l.*], v. 15, n. 1, p. 1–7, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228442. Acesso em: 29 jan. 2022.

MIRANDA, L. H. M. de *et al.* Co-infection with feline retrovirus is related to changes in immunological parameters of cats with sporotrichosis. **PLoS ONE**, [*s. l.*], v. 13, n. 11, p. 1–16, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207644. Acesso em: 29 jan. 2022.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Luces en la ciudad: Dictadura y simulacro en tomás harris. **The Lancet**, Londres, Nova York, Pequim, v. 363, n. 496, p. 145–158, 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16412-X. Acesso em: 29 jan. 2022.

MORAIS, R. dos A. P. B. *et al.* Surto de toxoplasmose aguda no Município de Ponta de Pedras, Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil: características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 7, n. esp, p. 143–152, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232016000500016. Acesso em: 29 jan. 2022.

MORATAL, S. *et al.* Potential risk of three zoonotic protozoa (Cryptosporidium spp., giardia duodenalis, and *Toxoplasma gondii*) transmission from fish consumption. **Foods**, [*s. l.*], v. 9, n. 12, p. 1–19, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3390/foods9121913.. Acesso em: 29 jan. 2022.

MOURA, L. DE *et al.* Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. **Emerging Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 12, n. 2, p. 2–5, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid1202.041115. Acesso em: 29 jan. 2022.

MOURA, M. de A.; AMENDOEIRA, M. R. R.; BARBOSA, H. S. Primary culture of intestinal epithelial cells as a potential model for *Toxoplasma gondii* enteric cycle studies. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 6, p. 862–

864, 2009.

MYCOBANK. [*S. l.*], 2021. Disponível em: http://www.mycobank.org/BioloMICSDetails.aspx?Rec=39097. Acesso em: 29 jan. 2022.

NAJAFZADEH, M. J. *et al.* Fonsecaea nubica sp. nov, a new agent of human chromoblastomycosis revealed using molecular data. **Medical Mycology**, [*s. l.*], v. 48, n. 6, p. 800–806, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.3109/13693780903503081. Acesso em: 29 jan. 2022.

NEYRA, E. *et al.* Epidemiology of human sporotrichosis investigated by amplified fragment length polymorphism. **Journal of Clinical Microbiology**, [*s. l.*], v. 43, n. 3, p. 1348–1352, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1128/JCM.43.3.1348-1352.2005. Acesso em: 29 jan. 2022.

NORIEGA, C. T. *et al. Sporothrix schenckii*: cultivos en diferentes suelos [*Sporothrix schenckii*: cultures in different soils]. **Revista latinoamericana de microbiología**, [*s. l.*], v. 35, n. 2, p. 191–194, 1993. Disponível em: https://www.scielo.br/j/aabc/a/KSgCTzJRghQ9LShsj3PXfFd/?lang=en&format=pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

OLIVEIRA, P. R. F. *et al.* Investigation of soil contaminated with *Toxoplasma gondii* oocyst in urban public environment, in Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 79, n. October, p. 10–15, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101715. Acesso em: 29 jan. 2022.

OLIVEIRA, M. M. E. *et al.* Phenotypic and Molecular Identification of *Sporothrix* Isolates from an Epidemic Area of Sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia**, [*s. l.*], v. 172, n. 4, p. 257–267, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11046-011-9437-3. Acesso em: 29 jan. 2022.

OROFINO-COSTA, R. *et al.* Sporotrichosis: An update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.2017279 Acesso em: 29 jan. 2022.

OSTAFIŃSKA, A. *et al.* Six new species of *Sporothrix* from hardwood trees in Poland. **MycoKeys**, [*s. l.*], v. 82, p. 1–32, 2021. Disponível em:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8357686/. Acesso em: 29 jan. 2022.

PACHECO-ORTEGA, G. A. *et al.* Screening of Zoonotic Parasites in Playground Sandboxes of Public Parks from Subtropical Mexico. **Journal of Parasitology Research**, [*s. l.*], v. 2019, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2019/7409076. Acesso em: 29 jan. 2022.

PALANISAMY, M. *et al.* Outbreak of ocular toxoplasmosis in Coimbatore , India. **Indian Journal of Ophthalmology**, [*s. l.*], v. 54, p. 129–131, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.4103/0301-4738.25839. Acesso em: 29 jan. 2022.

PATZ, J. A. *et al.* Environmental Changes & Parasitic Diseases. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 30, n. 12–13, p. 1395–1405, 2000. Disponível em: papers://44a5bfc5-03a8-49b9-9f07-1fbfe6b6320a/Paper/p844. Acesso em: 29 jan. 2022.

PEREIRA, S. A.; GREMIÃO, I. D. F.; MENEZES, R. C. Sporotrichosis in animals: zoonotic transmission. In: Sporotrichosis. Springer, Cham, 2015. p. 83-102. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-11912-0_6. Acesso em: 29 jan. 2022.

PINO, L. E.; SALINAS, J. E.; LÓPEZ, M. C. Descripción de un brote epidémico de toxoplasmosis aguda en pacientes inmunocompetentes miembros de las fuerzas militares de Colombia durante operaciones de selva. **Infection**, [*s. l.*], v. 13, n. 2, p. 83–91, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/S0123-9392(09)70729-5. Acesso em: 29 jan. 2022.

POESTER, V. R. *et al.* Disseminated sporotrichosis with immune reconstitution inflammatory syndrome in an HIV patient: Case report and review of the literature. **Revista Iberoamericana de Micologia**, [*s. l.*], v. 37, n. 3–4, p. 97–99, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.riam.2020.09.001. Acesso em: 29 jan. 2022.

POESTER, V. R. *et al. Sporothrix* spp. evaluation in soil of a hyperendenic area for sporotrichosis in southern Brazil. **Ciencia Animal Brasileira**, Goiânia, n. 19, p. 1–8, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-52571. Acesso em: 29 jan. 2022.

QUEIROZ-TELLES, F.; BUCCHERI, R.; BENARD, G. Sporotrichosis in immunocompromised hosts. **Journal of Fungi**, [*s. l.*], v. 5, n. 1, p. 1–23, 2019.

Disponível em: https://doi.org/10.3390/jof5010008. Acesso em: 29 jan. 2022.

QUINTAL, D. Sporotrichosis infection on mines of the Witwatersrand. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, [*s. l.*], v. 4, n. 1, p. 51–54, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1177/120347540000400113. Acesso em: 29 jan. 2022.

RAMÍREZ-SOTO, M. C. *et al.* Ecological determinants of sporotrichosis etiological agents. **Journal of Fungi**, [*s. l.*], v. 4, n. 3, p. 1–11, 2018. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6162718/. Acesso em: 29 jan. 2022.

RAMOS-E-SILVA, M. *et al.* Sporotrichosis. **Clinics in Dermatology**, [*s. l.*], v. 25, n. 2, p. 181–187, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2006.05.006. Acesso em: 29 jan. 2022.

READ, S. I.; SPERLING, L. C. Feline Sporotrichosis: Transmission to Man. **Archives of Dermatology**, [*s. l.*], v. 118, n. 6, p. 429–431, 1982. Disponível em: https://doi.org/10.1001/archderm.1982.01650180063020. Acesso em: 29 jan. 2022.

RENOINER, E. I. M. *et al.* Surto de toxoplasmose adquirida, Anápolis-GO, fevereiro de 2006. **Boletim eletrônico epidemiológico da secretária de vigilância em saúde**, v. 8, p. 1–6, 2007. Disponível em: https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/16/Ano07-n08-toxoplasmose- adquirida-go-completo.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

ROBERT-GANGNEUX, F. *et al.* Neosynthesized IgG detected by western blotting in Toxoplasma-seropositive heart or lung transplant recipients. **Transplant International**, [*s. l.*], v. 13, n. 6, p. 448–452, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s001470050728. Acesso em: 29 jan. 2022.

ROBERT-GANGNEUX, F. *et al.* Toxoplasmosis in Transplant. [*s. l.*], v. 24, n. 8, p. 2010–2014, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid2408.180045. Acesso em: 29 jan. 2022.

RODRIGUES, A. M. *et al.* Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. **Journal Title**, [*s. l.*], v. 3, n. 000, p. 0, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1038/emi.2014.33. Acesso em: 29 jan. 2022.

RODRIGUES, A. M. *et al.* Phylogenetic Analysis Reveals a High Prevalence of *Sporothrix* brasiliensis in Feline Sporotrichosis Outbreaks. **PLOS Neglected Tropical**

Diseases, [*s. l.*], v. 7, n. 6, p. e2281, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002281. Acesso em: 29 jan. 2022.

RODRIGUES, A. M. *et al.* The global epidemiology of emerging Histoplasma species in recent years. **Studies in Mycology**, [*s. l.*], v. 97, p. 100095, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.02.001. Acesso em: 29 jan. 2022.

RODRIGUES, A.M. *et al.* The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, [*s. l.*], v. 185, n. 5, p. 813–842, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11046-020-00425-0.. Acesso em: 29 jan. 2022.

RODRIGUES, A. M.; HOOG, G. S. de; CAMARGO, Z. P. de. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. **PLoS Pathogens**, [*s. l.*], v. 12, n. 7, p. 1–7, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005638. Acesso em: 29 jan. 2022.

ROETS, F. *et al. Ophiostoma gemellus* and *Sporothrix variecibatus* from mites infesting Protea infructescences in South Africa. **Mycologia**, [*s. l.*], v. 100, n. 3, p. 496–510, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.3852/07-181r. Acesso em: 29 jan. 2022.

ROMÓN, P. *et al.* Multigene phylogenies of Ophiostomataceae associated with monterey pine bark beetles in Spain reveal three new fungal species. **Mycologia**, [*s. l.*], v. 106, n. 1, p. 119–132, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.3852/13-073. Acesso em: 29 jan. 2022.

ROSA, A. C. M. da *et al.* Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [*s. l.*], v. 52, n. 3 Pt 1, p. 451–459, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.11.046. Acesso em: 29 jan. 2022.

ROSSOW, J. A. *et al.* A one health approach to combatting *Sporothrix* brasiliensis: Narrative review of an emerging zoonotic fungal pathogen in south america. **Journal of Fungi**, [*s. l.*], v. 6, n. 4, p. 1–27, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3390/jof6040247. Acesso em: 29 jan. 2022.

RUDRAMURTHY, S. M. *et al.* Phenotypic and molecular characterisation of *Sporothrix* globosa of diverse origin from India. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 52, p. 91–100, 2021. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7966662/. Acesso em: 29 jan. 2022.

RUGGIERO, M. A. *et al.* A higher level classification of all living organisms. **PLoS ONE**, [*s. l.*], v. 10, n. 4, p. 1–60, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119248. Acesso em: 29 jan. 2022.

RUSKIN, J.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmosis in the compromised host. **Annals of Internal Medicine**, [*s. l.*], v. 84, n. 2, p. 193–199, 1976. Disponível em: https://doi.org/10.7326/0003-4819-84-2-193. Acesso em: 29 jan. 2022.

SAAD, N. M.; HUSSEIN, A. A. A.; EWIDA, R. M. Occurrence of *Toxoplasma gondii* in raw goat, sheep, and camel milk in Upper Egypt. **Veterinary World**, [*s. l.*], v. 11, n. 9, p. 1262–1265, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1262-1265. Acesso em: 29 jan. 2022.

SACKS, J. *et al.* Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison. **AMERICAN JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY**, [*s. l.*], v. 118, n. 6, p. 832–838, 1983. Disponível em: https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a113701. Acesso em: 29 jan. 2022.

SACKS, J.; ROBERTO, R.; BROOKS, N. Toxoplasmosis Infection Associated With Raw Goat's Milk. **Journal of the American Medical Association**, [*s. l.*], v. 248, p. 1728–1732, 1982. Disponível em: https://doi.org/10.1001/jama.1982.03330140038029. Acesso em: 29 jan. 2022.

SAKI, J. *et al.* Detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* isolated from soil in Ahvaz, southwest of Iran. **Journal of Parasitic Diseases**, [*s. l.*], v. 41, n. 1, p. 202–205, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12639-016-0778-1. Acesso em: 29 jan. 2022.

SANTOS, T. R. dos *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples from public schools. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 171, n. 1–2, p. 53–57, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.045. Acesso em: 29 jan. 2022.

SANTOS, P. S. *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in free-living Amazon River dolphins (Inia geoffrensis) from central Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 183, n. 1–2, p. 171–173, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.06.007. Acesso em: 29 jan. 2022.

SARAVANAKUMAR, P. S.; ESLAMI, P.; ZAR, F. A. Lymphocutaneous sporotrichosis

associated with a squirrel bite: Case report and review. **Clinical Infectious Diseases**, Northants, v. 23, n. 3, p. 647–648, 1996. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1093/clinids/23.3.647. Acesso em: 29 jan. 2022.

SCHOTT, K. C. *et al.* Concentration and retention of *Toxoplasma gondii* surrogates from seawater by red abalone (*Haliotis rufescens*). **Parasitology**, [*s. l.*], v. 143, n. 13, p. 1703–1712, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1017/S0031182016001359. Acesso em: 29 jan. 2022.

SCHUBACH, T. M. P. *et al.* Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). **Medical Mycology**, [*s. l.*], v. 39, n. 1, p. 147–149, 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000300031. Acesso em: 29 jan. 2022.

SCHUBACH, T. M. P. *et al. Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Mycopathologia**, [*s. l.*], v. 153, n. 2, p. 83–86, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1023/a:1014449621732. Acesso em: 29 jan. 2022.

SHAKIBA, N. *et al.* Effects of Environmental Variability on Superspreading Transmission Events in Stochastic Epidemic Models. **Infectious Disease Modelling**, [*s. l.*], v. 6, p. 560-583, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.idm.2021.03.001. Acesso em: 29 jan. 2022.

SHAPIRO, K. *et al.* Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. **Food and Waterborne Parasitology**, [*s. l.*], v. 15, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00049. Acesso em: 29 jan. 2022.

SHEEJA, T. E. *et al.* “Amplified Fragment Length Polymorphism: Applications and Recent Developments.” **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.),** [*s. l.*], v. 2222, p. 187–218, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0997-2_12. Acesso em: 29 jan. 2022.

SHENEP, J. *et al.* An outbreak of toxoplasmosis on an Illinois farm. **Pediatric Infectious Disease**, [*s. l.*], v. 3, n. 6, p. 518–522, 1984. Disponível em: https://doi.org/10.1097/00006454-198411000- 00007. Acesso em: 29 jan. 2022.

SILVA, J. E. *et al.* Análise da evolução de esporotricose empregando modelo de regressão em casos de felinos de Timbaúba/PE – Brasil Analysis. **Research, Society**

and Development, [*s. l.*], v. 10, n. 1, p. e51310112082, 2021. Disponível em: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i1.12082. Acesso em: 29 jan. 2022.

SILVA, J. C. R. *et al.* Cat-rodent *Toxoplasma gondii* Type II-variant circulation and limited genetic diversity on the Island of Fernando de Noronha, Brazil. **Parasites and Vectors**, [*s. l.*], v. 10, n. 1, p. 4–9, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s13071-017-2150-4. Acesso em: 29 jan. 2022.

SILVA, G. M. *et al.* Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [*s. l.*], v. 38, n. 9, p. 1767–1771, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5027. Acesso em: 29 jan. 2022.

SILVA, R. C.; LANGONI, H. Risk factors and molecular typing of *Toxoplasma gondii* isolated from ostriches (*Struthio camelus*) from a Brazilian slaughterhouse. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 225, p. 73–80, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.06.001. Acesso em: 29 jan. 2022.

SILVA, L. de; MULCAHY, D.; KAMATH, K. A family outbreak of toxoplasmosis: a serendipitous finding. **Journal of Infection**, [*s. l.*], v. 8, p. 163–167, 1984. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0163-4453(84)92617-3. Acesso em: 29 jan. 2022.

SIMON, J. A. *et al.* Spatial distribution of soil contaminated with *Toxoplasma gondii* oocysts in relation to the distribution and use of domestic cat defecation sites on dairy farms. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 47, n. 6, p. 357–367, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.01.004. Acesso em: 29 jan. 2022.

SINGER, J. I.; MUNCIE, J. E. Sporotrichosis; etiologic considerations and report of additional cases from New York. **New York state journal of medicine**, [*s. l.*], v. 52, n. 17 :1, p. 2147–2153, 1952.

SKINNER, L. J. *et al.* Simultaneous Diagnosis of Toxoplasmosis in Goats and Goatowner ’s Family. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, [*s. l.*], v. 22, p. 359–361, 1990. Disponível em: https://doi.org/10.3109/00365549009027060. Acesso em: 29 jan. 2022.

SLOYER, K. E. *et al.* Ecological niche modeling the potential geographic distribution of four culicoides species of veterinary significance in florida, USA. **PLoS ONE**, [*s. l.*], v. 14, n. 2, p. 1–19, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206648

. Acesso em: 29 jan. 2022.

SMITH, N. C. *et al.* Control of human toxoplasmosis. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 51, n. 2–3, p. 95–121, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.11.001. Acesso em: 29 jan. 2022.

SMITH, L. M. SPOROTRICHOSIS Report of fourclinically atypical cases. **Southern Medical Journal**, [*s. l.*], v. 38, n. 8, p. 505–509, 1945. Disponível em: https://doi.org/10.1590/0037-868215282013. Acesso em: 29 jan. 2022.

SOLYMANE, H. *et al.* Molecular Detection of *Toxoplasma gondii* Oocytes in the Soil from the Public Parks of the Arak City, Iran. **Research in Molecular Medicine**, [*s. l.*], v. 2, n. 1, p. 35–38, 2014.

SOUZA, W. de. Aspectos ultraestruturais do processo de divisão do *Toxoplasma gondii*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [*s. l.*], v. 8, n. 1, p. 45–65, 1974. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0037-86821974000100007. Acesso em: 29 jan. 2022.

SOUZA, E. W. de *et al.* Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Scientific Reports**, [*s. l.*], v. 8, n. 1, p. 1–10, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41598-018-27447-5. Acesso em: 29 jan. 2022.

SOUZA, L. L. de *et al.* Isolation of *Sporothrix* schenkii from the nails of healthy cats. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 372–374, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000300031. Acesso em: 29 jan. 2022.

SPEER, C. A. *et al.* Sporozoites of *Toxoplasma gondii* lack dense-granule protein GRA3 and form a unique parasitophorous vacuole. **Molecular and Biochemical Parasitology**, [*s. l.*], v. 75, n. 1, p. 75–86, 1995. Disponível em: https://doi.org/10.1016/0166-6851(95)02515-4. Acesso em: 29 jan. 2022.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. Ultrastructural differentiation of *Toxoplasma gondii* schizonts (types B to E) and gamonts in the intestines of cats fed bradyzoites. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 35, n. 2, p. 193–206, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.11.005. Acesso em: 29 jan. 2022.

SPEERS, D. J. Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. **The**

Clinical biochemist. Reviews, [*s. l.*], v. 27, n. 1, p. 39–51, 2006. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16886046%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1390794. Acesso em: 29 jan. 2022.

SPLENDORE MD, A. On a new protozoan parasite of rabbits. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 2, p. 1–2, 2009. Disponível em: http://www.bioline.org.br/pdf?oc09025. Acesso em: 29 jan. 2022.

SROKA, J.; SZYMAŃSKA, J. Analysis of prevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in selected rural households In the lublin region. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, [*s. l.*], v. 56, n. 4, p. 529–534, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.2478/v10213-012-0093-2. Acesso em: 29 jan. 2022.

STAGNO, S. *et al.* An Outbreak of Toxoplasmosis Linked to Cats. **Pediatrics**, [*s. l.*], v. 65, p. 706–712, 1980. Disponível em: https://doi.org/10.1542/peds.65.4.706. Acesso em: 29 jan. 2022.

STEFFAN, J. J. *et al.* The effect of soil on human health: an overview. **European Journal of Soil Science**, [*s. l.*], v. 69, n. 1, p. 159–171, 2018. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5800787/. Acesso em: 29 jan. 2022.

SU, C. *et al.* Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, [*s. l.*], v. 137, n. 1, p. 1–11, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1017/S0031182009991065. Acesso em: 29 jan. 2022.

SULLIVAN, W. J.; JEFFERS, V. Mechanisms of *Toxoplasma gondii* persistence and latency. **FEMS Microbiology Reviews**, [*s. l.*], v. 36, n. 3, p. 717–733, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00305.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

TAVALLA, M. *et al.* Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from soil samples in Tehran, Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, Teerã, v. 8, n. 2, p. 227–233, 2013. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3724147/. Acesso em: 29 jan. 2022.

TÉLLEZ, M. D. *et al. Sporothrix schenckii* complex biology: Environment and fungal pathogenicity. **Microbiology (United Kingdom)**, [*s. l.*], v. 160, p. 2352–2365, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1099/mic.0.081794-0. Acesso em: 29 jan. 2022.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: From animals

to humans. **International Journal for Parasitology**, [*s. l.*], v. 30, n. 12–13, p. 1217–1258, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0020-7519(00)00124-7. Acesso em: 29 jan. 2022.

TENTER, A. M.; JOHNSON, A. M. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidia. **Advances in Parasitology**, [*s. l.*], v. 39, p. 69–139, 1997. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60045-7. Acesso em: 29 jan. 2022.

TERRA, P. P. Della *et al.* Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases** [*s. l.*], v. 11, n. 8, p. 1–23, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005903. Acesso em: 29 jan. 2022.

TEUTSCH, S. *et al.* Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. **New England Journal of Medicine**, [*s. l.*], v. 300, p. 695–699, 1979. Disponível em: https://doi.org/10.1056/NEJM197903293001302. Acesso em: 29 jan. 2022.

TROLLIP, C. *et al.* Ophiostomatoid fungi associated with pine bark beetles and infested pines in south-eastern Australia, including *Graphilbum ipis-grandicollis* sp. nov. **IMA Fungus**, [*s. l.*], v. 12, n. 24, p. 1–27, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s43008-021-00076-w. Acesso em: 29 jan. 2022.

UMEMOTO, N. *et al.* Sporotrichosis in a husband and wife. **Journal of Dermatology**, [*s. l.*], v. 32, n. 7, p. 569–573, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2005.tb00800.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

VERANT, M. L. *et al.* Attempted detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental waters using a simple approach to evaluate the potential for waterborne transmission in the galápagos islands, Ecuador. **EcoHealth**, [*s. l.*], v. 11, n. 2, p. 207–214, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10393-013-0888-5. Acesso em: 29 jan. 2022.

VOS, P. *et al.* AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic acids research**, [*s. l.*], v. 23, n. 21, p. 4407–4414, 1995. Disponível em: https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407. Acesso em: 29 jan. 2022.

WAINWRIGHT, K. E. *et al.* Chemical inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts in water. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 93, n. 4, p. 925–931, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1645/GE-1063R.1. Acesso em: 29 jan. 2022.

WALLACE, G. D. Experimental Transmission of *Toxoplasma gondii* by Cockroaches. **The Journal of infectious diseases**, [*s. l.*], v. 126, n. 5, p. 545–547, 1972. Disponível em: https://doi.org/10.1093/infdis/126.5.545. Acesso em: 29 jan. 2022.

WALLER, S. B. *et al.* Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 73–80, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s42770-020-00307-z. Acesso em: 29 jan. 2022.

WANG, M. *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in soils in Northwestern China using a new semi-nested PCR assay. **BMC Veterinary Research**, [*s. l.*], v. 10, n. 1, p. 1–5, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12917-014-0238-z. Acesso em: 29 jan. 2022.

WARRIS, A. *et al.* Molecular epidemiology of *Aspergillus fumigatus* isolates recovered from water, air, and patients shows two clusters of genetically distinct strains. **Journal of Clinical Microbiology**, [*s. l.*], v. 41, n. 9, p. 4101–4106, 2003. Disponível em: https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4101-4106.2003. Acesso em: 29 jan. 2022.

WEINMAN, D.; CHANDLER, A. H. Toxoplasmosis in Swine and Rodents. Reciprocal Oral Infection and Potential Human Hazard. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, [*s. l.*], v. 87, n. 1, p. 211–216, 1954. Disponível em: https://doi.org/10.3181/00379727-87-21337. Acesso em: 29 jan. 2022.

WELLS, B. *et al.* Molecular detection of *Toxoplasma gondii* in water samples from Scotland and a comparison between the 529bp real-time PCR and ITS1 nested PCR. **Water Research**, [*s. l.*], v. 87, p. 175–181, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.015. Acesso em: 29 jan. 2022.

WENKER, C. J. *et al.* Sporotrichosis in a nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). **Journal of zoo and wildlife medicine : official publication of the American Association of Zoo Veterinarians**, [*s. l.*], v. 29, n. 4, p. 474–478, 1998.

WERNER, A. H.; WERNER, B. E. Sporotrichosis in Man and Animal. **International Journal of Dermatology**, [*s. l.*], v. 33, n. 10, p. 692–700, 1994. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4362.1994.tb01512.x. Acesso em: 29 jan. 2022.

WILDNER, W.; FERREIRA, R. V. Cap. 10: Geoparque Fernando de Noronha (PE): proposta. **Geoparques do Brasil: Propostas**, [*s. l.*], p. 317–360, 2011. Disponível em: https://rigeo.cprm.gov.br/handle/doc/17159. Acesso em: 29 jan. 2022.

