

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**UTILIZAÇÃO DO MÉTODO PCA (*PRINCIPAL COMPONENT
ANALYSIS*) PARA ESTABELECEER O PROGNÓSTICO EM
CASOS DE ESPOROTRICOSE FELINA**

FRANCO BRESOLIN PEGORARO

BOTUCATU - SP

DEZEMBRO, 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

UTILIZAÇÃO DO MÉTODO PCA (*PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS*) PARA ESTABELECE O PROGNÓSTICO EM CASOS DE ESPOROTRICOSE FELINA

FRANCO BRESOLIN PEGORARO

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Profa. Dra. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt

Co-Orientador: Dra. Rita Maria Venancio Mangrich Rocha

BOTUCATU - SP

DEZEMBRO, 2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Pegoraro, Franco Bresolin.

Utilização do método PCA (*Principal Component Analysis*) para estabelecer o prognóstico em casos de esporotricose felina / Franco Bresolin Pegoraro. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.

Orientador: Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt

Coorientador: Rita Maria Venancio Mangrich Rocha

Capes: 50503030

1. Fungos. 2. Gatos. 3. Proteínas sanguíneas. 4. Resposta imune.

Palavras-chave: Fungo; Gatos; Proteína plasmática total; Resposta imune.

Nome do Autor: Franco Bresolin Pegoraro

Título: UTILIZAÇÃO DO MÉTODO PCA (*PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS*)
PARA ESTABELECE O PROGNÓSTICO EM CASOS DE ESPOROTRICOSE
FELINA

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Elizabeth dos Santos Moreira Schmidt

Presidente e Orientadora

Departamento de Medicina Veterinária da FMVZ

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP

Dr. Marconi Rodrigues de Farias

Membro Titular

Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR

Dra. Camila Peres Rubio

Membro Titular

Departamento de Medicina e Cirurgia Animal

Universidade de Murcia (ESP)

Data da Defesa: 16 de dezembro de 2024.

REGISTRO DE IMPACTO CIENTÍFICO, SOCIAL E ECONÔMICO DA TESE, RELACIONADO AOS OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL (ODS) DA AGENDA 2030 DA ONU

Título da Dissertação: UTILIZAÇÃO DO MÉTODO PCA (*PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS*) PARA ESTABELECEER O PROGNÓSTICO EM CASOS DE ESPOROTRICOSE FELINA

Impacto Científico: O presente estudo propõe avanços na identificação de padrões imunológicos frente a resposta a infecção e diagnóstico da esporotricose felina. Alinhado com os objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS), a dissertação contribui na busca do controle mais efetivo sobre uma zoonose emergente no Brasil.

Impacto Social: O presente estudo se alinha ao ODS 3, que visa assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, ao abordar uma doença com impacto na saúde pública e associada a zoonoses emergentes negligenciadas. Além disso, se alinhando também com a ODS 11 em busca de cidades seguras e com o olhar para os impactos socioambientais que essas doenças causam.

Impacto Econômico: A pesquisa desenvolvida fomenta a ciência sem o uso de recursos financeiros e utilização de animais. Os resultados obtidos no presente estudo sugerem métodos de diagnóstico de fator de evolução da esporotricose felina utilizando análises de baixo custo aos tutores.

DEDICATÓRIA

Essa dissertação é dedicada aos meus pais, Jorge e Iáscara, por toda a educação e carinho cedidos durante toda a minha vida, todo o apoio incondicional nas diversas etapas que passei e por ensinar a importância que é cuidar do meio ambiente e dos animais. A minha irmã, Luiza, por me aturar em todos os momentos de irmão e me ensinar o quão importante é sermos resilientes. A minha namorada, Amanda, meu anjo da guarda, que esteve ao meu lado em todas as decisões e momentos difíceis que vivi para completar mais essa jornada da vida. Meu amor por vocês é eterno.

Às minhas orientadoras, Beth e Rita, por me colocarem nesse trajeto e me incentivarem em todos os momentos para concluir esta etapa e buscar um conhecimento maior para a minha vida. Minha gratidão a vocês.