WIT, L. A. *et al.* Seasonal and spatial variation in *Toxoplasma gondii* contamination in soil in urban public spaces in California, United States. **Zoonoses and Public Health**, [*s. l.*], v. 67, n. 1, p. 70–78, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/zph.12656. Acesso em: 29 jan. 2022.

WOKE, P. A. *et al.* Experimental Results on Possible Arthropod Transmission of Toxoplasmosis. **The Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 39, n. 5, p. 523–532, 1953. Disponível em: https://doi.org/10.2307/3273853. Acesso em: 29 jan. 2022.

WOLF, A.; COWEN, D.; PAIGE, B. H. Toxoplasmic encephalomyelitis: III. A new case of granulomatous encephalomyelitis due to a protozoon. **The American journal of pathology**, [*s. l.*], v. 15, n. 6, p. 657-694.11, 1939. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1965069/pdf/amjpathol00533-0002.pdf. Acesso em: 29 jan. 2022.

WORK, T. M. *et al.* Fatal toxoplasmosis in free-ranging endangered ’Alala from Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases**, [*s. l.*], v. 36, n. 2, p. 205–212, 2000. Disponível em: https://naldc.nal.usda.gov/download/48574/PDF. Acesso em: 29 jan. 2022.

WORK, T. M. *et al.* Toxoplasmosis in three species of native and introduced Hawaiian birds. **Journal of Parasitology**, [*s. l.*], v. 88, n. 5, p. 1040–1042, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[1040:TITSON]2.0.CO;2. Acesso em: 29 jan. 2022.

WU, Y. D. *et al.* Recombinase polymerase amplification (RPA) combined with lateral flow (LF) strip for detection of *Toxoplasma gondii* in the environment. **Veterinary Parasitology**, [*s. l.*], v. 243, p. 199–203, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.026. Acesso em: 29 jan. 2022.

YAN, C. *et al.* Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii*. **Parasites and Vectors**, [*s. l.*], v. 9, n. 1, p. 1–7, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1432-6. Acesso em: 29 jan. 2022.

ZHANG, Y. *et al.* Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000 human and animal case reports. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, [*s. l.*], v. 35, n. 1, p. 1–20, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3767/003158515X687416. Acesso em: 29 jan. 2022.

ZHAO, L. *et al.* Genetic variation of *Sporothrix* globosa isolates from diverse geographic and clinical origins in China. **Emerging Microbes and Infections**, [*s. l.*], v. 6, n. 10, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1038/emi.2017.75.. Acesso em: 29 jan. 2022.

ZHAO, M. dan *et al.* Morphological and physiological comparison of taxa comprising the *Sporothrix* schenckii complex. **Journal of Zhejiang University: Science B**, [*s. l.*], v. 16, n. 11, p. 940–947, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1631/jzus.B1500055. Acesso em: 29 jan. 2022.

ZINSSTAG, J. Convergence of ecohealth and one health. **EcoHealth**, [*s. l.*], v. 9, n. 4, p. 371–373, 2012. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3627853/. Acesso em: 29 jan. 2022.

ZINSSTAG, Jakob et al. (Ed.). **One Health: the theory and practice of integrated health approaches**. CABI, 2020.

7. CAPÍTULO 1

Artigo publicado no periódico: Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases

Fator de Impacto: 2.729

DOI: https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101715

Investigação de solo contaminado com oocisto de *Toxoplasma gondii* em ambiente público urbano, no Brasil

Investigation of soil contaminated with *Toxoplasma gondii* oocyst in urban public environment, in Brazil

Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira [a*], Renata Pimentel Bandeira de Melo [a], Tania Alexandra Ortega Sierra [a], Renato Amorim da Silva [a], José Eudes da Silva de Oliveira [b], Brivaldo Gomes de Almeida [b], Rinaldo Aparecido Mota [a]

[a] Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, sn, Dois Irmãos, Recife 52171-900, Pernambuco, Brasil

[b] Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, sn, Dois Irmãos, Recife 52171-900, Pernambuco, Brasil

RESUMO

Neste estudo, determinamos a ocorrência de oocistos de *Toxoplasma gondii* em amostras de solo de locais públicos. Um total de 120 amostras foram coletadas de 24 locais, incluindo praças, parques, universidade, hospitais da cidade do Recife. Os oocistos recuperados foram submetidos a um teste de nested-PCR, e nove sítios (9/24) foram positivos para o gene do parasito apicomplexa. O produto da PCR foi sequenciado e 8,33% (10/120) das amostras apresentaram 100% de similaridade com o DNA de *T. gondii*. Oocistos de *T. gondii* foram detectados em 75% (3/4) das amostras de solo hospitalar avaliadas e em 23,81% (5/21) amostras de solos de praças e parques públicos. Os resultados deste estudo demonstram o potencial do solo nas áreas analisadas como fonte de infecção por *T. gondii* e, portanto, ressaltam a importância da elaboração de estratégias educativas sobre o uso desses locais, além de futuros protocolos de limpeza em áreas públicas.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, Contaminação do solo, Saúde pública.

1. Introdução

A contaminação ambiental por agentes infecciosos tem sido cada vez mais reconhecida como uma ameaça global de impacto à saúde pública [1-3], tendo os agentes parasitários um destaque como um dos mais importantes patógenos presentes no solo [2,4,5].

* Autor correspondente.

E-mail: pollyanne_raysa@hotmail.com (P.R.F. de Oliveira).

https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101715

Recebido em 31 de julho de 2021; Recebido em formulário revisado em 13 de outubro de 2021;
Aceito em 17 de outubro de 2021

Toxoplasma gondii, classificado como protozoário Apicomplexa, infecta aves e mamíferos [6] e causa a toxoplasmose, um importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo [7,8]

Condições ambientais específicas são necessárias para que o protozoário se estabeleça em uma nova população, e tenha a capacidade de causar um surto ou até mesmo uma epidemia. Características geológicas e ambientais, como temperatura, granulometria, umidade e química do solo, influenciam na manutenção e esporulação dos oocistos [9-12].

Uma das formas de transmissão do *T. gondii* é pela ingestão ou inalação de oocistos esporulados presentes em ambientes como solo contaminado com fezes de gatos infectados [13]. De acordo com a abordagem One Health, os problemas de saúde humana, animal e ambiental coexistem, e uma compreensão mais ampla dos processos e fatores envolvidos beneficia a todos [14]

No entanto, a transmissão ambiental ainda tem sido indiscutivelmente a rota menos estudada, apesar de ter um importante papel na epidemiologia de doenças infecciosas [15,16]. Mesmo diante das descobertas epidemiológicas acerca de *T. gondii* e a mitigação da exposição para humanos e animais, existe ainda a necessidade de uma compreensão abrangente da contaminação ambiental e os fatores que contribuem para manutenção dos oocistos no ambiente [12].

Devido ao desafio de isolar agentes infecciosos do solo, o teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) desempenha um papel importante na identificação e caracterização molecular do organismo [17]. A detecção por métodos moleculares permite a identificação de oocistos mesmo em baixas concentrações, além de discernir coccídeos intimamente relacionados [18].

O entendimento da distribuição espacial dos oocistos de *T. gondii* em locais públicos evidencia a diversidade de seu ciclo de vida. Tendo em vista a ausência de estudos no nordeste do Brasil e a importância da toxoplasmose como uma zoonose emergente, o objetivo deste estudo foi estimar a ocorrência de oocistos de *T. gondii* em amostras de solo de locais públicos da cidade do Recife, Pernambuco, Brasil.

2. Material e métodos

2.1. Área de estudo e desenho amostral

Este estudo foi realizado no município do Recife (8°03′28,0″ S 34°52′58,1″ W), no estado de Pernambuco, cidade com área de aproximadamente 218.843 km^2 e população de 1,6 milhão, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [19].

Foi realizado um estudo transversal com amostragem não probabilística. As coletas de amostras foram realizadas em março e outubro de 2020 em quatro parques, 13 praças, três áreas de universidades públicas e quatro hospitais, totalizando 24 locais públicos da cidade (Fig. 1; Tabela 1). Todos os parques, praças, hospitais e universidades estão na área urbana, e as amostras foram retiradas de locais que apresentavam uma ou mais das seguintes características: playground, pontos de ônibus, academia da cidade, movimento diário intenso, bancos em área não pavimentada, e livre acesso de animais ao parque infantil (Tabela 1).

2.2. Recuperação de oocistos de *T. gondii* de amostras de solo

Cinco amostras de solo (100 g cada) foram coletadas de cada ambiente público, totalizando 120 amostras e assumindo uma profundidade de solo de 10 cm [9]. No momento do processamento, foram utilizadas duas subamostras de 10 g de solo de cada ponto [20]. Em seguida, 5 mL de ácido sulfúrico a 2% foram adicionados a cada amostra.

Após 16 h de esporulação, foram realizadas duas etapas de recuperação dos oocistos: a primeira etapa seguiu o protocolo descrito por Ferreira et al. [20], em que 30 mL de glicina 1 M foram adicionados ao solo e a solução foi homogeneizada por 30 min. A solução foi então deixada em repouso por 5 minutos para sedimentação. O sobrenadante recuperado foi centrifugado a 1500×g por 15 min, resultando na formação de pellets. Na segunda etapa de recuperação, foi utilizado o pellet previamente recuperado; foi aplicada a técnica de Sheather [21], fracionando-se os 2 mL do sobrenadante final em dois microtubos. Em cada microtubo foi adicionado 1 mL de água ultrapura e centrifugado a 1500 × g por 5 minutos, em seguida foi mantido um volume de 200 µl de pellet ao qual foi adicionado 1 mL de tampão TE (Tris–HCl, NaCl

e etileno diamina tetraacético ácido – EDTA) e uma nova centrifugação foi realizada seguindo os mesmos parâmetros da anterior, resultando em 200 µL de pellet, sendo a duplicata armazenada em um único microtubo.

2.3. Extração de DNA

Todas as amostras previamente processadas foram inicialmente submetidas a 10 ciclos de congelamento em nitrogênio líquido e descongelamento em banho-maria a 56 °C para ruptura das paredes do oocisto [22]. O DNA foi extraído de amostras de solo usando o kit comercial NucleoSpin Tissue® (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante, com as seguintes modificações: as amostras foram incubadas em tampão de lise (T1) e proteinase K a 56 ◦C por 16h.

2.4. Nested-PCR

As amostras de DNA foram submetidas à reação em cadeia da polimerase nested (nested-PCR) para amplificar o gene do DNA ribossômico Apicomplexa 18S (rDNA) [23]. A primeira reação de PCR foi realizada com os primers externos Tg18s48F (5' - CCATGCATGTCTAAGTATAAGC - 3') e Tg18s359R (5' - GTTACCCGTCACTGCCAC - 3'), com o seguinte perfil térmico: desnaturação inicial a 94 ◦C por 2 min, 30 ciclos de desnaturação a 94 ◦C por 30 s, anelamento a 57 ◦C por 30 s e extensão a 72 ◦C por 30 s, e uma extensão final a 72 ◦C por 1 min. Para a segunda reação, os primers internos utilizados foram Tg18s58F (5' - CTAAGTATAAGCTTTTATACGGC - 3') e Tg18s348R (5' - TGCCACGGTAGTCCAATAC - 3'), utilizando o mesmo perfil térmico da primeira reação; porém, neste caso, foram realizados 35 ciclos. A mistura de amplificação consistiu em 0,5 µL de cada primer a 2 µM, 6,25 µL de GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, EUA), 2,75 µL de água ultrapura e 2,5 µL de DNA em um volume final de 12,5 µL [23]. O produto amplificado de aproximadamente 300 pares de bases foi detectado por eletroforese em gel de agarose 2%, corado com Blue Green (LGC Biotechnology), e então fotodocumentado (Loccus - L-PIX EX).

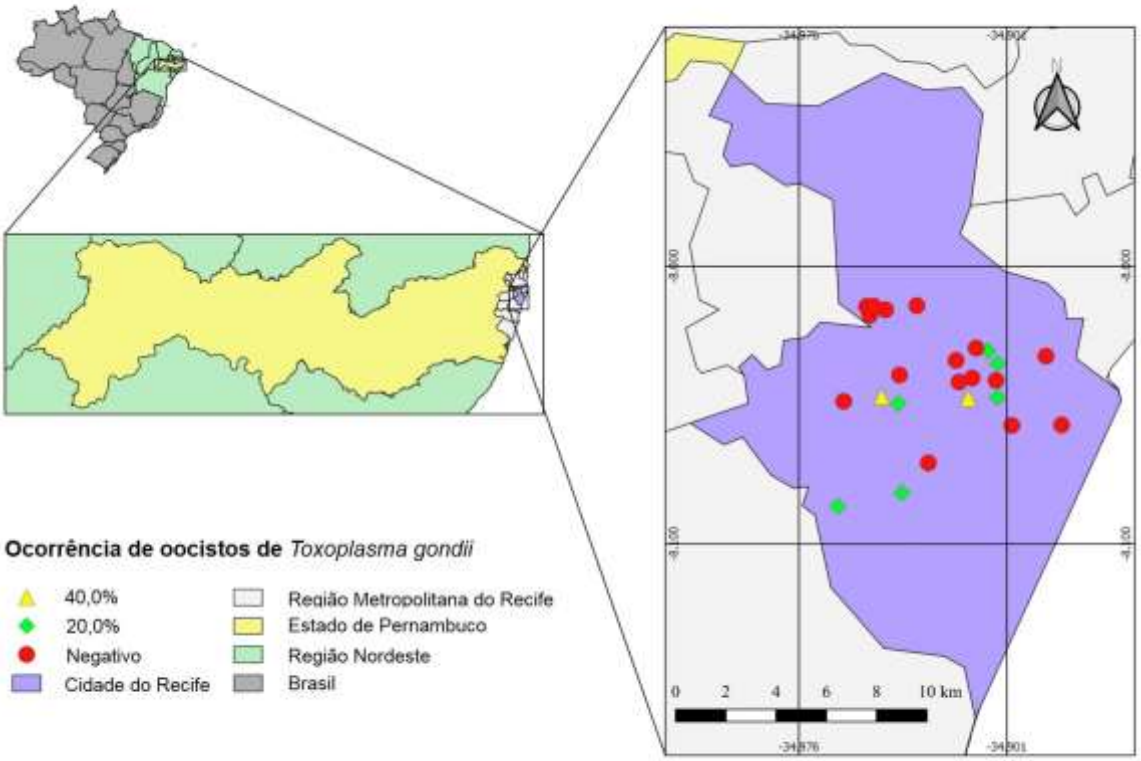


Figura 1. Distribuição das áreas amostradas na cidade de Recife, Pernambuco, Brasil.

Tabela 1. Características utilizadas na inclusão das áreas para amostragem.

Áreas de estudo	Características da área de estudo					
	Parque infantil	**Parada de ônibus**	**Academia da cidade**	**Intenso movimento diário**	**Banco de praça em área não pavimentada**	**Livre acesso dos animais ao parque infantil**
Parque da Jaqueira	X	X		X	X	X
Parque Urbano da Macaxeira	X		X	X	X	X
Parque Santana	X		X	X	X	X
Parque Sítio Trindade	X				X	X
Praça 13 de Maio	X			X	X	X
Praça Antônio Maria Composer	X			X	X	X
Praça Baobá Garden	X			X	X	X

Praça dos Gatos	X	X	X	X	X	X
Praça Bom Pastor	X			X	X	X
Praça Casa Forte	X			X	X	X
Praça Torre	X		X	X	X	X
Praça da Várzea	X	X	X	X	X	X
Praça do Derby	X	X		X	X	X
Praça do Hipódromo	X		X	X	X	X
Praça Dois Irmãos	X	X		X	X	X
Praça Jardim São Paulo	X			X	X	X
Praça General San Martin	X			X	X	X
Área 1 Universidade de Pernambuco				X	X	
Área 2 Universidade de Pernambuco				X	X	
Área 3 Universidade de Pernambuco				X	X	
Hospital I				X	X	
Hospital II				X	X	
Hospital III				X	X	
Hospital IV				X	X	

2.5. Sequenciamento

Os amplicons positivos para o gene 18S rDNA foram purificados utilizando-se o kit QIAquick gel extraction (Qiagen), de acordo com o protocolo do fabricante. Os produtos foram sequenciados bidirecionalmente usando o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante. A reação de sequenciamento foi realizada por separação eletroforética capilar no sequenciador ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), utilizando os oligonucleotídeos internos. A análise das sequências foi realizada com o auxílio do software Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, EUA), e posteriormente foram comparadas no Basic Alignment Search Tools (BLAST) do National Center for

Biotechnology Information (NCBI - www.ncbi.nlm.nih.gov) para determinar a identificação das espécies.

2.6. Análises físico-químicas do solo

2.6.1. Umidade atual do solo

As amostras de solo foram transportadas em embalagens impermeáveis para manter as condições de coleta. Todas as amostras foram pesadas em balança com precisão de 0,001 g e colocadas em estufa a 105 °C por 24 h. Uma vez retiradas da estufa, as amostras foram colocadas em dessecador e, quando frias, pesadas para cálculo da massa de água conforme descrito no manual da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária [24].

2.6.2. Potencial hidrogeniônico (pH)

A medição do pH foi realizada em 10 g de solo em 25 mL de água destilada, agitada por 60 s e deixada em repouso por 1 h, amostra foi homogeneizada para prosseguir com a leitura do pH [24].

2.6.3. Temperatura

A temperatura foi medida diretamente no solo por meio de um termômetro de haste metálica inserido a uma profundidade de 5 cm [24].

2.7. Georreferenciamento

As localizações dos pontos de coleta de amostras foram obtidas por meio de um sistema de posicionamento global. Para o mapeamento, os dados georreferenciados foram inseridos no software QGIS.

2.8. Análise estatística

Inicialmente, foi realizada uma análise estatística descritiva dos dados obtidos nas medidas de temperatura (°C), umidade (%) e pH por meio da distribuição de frequências absolutas e relativas, média, desvio padrão e valores mínimo e máximo. Em seguida, a normalidade dos dados foi testada por meio do teste de Shapiro-Wilk. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para analisar os resultados do teste diagnóstico

e os parâmetros [25]. O IBM SPSS Statistics 23.0 foi utilizado para realizar os cálculos estatísticos. O nível de significância adotado foi de 5,0%.

3. Resultados

Doze de 120 (10%; 12/120) amostras de solo examinadas foram positivas para a presença do gene 18S rDNA de parasitos apicomplexa e obtidas de nove locais (9/24): Hospital I, Hospital III (dois pontos), Hospital IV, Praça Bom Pastor (dois pontos), Praça dos Gatos, Parque da Jaqueira, Praça Jardim São Paulo, Parque Urbano da Macaxeira e Praça da Torre (dois pontos). Entre as amostras positivas, dez (83,33%; 10/12), de oito locais públicos, apresentaram 100% de similaridade com as sequências do gene 18S rDNA de *T. gondii* (números de referência KX 008024.1 a KX008033.1).

A contaminação das amostras de solo com oocistos de *T. gondii* foi maior nas regiões oeste e noroeste da cidade do Recife, compreendendo a Praça da Torre (40%; 2/5) e o ambiente externo do Hospital III (40%, 2/5) do que as outras áreas (Fig. 1).

Com relação aos valores das variáveis físico-químicas das amostras de solo, foram obtidos os seguintes resultados: pH variando de 4,75 a 7,51, umidade e temperatura com variação de 2,55–24,46% e 26,1–39,1 °C, respectivamente, com 30,8% (37/120) das amostras de solo em uma faixa de temperatura entre 28,9 °C e 30,3 °C. Nos locais com amostras positivas para *T. gondii*, foram obtidos os seguintes resultados: no Hospital I: temperatura de 32,2 °C e umidade do solo de 8,99%; Hospital IV: 28,2 °C e 7,21%; Hospital III com duas amostras positivas: uma com 28 ◦C e 5,85% e a segunda com 29,6 °C e 4%; A Praça da Torre também teve dois pontos: o primeiro com 30,1 ◦C e 14,57% e o segundo com 31,2 ◦C e 18,04%; Praça Bom Pastor: 31,6 °C e 7,36%; Gatos Quadrados: 32,8 °C e 13%; Parque da Jaqueira: 30,2 °C e 4,36%; e Praça Jardim São Paulo: 27,5 °C e 6,18% (Fig. 2). A análise estatística das variáveis físico-químicas do solo demonstrou que não houve diferença significativa entre os locais com resultados positivos quando comparados com aqueles com resultados negativos (Tabela 2).

4. Discussão

O solo pode ser uma importante fonte de infecção de *T. gondii* em decorrência da resistência dos oocistos que chegam a persistir no ambiente por um longo período

[26,27]. O nível de contaminação do solo e a dinâmica desta em ambientes públicos são, em sua maioria, desconhecidos devido a poucos estudos no país [12]. Este é o estudo mais abrangente sobre a ocorrência de oocistos de *T. gondii* em amostras de solo de ambientes públicos na cidade do Recife e na região Nordeste do Brasil.

Oocistos de *T. gondii* foram encontrados em 27,77% (5/18) das amostras de solo dos parques e praças estudados. Esses resultados corroboram os descritos em metanálise realizada por Maleki et al. [12], que descreveram registros do estado global da contaminação do solo de locais públicos por oocistos de *T. gondii*, com prevalência de 22% encontrada em estudos na América do Sul. A ocorrência de parasitos em ambientes públicos de lazer é motivo de preocupação [12,27,28], uma vez que essas áreas têm se tornado cada vez mais importantes na prática de atividades ao ar livre por idosos e crianças [29,30].

Esses achados corroboram os resultados obtidos por Santos et al. [31] que avaliaram a presença de oocistos de *T. gondii* no solo de escolas públicas de ensino fundamental da região noroeste do estado de São Paulo, Brasil, e isolaram *T. gondii* em 22,58% (7/31) de áreas de recreação da escola. Locais como parques, escolas e praias são áreas de intenso movimento, e o solo contaminado desempenha um papel importante como fonte de infecção para hospedeiros suscetíveis [32].

A presença de oocistos de *T. gondii* em áreas recreativas representa um risco real de infecção primária em crianças e até adultos, o que significa que, quando em contato com areia contaminada, podem ingerir acidentalmente os oocistos encontrados em suas mãos, brinquedos e roupas [33,34]. No Brasil, poucos estudos descreveram a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em humanos de diferentes faixas etárias, com uma soroprevalência descoberta a partir desses estudos variando entre 32,4% (110/339) [35] e 97,4% (113/116) [36]. Em relação à área de estudo, soroprevalências de 18,2%, 51,6% e 92,6% foram relatadas em crianças (< 20 anos), mulheres em idade fértil (18-40 anos) e adultos (40-50 anos), respectivamente [37].

Tabela 2. Análise estatística descritiva das amostras positivas para *Toxoplasma gondii* na análise molecular de acordo a temperatura (ºC), umidade (cm³) e pH.

Parâmetro	Resultado	N	Média	Desvio padrão	Valor Mínimo	Valor Máximo
Temperatura	Positivo	8	29,6	1,6	27,5	32,2
	Negativo	112	30,0	2,6	26,1	39,1
	Total	**120**	**29,974**	**2,5**	**26,1**	**39,1**
Umidade	Positivo	8	0,0865	0,0506	0,0400	0,1804
	Negativo	112	0,1124	0,0541	0,0255	0,2446
	Total	**120**	**0,1107**	**0,0540**	**0,0255**	**0,2446**
pH	Positivo	8	6,45	0,51	5,92	7,10
	Negativo	112	6,38	0,54	4,75	7,51
	Total	**120**	**6,39**	**0,53**	**4,75**	**7,51**

N = número de amostras; * Diferença estatística ($p < 0,05$) entre os resultados para o parâmetro analisado pelo teste de Mann-Whitney.

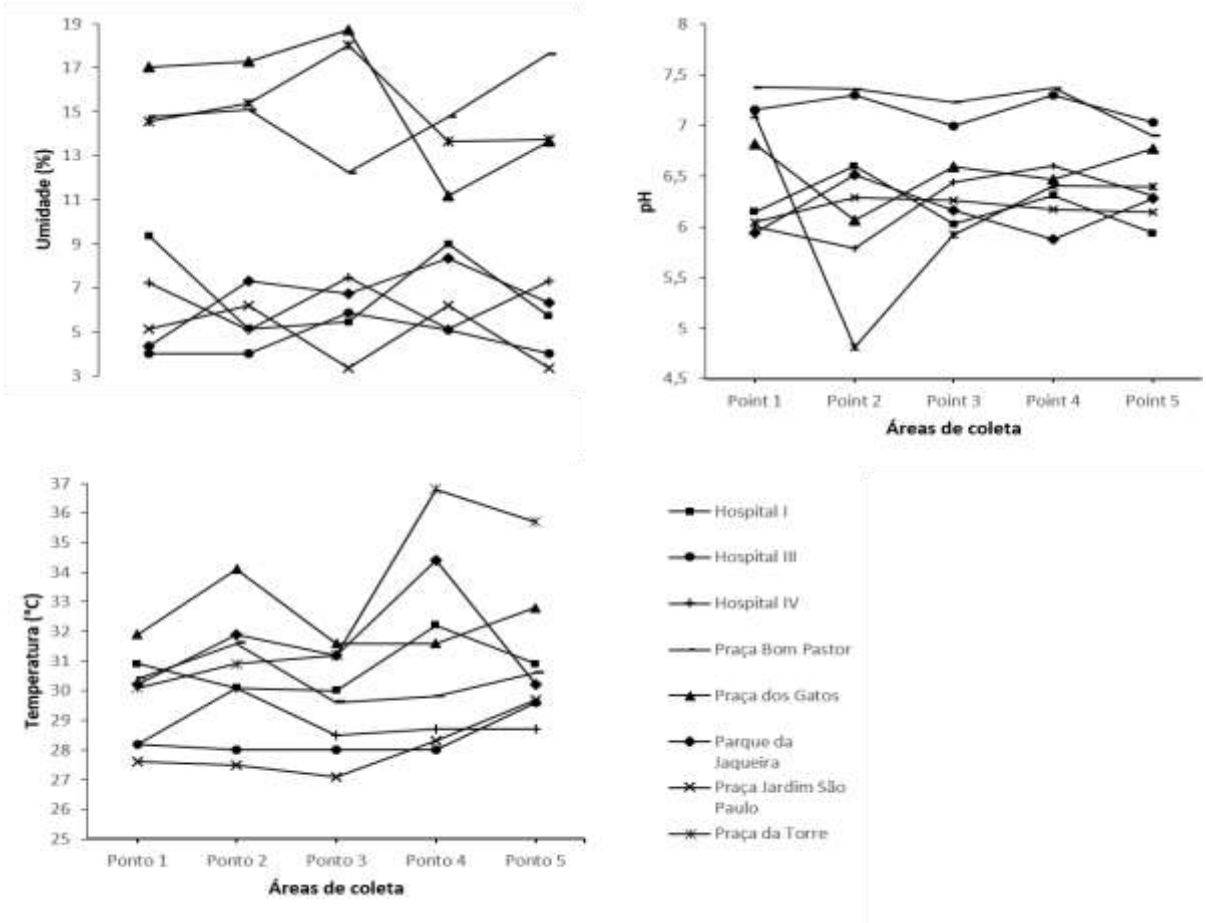


Figura. 2. Características de umidade, temperatura e pH de amostras de solo positivas para *Toxoplasma gondii*.

Casos de toxoplasmose como consequência do contato com oocistos presentes no ambiente, já foram descritos em humanos e animais, o que evidencia um real problema de Saúde Única, pelo envolvimento da tríade epidemiológica: saúde humana, animal e ambiental [2 ,12,32,39,40]. A inter-relação epidemiológica das esferas urbana e rural demonstra a importância de conhecer e identificar áreas contaminadas em ambientes urbanos e rurais [6]. Em um estudo de Ferreira et al. [20] foi relatada uma ocorrência de 12,9% (8/62) de DNA de *T. gondii* em amostras de solo de propriedades hortícolas, um risco para hospedeiros suscetíveis. Os animais de fazenda também desempenham um papel importante na tríade epidemiológica; em um levantamento envolvendo ovinos e bovinos do estado de São Paulo, Brasil, a presença e viabilidade de oocistos de *T. gondii* no solo foram identificadas em áreas frequentadas por animais infectados [41].

Embora não tenha havido significância estatística nas variáveis físico-químicas entre amostras positivas e negativas, sabe-se que características ambientais podem influenciar na viabilidade de oocistos no solo. Ao avaliar as condições ambientais da região de estudo, observou-se que 30,8% (37/120) das amostras de solo apresentavam temperaturas entre 28,9 °C e 30,3 °C, e nessas condições os oocistos poderiam permanecer viáveis por até 107 dias [42].

Além da temperatura, é importante entender a umidade do solo e a localização geográfica da área, pois esses fatores têm um grande impacto na esporulação e sobrevivência dos oocistos [8]. Diante disso, a variável umidade do solo também foi investigada, obtendo-se uma variação de 6,18% a 18,04% nas áreas com amostras positivas. Com relação à prevalência de oocistos de *T. gondii* em solo com diferentes níveis de umidade, Maleki et al. [12] relataram uma ocorrência de 31% de oocistos para níveis de umidade do solo ≥ 76%, enquanto a ocorrência foi de 11% foi em um nível de umidade < 60%; portanto, quanto menor o valor da umidade, menor a prevalência de oocistos no ambiente. Oocistos expostos a condições de 19% de umidade relativa podem sobreviver por apenas 11 dias [8,43], demonstrando que sua capacidade de sobreviver em um ambiente é multifatorial e, mesmo com temperaturas adequadas, outras variáveis podem afetá-los.

Cong et al. [32], ao descreverem uma prevalência de 10,9% (230/2100) de DNA de *T. gondii* em amostras de solo de locais públicos na China, relataram a importância dos fatores ambientais, com os dados encontrados referentes a estações distintas,

características climáticas, região geográfica e tipo de solo. Na China, Du et al. [44] analisaram amostras de solo de parques públicos e encontraram uma prevalência de 17,8% (41/252), demonstrando que solo contaminado por oocistos de *T. gondii* apresenta risco real para animais e humanos.

A contaminação do solo por *T. gondii* já foi relatada como dependente da localização e estação do ano, sugerindo que variações sazonais e espaciais caracterizam um risco substancial para a ocorrência da doença [45]. Neste estudo, as amostras foram coletadas em março, final do verão e início do outono, e em outubro, início da primavera (Hemisfério Sul). Houve maior prevalência de locais com amostras positivas no mês de outubro. De acordo com a Agência Pernambucana de Águas e Clima, em outubro, a cidade do Recife apresentou temperaturas variando de 20,4 °C a 32,4 °C e umidade relativa mínima absoluta de 42% [46], condições favoráveis para a sobrevivência de *T. gondii* por longos períodos.

Dentro do mesmo local de coleta, foi possível observar pontos com amostras positivas e negativas para a presença de oocistos de *T. gondii*. É importante ressaltar que diferentes tipos de solo associados à frequência de eliminação de oocistos por gatos podem influenciar na sua distribuição [47]. Os gatos preferem usar as mesmas áreas para defecar, resultando em distribuição desigual de fezes e certas áreas onde os parasitos estão mais concentrados [28]. Nas áreas estudadas, observou-se que não havia barreiras que impedissem o acesso de cães e gatos aos parques infantis, que passam a ser áreas comuns para defecação excessiva desses animais.

A disseminação de oocistos também está relacionada à ação de vetores mecânicos como os anelídeos [26], cuja ocorrência também está associada às características do ambiente. Em regiões com climas amenos, os anelídeos são mais ativos na primavera e no outono, e algumas espécies são menos tolerantes a áreas de baixo pH, com um ótimo desenvolvimento em solos relativamente neutros (pH 5,5-8,5) [48]. Nosso estudo é consistente com essas observações, sendo registrados 91,6% dos pontos amostrados dentro da faixa ideal de permanência do anelídeo com possível contribuição deste no processo de disseminação do parasito.

5. Conclusão

A detecção molecular de *T. gondii* em parques, praças, universidades e áreas externas de hospitais mostrou que esses espaços públicos são potenciais fontes de infecção para humanos quando entram em contato com o solo dessas áreas. Ações precisam ser tomadas para o manejo de gatos errantes e educação sanitária é necessária para informar as pessoas sobre os perigos e ajudar a reduzir a contaminação ambiental com parasitos, bem como as taxas de infecção por toxoplasmose em humanos e animais suscetíveis.

Conflito de interesse

Os autores declaram que não têm interesses financeiros concorrentes conhecidos ou relacionamentos pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

Agradecimentos

Agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Referências

[1] F.T. Biderouni, S.J.S. Tabaei, M. Ghanimatdan, S.R. Shahrokhi, Prevalence maps and climate-based risk map of toxocariasis in Iran, Arch. Clin. Infect. Dis. 14 (2019). https://doi.org/10.5812/archcid.89272.

[2] K. Shapiro, L. Bahia-Oliveira, B. Dixon, A. Dumètre, L.A. de Wit, E. VanWormer, I. Villena, Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food, Food Waterborne Parasitol. 15 (2019). https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00049.

[3] F. Tamarozzi, P. Deplazes, A. Casulli, Reinventing the Wheel of Echinococcus granulosus sensu lato Transmission to Humans, Trends Parasitol. 36 (2020) 427–434. https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.02.004.

[4] J.A. Patz, T.K. Graczyk, N. Geller, A.Y. Vittor, Environmental Changes & Parasitic Diseases, Int. J. Parasitol. 30 (2000) 1395–1405. papers://44a5bfc5-03a8-49b9-9f07-1fbfe6b6320a/Paper/p844.

[5] J.G. Raicevic, I.N. Pavlovic, T.A. Galonja Coghill, Canine intestinal parasites as a potential source of soil contamination in the public areas of Kruševac, Serbia, J. Infect. Dev. Ctries. 15 (2021) 147–154. https://doi.org/10.3855/jidc.12694.

[6] J.P. Dubey, Toxoplasmosis of Animals and Humans, second ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2010.

[7] J.P. Dubey, E.G. Lago, S.M. Gennari, C. Su, J.L. Jones, Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology, 2012. https://doi.org/10.1017/S0031182012000765.

[8] C. Yan, L.J. Liang, K.Y. Zheng, X.Q. Zhu, Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii*, Parasites and Vectors. 9 (2016) 1–7. https://doi.org/10.1186/s13071-016-1432-6.

[9] Frenkel, J. K., Ruiz, A., & Chinchilla, M. (1975). Soil survival of toxoplasma oocysts in Kansas and Costa Rica. The American journal of tropical medicine and hygiene, 24(3), 439–443. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1975.24.439.

[10] D.S. Lindsay, J.P. Dubey, Long-term survival of *Toxoplasma gondii* sporulated oocysts in seawater, J. Parasitol. 95 (2009) 1019–1020. https://doi.org/10.1645/GE-1919.1.

[11] M. Lélu, I. Villena, M.L. Dardé, D. Aubert, R. Geers, E. Dupuis, F. Marnef, M.L. Poulle, C. Gotteland, A. Dumètre, E. Gilot-Fromonta, Quantitative estimation of the viability of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil, Appl. Environ. Microbiol. 78 (2012) 5127–5132. https://doi.org/10.1128/AEM.00246-12.

[12] B. Maleki, N. Ahmadi, M. Olfatifar, M. Gorgipour, A. Taghipour, A. Abdoli, A. Khorshidi, M. Foroutan, A. Mirzapour, Toxoplasma oocysts in the soil of public places worldwide: A systematic review and meta-Analysis, Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 115 (2021) 471–481. https://doi.org/10.1093/trstmh/traa133.

[13] H. Deng, K.E. Exel, A. Swart, A.A. Bonačić Marinović, C. Dam-Deisz, J.W.B. van der Giessen, M. Opsteegh, Digging into *Toxoplasma gondii* infections via soil: A quantitative microbial risk assessment approach, Sci. Total Environ. 755 (2021). https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143232.

[14] P. Kingsley, E.M. Taylor, One Health: Competing perspectives in an emerging field, Parasitology. 144 (2017) 7–14. https://doi.org/10.1017/S0031182015001845.

[15] J.N.S. Eisenberg, M.A. Desai, K. Levy, S.J. Bates, S. Liang, K. Naumoff, J.C. Scott, Environmental determinants of infectious disease: A framework for tracking causal links and guiding public health research, Environ. Health Perspect. 115 (2007) 1216–1223. https://doi.org/10.1289/ehp.9806.

[16] H.A. Shah, P. Huxley, J. Elmes, K.A. Murray, Agricultural land-uses consistently exacerbate infectious disease risks in Southeast Asia, Nat. Commun. 10 (2019). https://doi.org/10.1038/s41467-019-12333-z.

[17] D.J. Speers, Clinical applications of molecular biology for infectious diseases., Clin. Biochem. Rev. 27 (2006) 39–51. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16886046%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1390794.

[18] A. Dumètre, M.L. Dardé, How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples?, FEMS Microbiol. Rev. 27 (2003) 651–661. https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00071-8.

[19] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, Cidades e estados Pernambuco. https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pe/recife.html. (accessed 20 January 2021).

[20] F.P. Ferreira, E.T. Caldart, R.L. Freire, R. Mitsuka-Breganó, F.M. de Freitas, A.C. Miura, M. Mareze, F.D.C. Martins, M.R. Urbano, A.L. Seifert, I.T. Navarro, The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens, Rev. Bras. Parasitol. Vet. 27 (2018) 327–337. https://doi.org/10.1590/s1984-296120180050.

[21] A.L. Sheather, The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a floatation technique, J. Comp. Pathol. Ther. 36 (1923) 266–275. https://doi.org/10.1016/s0368-1742(23)80052-2.

[22] B. Wells, H. Shaw, G. Innocent, S. Guido, E. Hotchkiss, M. Parigi, M. Opsteegh, J. Green, S. Gillespie, E.A. Innes, F. Katzer. Molecular detection of *Toxoplasma gondii* in water samples from Scotland and a comparison between the 529bp real-time PCR and ITS1 nested PCR, Water Res. 87 (2015) 175–181. https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.015

[23] C. Su, E.K. Shwab, P. Zhou, X.Q. Zhu, J.P. Dubey, Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*, Parasitology. 137 (2010) 1–11. https://doi.org/10.1017/S0031182009991065.

[24] G.K. Donagema, D.V.B. de Campos, S.B. Calderano, W.G. Teixeira, J.H.M. Viana, Manual de métodos de análise de solo, Embrapa Solos-Documentos (INFOTECA-E). (2011).

[25] I.B.M. Sampaio, Estatística aplicada à experimentação animal, quarta edição. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2015.

[26] J.P. Dubey, History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*, Int. J. Parasitol. 39 (2009) 877–882. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.01.005.

[27] H.A. Dabritz, P.A. Conrad, Cats and toxoplasma: Implications for public health, Zoonoses Public Health. 57 (2010) 34–52. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01273.x.

[28] E. Afonso, M. Lemoine, M.L. Poulle, M.C. Ravat, S. Romand, P. Thulliez, I. Villena, D. Aubert, M. Rabilloud, B. Riche, E. Gilot-Fromont, Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area, Int. J. Parasitol. 38 (2008) 1017–1023. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.01.004.

[29] D.C. Parra, T.L. McKenzie, I.C. Ribeiro, A.A.F. Hino, M. Dreisinger, K. Coniglio, M. Munk, R.C. Brownson, M. Pratt, C.M. Hoehner, E.J. Simoes, Assessing physical activity in public parks in Brazil using systematic observation, Am. J. Public Health. 100 (2010) 1420–1426. https://doi.org/10.2105/AJPH.2009.181230.

[30] D.C. Lima, J.D.M. de Almeida, K.P.P. Marques, T.V. de Lima, C.J.M. de Castilho, A distribuição espacial do Programa Academia da Cidade , em Recife / Brasil, Mov. Sociais E Dinâmicas Espac. (2012) 153–165.

[31] T.R. Santos, C.M. Nunes, M.C. Luvizotto, A.B. Moura, W.D. Lopes, A.J. Costa, K.D. Bresciani. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples from public schools. Vet Parasitol. 171 (2010) 53-7. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.045.

[32] W. Cong, N.Z. Zhang, R.S. Hu, F.C. Zou, Y. Zou, W.Y. Zhong, J.J. Wu, C.J. Fallaize, X.Q. Zhu, H.M. Elsheikha, Prevalence, risk factors and genotype distribution

of *Toxoplasma gondii* DNA in soil in China, Ecotoxicol. Environ. Saf. 189 (2020) 109999. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109999.

[33] V.C.C. Dattoli, R. V. Veiga, S.S. Cunha, L. Pontes-De-Carvalho, M.L. Barreto, N.M. Alcantara-Neves, Oocyst ingestion as an important transmission route of *Toxoplasma gondii* in Brazilian Urban children, J. Parasitol. 97 (2011) 1080–1084. https://doi.org/10.1645/GE-2836.1.

[34] F.D.M. Francisco, S.L.P. De Souza, S.M. Gennari, S.R. Pinheiro, V. Muradian, R.M. Soares, Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil, Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 48 (2006) 167–170. https://doi.org/10.1590/S0036-46652006000300009.

[35] T.R. Santos, A.J. Costa, G.H. Toniollo, M.C.R. Luvizotto, A.H. Benetti, R.R. Santos, D.H. Matta, W.D.Z. Lopes, J.A. Oliveira, G.P. Oliveira, Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dairy cattle, dogs, and humans from the Jauru micro-region, Mato Grosso state, Brazil, Vet. Parasitol. 161 (2009) 324–326. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.01.017.

[36] R.A.L. Coêlho, M. Kobayashi, L.B. Carvalho, Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil, Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 45 (2003) 229–231. https://doi.org/10.1590/S0036-46652003000400011.

[37] S.A. Fard, A. Khajeh, A. Khosravi, A. Mirshekar, S. Masoumi, F. Tabasi, T. Hassanzadeh, M.M. Mortazavi, Fulminant and diffuse cerebral toxoplasmosis as the first manifestation of hiv infection: A case presentation and review of the literature, Am. J. Case Rep. 21 (2020). https://doi.org/10.12659/AJCR.919624.

[38] C.A. Muñoz-Zanzi, P. Fry, B. Lesina, D. Hill, *Toxoplasma gondii* Oocyst-specific antibodies and source of infection, Emerg. Infect. Dis. 16 (2010) 1591–1593. https://doi.org/10.3201/eid1610.091674.

[39] B. Haghparast-Kenari, S. Sarvi, M. Sharif, E. Ahmadpour, S.A. Hosseini, A. Daryani, Isolation and genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* based on GRA6 gene from environmental soil samples in Mazandaran province, North of Iran, Iran. J. Parasitol. 15 (2020) 158–167. https://doi.org/10.18502/ijpa.v15i2.3297.

[40] J.P. Dubey. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures, J Parasitol. 84 (1998) 862-865. http://www.jstor.org/stable/3284606.

[41] P.S. Felicio, E.M.C. Villalobos, E.M.C.C.S.H. Lara, E.M.S. Cunha, P.R. Carvalho, D.P. Chiebao, F.H.L. Gabriel, A.F.C. Nassar, A.H.C. Nogueira, L.H. Okuda, E.C. Marques, M.E. Genovez. Eco-epidemiology of toxoplasmosis in ruminant and the experimental model evidence from mice bioassay for transmission of infection starting of contaminated soil samples confirmed by polymerase chain reaction (PCR) and indirect immunofluorescence reaction (RIFI) techniques diagnostic. Glob Vet. 6 (2011) 78-90.

[42] J.P. Dubey. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures, J Parasitol. 84 (1998) 862-865. http://www.jstor.org/stable/3284606.

[43] J.K. Frenkel, J.P. Dubey, Toxoplasmosis and its prevention in cats and man, J. Infect. Dis. 126 (1972) 664–673. https://doi.org/10.1093/infdis/126.6.664.

[44] F. Du, H.L. Feng, H. Nie, P. Tu, Q.L. Zhang, M. Hu, Y.Q. Zhou, J.L. Zhao. Survey on the contamination of *Toxoplasma gondii* oocysts in the soil of public parks of

Wuhan, China. Vet. Parasitol. 184 (2012) 141-146. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.08.025.

[45] L.A. de Wit, A.M. Kilpatrick, E. VanWormer, D.A. Croll, B.R. Tershy, M. Kim, K. Shapiro, Seasonal and spatial variation in *Toxoplasma gondii* contamination in soil in urban public spaces in California, United States, Zoonoses Public Health. 67 (2020) 70–78. https://doi.org/10.1111/zph.12656.

[46] GOVERNO DO ESTADO DE PERNAMBUCO, Boletim do clima, 03 (2015) 1–27. http://www.apac.pe.gov.br/.

[47] C. Gotteland, E. Gilot-Fromont, D. Aubert, M.L. Poulle, E. Dupuis, M.L. Dardé, M.A. Forin-Wiart, M. Rabilloud, B. Riche, I. Villena, Spatial distribution of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil in a rural area: Influence of cats and land use, Vet. Parasitol. 205 (2014) 629–637. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.003.

[48] N.C. Brady, R.R. Weil, Elementos da natureza e propriedades dos solos, Bookman, Porto Alegre, 2009.

8. CAPÍTULO 2

Artigo publicado no periódico: Transboundary and Emerging Diseases

Fator de Impacto: 4.521

DOI: https://doi.org/10.1111/tbed.14705

Detecção de oocistos de *Toxoplasma gondii* em solo e mapeamento de risco em ambiente insular no Nordeste do Brasil

Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira[1*]; Renata Pimentel Bandeira de Melo[2]; Umberto Diego Rodrigues de Oliveira[3]; Fernando Jorge Rodrigues Magalhães[4]; Rivaldo José Ferreira Junior[4]; Muller Ribeiro Andrade[5]; Rinaldo Aparecido Mota[2]

[1] Programa de Pós-Graduação Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil
[2] Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil
[3] Programa de Pós-Graduação Ecologia, Teoria, Aplicações e Valores, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil
[4] Unidade de Vigilância Sanitária do Distrito de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasill
[5] Setor de Parasitologia - Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde; Universidade Federal de Alagoas, Brasil
*** Autor correspondente:**pollyanne_raysa@hotmail.com

Correspondente:

Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.
E-mail: pollyanne_raysa@hotmail.com

Resumo

A toxoplasmose é uma doença infecciosa emergente e reemergente que pode ser transmitida através de um ambiente contaminado. A contaminação ambiental é um problema de saúde emergencial, e determinar sua ocorrência é fundamental para uma abordagem de Saúde Única. Neste estudo, abordamos a extensão da contaminação ambiental e a viabilidade de oocistos de *Toxoplasma gondii* em solos de diferentes ambientes na Ilha de Fernando de Noronha, Brasil. Além disso, realizamos modelagem de distribuição de espécies para prever a adequação ambiental à persistência do coccídio na área estudada. Amostras de solo foram coletadas em 14 bairros da Ilha e nas quatro praças principais, totalizando 95 amostras de solo (cinco amostras por local). As amostras foram analisadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) quanto à presença do gene 18S ribossomal DNA do protozoário Apicomplexa, seguida de sequenciamento genético. Obtivemos 4,2% (4/95) amostras de solo positivas com 100% de similaridade para sequências de *T. gondii*. Dois dos quatro sítios positivos na PCR mostraram viabilidade de *T. gondii* oocistos através da técnica de bioensaio em camundongos.

Como resultado da aplicação da modelagem de distribuição de espécies, observou-se adequação ambiental para o coccídio em toda a Ilha. Os resultados confirmam a contaminação do solo neste ambiente insular por oocistos de *T. gondii* e a adequação ambiental pela aplicação de modelagem. Esses achados alertam para a possibilidade de infecção em animais e humanos por solo contaminado, e para contaminação do ambiente marítimo além de recursos hídricos para consumo da população local

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma importante zoonose cosmopolita causada pelo coccídio *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório do filo Apicomplexa (Dubey, 1996) que possui três estágios morfológicos infecciosos distintos: o estágio de taquizoíto, o estágio de bradizoíto e o estágio de oocisto (Dubey et al., 1998). *T. gondii* (excretado pelos hospedeiros definitivos da família *Felidae*) é um estágio ambientalmente resistente do protozoário e desempenha um papel importante na epidemiologia da toxoplasmose, principalmente considerando a ocorrência de *T. gondii* em diferentes nichos ecológicos, incluindo espécies terrestres e marinhas (Dubey, 2010; Dubey et al., 2020; M.A. Miller et al., 2004; Schott et al., 2016).

Estudos realizados para determinar o nível de contaminação do solo por *T. gondii* demonstraram a ocorrência deste parasito no ambiente rural (Ajmal et al., 2013; Cong et al.,2020; Felicio et al.,2011; Simon et al., 2017) e ambientes urbanos, como parques públicos (Ajmal et al.,2013; Cong et al.,2020; Deng et al.,2021; Du et al.,2012; Wit et al.,2019; Wuet al., 2017) além de escolas. Esses locais são considerados zonas de risco para as crianças contraírem a infecção devido aos altos níveis de contaminação ambiental (Cong et al., 2020; Santos et al., 2010

Condições ambientais adequadas são necessárias para que um patógeno se estabeleça em uma nova população para causar um surto ou até mesmo uma epidemia (Shakibaa et al., 2021). Assim, a abordagem de modelagem de distribuição de espécies (SDM) tornou-se um dos métodos mais utilizados no mapeamento de risco de doenças (Johnson et al., 2019), estudado em medicina veterinária, epidemiologia espacial e ecoepidemiologia (Escobar, 2020; Escobar & Craft, 2016). O MDE foi aplicada em estudos de transmissão de microrganismos através de vários táxons e naqueles que avaliam o comportamento de vetores do gênero *Culicoides*

(Sloyer et al., 2019), flebotomíneos como *Nyssomyia intermedia* e *Lutzomyia longipalpis* (Fonseca et al., 2021). O SDM também tem sido aplicado na distribuição de agentes infecciosos como *Bacillus anthracis* (Barro et al., 2016) e *Leishmania major* (Chalghaf et al., 2016).

A presença de um agente infeccioso no ambiente pode gerar desequilíbrio sistêmico, desencadeando danos ecológicos (Destoumieux-Garzón et al., 2018), que podem ser potencializados em ecossistemas insulares (Ahn et al., 2012; Darrell et al., 1964; Deem et al., 2010; Work et al., 2000, 2002). Nas Ilhas Galápagos, um arquipélago vulcânico no Oceano Pacífico, *T. gondii* foi registrado na avifauna marinha em ilhas com e sem gatos domésticos (Verant et al., 2014). No arquipélago brasileiro de Fernando de Noronha, há registros da ocorrência de *T. gondii* em animais (Costa et al., 2012; Dubey et al., 2010; Lima et al., 2019; Magalhães et al., 2016; Magalhães et al., 2016; Magalhães et al., 2017; Melo et al., 2016; Silva et al., 2017) e humanos (Carvalho et al., 2021), entretanto, ainda não há evidências de contaminação do solo por oocistos.

Objetivou-se neste estudo avaliar a ocorrência e viabilidade de oocistos de *T. gondii* no solo dos bairros e praças da Ilha de Fernando de Noronha, além de realizar uma pesquisa de adequação ambiental do local para permanência do coccídio, utilizando modelos preditivos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo e desenho experimental

Este estudo foi realizado no Arquipélago de Fernando de Noronha (-32,433500 W e -3,860389 S) que ocupa uma área total de 26 km, localizado no Oceano Atlântico Sul Equatorial, a 545 km da capital do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil (Wildner & Ferreira, 2012).

Foi realizado um estudo transversal com amostragem não probabilística. As coletas de amostras foram realizadas nos 14 bairros: Floresta Velha, Floresta Nova, Vila dos Três Paus, Vila da Basinha, Vila do Sueste (estrada nova no Sueste e estrada antiga no Sueste), Vila dos Remédios, Porto de Santo Antônio, Vila do Boldro, Vila da Quixaba, Vila do DPV, Vila da Coréia; Vila do Trinta, Vila da Conceição e Vila da Vacaria, totalizando 15 localidades. As quatro praças principais também foram

amostradas (Praça Trinta, Praça Flamboyant, Praça Biblioteca Trinta, Praça Centro Convivência Trinta e Praça São Miguel), e cinco amostras de solo (100 g cada) foram coletadas de cada área, resultando em 95 amostras.

A recuperação e esporulação de oocistos de *T. gondii* do solo amostrado foram realizadas conforme descrito por Oliveira et al. (2021). Uma alíquota do produto resultante do processo de recuperação foi armazenada a -20°C e, em seguida, destinada à extração de DNA, e uma segunda alíquota foi utilizada imediatamente para o bioensaio em camundongos.

2.2. Bioensaio em camundongos

Para estudar a viabilidade de oocistos de *T. gondii* em amostras de solo, um pool de 200 µl de cada área amostrada foi ressuspenso em 1 ml de solução salina com antibiótico (1000 UI de penicilina e 100 µg de estreptomicina por ml), e um volume de 400 µl foi administrado oralmente por gavagem em dois camundongos Swiss Webster (25-30 g) (200 µl para cada) (Fritz et al., 2012). Os camundongos foram observados diariamente quanto a sinais clínicos de toxoplasmose e sacrificados após 45 dias. Para confirmar a infecção, amostras de sangue foram coletadas pela veia submandibular para obtenção de soro para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* IgG por ensaio de anticorpo fluorescente indireto (cut-off ≥ 16) conforme descrito por Camargo (1964). Além disso, amostras de cérebro foram coletadas para analisar a presença de DNA de *T. gondii* usando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (Su et al., 2010).

2.3. Análises moleculares

As amostras recuperadas do solo foram submetidas a 10 ciclos de congelamento em nitrogênio líquido e descongelamento em banho-maria a 56°C (Wellset al., 2015). Para a extração do DNA utilizou-se o kit NucleoSpin Tissue® (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha) seguindo o protocolo do fabricante com as seguintes modificações: as amostras foram incubadas em tampão de lise (T1) e Proteinase K a 56°C por 16 h. Quanto aos fragmentos cerebrais, as amostras foram maceradas e pesadas (25 mg) e, em seguida, a extração do DNA utilizando o kit Wizard® GenomicDNA Purification (Promega, Madison, WI, EUA) conforme protocolo do fabricante. O DNA foi eluído em 50 µl de Tampão EB, analisado por

espectrofotometria (Multiskan GO, Thermo Scientific) e a concentração foi ajustada para 100 ng/µl.

Amostras de DNA foram submetidas a nested PCR para amplificar o gene 18Sribosomal DNA (rDNA) de parasitas apicomplexas de acordo com Su et al. (2010). A primeira reação de PCR foi realizada com os primers externos Tg18s48F (5'-CCATGCATGTCTAAGTATAAGC-3') e Tg18s359R(5'GTTACCCGTCACTGCCAC3') os primers internos Tg18s58F (5'-CTAAGTATAAGCTTTTATACGGC-3') e Tg18s348R (5'-seguidos por 30 ciclos para primeira reação e 35 ciclos para nested PCR de desnaturação a 94°C por 30 s, hibridização a 57°C por 30 s e extensão de 72°C por 30 s, seguido por uma extensão final a 72°C por 1 min. As reações de PCR foram realizadas com um volume final de 12,5 µl, contendo 0,5 µl de cada primer a 2 µM, 6,25 µl de GoTaq Green Master Mix (Promega), 2,75 µl de água ultrapura e 2,5 µl de DNA (Su et al., 2010). O produto amplificado de aproximadamente 300 pares de bases foi detectado por eletroforese em gel de agarose 2%, corado com BlueGreen (LGC Biotecnologia) e foto -documentado (L-PIX EX, Loccus Biotecnologia).

As bandas de gel de amplicons positivos foram purificadas usando o kit QIAquick gelextraction (Qiagen, Valencia, CA, EUA) de acordo com o protocolo do fabricante. Os produtos foram sequenciados bidirecionalmente usando o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (AppliedBiosystems, Foster City, CA) seguindo as instruções do fabricante. A reação de sequenciamento foi realizada por separação eletroforética capilar no sequenciador ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), utilizando os oligonucleotídeos internos. A análise das sequências foi realizada com o software Staden Package 4.1.4 (Gene CodesCorporation, EUA), e as sequências foram comparadas com o BasicAlignment Search Tools (BLAST) do National Center forBiotechnology Information (www.ncbi.nlm. nih.gov) para identificar o protozoário.

2.4. Análises físicas e químicas do solo

Para a análise físico-químicas das amostras de solo, foram escolhidas as seguintes variáveis associadas à persistência do oocisto de *T. gondi* no solo: umidade atual, pH e temperatura, conforme descrito no manual da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (Donagemma et al., 2011).

2.5. Distribuição espacial e ambiental

2.5.1. Respostas ambientais (registros de ocorrência)

Foi realizada uma extensa busca na literatura especializada (Scopus, PubMed e Google Scholar), utilizando os termos "*Toxoplasma gondii",* "solo", "coordenadas". Selecionamos apenas os artigos que forneceram informações detalhadas sobre o processo de coleta e identificação do oocisto de *T. gondii* no solo para garantir a correta identificação taxonômica. Para garantir a precisão na localização dos registros de *T. gondii*, selecionamos apenas as ocorrências com geolocalização (latitude e longitude) ou com informações detalhadas sobre o local de coleta (Material Suplementar 1).

2.5.2. Variáveis preditoras (variáveis ambientais)

Para estimar a adequação ambiental para o oocisto de *T. gondii*, usamos as variáveis climáticas "temperatura média" e "precipitação média" obtidas do banco de dados climático Worldclim (Hijmans et al., 2005) com resolução de ~ 16 km^2. Para baixar essas variáveis climáticas, usamos o pacote rbioclim (Exposito-Alonso, 2017) (Material Suplementar 2), disponível para a linguagem computacional Rstudio (R Core Team., 2020).

A estimativa de adequação do solo utilizou as variáveis de carbono orgânico e densidade do solo disponíveis no banco de dados 'Soilgrid' (Hengl et al., 2017). 2). As variáveis do solo foram redimensionadas para a mesma resolução que as variáveis climáticas (~16 km^2) usando a função "reamostragem" e o método bilinear do pacote raster (Hijmans et al., 2015).

Essas variáveis são comumente aplicadas para estimar o risco de infecção (Escobar, 2020), estão intimamente relacionadas com a sobrevivência do oocisto de *T. gondii* (Berrouch et al., 2020). Além de interferir na permanência do patógeno, essas variáveis contribuem direta e indiretamente para a disseminação de oocistos de *T. gondii* no ambiente (Dumètre & Dardé, 2003).

Para estimar a faixa de variação das respostas ambientais em relação ao clima e solo, extraímos os valores de cada variável preditora nos locais de ocorrência de oocisto de *T. gondii*.

2.5.3. Aplicação da modelagem de distribuição de espécies

Usamos a abordagem de modelagem de distribuição de espécies para avaliar áreas com adequação ambiental (climática) e de solo para os oocistos de *T. gondii* por meio de quatro algoritmos diferentes: Bioclim (BIO; Hijmans et al., 2017), modelos lineares generalizados (GLM; R Core Team, 2018), modelos viciantes generalizados (GAM; Hastie, 2018) e máxima entropia (Maxent) nas versões simples e padrão — MXTs e MXTd (Phillips, 2017). Todos os modelos foram construídos usando o pacote ENMTML (Andrade et al., 2020), e cada algoritmo estima a adequação da alocação (célula, pixel) de forma diferente (Informações de Apoio 3).

Para criar uma área de calibração (área acessível) que representasse a maior parte da área conhecida da distribuição da espécie (Barve et al., 2011), criamos um buffer de 30 km^2 ao redor de todos os registros de ocorrência. Os modelos foram calibrados na área acessível pelo método de particionamento de dados bootstrap (100 réplicas), sendo 70% das ocorrências utilizadas para treinar e 30% para testar os modelos, criando pseudo-ausências fora da área acessível e limiar com valor de adequação que maximiza Estatística de Habilidade Verdadeira (TSS). Os melhores modelos de cada algoritmo foram selecionados de acordo com a área sob a curva das características de operação do receptor (AUC) e projetados para toda a extensão terrestre, embora nosso foco seja o Arquipélago de Fernando de Noronha (Material Complementar 4).

Cada previsão de ensemble, através da abordagem de consenso, é baseada na ideia de que entre vários modelos diferentes, cada um pode apresentar tanto um ‘sinal’ das distribuições reais quanto um “ruído”, causado por erros e incertezas. A combinação de vários modelos resultará em previsões mais precisas do que cada modelo individual (Araújo & New, 2007; Marmion et al., 2009; Hao et al., 2019), principalmente quando o número de registros de ocorrência é reduzido (Liu et al., 2019). Essa abordagem também é indicada para quando o número de registros de ocorrência é reduzido (Haoet al., 2019).

Os modelos finais foram construídos a partir da abordagem ensemble usando a opção ‘PCA_SUP’ do pacote ENMTML que realizou uma análise de componentes principais com a adequação dos melhores algoritmos baseados na métrica TSS.

3. RESULTADOS

3.1. Identificação e viabilidade de oocistos de *T. gondii* em amostras de solo

Este estudo revelou que amostras de solo coletadas na Vila do DPV, Vila Floresta Velha, Praça da Trinta e Praça Flamboyant, ou seja, aquelas coletadas em áreas públicas de lazer e locais próximos a residências, estavam contaminadas. Das amostras analisadas, 4,2% (4/95) foram positivas na PCR (Figura 1) para a presença do gene 18S rDNA de protozoários Apicomplexa, e a análise de sequenciamento indicou 100% de semelhança com *T. gondii* (números de referência de KX 008024.1 a KX008033. 1).

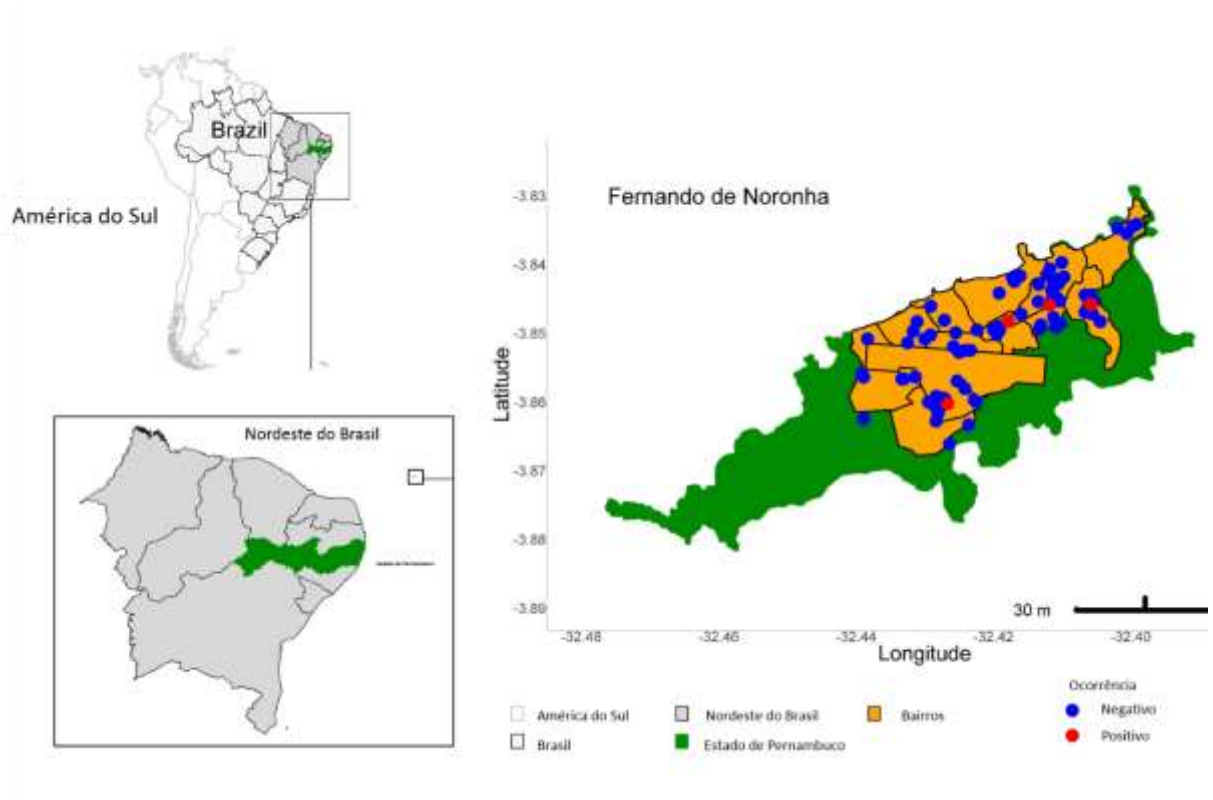


FIGURA 1. Distribuição das áreas amostradas na Ilha de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil.

Em relação ao bioensaio com camundongos, a viabilidade de oocistos foi detectada em amostras de solo de duas áreas: Vila do DPV e Vila Floresta Velha. Não houve mortes ou sinais clínicos nos camundongos inoculados durante os 45 dias de monitoramento. Testes sorológicos indicaram um animal soropositivo no grupo Vila do DPV com título de 1:64, e dois no grupo Vila Floresta Velha com títulos de 1:32 e

1:128. Os cérebros dos três camundongos soropositivos foram PCR-positivos para o DNA do parasito Apicomplexa com 100% de semelhança com *T. gondii* no sequenciamento genético.

Nas análises físico-químicas do solo, as amostras da Vila da Floresta Velha apresentaram padrão de temperatura que variou de 26,2 a 29,1°C e pH entre 6,82 e 7,81, enquanto na Vila do DPV foi observado de 27,2 a 28,6°C e de 6,5 a 7,61 pH. Quanto à umidade, esta foi de 23,7%–62,6% na Vila do DPV e 16,1%–45,7% na Vila da Floresta Velha.

3.2. Resposta ambiental e variáveis preditoras

Na avaliação da distribuição espacial e ambiental, foram obtidos 62 registros de ocorrência de oocistos de *T. gondii* no solo em todo o mundo (Figura 2 e Material Suplementar 2) com valores climáticos de temperatura variando de -5,1 a 27,8°C, precipitação entre 60mm^3 e 1949mm^3, valores de densidade aparente do solo variando de 92 g/mL a 149 g/mL e valores de densidade de carbono orgânico do solo variando de 38g kg^{-1} a 1318g kg^{-1} (Figura 3). Para a ilha de Fernando de Noronha, os valores climáticos de temperatura variaram de 26,8 a 27°C, pluviosidade entre 1344 e 1354mm^3, valores de densidade aparente do solo variaram de 126 a 130 g/mL e valores de carbono orgânico do solo variaram de 309 a 535 g kg.

FIGURA 2. Distribuição espacial de oocistos de *T. gondii*. Registros positivos da ocorrência de oocistos de *T. gondii* no solo em todo o mundo são representados.

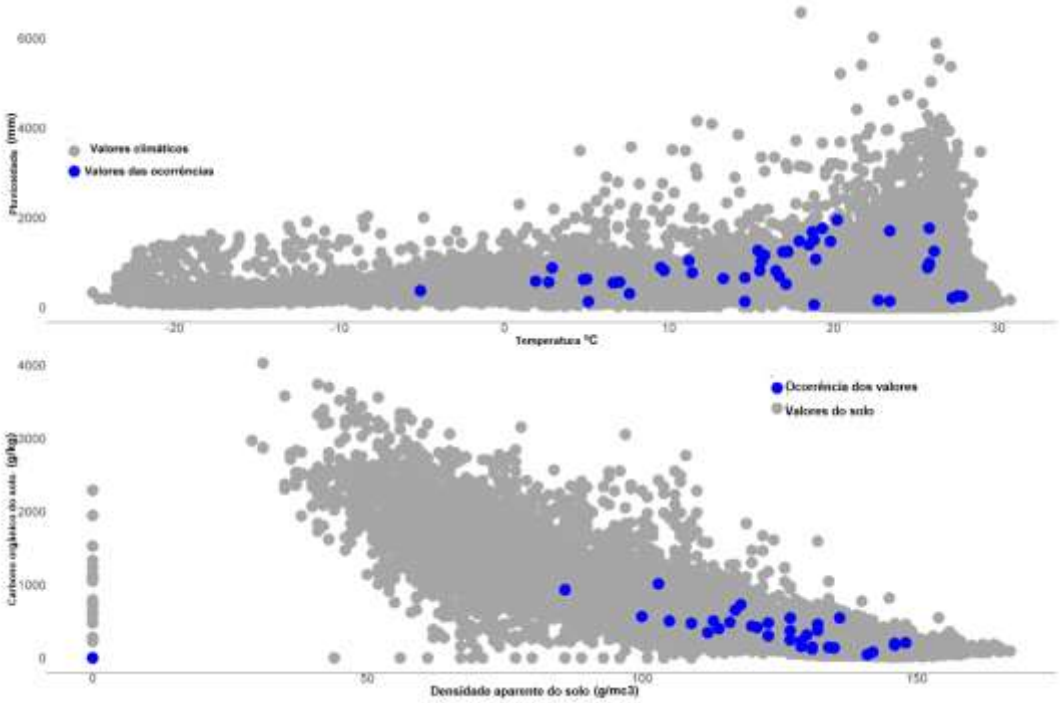


FIGURA 3. Influência da precipitação e dos níveis de carbono orgânico do solo na variação ambiental da presença de oocistos de *T. gondii* no solo. Valores climáticos e de solo dados para todos os locais de coleta de oocistos de *T. gondii.*

3.3. Modelos de distribuição de espécies

Os modelos finais de clima e solo tiveram alto poder preditivo de acordo com os valores de TSS (0,88 e 0,97) (Material Suplementar 3) e mostraram adequação de clima e solo em toda a extensão territorial da Ilha (Figuras 4 e 5).

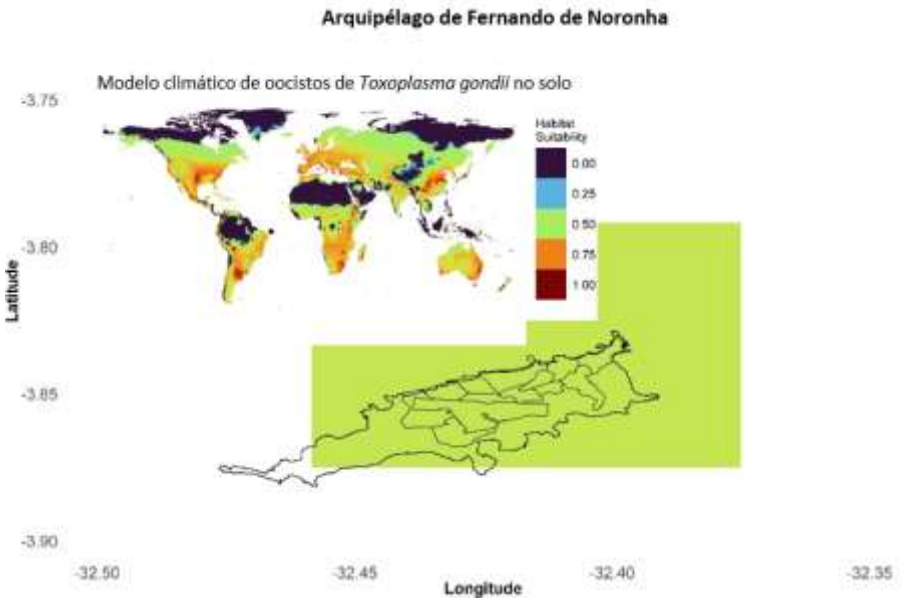


FIGURA 4. Modelo de distribuição baseado em variáveis climáticas. Modelo de distribuição do oocisto de *Toxoplasma gondii* baseado em variáveis climáticas (temperatura média e precipitação média). Acima: o modelo projetado para toda a extensão terrestre com valores de adequação do habitat entre 0 e 1 e a localização da área de interesse (ponto preto). Abaixo: destaque para a área de interesse (Arquipélago de Fernando de Noronha).

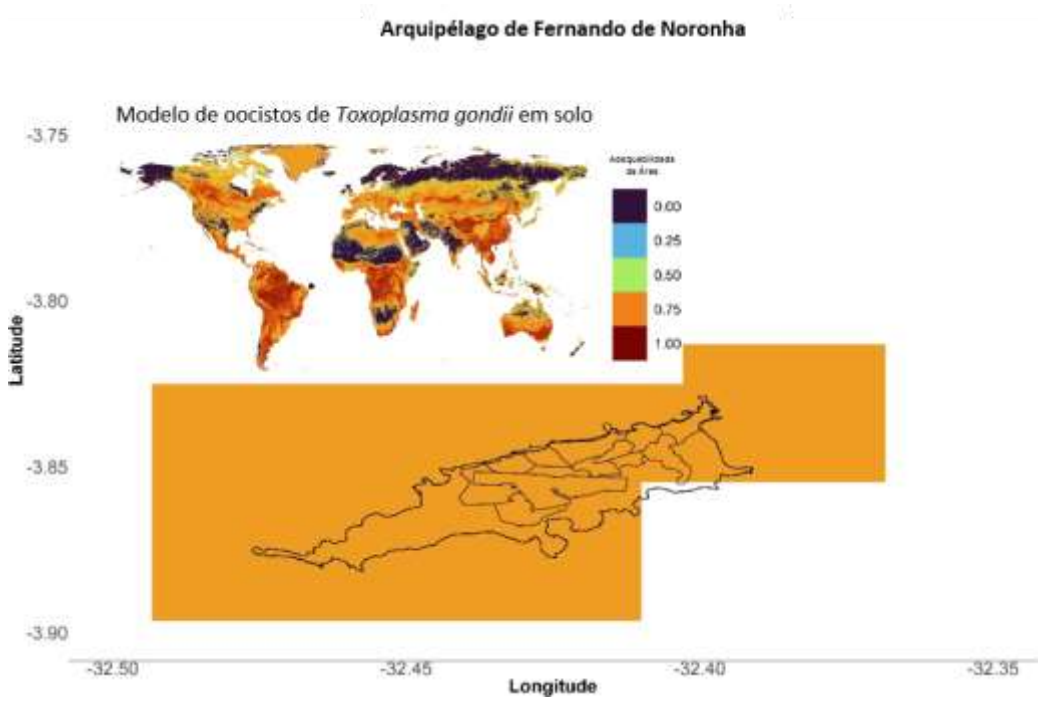


FIGURA 5. Modelo de distribuição baseado em variáveis do solo Modelo de distribuição do oocisto de *Toxoplasma gondii* baseado em variáveis do solo (densidade aparente e carbono orgânico do solo). Acima: o modelo projetado para toda a extensão terrestre com valores de adequação de habitat entre 0 e 1 e a localização da área de interesse (ponto preto). Abaixo: destaque para a área de interesse (Arquipélago de Fernando de Noronha).

4. DISCUSSÃO

Este é o primeiro registro da ocorrência de *T. gondii* em um dos elementos fundamentais da tríade epidemiológica da toxoplasmose humana na Ilha de Fernando de Noronha. As estimativas de cenários populacionais futuros associados à variabilidade climática ao longo dos anos sugerem que a maioria dos ambientes pode eventualmente ser contaminados por oocistos de *T. gondii* (Shapiro et al., 2019). Em

nosso estudo, oocistos de *T. gondii* foram detectados no solo de locais muito frequentados para lazer e em áreas residenciais. Atualmente, sabe-se que a ocorrência de toxoplasmose não é sinônimo de contato com gatos (*Felis catus*) (Cook et al., 2000; Deng et al., 2021). O manuseio e/ou contato com solo contaminado por oocistos é uma das principais fontes de infecção em humanos (Cook et al., 2000; Shapiro et al., 2019) e outros hospedeiros (Hamilton et al., 2014; Kakakhel et al., 2021).

Anticorpos anti-*T. gondii* em felinos da Ilha de Fernando de Noronha já foram relatados por Magalhães et al. (2017), cujos resultados indicaram que Vila Floresta Velha e Vila do DPV foram as regiões com maior número de gatos domésticos e ferais soropositivos. Esses achados estão de acordo com os resultados de nosso estudo, pois a presença e viabilidade de oocistos de *T. gondii* foram confirmadas em amostras de solo desses bairros, enfatizando a relação entre a presença de gatos e a contaminação ambiental.

A ocorrência de oocistos no solo tem estreita relação com a distribuição espacial dos felinos, e as características do solo podem interferir na sua manutenção (Awobode et al., 2020; Du et al., 2012). Em relação à pesquisa sorológica nos hospedeiros definitivos da Ilha, há registros de anticorpos anti-T. gondii com taxa de soroprevalência de 71,2% (248/348) e 54,7% (150/247) para gatos domésticos e gatos selvagens, respectivamente (Magalhães et al., 2017). Com relação aos estudos de caracterização molecular, o genótipo atípico (ToxoDB #146) e a cepa variante tipo II foram identificados em gatos selvagens (Melo et al., 2016; Silva et al., 2017). Em relação aos humanos, Carvalho et al.(2021) encontraram que 50,4% (172/341, intervalo de confiança de 95% [IC]: 45,2%–55,7%) dos habitantes tinham anticorpos anti-*T. gondii*, e o consumo de água de poço ou de chuva (odds ratio [OR]: 2,43, p=0,020 e o consumo de carne de caça (OR: 1,80, p=0,026) foram considerados os fatores de risco associados ao infecção.

Considerando as características ambientais, observou-se que as áreas de Vilas DPV e Floresta Velha apresentaram condições de temperatura adequadas para a persistência de oocistos de *T. gondii*, variando de 26,2 a 28,6°C. Quando depositados em solos em áreas sombreadas com condições adequadas de temperatura e umidade, os oocistos esporulados podem permanecer viáveis por até 1 ano (Yilmaz &

Hopkins, 1972). Em solos com temperaturas entre 23 e 29°C, a presença de oocistos *T. gondii* já foramdescritos com capacidade infectiva de até 117 dias (Dubey et al., 1970). Na Ilha regista-se uma temperatura média anual de 28°C (E. A. M. Lima, 2020), podendo este valor ser extrapolado para superfícies até 10 cm do solo (Dantas et al., 2014), demonstrando que a área de estudo possui condições de temperatura adequadas para manutenção de oocistos.

Estudo prévio realizado em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) como indicador biológico de contaminação ambiental já demonstrou o potencial de disseminação de oocistos no solo da Ilha de Fernando de Noronha; no entanto, não examinou a viabilidade de oocistos neste ambiente (Dubey et al., 2010; Magalhães, Silva, et al., 2016). Magalhães et al. (2016) avaliaram a prevalência de anti-*T. gondii* em galinhas que foi detectado em 88,4% (380/430; 84,6% –91,0%; 95% IC) dos animais. Outro achado interessante foi quanto aos fatores de riscos, sendo a ocorrência de anticorpos associada à presença de gatos domésticos e de hábitos ferais. Características intrínsecas do protozoário e de seu hospedeiro são fatores determinantes para a presença e persistência de oocistos no ambiente (Dubey, 2009). Naturalmente, áreas com densas populações de gatos contribuem para a contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*, com risco aumentado de infecção induzida por oocistos em humanos (Gerhold & Jessup, 2013). O aumento do número de gatos, hospedeiros definitivos que eliminam oocistos *T. gondii* (Dubey et al., 1970), é uma preocupação mundial, e sua presença está intrinsecamente associada à densidade populacional humana (Liberg et al., 2000).

Segundo dados do Centro de Vigilância Animal da Ilha, houve um aumento de 20,5% (470/390) na população de gatos domésticos e 49,1% (425/285) de gatos com hábitos ferais no período de 2013 a 2017. Os dados podem explicar a presença de oocistos na Praça Trinta e Praça Flamboyant. Os gatos selvagens circulam em uma área ainda maior do que os gatos domésticos (Horn et al., 2011) e, uma vez infectados, há maior chance de contaminação ambiental (Wit et al., 2019). Em outro estudo realizado na cidade de Richmond, Virgínia , EUA, observou-se que 81,5% dos gatos com hábitos ferais tinham potencial para passear em um ou mais locais de interesse, incluindo áreas públicas ou privadas (Taetzsch et al., 2018). A contaminação ambiental também pode estar associada à ação da chuva e de vetores

mecânicos que auxiliam na disseminação do agente no ambiente (Dumètre & Dardé, 2003).

Uma segunda eliminação de oocistos de *T. gondii* por felinos após a primo-infecção é considerada improvável (Dubey & Jones, 2008). A diversidade de genótipos atípicos e a possível reinfecção de gatos com estes podem facilitar a re-excreção de oocistos, devido a vários fatores de virulência, já descritos em camundongos (J. G. L. Costa et al., 2018; Jensen et al., 2015). Gatos domésticos submetidos a um estudo experimental foram capazes de eliminar oocistos quando expostos a um segundo desafio com uma nova cepa de *T. gondii* (Dubey, 1995).

O estudo sobre a diversidade genética de um agente infeccioso pode revelar maneiras de aperfeiçoar as políticas públicas e auxiliar no controle do avanço da enfermidade (Hosseini et al., 2022). Apesar de não ter sido possível a realização da análise genotípica devido à concentração de DNA insuficiente nas amostras, os autores não descartam a possibilidade de os oocistos do solo apresentarem o mesmo perfil de genótipos atípicos já identificados anteriormente no Arquipélago. A diversidade genética de cepas atípicas de *T. gondii* isoladas de hospedeiros definitivos (Melo et al., 2016; Silva et al., 2017) e intermediários (Dubey et al., 2010; Lima et al., 2019; Melo et al., 2020; Silva et al., 2017) na região estudada traz uma informações relevantes, considerando que o solo é uma das prováveis fontes de infecção para esses hospedeiros.

Para prever possíveis áreas contaminadas, aplicamos o modelo de distribuição de espécies. Microambientes úmidos e sombreados de florestas favorecem a sobrevivência de fases de vida livres de parasitas (Du et al., 2012), fator importante considerando que na área de estudo já existem relatos da ocorrência de infecção por *T. gondii* em animais silvestres e felino de hábito feral (Lima et. al., 2019; Melo et al., 2016), sugerindo uma possível contaminação das áreas florestais.

Embora o número de registros de ocorrência utilizados no processo de modelagem tenha sido reduzido, os modelos apresentaram valores elevados para as métricas de avaliação utilizadas (AUC, TSS). O uso de buffers em torno de registros de ocorrência para calibração de modelos reduz os riscos de extrapolação para novas áreas geográficas e condições ambientais (Machado-Stredel et al., 2021). A opção

ensemble permitiu a construção de modelos finais baseados nos principais componentes dos modelos de cada algoritmo (Andrade et al., 2020).

As variáveis temperatura, precipitação e carbono orgânico do solo estão intimamente relacionadas com a sobrevivência do oocisto de *T. gondii* (Berrouch et al., 2020) e podem influenciar na detecção do parasito (Lélu et al., 2011 Considerando as características do solo como fatores influenciadores no processo de esporulação e permanência dos oocistos de *T. gondii,* Gao et al. (2016) avaliaram amostras de solo da cidade de Harbin, China, quanto à presença de DNA de T. gondii, juntamente com a análise das propriedades físico-químicas do solo, como temperatura, umidade e matéria orgânica. Essas variáveis foram identificadas como fatores de grande influência na probabilidade de contaminação do solo por oocistos de T. gondii, e os resultados foram consistentes com os coeficientes de ganho de treinamento MaxEnt normalizados. Wit et ai. (2019) avaliaram áreas na Califórnia, EUA, e relataram que a contaminação do solo por T. gondii foi altamente dependente da localização e estação do ano, com maior ocorrência no outono e em áreas litorâneas, onde o registro de temperatura foi de 8 a 24°C.

Se considerarmos os registros de surtos de toxoplasmose humana por ingestão de oocistos do contato com solo contaminado entre 1960 e 2018 (Pinto-Ferreira et al., 2019) à luz dos resultados de adequação ambiental aqui apresentados, pode-se observar que nas áreas de focos (países da Europa, América e Ásia), há uma adequação ambiental para a persistência de coccídios, segundo a SDM. O mesmo ocorre na Ilha avaliada neste estudo, onde os modelos mostraram adequação ambiental em todo o seu território (Figuras 4 e 5). Assim, os resultados obtidos no modelo de adequação ambiental e a confirmação da viabilidade do oocisto presente no solo da ilha, somados à presença e ampla distribuição do hospedeiro definitivo, devem alertar para a possibilidade de disseminação da contaminação do meio terrestre para o aquático.

Embora os oocistos sejam depositados no solo por hospedeiros definitivos, a ocorrência de infecções em animais aquáticos demonstra o importante papel da transmissão pela água. Em algumas populações marinhas, a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* atinge até 98% (Dubey et al., 2003). Em aves marinhas de oito ilhas do Oceano Índico Ocidental, a prevalência foi de 16,8% (Poulle et al., 2021), sugerindo a

possibilidade de transporte e acúmulo de oocistos em áreas próximas à costa ou no mar (Miller et al., 2018).

Oocistos em águas marinhas podem contaminar os moluscos, e estes podem atuar como uma fonte potencial de infecção de *T. gondii* (Marino et al., 2019). a espécie utiliza a área para descanso, reprodução e cuidado parental e é altamente suscetível aos impactos ambientais que podem ocorrer (Júnior & Silva, 2020; Tischer et al., 2013). Diante disso, é importante investigar a presença e viabilidade de oocistos de *T. gondii* no solo desta Ilha, pois, além do risco que representam para os hospedeiros terrestres, podem ser fonte de contaminação do ambiente marinho.

5. CONCLUSÃO

Os resultados confirmam a contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* nesta ilha e indicam condições favoráveis para contaminação de toda a extensão territorial da Ilha de Fernando de Noronha. O entendimento da distribuição de oocistos no ambiente é de grande relevância para o planejamento e implementação de estratégias de controle da infecção por *T. gondii* em humanos e animais. Dessa forma, campanhas de educação sanitária, posse responsável e ações para redução da população de gatos selvagens devem ser incentivadas para um manejo adequado dos hospedeiros definitivos e consequentemente redução da contaminação ambiental.

CONTRIBUIÇÕES DO AUTOR

Conceituação e desenho do estudo: Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira e Rinaldo Aparecido Mota. Investigação e coleta de amostras: Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Umberto Diego Rodrigues de Oliveira, Fernando Jorge Rodrigues Magalhães, Rivaldo José Ferreira Junior e Muller Ribeiro Andrade. Análise laboratorial: Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira, Renata Pimentel Bandeira de Melo e Umberto Diego Rodrigues de Oliveira. Análise dos dados: Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Umberto Diego Rodrigues de Oliveira e Rinaldo Aparecido Mota. Orientador: Rinaldo Aparecido Mota. Redação—rascunho original: Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Umberto Diego Rodrigues de Oliveira e Rinaldo Aparecido Mota. Todos os autores revisaram o manuscrito.

RECONHECIMENTO

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB).

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

DECLARAÇÃO DE ÉTICA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) (licença número 2533310521/2021) e foi conduzido seguindo os princípios éticos de experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Referências

Ahn, HJ; Cho, PY; Ahn, SK; Kim, TS; Chong, CK; Hong, SJ; Cha, SH; Nam, HW (2012). Seroprevalence of toxoplasmosis in the residents of Cheorwon-gun, Gangwon-do, Korea. Korean Journal of Parasitology, 50, 225–227. https://doi.org/10.3347/kjp.2012.50.3.225

Ajmal, A; Maqbool, A; Qamar, MF; Ashraf, K; Anjum, AA (2013). Detection of *Toxoplasma gondii* in environmental matrices (water, soil, fruits and vegetables). African Journal of. Microbiology Research, 7, 1505–1511. https://doi.org/10.5897/ajmr12.925

Andrade, AFA; Velazco, SJE; Júnior, PDM (2020). ENMTML : An R package for a straightforward construction of complex ecological niche models. Environmental Modelling & Software, 125. https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2019.104615

Araújo, MB & New, M (2007). Ensemble forecasting of species distributions. Trends in Ecology & Evolution, 22(1), 42-47.

Awobode, HO; Ohiolei, JA; Adekeye, TA; Adeyi, AO; Anumudu, CI (2020). Shedding proportion of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in feral cats and soil contamination in Oyo State, Nigeria. Parasite Epidemiology and Control, 11, e00181. https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00181

Barro, AS; Fegan, M; Moloney, B; Porter, K; Muller, J; Warner, S; Blackburn, JK (2016). Redefining the Australian Anthrax Belt: Modeling the Ecological Niche and Predicting the Geographic Distribution of *Bacillus anthracis*. PLOS Neglected Tropical Diseases, 10, 1–16. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004689

Barve, N; Barve, V; Jiménez-Valverde, A; Lira-Noriega, A; Maher, SP; Peterson, AT; Soberón J; Villalobos, F (2011). The crucial role of the accessible area in ecological niche modeling and species distribution modeling. Ecological Modelling, 222, 1810-1819.

Berrouch, S; Escotte-Binet, S; Harrak, R; Huguenin, A; Flori, P; Favennec, L; Villena, I; Hafid, J (2020). Detection methods and prevalence of transmission stages of *Toxoplasma gondii*, *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in fresh vegetables: A review. Parasitology 147, 516–532. https://doi.org/10.1017/S0031182020000086

Camargo, M. E. (1964). Improved technique of indirectimmunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis.Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo, 6, 117–118

Carvalho, MC; Ribeiro-Andrade, M; Melo, RPB; Guedes, DM; Pinheiro Junior, JW; Cavalcanti, EFTSF; Magalhães, FJR; Mota, RA (2021). Cross-sectional survey for *Toxoplasma gondii* infection in humans in Fernando de Noronha Island, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 30, 1–8. https://doi.org/10.1590/S1984-29612021062

Chalghaf, B; Chlif, S; Mayala, B; Ghawar, W; Bettaieb, J; Harrabi, M; Benie, GB; Michael, E; Salah, AB (2016). Ecological Niche modeling for the prediction of the geographic distribution of cutaneous leishmaniasis in Tunisia. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 94, 844–851. https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0345

Cong, W; Zhang, NZ; Hu, RS; Zou, FC; Zou, Y; Zhong, WY; Wu, JJ; Fallaize, CJ; Zhu, XQ; Elsheikha, HM (2020). Prevalence, risk factors and genotype distribution of *Toxoplasma gondii* DNA in soil in China. Ecotoxicology and Environmental Safety, 189, 109999. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109999

Cook, AJC; Gilbert, RE; Buffolano, W; Zufferey, J; Petersen, E; Jenum, PA; Foulon, W; Semprini, AE; Dunn, DT (2000). Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. British Medical Journal, 321, 142–147. https://doi.org/10.1136/bmj.321.7254.142

Costa, DGC; Marvulo, MFV; Silva, JSA; Santana, SC; Magalhães, FJR; Filho, CDFL; Ribeiro, VO; Alves, LC; Mota, RA; Dubey, JP; Silva, JCR (2012). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Domestic and Wild Animals From the Fernando de Noronha, Brazil. Journal of Parasitology, 98, 679–680. https://doi.org/10.1645/ge-2910.1

Costa, JGL; Tavares, AT; Silva, DRC; Pinto, LV; Baraviera, RCA; Noviello, MLM; Arantes, RME; Vitor, RWA (2018). Kinetics of parasite distribution after reinfection with genetically distinct strains of *Toxoplasma gondii*. Experimental Parasitology, 184, 22–30. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.11.003

Dantas, D; Barbosa, GP; Gabriela, E; Cunha, S; Ha-, MJ (2014). Air temperature and soil in different depths in Diamantina-MG. Caderno de Ciências Agrárias, 9, 61–66.

Darrell, RW; Pieper, S; Kurland, LT; Jacobs, L (1964). Chorioretinopathy Toxoplasmosis. Archives of Ophthalmology, 71.

Deem, SL; Merkel, J; Ballweber, L; Vargas, FH; Cruz, MB; Parker, PG (2010). Exposure to *Toxoplasma gondii* in Galapagos Penguins (*Spheniscus mendiculus*) and Flightless Cormorants (*Phalacrocorax harrisi*) in the Galapagos Islands, Ecuador. Journal of Wildlife Diseases, 46, 1005–1011. https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.1005

Deng, H; Exel, KE; Swart, A; Bonačić Marinović, AA; Dam-Deisz, C; van der Giessen, JWB; Opsteegh, M (20210. Digging into *Toxoplasma gondii* infections via soil: A quantitative microbial risk assessment approach. Science of the Total Environment, 755. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143232

Destoumieux-Garzón, D; Mavingui, P; Boetsch, G; Boissier, J; Darriet, F; Duboz, P; Fritsch, C; Giraudoux, P; Roux, FL; Morand, S; Paillard, C; Pontier, D; Sueur, C; Voituron, Y (2018). The one health concept: 10 years old and a long road ahead. Frontiers in Veterinary Science, 5, 1–13. https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00014

Donagemma, GK; Campos, DVB; Calderano, SB; Teixeira, WG; Viana, JHM (2011). Manual de Métodos de Análise de Solo. Embrapa 230.

Du, F; Feng, HL; Nie, H; Tu, P; Zhang, QL; Hu, M; Zhou, YQ; Zhao, JL (2012). Survey on the contamination of *Toxoplasma gondii* oocysts in the soil of public parks of Wuhan, China. Veterinary Parasitology, 184, 141–146. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.08.025

Dubey, JP (2010). Toxoplasmosis of humans and animals, Imprensa C. ed. https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781420092370

Dubey, JP (2009). History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. International Journal for Parasitology, 39, 877–882. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.01.005

Dubey, JP (1996). Infectivity and Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* Oocysts for Cats. Journal of Parasitology. 82, 957–961.

Dubey, JP (1995). Duration of Immunity to Shedding of *Toxoplasma gondii* Oocysts by Cats. Journal of Parasitology, 81, 410–415.

Dubey, JP & Jones, JL (2008). *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. International Journal for Parasitology, 38, 1257–1278. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.007

Dubey, JP; Lindsay, DS; Speer, CA (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clinical Microbiology Reviews, 11, 267–299. https://doi.org/10.1128/cmr.11.2.267

Dubey, JP; Miller, NL; Frenkel, JK (1970). Characterization of the New Fecal Form of *Toxoplasma gondii.* The Journal of parasitology, 56, 447–456.

Dubey, JP; Murata, FHA; Cerqueira-Cézar, CK; Kwok, OCH; Grigg, ME (2020). Recent epidemiologic and clinical importance of *Toxoplasma gondii* infections in marine mammals: 2009–2020. Veterinary Parasitology, 288, 2009–2020. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109296

Dubey, JP; Rajendran, C; Costa, DGC; Ferreira, LR; Kwok, OCH; Qu, D; Su, C; Marvulo, MFV; Alves, LC; Mota, RA; Silva, JCR (2010). New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: Unexpected findings. Journal of Parasitology, 96, 709–712. https://doi.org/10.1645/GE-2425.1

Dubey, JP; Zarnke, R; Thomas, NJ; Wong, SK; Van Bonn, W; Briggs, M; Davis, JW; Ewing, R; Mense, M; Kwok, OCH; Romand, S; Thulliez, P (2003). *Toxoplasma gondii, Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. Veterinary Parasitology, 116, 275–296. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00263-2

Dumètre, A & Dardé, ML (2003). How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? FEMS Microbiology Reviews, 27, 651–661. https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00071-8

Escobar, LE (2020). Ecological Niche Modeling: An Introduction for Veterinarians and Epidemiologists. Frontiers in Veterinary Science, 7, 1–15. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.519059

Escobar, LE & Craft, ME (2016). Advances and limitations of disease biogeography using ecological niche modeling. Frontiers in Veterinary Science, 7, 1–21. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01174

Exposito-Alonso, M (2017). rbioclim: Improved getData function from the raster R package to interact with past, present and future climate data from worldclim.org. github.com/MoisesExpositoAlonso/rbioclim

Felicio, PS; Villalobos, EMC; Lara, M; Cunha, EMS; Carvalho, PR; Chiebao, DP; Gabriel, FHL; Nassar, AFC; Nogueira, AHC; Okuda, LH; Marques, KC; Genovez, M.E (2011). Eco-epidemiology of toxoplasmosis in ruminant and the experimental model evidence from mice bioassay for transmission of infection starting of contaminated soil samples confirmed by polymerase chain reaction (PCR) and indirect immunofluorescence reaction . Global Veterinaria, 6, 78–90.

Fonseca, EDS; Guimarães, RB; Prestes-Carneiro, LE; Tolezano, JE; Rodgers, MDSM; Avery, RH; Malone, JB (2021). Predicted distribution of sand fly (Diptera: Psychodidae) species involved in the transmission of Leishmaniasis in São Paulo state, Brazil, utilizing maximum entropy ecological niche modeling. Pathogens and Global Health, 115, 108–120. https://doi.org/10.1080/20477724.2020.1870031

Fritz, H; Barr, B; Packham, A; Melli, A; Conrad, PA. (2012). Methods to produce and safely work with large numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts and bradyzoite cysts. Journal of Microbiological Methods, 88, 47–52. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.10.010

Gao, X; Wang, H; Wang, H; Qin, H; Xiao, J (2016). Land use and soil contamination with *Toxoplasma gondii* oocysts in urban areas. Science of the Total Environment, 568, 1086–1091. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.165

Gerhold, RW & Jessup, DA (2013). Zoonotic Diseases Associated with Free-Roaming Cats. Zoonoses Public Health, 60, 189–195. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01522.x

Hao, T., Elith, J., Guillera-Arroita, G., & Lahoz-Monfort, J. J. (2019). Areview of evidence about use and performance of speciesdistribution modelling ensembles like BIOMOD. Diversity and Distributions, 25, 839-852. https://doi.org/10.1111/ddi.12892

Hamilton, CM; Katzer, F; Innes, EA; Kelly, PJ (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in small ruminants from four Caribbean islands. Parasites and Vectors, 7, 1–4. https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-449

Hastie, T (2018). Package ‘gam’’: Generalized Additive Models.’ R Packag. version 1, 16.

Hengl, T; De Jesus, JM; Heuvelink, GBM; Gonzalez, MR; Kilibarda, M; Blagotić, A; Shangguan, W; Wright, MN; Geng, X; Bauer-Marschallinger, B; Guevara, MA; Vargas, R; MacMillan, RA; Batjes, NH; Leenaars, JGB; Ribeiro, E; Wheeler, I; Mantel, S; Kempen, B (2017). SoilGrids250m: Global gridded soil information based on machine learning, PLoS ONE. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169748

Hijmans, RJ; Cameron, SE; Parra, JL; Jones, PG; Jarvis, A (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. International Journal of

Climatology, 25, 1965–1978. https://doi.org/10.1002/joc.1276

Hijmans, R. J., Phillips, S., Leathwick, J., Elith, J., & Hijmans, M. R. J.(2021). Package 'dismo'. https://rspatial.org/raster/sdm/

Hijmans, R. J.,Etten, J. V., Sumner, M., Cheng, J., Baston, D., Bevan, A.,Bivand, R., Busetto, L., Canty, M., Fasoli, B. Forrest, D., Ghosh, A.,Golicher, D., Gray, J., Greenberg, J. A., Hiemstra, P., Hingee, K., Ilich,A., Institute for Mathematics Applied Geosciences, Karney, C.,Mattiuzzi, M., Mosher, S., Naimi, B., Nowosad, J.,Pebesma, E.,Lamigueiro, O. P., Racine, E. B., Rowlingson, B., Shortridge, A.,Venables, B.,& Wueest, R. (2022). Package 'raster'.https://rspatial.org/raster

Horn, JA; Mateus-Pinilla, N; Warner, RE; Heske, EJ (2011). Home range, habitat use, and activity patterns of free-roaming domestic cats. Journal of Wildlife Management, 75, 1177–1185. https://doi.org/10.1002/jwmg.145

Hosseini, SA; Amouei, A; Sharif, M; Sarvi, S; Galal, L; Javidnia, J (2022). Human toxoplasmosis : a systematic review for genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in clinical samples. Epidemiology and infection, 147, e36. https://doi.org/10.1017/S0950268818002947

Jensen, KDC; Camejo, A; Melo, MB; Cordeiro, C; Julien, L; Grotenbreg, GM; Frickel, EM; Ploegh, HL; Young, L; Saeij, JPJ (2015). *Toxoplasma gondii* superinfection and virulence during secondary infection correlate with the exact ROP5/ROP18 allelic combination. MBio, 6, 1–15. https://doi.org/10.1128/mBio.02280-14

Johnson, EE; Escobar, LE; Zambrana-Torrelio, C (2019). An Ecological Framework for Modeling the Geography of Disease Transmission. Trends in Ecology and Evolution, 34, 655–668. https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.03.004

Júnior, JMS & Silva, FJL (2020). Golfinhos do Nordeste do Brasil, PE: Centro Golfinho Rotado.

Kakakhel, MA; Wu, F; Anwar, Z; Saif, I; Akbar, NU; Gul, N; Ali, I; Feng, H; Wang, W (2021). The presence of *Toxoplasma gondii* in soil, their transmission, and their influence on the small ruminants and human population: A review. Microbial Pathogenesis, 158, 104850. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104850

Lélu, M; Gilot-Fromont, E; Aubert, D; Richaume, A; Afonso, E; Dupuis, E; Gotteland, C; Marnef, F; Poulle, ML; Dumètre, A; Thulliez, P; Dardé, ML; Villena, I (2011). Development of a sensitive method for *Toxoplasma gondii* oocyst extraction in soil. Veterinary Parasitology, 183, 59–67. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.06.018

Liberg, O; Sandell, M; Pontier, D; Natoli, E (2000). Density,spatial organisation and reproductive tactics in the domestic cat and other felids. Incollection, 119–148 ⟨hal-00427051⟩.

Lima, DCV; Melo, RPB; Almeida, JC; Magalhães, FJR; Andrade, MR; Pedrosa, CM; Oliveira, CAV; Porto, WJN; Su, C; Mota, RA (2019). *Toxoplasma gondii* in invasive animals on the Island of Fernando de Noronha in Brazil: Molecular characterization and mouse virulence studies of new genotypes. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, 67, 101347. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101347

Lima, EAM (2020). Atlas geoquímico de Fernando de Noronha. (CPRM - Serviço Geológico do Brasil (ed.)

Machado-Stredel, F; Cobos, ME; Peterson, AT (2021). Frontiers of Biogeography A simulation-based method for selecting calibration areas for ecological niche models and species distribution models. Frontiers of Biogeography, 13, 0–23. https://doi.org/10.21425/F5FBG48814

Magalhães, FJR; Ribeiro-Andrade, M; Alcântara, AM; Júnior, JWP; Sena, MJ; Porto, WJN; Vieira, RFC; Mota, RA (2016a). Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle from Fernando de Noronha Island, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 25, 511–515. https://doi.org/10.1590/S1984-29612016051

Magalhães, FJR; Ribeiro-Andrade, M; Souza, FM; Lima Filho, CDF; Biondo, AW; Vidotto, O; Navarro, IT; Mota, RA (2017). Seroprevalence and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* infection in cats, dogs, pigs and equines of the Fernando de Noronha Island, Brazil. Parasitology International, 66, 43–46. https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.11.014

Magalhães, FJR; Silva, JG; Ribeiro-Andrade, M; Pinheiro, JW; Mota, RA (2016b). High prevalence of toxoplasmosis in free-range chicken of the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. Acta Tropica, 159, 58–61. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.03.034

Marino, AMF; Giunta, RP; Salvaggio, A; Castello, A; Alfonzetti, T; Barbagallo, A; Aparo, A; Scalzo, F; Reale, S; Buffolano, W; Percipalle, M (2019). *Toxoplasma gondii* in edible fishes captured in the Mediterranean basin. Zoonoses Public Health, 66, 826–834. https://doi.org/10.1111/zph.12630

Marmion, M; Parviainen, M; Luoto, M; Heikkinen, RK; Thuiller, W (2009). Evaluation of consensus methods in predictive species distribution modelling. Diversity and Distributions, 15(1), 59-69.

Melo, RPB; Almeida, JC; Lima, DCV; Carvalho, JCS; Porto, WJN; Magalhães, FJR; Hamilton, CM; Katzer, F; Mota, R (2020). Atypical *Toxoplasma gondii* genotype from a sheep and a pig on Fernando de Noronha Island, Brazil, showed different mouse virulence profiles. Parasitology Research, 119, 351–356. https://doi.org/10.1007/s00436-019-06522-4

Melo, RPB; Almeida, JC; Lima, DCV; Pedrosa, CM; Magalhães, FJR; Alcântara, AM; Barros, LD; Vieira, RFC; Garcia, JL; Mota, RA (2016). Atypical *Toxoplasma gondii* genotype in feral cats from the Fernando de Noronha Island, northeastern Brazil. Veterinary Parasitology, 224, 92–95. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.023

Miller, M; Shapiro, K; Murray, MJ; Haulena, M; Raverty, S (2018). Protozoan parasites of marine mammals. In CRC handbook of marine mammal medicine (pp. 425-470). CRC Press., Protozoan parasites of marine mammals. In CRC handbook of marine mammal medicine. https://doi.org/10.1111/mms.12698

Miller, MA; Grigg, ME; Kreuder, C; James, ER; Melli, AC; Crosbie, PR; Jessup, DA; Boothroyd, JC; Brownstein, D; Conrad, PA (2004). An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*) and is a cause of mortality. International Journal for Parasitology, 34, 275–284. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.12.008

Oliveira, PRF; Melo, RPB; Sierra, TAO; Silva, RA; Silva, OJE; Almeida, BG; Mota, RA (2021). Investigation of soil contaminated with *Toxoplasma gondii* oocyst in urban public environment, in Brazil. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, 79, 10–15. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101715

Phillips, S (2017). Maxnet: Fitting ‘maxent’species distribution models with ‘glmnet.’ R Packag. version 0.1 2.

Pinto-Ferreira, F; Caldart, ET; Pasquali, AKS; Mitsuka-Breganó, R; Freire, RL; Navarro, IT (2019). Patterns of transmission and sources of infection in outbreaks of human toxoplasmosis. Emerging Infectious Diseases, 25, 2177–2182. https://doi.org/10.3201/eid2512.181565

Poulle, M. L., Le Corre, M., Bastien, M., Gedda, E., Feare, C., Jaeger, A.,Larose, C., Shah, N., Voogt, N., Göpper, B., Lagadec, E., Rocamora, G.,Geers, R., Aubert, D., Villena, I., & Lebarbenchon, C. (2021). Exposureof pelagic seabirds to Toxoplasma gondii in the Western IndianOcean points to an open sea dispersal of this terrestrial parasite. PloS one, 16, e0255664.https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255664

Santos, TR; Nunes, CM; Luvizotto, MCR; Moura, AB; Lopes, WDZ; Costa, AJ; Bresciani, KDS (2010). Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples from public schools. Veterinary Parasitology, 171, 53–57. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.045

Schott, KC; Krusor, C; Tinker, MT; Moore, J; Conrad, PA; Shapiro, K (2016). Concentration and retention of *Toxoplasma gondii* surrogates from seawater by red abalone (*Haliotis rufescens*). Parasitology, 143, 1703–1712. https://doi.org/10.1017/S0031182016001359

Shakibaa, N, Edholmb, CJ; Emereninic, BO; Murillod, AL; Peacee, A; Saucedof, O; Wangg, X; Allene, LJS (2021). Effects of Environmental Variability on Superspreading Transmission Events in Stochastic Epidemic Models. Annals of Oncology, 19–20. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idm.2021.03.001

Shapiro, K; Bahia-Oliveira, L; Dixon, B; Dumètre, A; Wit, LA; VanWormer, E; Villena, I (2019). Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. Food and Waterborne Parasitology, 15. https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00049

Silva, JCR; Ferreira, F; Dias, RA; Ajzenberg, D; Marvulo, MFV; Magalhães, FJR; Filho, CDFL; Oliveira, S; Soares, HS; Feitosa, TF; Aizawa, J; Alves, LC; Mota, RA; Dubey, JP; Gennari, SM; Pena, HFJ (2017). Cat-rodent *Toxoplasma gondii* Type II-variant circulation and limited genetic diversity on the Island of Fernando de Noronha, Brazil. Parasites & Vectors, 10, 4–9. https://doi.org/10.1186/s13071-017-2150-4

Simon, JA; Kurdzielewicz, S; Jeanniot, E; Dupuis, E; Marnef, F; Aubert, D; Villena, I; Poulle, ML (2017). Spatial distribution of soil contaminated with *Toxoplasma gondii* oocysts in relation to the distribution and use of domestic cat defecation sites on dairy farms. International Journal for Parasitology, 47, 357–367. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.01.004

Sloyer, KE; Burkett-Cadena, ND; Yang, A; Corn, JL; Vigil, SL; McGregor, BL; Wisely, SM; Blackburn, JK (2019). Ecological niche modeling the potential geographic distribution of four culicoides species of veterinary significance in florida, USA. PLoS One, 14, 1–19. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206648

Su, C; Shwab, EK; Zhou, P; Zhu, XQ; Dubey, JP (2010). Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. Parasitology, 137, 1–11. https://doi.org/10.1017/S0031182009991065

Taetzsch, SJ; Bertke, AS; Gruszynski, KR (2018). Zoonotic disease transmission

associated with feral cats in a metropolitan area: A geospatial analysis. Zoonoses and public health, 65(4), 412–419. https://doi.org/10.1111/zph.12449

Team, R (2018). Core. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

Team, RC (2020). R: the R project for statistical computing. 2019. Accessed Feb, 28.

Tessarolo, G; Rangel, TF; Araújo, MB; Hortal, J (2014). Uncertainty associated with survey design in species distribution models. Diversity and Distribution, 20, 1258–1269. https://doi.org/10.1111/ddi.12236

Tischer, MC; Silva, JM; Silva, FJL (2013). Interaction of spinner dolphins (*Stenella longirostris*)(Cetacea, Delphinidae) with boats at the Archipelago of Fernando de Noronha, Brazil. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 8, 339–346.

Verant, ML; D'Ozouville, N; Parker, PG; Shapiro, K; Vanwormer, E; Deem, SL (2014). Attempted detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental waters using a simple approach to evaluate the potential for waterborne transmission in the galápagos islands, Ecuador. Ecohealth, 11, 207–214. https://doi.org/10.1007/s10393-013-0888-5

Wells, B; Shaw, H; Innocent, G; Guido, S; Hotchkiss, E; Parigi, M; Opsteegh, M; Green, J; Gillespie, S; Innes, EA; Katzer, F (2015). Molecular detection of *Toxoplasma gondii* in water samples from Scotland and a comparison between the 529bp real-time PCR and ITS1 nested PCR. Water Research, 87, 175–181. https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.015

Wildner, W & Ferreira, RV (2012). Geoparque Fernando de Noronha (PE): proposta. CPRM.

Wit, LA; Kilpatrick, AM; VanWormer, E; Croll, DA; Tershy, BR; Kim, M; Shapiro, K (2019). Seasonal and spatial variation in *Toxoplasma gondii* contamination in soil in urban public spaces in California, United States. Zoonoses Public Health, 67, 70–78. https://doi.org/10.1111/zph.12656

Work, TM; Massey, JG; Lindsay, DS; Dubey, JP (2002). Toxoplasmosis in three species of native and introduced Hawaiian birds. Journal of Parasitology, 88, 1040–1042. https://doi.org/10.2307/3285558

Work, TM; Massey, JG; Rideout, BA; Gardiner, CH; Ledig, DB; Kwok, OCH; Dubey, JP (2000). Fatal toxoplasmosis in free-ranging endangered 'Alala from Hawaii. J. Wildl. Dis. 36, 205–212. https://doi.org/10.7589/0090-3558-36.2.205

Wu, YD; Xu, MJ; Wang, QQ; Zhou, CX; Wang, M; Zhu, XQ; Zhou, DH (2017). Recombinase polymerase amplification (RPA) combined with lateral flow (LF) strip for detection of *Toxoplasma gondii* in the environment. Veterinary Parasitology, 243, 199–203. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.026

Yilmaz, SM & Hopkins, SH (1972). Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocyst. Journal of Parasitology, 58, 938–939.

9. CAPÍTULO 3

Artigo enviado ao periódico: Mycoses

Fator de Impacto: 4.931

Esporotricose emergente transmitida por gatos no Nordeste do Brasil impulsionada por *Sporothrix brasiliensis*

Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira[1*]; Jamile Ambrósio de Carvalho[2]; Taizi Rodrigues Costa[1]; Bruno Pajeú e Silva[3]; Gabriela Gonçalves da Silva[1]; Anderson Messias Rodrigues[2], Rinaldo Aparecido Mota[1]

[1]Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

[2]Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Disciplina de Biologia Celular, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brasil.

[3]Departamento de Medicina Veterinária. Centro Universitário UNIFAVIP, Caruaru, Brasil.

*Autor correspondente: pollyanne_raysa@hotmail.com

Resumo

A esporotricose é uma zoonose cosmopolita causada por espécies do gênero *Sporothrix*, de ocorrência endêmica em diversas áreas do Brasil, contudo, as informações sobre a diversidade genética e estrutura populacional de *Sporothrix* no país ainda são escassas. Deste modo, objetivou-se avaliar a diversidade genética por meio de marcadores AFLP (#5 EcoRI-FAM-GA/MseI-AG) e o tipo de acasalamento de isolados de *Sporothrix* recuperados de casos clínicos de humanos (n=10) e animais (n=50), além de estudar a distribuição espacial de casos de Esporotricose em gatos, no período de 2016 a 2021 na Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. Ao todo, 60 isolados de *Sporothrix* spp. foram classificados geneticamente por PCR espécie-específica como *S. brasiliensis*, a partir de marcadores direcionados para o gene da calmodulina com um maior número proveniente do Recife (isolados de animais: 68%; 34/50) e com baixa diversidade genética (*H*=0.2928 e *PIC*=0.2499) revelada por marcadores AFLP. Quanto ao idiomorfo sexual, indivíduos *MAT 1-2* foram identificados por PCR duplex em 100% (60/60) dos espécimes de humanos e de animais. Em total, 1176 casos de esporotricose em gatos foram registrados no período de seis anos na Região Metropolitana do Recife, com uma frequência média anual histórica de 157 casos. A maioria dos casos era de gatos procedente das cidades de Olinda (408/1176; 34,70%), Jaboatão dos Guararapes (332/1176; 28,23%) e Recife (237/1176; 20,15%). A esporotricose na área de estudo assume um caráter epidêmico-urbano envolvendo a espécie *S. brasiliensis*. A epidemiologia molecular sugere que o genótipo que circula na Região Metropolitana do Recife é originário do

Rio de Janeiro, tendo em vista que os isolados abrigam o mesmo locus *MAT 1-2*, sem indícios de diferenciação genética significativa (*P*<0,0001). Diante dos achados fica claro a necessidade de barreiras sanitárias e políticas públicas de saúde para mitigar a epidemia, assim como a importância dos gatos na epidemiologia da enfermidade no estado de Pernambuco.

Palavras-chaves: *Sporothrix brasiliensis*; *Sporothrix schenckii*; Esporotricose; micose de implantação; micose subcutânea; epidemiologia; zoonose.

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma doença de caráter subagudo ou crônico causada por *Sporothrix schenckii* e espécies relacionadas[1]. A infecção ocorre por contaminação de feridas ou pela inoculação traumática do microrganismo no tecido (sub)cutâneo do hospedeiro vertebrado de sangue quente[2]. A rota de transmissão remete ao contato direto com o gato doméstico infectado ou pelo contato com solo e vegetais contaminados por propágulos de *Sporothrix* [1,3].

Estudos filogenéticos recentes demonstraram que o tradicional agente dessa micose, *S. schenckii sensu lato* (s.l.), é na verdade um complexo de espécies filogeneticamente relacionadas[4]. Atualmente, o clado clínico inclui as espécies *S. brasiliensis*, *S. schenckii* (*s. str.*), *S. globosa* e *S. luriei*. Análises filogenéticas demonstram que isolados de interesse clínico inseridos no clado ambiental e pertencentes aos complexos *S. pallida* (*e.g.*, *S. chilensis*, *S. pallida*, *S. mexicana* e *S. humicola*) e *S. stenoceras* apresentam pouco potencial patogênico para seres humanos e animais[5].

A esporotricose já foi relatada em 25 dos 26 estados brasileiros com destaque para os estados das regiões Sul e Sudeste onde uma epidemia foi instalada na década de 90, contudo desde 2014 observa-se uma expressiva expansão geográfica para as regiões Norte e Nordeste do país associada, principalmente, a *S. brasiliensis*[3, 6,7,8]. Em Pernambuco, esta zoonose emergente foi identificada em cidades da Região Metropolitana do Recife e tem despertado preocupação da vigilância epidemiológica[8,9], evidenciando a necessidade de avaliar a circulação das espécies envolvidas. O estudo da diversidade genética de *S. brasiliensis* provenientes de Pernambuco na região Nordeste utilizando marcadores AFLP demonstra ser de

grande importância principalmente para ajudar no rastreamento e expansão da espécie ao longo do país[10].

O estudo das vias de transmissão a partir da investigação de variação genética pode revelar estratégias para a formulação de políticas públicas intersetoriais eficazes[11] e auxiliar no controle da doença[10]. Aliado a isso, já foi demonstrado em isolados de *Sporothrix* que a caracterização dos idiomorfos sexuais por PCR são importantes marcadores para entendermos a expansão geográfica da esporotricose transmitida por gatos[10,12,13]. O estudo molecular de idiomorfos sexuais em Ascomycota é feito a partir da análise do gene *MAT*, codificador de proteínas de ligação ao DNA, além de ser utilizado como uma ferramenta de distribuição geográfica no processo de expansão das epidemias impulsionadas por espécies emergentes de *Sporothrix*[14]. Em fungos heterotálicos (auto-estéreis), os indivíduos possuem os loci *MAT1-1* ou *MAT1-2* que conferem os *idiomorfos* de tipos de acasalamento *MAT1-1* e *MAT1-2*, respectivamente[15].

Diante do exposto, objetivou-se neste estudo caracterizar as espécies de *Sporothrix* spp., identificar os idiomorfos sexuais de isolados clínicos de humanos e animais e fazer a caracterização genética dos isolados por meio de marcadores AFLP, além de avaliar a distribuição espacial de casos de esporotricose felina registrados no período de 2016 a 2021 na Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, região Nordeste do Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Foram analisados 10 isolados clínicos de *Sporothrix* spp. de origem humana, provenientes da micoteca do Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco (LACEN-PE), e 50 isolados clínicos de origem animal (1 isolado de canino e 49 de felinos), da micoteca do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC-UFRPE) de casos registrados entre 2019 e 2021. Os isolados foram repicados em Ágar Sabouraud para a obtenção de colônias monospóricas de 14 dias que foram submetidas à extração de DNA.

2.2. Extração de DNA e caracterização genética de *Sporothrix* spp.

O DNA foi extraído a partir de colônias filamentosas monospóricas utilizando-se o Fast DNA kit (MP Biomedicals, Irvine, CA, EUA), obedecendo as instruções do fabricante. O DNA obtido foi quantificado com auxílio do espectrofotômetro NanoDrop 2000, diluído à 100 ng/µl e mantido a -20°C até o momento da realização da reação em cadeia da polimerase (PCR).

As amostras de DNA foram submetidas à PCR espécie-específica para amplificação parcial do gene *CAL* das espécies do gênero *Sporothrix* (Tabela 1)[16]. As PCR's espécies-específicas incluíam 12,5 µL de tampão PCR Master Mix 2× (3 mM $MgCl_2$, 400 mM de dNTPs e 50 U/mL Taq Polimerase - Promega Corporation, Madison, WI, EUA); 9,5 µL de água, 1 µL de cada iniciador molecular (10 pmol/µL; Integrated DNA Technologies, EUA) e 1 µL de DNA alvo [100 ng/µL] em um volume final de 25 µL. As reações foram conduzidas com o seguinte perfil térmico: uma etapa inicial de desnaturação de 5 min a 95°C; seguida por 35 ciclos de 1 min a 95°C, 1 min na temperatura de hibridização (touchdown PCR) e 1 min a 72°C; seguido por uma etapa final de 10 min a 72°C. Com temperatura de hibridização no primeiro ciclo de 70°C e posterior redução da temperatura de hibridização em 1°C/2 ciclos para os 20 ciclos seguintes; os 15 ciclos finais da PCR foram com uma temperatura de hibridização de 60°C. Todas as etapas de amplificação foram realizadas em um Mastercycler X50 (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha)[16].

Para caracterizar os idiomorfos de acasalamento foi realizada uma PCR duplex utilizando 0,6 µl (10 pmol/mL; Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, EUA) de cada iniciador molecular direcionado para a região *MAT1-1* (SPMAT1-1F e SPMAT1-1R) e 0,35 µl (10 pmol/ µl) de cada primer para região *MAT1-2* (SPMAT1-2F e SPMAT1-2R) (Tabela 1); 12,5 mL de tampão PCR Master Mix 2× (3 mM $MgCl_2$, 400 mM cada dNTPs e 50 U/mL Taq DNA Polymerase – Promega Corporation, Madison, WI, EUA) e 1 µl de DNA alvo (50 ng/ µl)[12]. O perfil térmico foi realizado em um Mastercycler X50 (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) com a seguinte programação: uma etapa inicial de desnaturação de 5 min a 95°C; seguido por 35 ciclos de 1 min a 95 °C, 1 min a 62 °C e 1 min a 72 °C. Uma etapa final de 10 min a 72 °C foi incluída[12].

Os produtos amplificados de ambas reações foram detectados por eletroforese em gel de agarose a 1,2% e TBE 1× por 1 h a 100V na presença de GelRed (Biotium,

Hayward, CA, EUA) e posteriormente fotodocumentados com o sistema de imagem L-Pix Touch (Loccus Biotecnologia, São Paulo, Brasil).

Tabela 1. *Primers* utilizados neste estudo para a caracterização molecular de *Sporothrix* spp.

Espécies	Primer	Sequência de primer (5'-3')	bp*	References
S. brasiliensis	Sbra-F	CCC CCG TTT GAC GCT TGG	469	
	Sbra-R	CCC GGA TAA CCG TGT GTC ATA AT		16
S. schenckii	Ssch-F	TTT CGA ATG CGT TCG GCT GG	331	
	Ssch-R	CTC CAG ATC ACC GTG TCA		16
S. globosa	Sglo-F	CGC CTA GGC CAG ATC ACC ACT AAG	243	
	Sglo-R	CCA ATG TCT ACC CGT GCT		16
MAT1-1	SPMAT1-1F	GATCCCTACAAAAGCAAATGGACCATG	673	
	SPMAT1-1R	CTGCAATTGGGTTGTGCCTGATG		12
MAT1-2	SPMAT1-2F	CCAATTTCCTCTTCCACTATTCGTCGC	291	
	SPMAT1-2R	GCTTGATATCCACGGCCATCTTG		12

*pares de bases

2.4. Genotipagem por AFLP

Para execução da genotipagem foi aplicada a técnica de Polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado (AFLP), conforme descrito por Carvalho et al.[17]. O DNA genômico de *Sporothrix* (200 ng) foi submetido simultaneamente a digestão com as enzimas EcoRI e MseI (New England Biolabs, Ipswich, MA) e ligação de adaptadores EcoRI e MseI (Integrated DNA Technologies, EUA)[18]. Para minimizar a geração de artefatos foi realizada uma amplificação pré-seletiva utilizando os iniciadores moleculares EcoRI + 0 e MseI + 0[18]. Posteriormente, os amplicons gerados foram submetidos à amplificação seletiva, utilizando o iniciador EcoRI (5′-GAC TGC GTA CCA ATT C NN-3 ′) marcado com 6-carboxifluoresceína (FAM; azul), e o iniciador MseI não marcado com duas bases seletivas (5′-GAT GAG TCC TGA GTA A NN -3 ′). Os fragmentos obtidos durante a amplificação seletiva foram resolvidos por eletroforese capilar com um analisador genético SeqStudio (Life Technologies, Processo FAPESP 18/24304-2) juntamente com um padrão de tamanho interno LIZ600 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA)[19].

As análises foram realizadas por meio do software BioNumerics v.7.6 (Applied Maths) a partir da correspondência de bandas, utilizando o índice de similaridade de Jaccard marcando a opção “lógica difusa” e o método de agrupamento das médias aritméticas não ponderadas (UPGMA, do inglês Unweighted Pair Group Method) selecionando as opções calcular sinalizadores de erro e correlação cofenética[20]. Para a análise foram considerados apenas os fragmentos com tamanhos entre 50 e 500 pares de bases. Quanto ao suporte de reamostragem de ramos, esse foi realizado por meio do coeficiente de correlação cofenética e com desvio padrão para expressar a consistência de um determinado cluster, que determina a correlação entre as semelhanças derivadas do dendrograma e as semelhanças da matriz. As figuras foram exportadas como vetores e tratadas no software Corel Draw X8 (Ottawa, Ontario, Canada)

2.5. Diversidade genética e análises estatísticas

Com o objetivo de avaliar a diversidade dos marcadores analisados, os seguintes índices foram calculados: conteúdo de informação polimórfico (PIC)[21], heterozigosidade esperada (H)[22], razão multiplex efetiva (E)[23], média aritmética da heterozigosidade (H_{avp})[23] (POWELL et al., 1996), índice do marcador (MI)[23,24], poder discriminador (D)[25] e poder de resolução (Rp)[26].

As análises de componentes principais (PCA) e de escalonamento multidimensional (MDS) foram realizadas por meio do software BioNumerics v.7.6 (Applied Maths) produzindo gráficos tridimensionais que demonstram as correlações entre a proximidade das amostras de *Sporothrix* por meio dos marcadores propostos[10,17, 19,20]. As figuras foram exportadas e tratadas no software Corel Draw X8 (Ottawa, Ontario, Canada).

As análises de árvores de extensão mínima (MST, do inglês Minimum Spanning Tree) foram realizadas por meio do software BioNumerics v.7.6 (Applied Maths). Essas análises foram usadas para demonstrar a relação da diversidade genética entre os isolados de *Sporothrix* investigando relações evolutivas entre os genótipos.

As análises de mapas auto-organizáveis (SOM, do inglês Self-Organizing Maps) foram realizadas por meio do software BioNumerics v.7.6 (Applied Maths).

Essas análises foram usadas para demonstrar as áreas de alta similaridade e alta distância genética entre os isolados de *Sporothrix* spp.

Para análise da diferenciação genética entre os isolados para locus *MAT 1-1* e *MAT 1-2* foi realizada uma análise univariada das variáveis de interesse pelo teste qui-quadrado de Pearson, com auxílio do programa GraphPad para a execução dos cálculos estatísticos.

2.6. Distribuição espacial dos casos de esporotricose em gatos da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil

Foi realizado um estudo epidemiológico descritivo observacional tendo como área de estudo a Região Metropolitana do Recife, abrangendo os seguintes municípios: Abreu e Lima, Araçoiaba, Cabo de Santo Agostinho, Camaragibe, Igarassu, Ipojuca, Itamaracá, Itapissuma, Jaboatão dos Guararapes, Moreno, Olinda, Paulista, Recife e São Lourenço da Mata. A pesquisa foi realizada por meio de levantamentos de dados secundários na base de dados da Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco e do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A população do estudo foi composta por gatos infectados por *Sporothrix* spp., cujos casos foram registrados em março de 2016 a dezembro de 2021 na Região Metropolitana do Recife. As variáveis utilizadas foram: ano de notificação, unidade federativa de notificação e casos confirmados. A análise dos dados foi realizada por frequências absolutas e frequência relativa.

Mapas descrevendo a evolução temporal do surto de esporotricose foram construídos por meio da técnica de geoprocessamento para estudar a distribuição espacial e temporal dos casos de esporotricose felina na Região Metropolitana do Recife. Os mapas foram construídos com o software Quantum Geographic Information System (QGIS)[27].

3. RESULTADOS

Todos os isolados de humanos e animais foram positivos para presença do gene *CAL* com amplificação de um fragmento de 469 bp específico de *S. brasiliensis*. Quanto à origem dos isolados de animais, esses foram de diferentes municípios: Recife (68%; 34/50), Olinda (8%: 4/50), Camaragibe (8%; 4/50), Cabo de Santo

Agostinho (6%;3/50), Jaboatão dos Guararapes (6%; 3/50) e Paulista (4%; 2/50). O heterotalismo foi a estratégia de acasalamento exclusiva para os isolados de humanos e animais com amplificação parcial do gene *MAT1-2* (291 bp).

Os perfis de AFLP revelaram 29 bandas entre 50 e 500 bp. Para a análise AFLP também utilizamos os registros de *S. brasiliensis* descritos por Carvalho et al.[10], resultando em 80 isolados da espécie alvo que apresentaram um total de 71 fragmentos, sendo 60 desses isolados procedentes do estado de Pernambuco, que quando avaliados isoladamente resultoram em 29 fragmentos (Tabela 2). O dendrograma baseado no coeficiente de similaridade de Jaccard e no método de agrupamento UPGMA mostra o agrupamento dos isolados de *S. brasiliensis* provenientes do estado de Pernambuco com isolados de *S. brasiliensis* provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil, com um valor cofenético de 97%, sugerindo a ocorrência de um efeito fundador na região Nordeste, que tem como epicentro o Rio de Janeiro (Figura 1).

Em resumo, os índices de polimorfismo demonstram um bom desempenho dos marcadores, revelando níveis mais baixos de diversidade genética entre os isolados de *S. brasiliensis* provenientes do estado de Pernambuco (*PIC*=0,2499 e *H*=0,2928) em relação a todos os isolados dessa espécie utilizados no estudo (*PIC*=0,3485 e *H*=0,4496).

As análises de dimensionamento PCA e MDS mostram a distribuição dos isolados, evidenciando o agrupamento visto nos dendrogramas sugerindo a distribuição dos isolados de *S. brasiliensis* em três grupos, com os dois grupos mais numerosos com uma maior proximidade, e um terceiro grupo mais distante formado por três isolados e com proximidade a um isolado de *S. globosa*. A porcentagem cumulativa de componentes foi de 54.2% (Figura 2). A MST confirma os três clados de *S. brasiliensis* no estado de Pernambuco, evidenciando o espalhamento da epidemia a partir de genótipos únicos (*e.g.*, Ss1096 - clado 1; Ss1118 – caldo 2; Ss607- clado 3; todos de origem felina), com um maior número de isolados do nosso estudo agrupados no clado 1 no qual foi alocado um isolado humano, estando os demais isolados de humanos no clado 3 (8/10) (Figura 3). Interessantemente, as análises de SOM mostraram que os isolados do estado de Pernambuco foram separados por linhas tênues mostrando pouca diversidade entre eles, porém os

isolados de *S. brasiliensis* oriundos das populações parentais evidenciam maior diversidade e diferenciação significativa entre si (Figura 4).

Tabela 2. Estatísticas polimórficas calculadas para a combinação #5 EcoRI-GA/MseI para *Sporothrix* spp.

#5 EcoRI-GA/MseI-AG									
Espécies	**Isolados (n)**	**Fragmentos**	**H**	**PIC**	**E**	**Havp**	**MI**	**D**	**Rp**
S. brasiliensis	80	71	0,4496	0,3485	24,237	0,0000	0,0019	0,8835	7,725
***S. brasiliensis* PE**	60	29	0,2928	0,2499	23,8333	0,0001	0,0040	0,3246	2,3333
S. schenckii	5	54	0,5000	0,3750	27,0000	0,0018	0,0500	0,7509	22,800
S. globosa	5	45	0,4992	0,3746	23,4000	0,0022	0,0519	0,7307	18,00
Overall	90	101	0,3658	0,2989	24,3444	0,000004	0,0009	0,9419	14,822

D = poder discriminativo; E = razão multiplex efetiva; H = heterozigosidade esperada; Havp = heterozigosidade média; IM = índice de marcadores; PIC = conteúdo da informação do polimorfismo; Rp = poder de resolução.

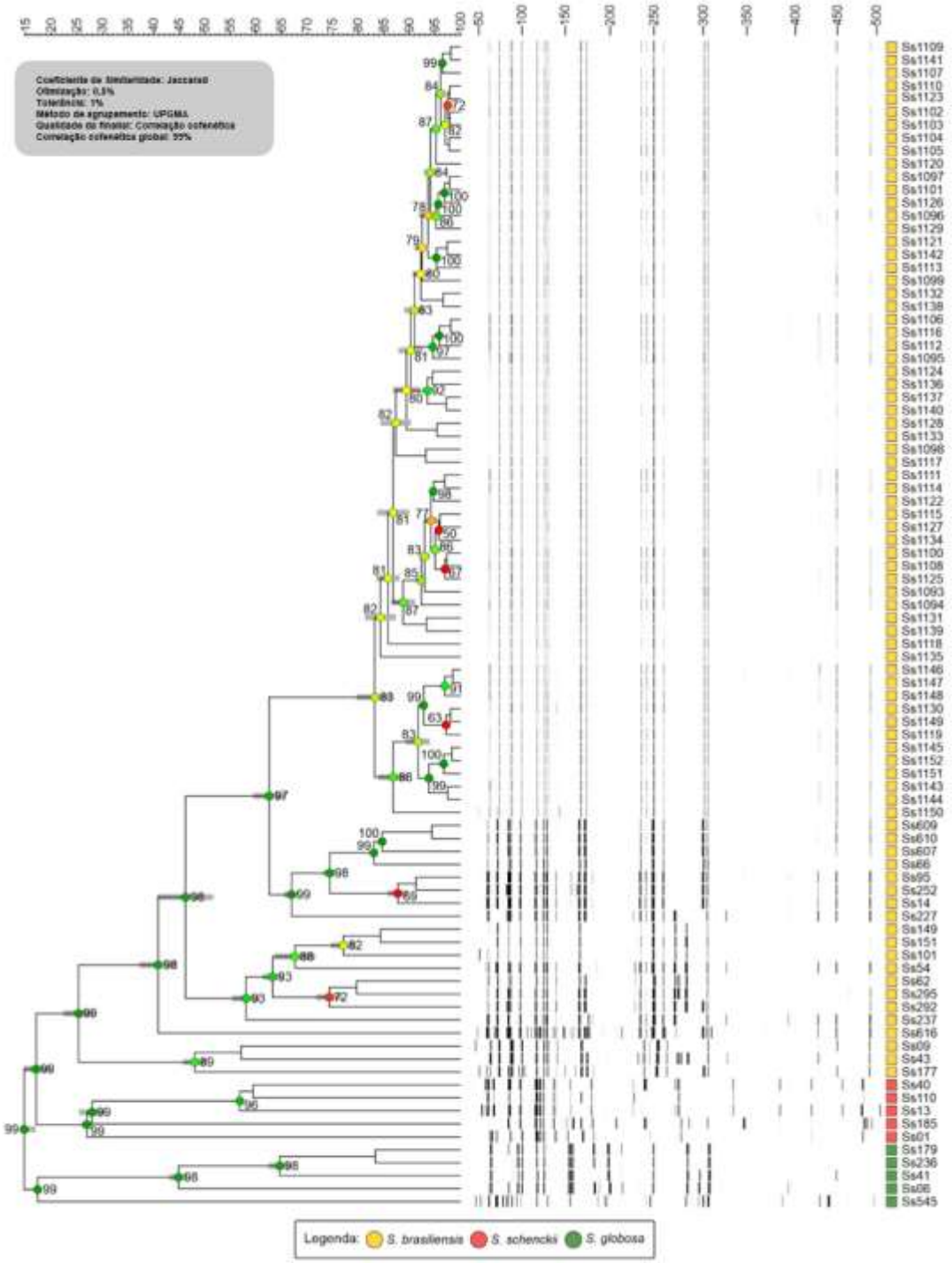


Figura 1. Dendrograma baseado na impressão digital AFLP gerada pela combinação #5 EcoRI-GA/MseI-AG para 90 isolados de *Sporothrix*. Os dendrogramas mostram o perfil de agrupamento das 60 amostras de *Sporothrix* pertencentes a Pernambuco descritas neste estudo. A análise foi realizada no BioNumerics v7.6, utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método UPGMA.

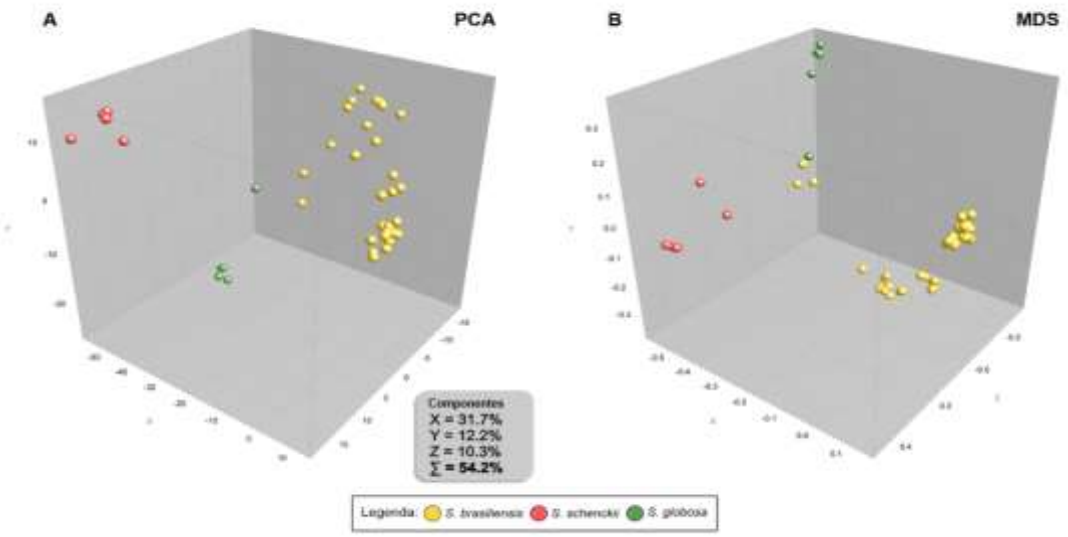


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) e análise de escala multidimensional (MDS) do #5 EcoRI-GA/MseI-AG. As análises foram realizadas usando Bionumerics v7.6. (A) PCA. (B) MDS.

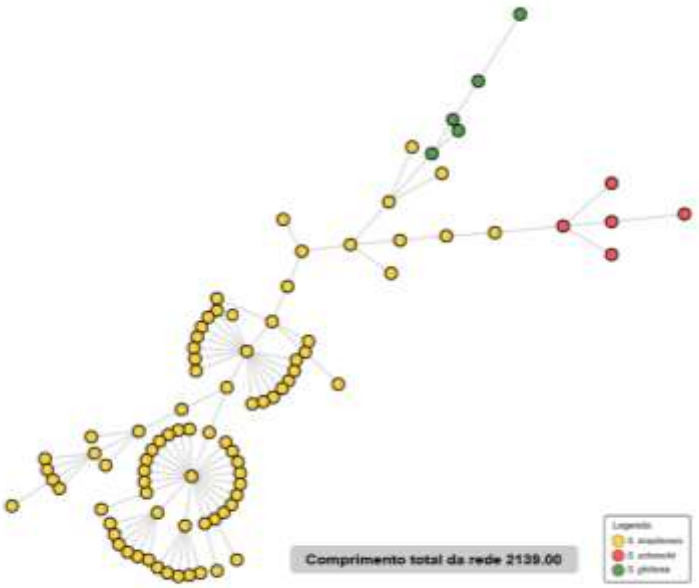


Figura 3. Árvore geradora mínima (MST) mostrando a relação genética entre 90 isolados de *Sporothrix* usando a combinação #5 EcoRI-GA/MseI-AG. As análises foram realizadas usando Bionumerics v7.6. A distância entre os genótipos não reflete qualquer relação entre a distância genética do genótipo.

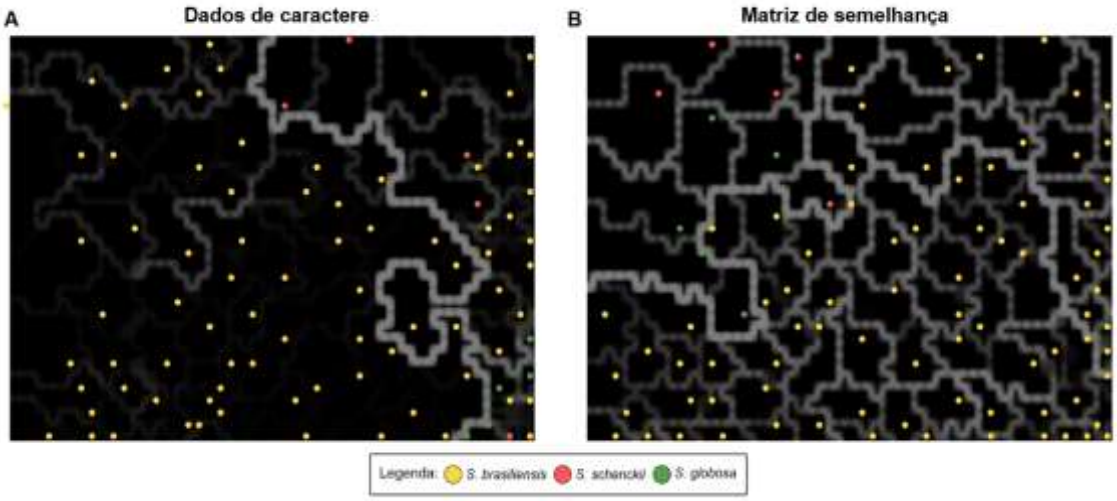


Figura 4. Mapa auto-organizado (SOM) baseado na impressão digital AFLP de 90 isolados de *Sporothrix*. As análises de dimensionamento mostram a distribuição dos genótipos AFLP. As análises foram realizadas usando BioNumerics v7.6. (A) SOM baseado em dados de caracteres (matriz binária). (B) SOM com base na matriz de similaridade.

Um total, de 1176 casos de esporotricose felina foram diagnosticados no período de março de 2016 a dezembro de 2021 na Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil, com uma frequência média anual histórica de 157 casos, variando de 44 a 382 casos anuais (Figura 5). A maioria dos gatos eram procedente dos municípios de Olinda (408/1176; 34,70%), Jaboatão dos Guararapes (332/1176; 28,23%) e Recife (237/1176; 20,15%).

Nos dois primeiros anos analisados, os casos se concentraram nos municípios da zona norte da Região Metropolitana o que inclui as cidades de Abreu e Lima, Camaragibe, Olinda, Paulista, Recife e Jaboatão dos Guararapes. Nos mapas é possível observar uma expansão quanto à inclusão de novos municípios ao longo dos anos. No período entre 2016 e 2017 houve um incremento no número de casos nas cidades de Camaragibe (1500,00%), Abreu e Lima (1100,00%), Recife (500,00%), Paulista (140,00%) e Olinda 135,48%). No período entre 2018 e 2019 houve um incremento do número de casos nas cidades de Ipojuca (75%), Jaboatão dos Guararapes (72,13%), Olinda (20%) e Recife (2,46%), com destaque também para os primeiros registros de esporotricose em gatos nas cidades de Igarassu, Ilha de Itamaracá, Ipojuca, Araçoiaba, São Lourenço da Mata e Cabo de Santo Agostinho no

ano de 2018. No período entre 2020-2021, apesar de números alarmantes, com destaque para cidade de Jaboatão do Guararapes, houve uma retração no número de casos, o que pode estar relacionado com o avanço da epidemia do novo coronavírus SARS-CoV-2.

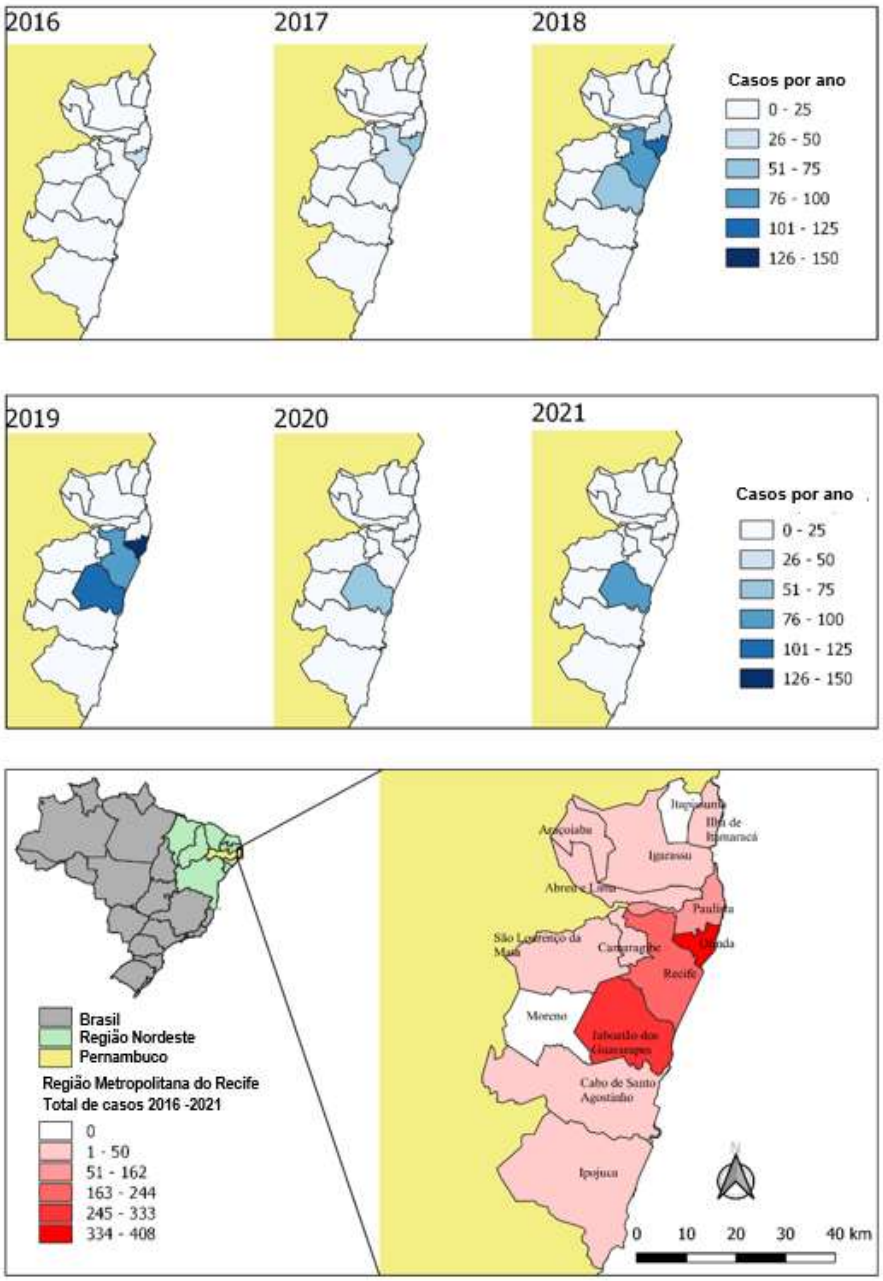


Figura 5. Distribuição geográfica e número de casos de esporotricose em gatos entre os anos de 2016 e 2021 na Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, nordeste do Brasil.

4. DISCUSSÃO

Esse é o primeiro estudo que aborda a distribuição espacial, caracterização genética dos isolados por meio de marcadores AFLP e a frequência do idiomorfo de acasalamento MAT em populações naturais de *Sporothrix* de casos clínicos de humanos e animais de Pernambuco.

A reprodução sexual é fundamental no processo epidemiológico de uma doença, uma vez que gera patógenos de maior aptidão e com maior diversidade[28]. O heterotalismo com *MAT 1-2* foi a estratégia de acasalamento exclusiva para os isolados de humanos e animais caracterizados como *S. brasiliensis* no nosso estudo, ratificando os resultados de Carvalho et al.[10] que também descreveram o idiomorfo de acasalamento *MAT 1-2* em isolados de humanos do estado de Pernambuco. Os autores ressaltam o efeito fundador, tendo os isolados pernambucanos uma ligação com aqueles provenientes do Rio de Janeiro[10]. Deste modo, sugere-se uma expansão da área do epicentro em direção ao nordeste do país, onde desde 2014 já há registros da ocorrência de *Sporothrix brasiliensis*[28].

Silva et al.[8] relataram a ocorrência de 59 casos de esporotricose em gatos no período de 2014 a 2016 na Região Metropolitana do Recife-PE, destacando que os aspectos clínicos e epidemiológicos avaliados apresentavam semelhanças com os já descritos em outras regiões do país. Com as informações moleculares, é possível reconstruir a origem, disseminação e evolução dos surtos em andamento, dados importantes no processo de tomada de decisões destinadas a mitigar a progressão da doença[10]. O idiomorfo MAT presente em espécies de *Sporothrix* altamente virulentas para os hospedeiros de sangue quente é um importante marcador utilizado no processo de rastreamento da expansão geográfica de surtos de longa duração de esporotricose transmitida por gatos causada por *S. brasiliensis*[29,30].

Com base nos achados moleculares, somente a espécie *S. brasiliensis* foi identificada no grupo de isolados de humanos e amimais amostrados. Com a evolução dos meios de transporte, os deslocamentos de longas distâncias não são mais um obstáculo e, do ponto de vista epidemiológico, a mobilidade de distância curta é a principal causa de contágio, enquanto a de distância longa é responsável por disseminar o patógeno a outras regiões[,31].

A expansão geográfica da esporotricose causada por *S. brasiliensis* já não está restrita ao território brasileiro. Alguns casos já foram documentados em países vizinhos como Argentina e Paraguai[32,33,34,35], com casos suspeitos relatados na Bolívia, Colômbia e Panamá[36,37]. No entanto, Rachman et al.[38] relataram no Reino Unido um caso de esporotricose humana causado por *S. brasiliensis*, envolvendo um gato infectado importado do Brasil[38]. A ocorrência desses casos evidência o impacto da movimentação de espécies patogênicas, ao se deslocar os humanos e animais levam junto às doenças, fato observado desde os períodos das grandes navegações e colonização de novas áreas[39,40].

De acordo com as análises de AFLP foram revelados níveis de diversidade mais baixos entre isolados de *S. brasiliensis* do estado de Pernambuco e mais altos entre todos os isolados de *S. brasiliensis* utilizados neste estudo. Esses dados demonstram que após a expansão por meio de um efeito fundador, os isolados pertencentes a Pernambuco são considerados pouco diversos entre si, necessitando de mais tempo para o estabelecimento dessa população e reprodução a fim de gerar diversidade. Conforme descrito por Carvalho et al.[10], populações novas que se estabelecem por meio do efeito fundador tendem a possuir níveis menores de diversidade genética no início. Resultados similares (*PIC*= 0,2622 e *H*= 0,3103) aos de índice de polimorfismo dos isolados utilizados no nosso estudo foram descritos por Carvalho et al.[17] ao avaliarem *S. brasiliensis* de origem dos estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Pernambuco e Ceará, Brasil reafirmando a pouca diversificação da espécie desde o início da epidemia no país. Esse fenômeno de diversidade genética em um estabelecimento de uma população já pode ser observado em isolados de *Histoplasma* spp. do grupo LAm C (*PIC*=0,3601 e *H*= 0,4711) provenientes da região Nordeste do Brasil[19], além de já ter sido descrito também em espécies de *Paracoccidioides* (*PIC*= 0,3456 e *H*= 0,4443), recuperadas de uma vasta área da América do Sul[20].

Atualmente, é possível observar uma notável expansão geográfica da esporotricose transmitida por gatos que avança em direção às regiões Norte e Nordeste do Brasil, transformando um cenário anteriormente caracterizado por casos esporádicos, aglomerados e autolimitados, criando portanto, uma emergência de saúde pública[1,6]. No estado de Pernambuco, o número de casos de gatos infectados registrados entre os anos de 2016-2021 já soma 1176, contudo, o real número de

infectados pode ser superior a esse valor, tendo em vista que a esporotricose felina não é uma doença de notificação compulsória neste estado o que afeta diretamente o diagnóstico e manejo dos gatos acometidos. As rotas de transmissão de infecção envolvendo animais ou humanos podem sofrer transformações em surtos ou epidemias. Desta forma é de fundamental importância compreender e considerar a ocorrência de espécies de *Sporothrix* em humanos e animais[41].

Na América do Sul, a rota alternativa, via transmissão horizontal animal ou transmissão zoonótica, parece ser responsável pela rápida difusão e sucesso da transmissão de *S. brasiliensis*, distinguindo a esporotricose transmitida por gatos de uma doença de caráter ocupacional[7,41,42]. *Sporothrix brasiliensis* é classificada como a espécie mais efetiva no processo de disseminação da doença, fato consolidado pelos inúmeros relatos de doentes positivos por contato com gatos que albergam o patógeno fúngico[3,43], ratificando importância dos registros em gatos, conforme observado no proposto trabalho, onde descrevemos uma média anual histórica de 157 casos de esporotricose em gatos na Região Metropolitana do Recife.

Ao avaliar a origem dos isolados caracterizados quanto à espécie, esses foram provenientes de áreas urbanas da Região Metropolitana do município de Recife. Áreas urbanas são potenciais focos para diversas enfermidades infecto contagiosas[44,45,46]. Ao longo dos anos, o perfil epidemiológico da esporotricose vem se modificando no epicentro brasileiro que é o estado do Rio de Janeiro, que há mais de duas décadas enfrenta a esporotricose como um problema de saúde pública urbana, com aumento do número de casos em humanos e animais[47].

Bittencourt et al.[48] sugerem que o crescimento geométrico do número de casos de esporotricose humana no estado de São Paulo pode estar relacionado ao crescimento síncrono dos casos em gatos ou a busca ativa de casos em humanos, esses autores também destacaram que 96,5% dos pacientes infectados avaliados terem contato com gatos. Ao avaliar o mapa de distribuição de casos ao longo dos anos na Região Metropolitana do Recife, observa-se que algumas cidades se destacam pelo maior número de casos confirmados, como as cidades de Recife, Jaboatão dos Guararapes e Olinda que são classificadas como grandes centros urbanos.

Segundo dados da Secretaria Estadual de Saúde do estado de Pernambuco, as cidades de Recife, Jaboatão dos Guararapes e Olinda são as que apresentam o maior número de felinos na Região Metropolitana do Recife, com uma população estimada de 36,44% (55.264/151.666), 19,15% (29.040/151.666) e 8,01% (12152/151.666), respectivamente. Em um estudo de uma série de 10 casos de síndrome de Sweet associada à esporotricose em pacientes humanos atendidos no Hospital das Clínicas de Pernambuco, registrou-se que o contato com gatos doentes foi um antecedente epidemiológico comum em 90% dos pacientes acometidos[49].

A esporotricose nos centros urbanos transmitida pelo contato felino é uma representação clássica da dinâmica epidemiológica de uma enfermidade zoonótica que deve ser trabalhada no contexto da Saúde Única[50,51]. Scuarcialupi; Pereira; Baquero[52] em estudo tendo como modelo a cidade de Guarulhos, São Paulo, concluíram que, quanto maior a densidade da população de gatos, maior é a probabilidade de contato entre indivíduos infectados e suscetíveis, com necessidade de priorização na vigilância de áreas com base na concentração espacial de casos de esporotricose felina. Estratégias para controlar a disseminação da doença devem incluir políticas públicas de esterilização e castração, de baixo custo ou gratuitas, de gatos de estimação, campanhas de conscientização pública envolvendo as comunidades, provendo informações sobre a enfermidade, como preveni-la e o real impacto de gatos domésticos infectados e do seu abandono. Entretanto, a educação por si só, não é suficiente, uma rede de diagnóstico animal e a necessidade de notificação de casos em animais tem relação direta no controle e prevenção da enfermidade[5,51].

5. CONCLUSÃO

Existe uma proximidade das características moleculares dos isolados humanos e animais avaliados, destacando a representatividade dos gatos infectados na epidemiologia da esporotricose na área de estudo. Ao longo dos anos avaliados observou-se um aumento do número de casos de gatos infectados, assim como sua distribuição espacial na Região Metropolitana do Recife, com destaque para algumas cidades foco da esporotricose. A endemia humana e animal de esporotricose na área de estudo requer medidas concretas de vigilância e controle, na perspectiva da Saúde Única.

RECONHECIMENTO

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1 Rodrigues AM, Della Terra PP, Gremião ID, Pereira SA, Orofino-Costa R, de Camargo ZP. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. *Mycopathologia*. 2020;185(5):813-842. https://doi.org/10.1007/s11046-020-00425-0

2 Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo, ZP. (2018). Feline Sporotrichosis. In: Seyedmousavi, S., de Hoog, G., Guillot, J., Verweij, P. (eds) *Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals. Springer, Cham*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-72093-7_10

3 Gremião IDF, Miranda LHM, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLoS Pathog.* 2017;13(1): e1006077. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006077

4 Marimon R, Cano J, Gené J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol*. 2007;45(10):3198-206. https://doi.org/10.1128/JCM.00808-07.

5 Rodrigues AM, Hagen F, de Camargo ZP. A Spotlight on *Sporothrix* and Sporotrichosis. *Mycopathologia*. 2022;187(4):407-411. https://doi.org/10.1007/s11046-022-00642-9.

6 Bento AO, Costa ASS, Lima SL, Alves MM, Melo ASA, Rodrigues AM, da Silva-Rocha WP, Milan EP, Chaves GM. (2021) The spread of cat-transmitted sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis* in Brazil towards the Northeast region. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(8): e0009693. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009693

7 Macêdo-Sales PA, Souto SRLS, Destefani CA, Lucena RP, Machado RLD, Pinto MR, Rodrigues AM, Lopes-Bezerra LM, Rocha EMS, Baptista ARS. Domestic feline contribution in the transmission of *Sporothrix* in Rio de Janeiro State, Brazil: a comparison between infected and non-infected populations. *BMC Vet Res*. 2018;14(19). https://doi.org/10.1186/s12917-018-1340-4

8 SILVA GM, Howes JCF, Leal CAS, Mesquita EP, Pedrosa CM, Oliveira AAF, Silva LBG, Mota RA. Surto de esporotricose felina na região metropolitana do Recife. *Pesq. Vet. Bras*. 2018;38(09):1767–1771 https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5027

9 BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco. Diretoria Geral de Controle de Doenças e Agravos. Boletim epidemiológico – Esporotricose Humana, Pernambuco. 2020. v. 1, p. 1–3.

10 de Carvalho JA, Beale MA, Hagen F, Fisher MC, Kano R, Bonifaz A, Toriello C, Negroni R, Rego RSM, Gremião IDF, Pereira SA, de Camargo ZP, Rodrigues AM. Trends in the molecular epidemiology and population genetics of emerging *Sporothrix* species. *Stud Mycol*. 2021;17(100):100129. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100129.

11 Zolet ACT, Turchetto C, Zanella CM, Passaia G. Marcadores Moleculares na era genômica: metodologias e aplicações. sociedade brasileira de genética, 2017, 181 p.

12 de Carvalho JA, Pinheiro BG, Hagen F, Gonçalves SS, Negroni R, Kano R, Bonifaz A, de Camargo ZP, Rodrigues AM. A new duplex PCR assay for the rapid screening of mating-type idiomorphs of pathogenic *Sporothrix* species. *Fungal Biol*. 2021;125(10):834-843. https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.05.005.

13 da Cruz Bahiense Rocha I, Terra PPD, Cardoso de Oliveira R, Lubianca Zanotti R, Falqueto A, de Camargo ZP, Rodrigues AM, Gonçalves SS. Molecular-based assessment of diversity and population structure of *Sporothrix* spp. clinical isolates from Espírito Santo-Brazil. *Mycoses*. 2021;64(4):420-427 https://doi.org/10.1111/myc.13230.

14 Dyer PS, Inderbitzin P, Debuchy R. Mating-Type Structure, Function, Regulation and Evolution in the Pezizomycotina. *Growth, Differentiation and Sexuality*, 2016:351–385. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25844-7_14

15 Turgeon BG, Yoder OC. Proposed nomenclature for mating type genes of filamentous ascomycetes. *Fungal Genet Biol.* 2000;31(1):1-5. https://doi.org/10.1006/fgbi.2000.1227.

16 Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP. Molecular diagnosis of pathogenic *Sporothrix* species. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(12): e0004190. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004190

17 de Carvalho JA, Hagen F, Fisher MC, de Camargo ZP, Rodrigues AM. Genome-wide mapping using new AFLP markers to explore intraspecific variation among pathogenic *Sporothrix* species. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(7), e0008330, 2020. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008330

18 Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*. 1995;23(21):4407-14. https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407.

19 Rodrigues AM, Beale MA, Hagen F, Fisher MC, Terra PPD, de Hoog S, Brilhante RSN, de Aguiar Cordeiro R, de Souza Collares Maia Castelo-Branco D, Rocha MFG, Sidrim JJC, de Camargo ZP. The global epidemiology of emerging *Histoplasma* species in recent years. *Stud Mycol.* 2020;97:100095. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.02.001.

20 Roberto TN, de Carvalho JA, Beale MA, Hagen F, Fisher MC, Hahn RC, de Camargo ZP, Rodrigues AM. Exploring genetic diversity, population structure, and

phylogeography in *Paracoccidioides* species using AFLP markers. *Stud Mycol*. 2021;30;100:100131. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100131.
21 Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*. 1980;32(3):314-331.
22 Liu, B.H. Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis. 1st Edition ed. Boca Raton: CRC press; 1998
23 Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalsk A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breeding*. 1996;2:225–238. https://doi.org/10.1007/BF00564200
24 Varshney, R. K., Chabane, K., Hendre, P. S., Aggarwal, R. K.,Graner, A. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Science*. 2007;173(6):638-649. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.08.010
25 Tessier C, David J, This P, Boursiquot JM, Charrier A. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in Vitis vinifera L. *Theor Appl Genet.* 1999;98(1):171–7. https://doi.org/10.1007/s001220051054
26 Prevost A, Wilkinson M. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor Appl Genet*. 1999;98:107–112.https://doi.org/10.1007/s001220051046
27 Gray J. Quantum GIS: the open-source geographic information system. *Linux Journal*. 2008; 2008(172):8.
28 Rodrigues AM, de Hoog G, Zhang Y, de Camargo ZP. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. *Emerg Microbes Infect*. 2014;3(5):e32. https://doi.org/10.1038/emi.2014.33.
29 Macêdo-Sales PA, Souza LOP, Della-Terra PP, Lozoya-Pérez NE, Machado RLD, Rocha EMDSD, Lopes-Bezerra LM, Guimarães AJ, Rodrigues AM, Mora-Montes HM, Santos ALSD, Baptista ARS. Coinfection of domestic felines by distinct *Sporothrix brasiliensis* in the Brazilian sporotrichosis hyperendemic area. *Fungal Genet Biol*. 2020;140:103397. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103397.
30 Della Terra PP, Rodrigues AM, Fernandes GF, Nishikaku AS, Burger E, de Camargo ZP. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(8):e0005903. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005903.
31 El Shoghri A, Liebig J, Gardner L, Jurdak R, Kanhere S.How mobility patterns drive disease spread: A case study using public transit passenger card travel data. In *2019 IEEE 20th International Symposium on" A World of Wireless, Mobile and Multimedia Networks"(WoWMoM)* (pp. 1-6), 2019.
32 Caballero AA, Negrete JGA, Brunelli JP. Valor de las técnicas moleculares y de los factores de riesgo en el diagnóstico y evolución de la esporotricosis. A propósito de 2 casos por *Sporothrix* brasiliensis y S. globosa. *An Fac Cienc Méd.(Asunción).* 2020;53(3):177-184. 0 http://dx.doi.org/10.18004/anales/2020.053.03.177.

33 Córdoba S, Isla G, Szusz W, Vivot W, Hevia A, Davel G, Canteros CE. Molecular identification and susceptibility profile of *Sporothrix schenckii* sensu lato isolated in Argentina. *Mycoses*. 2018;61(7):441-448. https://doi.org/10.1111/myc.12760.
34 Etchecopaz AN, Lanza N, Toscanini MA, Devoto TB, Pola SJ, Daneri GL, Iovannitti CA, Cuestas ML. Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Argentina: Case report, molecular identification and in vitro susceptibility pattern to antifungal drugs. *J Mycol Med*. 2020;30(1):100908. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.100908.
35 García Duarte JM, Wattiez Acosta VR, Fornerón Viera PML, Aldama Caballero A, Gorostiaga Matiauda GA, Rivelli de Oddone VB, Pereira Brunelli JG. Sporotrichosis transmitted by domestic cat. A family case report. *Revista del Nacional (Itauguá).* 2017;*9*(2):67-76. https://doi.org/10.18004/rdn2017.0009.02.067-076.
36 . Phao. *Sporothrix brasiliensis*, an emerging fungal pathogen, notable for its zoonotic transmission and epidemic potential for human and animal health in the Americas Pan American Health Organization. 2019. p. 1–4
37 Rios ME, Suarez J, Moreno J, Vallee J, Moreno JP. Zoonotic sporotrichosis related to cat contact: first case report from Panama in Central America. *Cureus*. 2018;*10*(7):1–5. https://doi.org/10.7759/cureus.2906
38 Rachman R, Ligaj M, Chinthapalli S, Serafino Wani R. Zoonotic acquisition of cutaneous *Sporothrix braziliensis* infection in the UK. *BMJ Case Rep*. 2022;15(5):e248418. https://doi.org/10.1136/bcr-2021-248418.
39 Meloni S, Perra N, Arenas A, Gómez S, Moreno Y, Vespignani A. Modeling human mobility responses to the large-scale spreading of infectious diseases. *Scientific reports*. 2011;*1*(1): 1-7. https://doi.org/10.1038/srep00062
40 Pastor-Satorras R, Castellano C, Van Mieghem P, Vespignani A. (2015). Epidemic processes in complex networks. *Reviews of modern physics*. 2015;87(3):925.
41 Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal-Animal Transmission. *PLoS Pathog*. 2016;12(7):e1005638. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005638.
42 Arrillaga-Moncrieff I, Capilla J, Mayayo E, Marimon R, Mariné M, Gené J, Cano J, Guarro J. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(7):651-5. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02824.x.
43 Rodrigues AM, de Melo Teixeira M, de Hoog GS, Schubach TM, Pereira SA, Fernandes GF, Bezerra LM, Felipe MS, de Camargo ZP. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(6):e2281. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002281.
44 Aguilar J, Bassolas A, Ghoshal G, Hazarie S, Kirkley A, Mazzoli M, Meloni S, Mimar S, Nicosia V, Ramasco JJ, Sadilek A. Impact of urban structure on infectious disease spreading. *Sci Rep*. 2022;12(1):3816. https://doi.org/10.1038/s41598-022-06720-8.

45 Neiderud CJ. How urbanization affects the epidemiology of emerging infectious diseases. *Infect Ecol Epidemiol*. 2015;5:27060. https://doi.org/10.3402/iee.v5.27060.
46 Segurado AC, Cassenote AJ, Albuquerque Luna E. Saúde nas metrópoles-doenças infecciosas. *Estud Av.* 2016;30(86):29–49. https://doi.org/10.1590/S0103-40142016.00100003
47 da Silva MBT, Costa MMM, Torres CCS, Galhardo MCG, do Valle ACF, Magalhães MAFM, Sabroza PC, de Oliveira RM. Esporotricose urbana: Epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2012;28(10):1867–1880. https://doi.org/10.1590/S0102-311X2012001000006.
48 Bittencourt AA, Oyafuso LKM, Cavalin RF, Palhares RB, Benard G, Gimenes VMF, Del Negro GMB, Siqueira LPM, de Freitas Xavier RS, Lopes-Bezerra LM, Buccheri R, Lindoso JAL. A neglected disease. Human sporotrichosis in a densely populated urban area in São Paulo, Brazil: clinical-epidemiological and therapeutic aspects. *Braz J Microbiol*. 2022;53(2):739-748. https://doi.org/10.1007/s42770-022-00713-5.
49 de Lima ÍMF, Ferraz CE, Gonçalves de Lima-Neto R, Takano DM. Case Report: Sweet Syndrome in Patients with Sporotrichosis: A 10-Case Series. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;103(6):2533-2538. https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0579.
50 Gremião IDF, Martins da Silva da Rocha E, Montenegro H, Carneiro AJB, Xavier MO, de Farias MR, Monti F, Mansho W, de Macedo Assunção Pereira RH, Pereira SA, Lopes-Bezerra LM. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. *Braz J Microbiol*. 2021;52(1):107-124. https://doi.org/10.1007/s42770-020-00365-3.
51 Rodrigues AM, Gonçalves SS, de Carvalho JA, Borba-Santos LP, Rozental S, Camargo ZP. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *J Fungi (Basel).* 2022;8(8):776. https://doi.org/10.3390/jof8080776.
52 Scuarcialupi LN, Pereira FC, Baquero OS. Feline sporotrichosis: social vulnerability and prioritization of geographic areas in Guarulhos, SP, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*. 2021;58:e188291. https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2021.188291

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos na amplificação do gene 18S do rDNA de parasitos Apicomplexa, associada à técnica de sequenciamento genético, permitiram a identificação de áreas contaminadas por oocistos de *T. gondii*. Este estudo demonstrou que os ambientes públicos da cidade do Recife e da Ilha de Fernando de Noronha são potenciais fontes de infecção do parasito para indivíduos que têm contato com o solo desses ambientes. Comprovamos a partir de um modelo matemático, a adequação ambiental em toda a extensão do Arquipélago de Fernando de Noronha para a manutenção do coccídio, evidenciando a importância da abordagem Saúde Única para estimar a ocorrência de prováveis surtos de Toxoplasmose nesse ambiente insular. Ações de manejo de gatos errantes e de educação em saúde são necessárias para reduzir a contaminação ambiental e o número de infecções em humanos e animais susceptíveis.

Também foi demonstrado que *Sporothrix brasiliensis* é a espécie prevalente assim como o idiomorfo de acasalamento *MAT1-2*. A proximidade das características moleculares dos isolados humanos e animais avaliados, destaca a representatividade dos gatos infectados na epidemiologia da Esporotricose na área de estudo. Ressaltando a importância de estudos dessa natureza que são uma premissa da Saúde Única e que sustentam a necessidade do desenvolvimento de políticas públicas interprofissionais e intersetoriais, no âmbito local, regional, nacional, para conter o avanço desta zoonose.

Estratégias para controlar a disseminação das referidas enfermidades abordadas devem incluir políticas públicas de esterilização e castração, de baixo custo ou gratuitas, de gatos de estimação, campanhas de conscientização pública envolvendo as comunidades e agentes comunitários, provendo informações sobre a enfermidade, como preveni-la e o real impacto de gatos domésticos infectados e do seu abandono. Entretanto, a educação por si só, não é suficiente, uma rede de diagnóstico animal quando se trata de esporotricose se faz necessário, uma vez que as ações diretas envolvendo esses animais tem relação direta no controle e prevenção da enfermidade em um âmbito de Saúde Única.

11.ANEXO I

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 79 (2021) 101715

Contents lists available at ScienceDirect

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cimid

Investigation of soil contaminated with *Toxoplasma gondii* oocyst in urban public environment, in Brazil

Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira[a,*], Renata Pimentel Bandeira de Melo[a], Tania Alexandra Ortega Sierra[a], Renato Amorim da Silva[b], José Eudes da Silva de Oliveira[b], Brivaldo Gomes de Almeida[b], Rinaldo Aparecido Mota[a]

[a] Department of Veterinary Medicine, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife 52171-900, Pernambuco, Brazil

[b] Department of Forestry Science, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife 52171-900, Pernambuco, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Toxoplasma gondii
Soil contamination
Public health

ABSTRACT

In this study, we determined the occurrence of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil samples from public places. A total of 120 samples were collected from 24 sites, including squares, parks, university, hospitals in the city of Recife. The recovered oocysts were subjected to a nested-PCR test, and nine sites (9/24) were found to be positive for gene of apicomplexan parasites. The PCR product was sequenced, and 8.33% (10/120) of the samples showed 100% similarity to *T. gondii* DNA. *T. gondii* oocysts were detected in 75% (3/4) of the evaluated hospital soil samples and in 23.81% (5/21) soils samples from the public squares and parks. The results of this study demonstrate the potential of the soil in the areas analyzed as a source of *T. gondii* infection and therefore highlight the importance of devising educational strategies on the use of these sites, in addition to future cleaning protocols in public areas.

1. Introduction

Environmental contamination by infectious agents is increasingly recognized as a global threat to public health [1–3], with parasitic organisms standing out as one of the most significant pathogens in the soil [2,4,5].

Toxoplasma gondii, classified as an Apicomplexa protozoan, infects birds and mammals [6] and causes toxoplasmosis, a major public health issue in Brazil and globally [7,8].

Specific environmental conditions are necessary for the protozoan to establish itself in a new population and could result in an outbreak or even an epidemic. Geological and environmental characteristics, such as temperature, granulometry, moisture, and soil chemistry, influence the maintenance and sporulation of the oocysts [9–12].

One of the modes of *T. gondii* transmission is by the ingestion or inhalation of sporulated oocysts present in environments such as soil contaminated with feces from infected cats [13]. According to the One Health approach, human, animal, and environmental health problems coexist, and a broader understanding of the processes and factors involved benefits everyone [14].

However, despite its important role in the epidemiology of infectious diseases, environmental transmission remains the least studied mode of transmission [15,16]. Even with epidemiological discoveries about *T. gondii* and the mitigation of exposure to humans and animals, there is still a need for a comprehensive understanding of environmental contamination and the factors that contribute to the survival of oocysts in the environment [12].

Owing to the challenge of isolating infectious agents from the soil, polymerase chain reaction (PCR) testing plays an important role in the identification and molecular characterization of the organism [17]. Detection by molecular methods allows the identification of oocysts even at low concentrations, in addition to discerning closely related coccids [18].

Understanding the spatial distribution of *T. gondii* oocysts in public places provides evidence of the diversity of its life cycle. In view of the absence of studies in northeast Brazil and the importance of toxoplasmosis as an emerging zoonotic disease, the aim of this study was to estimate the occurrence of *T. gondii* oocysts in soil samples from public places in the city of Recife, Pernambuco, Brazil.

* Corresponding author.
E-mail address: pollyanne_rayse@hotmail.com (P.R.F. de Oliveira).

https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101715
Received 31 July 2021; Received in revised form 13 October 2021; Accepted 17 October 2021
Available online 27 October 2021
0147-9571/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

12.ANEXO II

Accepted Article

18651682, 2022, 0, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.14705 by UFRPE - Universidade de Pernambuco on [24/08/2022]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

DETECTION OF *Toxoplasma gondii* OOCYSTS IN SOIL AND RISK MAPPING IN AN ISLAND ENVIRONMENT IN THE NORTHEAST OF BRAZIL

Running head: DETECTION OF *Toxoplasma gondii* OOCYSTS IN SOIL

Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira[1*]; Renata Pimentel Bandeira de Melo[2]; Umberto Diego Rodrigues de Oliveira[3]; Fernando Jorge Rodrigues Magalhães[4]; Rivaldo José Ferreira Junior[5]; Muller Ribeiro Andrade[5]; Rinaldo Aparecido Mota[2]

[1] Graduate program Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil
[2] Departament of Veterinary Medicine, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil
[3] Graduate program Ecologia, Teoria, Aplicações e Valores, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil
[4] Health Surveillance Unit of the District of Fernando de Noronha, Pernambuco, Brazil
[5] Parasitology Sector - Institute of Biological and Health Sciences; Federal University of Alagoas, Brazil
***Corresponding author:** pollyanne_raysa@hotmail.com

ABSTRACT

Toxoplasmosis is an emerging and re-emerging infectious disease that can be transmitted through a contaminated environment. Environmental contamination is an emergency health issue and determining its occurrence is fundamental to a One Health approach. In this study we addressed the extent of environmental contamination and viability of *T. gondii* oocysts in soil in different environments on Fernando de Noronha Island, Brazil. In addition, we performed species distribution modeling to predict the environmental suitability for coccidia persistence in the studied area. Soil samples were collected in 14 neighborhoods of the Island and in the four main squares, creating a total of 95 soil samples (five samples per site). The samples were analyzed by the polymerase chain reaction (PCR) technique for the presence of the 18S ribosomal DNA (rDNA) gene of Apicomplexan protozoa, followed by genetic sequencing. We obtained 4.2% (4/95) positive soil samples with 100% similarity for *T. gondii* sequences. Two out of four positive sites on PCR showed viability of *T. gondii* oocysts through the mouse bioassay technique. As a result of the application of the species distribution modeling, environmental adequacy for the coccidia was observed throughout the Island. The results confirm the contamination of the soil in this insular environment by *T. gondii* oocysts and the environmental suitability by modeling application. These findings are an alert for the possibility of infection in animals and humans by contaminated soil, and for

This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as doi: 10.1111/tbed.14705.

This article is protected by copyright. All rights reserved.