Também, dedico a todos os meus familiares, amigos e profissionais do ensino que estiveram comigo nestes dois anos, me ensinando e auxiliando em ideias, discussões e, até mesmo, na confecção de tabelas e gráficos (Bruno e Laura). O ser humano sozinho pode ser incrível, mas apenas com pessoas ao seu lado ele conseguirá ser completo.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, campus Botucatu, por disponibilizar recursos financeiros e humanos para minha formação profissional e por oferecer a possibilidade de adquirir ensino, pesquisa e extensão de excelente qualidade mesmo para alguém que não mora no estado. Este serviço beneficia a todos os estudantes, continuem com a inovação e a possibilidade de ensinar também remotamente.

Ao curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, FMVZ-UNESP, campus Botucatu, por me dar suporte e apoio durante todo o meu mestrado.

À toda equipe da Clínica Veterinária Escola (CVE-PUCPR), por viabilizar este projeto, compartilhar material de pesquisa e me auxiliar de todas as maneiras possíveis para realização deste trabalho. Colaboradores, professores, pós-graduandos e estagiários, meus sinceros agradecimentos.

À banca do exame geral de qualificação, Dra. Fabiana dos Santos Monti e Dr. Acácio Duarte Pacheco, por dedicar tempo para a leitura e correção deste manuscrito.

À banca de defesa da dissertação, Dr. Marconi Rodrigues de Farias e Dra. Camila Peres Rubio, por contribuir de forma pertinente e gentil para este momento tão importante de finalização do projeto acadêmico.

O presente trabalho agradece a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo reconhecimento em trabalhos acadêmicos em conjunto com a universidade.

PEGORARO, F.B. **Utilização do método PCA** (*principal component analysis*) **para estabelecer o prognóstico em casos de esporotricose felina** – Botucatu, SP, 2024. 68p. Defesa do Mestrado Acadêmico – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

Resumo

A esporotricose é uma zoonose emergente e de distribuição mundial causada pelo fungo do gênero *Sporothrix spp.* O Brasil concentra o maior número de casos de infecções humanas e animais do mundo, com surtos urbanos associados especialmente ao *S. brasiliensis*, espécie de maior virulência. O gato doméstico é a espécie mais susceptível a quadros infecciosos e desempenham um papel crucial na disseminação do fungo, desenvolvendo lesões cutâneas ulcerosas e, geralmente, disseminadas, com alta carga fúngica. Alterações laboratoriais são frequentemente observadas em felinos infectados, tornando relevante a identificação de correlações no perfil sanguíneo desses animais e a busca por marcadores que indiquem o agravo das lesões. Este estudo avaliou 70 prontuários de gatos diagnosticados com esporotricose e que possuíam exames laboratoriais em suas fichas de atendimento. O método de análise de componentes principais foi utilizado para reduzir a dimensionalidade dos dados e correlacionar as variáveis mais relevantes. Ademais, o modelo de regressão logística binária foi empregado para desenvolver um modelo preditivo relacionado à evolução dos tipos de lesões cutâneas observadas na esporotricose felina. Entre variáveis hematológicas e bioquímicas analisadas, a proteína plasmática total foi identificada como um importante marcador prognóstico de agravo em infecções cutâneas associadas ao fungo *Sporothrix*, sobretudo em sua forma disseminada.

Palavras-chave: Fungo; gatos; lesões cutâneas; proteínas; *Sporothrix*.

PEGORARO, F.B. **Application of PCA (principal component analysis) method to establish the prognosis in feline sporotrichosis**– Botucatu, SP, 2024. 66p. Defesa do Mestrado Acadêmico – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

Abstract

Sporotrichosis is an emerging zoonotic disease with global distribution, caused by fungi of *Sporothrix* genus. Brazil reports the highest incidence of human and animal infections worldwide, with urban outbreaks predominantly associated to *Sporothrix brasiliensis*, the most virulent species. Cats are particularly susceptible to infection and play a key role in fungal transmission, frequently developing ulcerative and disseminated cutaneous lesions associated with high fungal burden. Infected cats commonly exhibit abnormalities in blood profile, underscoring the importance of identifying correlations in blood analytes and searching indicative markers of lesion progression. This study evaluated 70 clinical charts of cats diagnosed with sporotrichosis and with blood analyses included on the records. Principal component analysis was applied to reduce data dimensionality and identify significant correlations. Additionally, binary logistic regression was employed to develop a predictive model related to cutaneous lesions evolution in feline sporotrichosis. Among hematological and biochemical variables analyzed, total plasma protein concentration was identified as a potential predictor for cutaneous infections caused by *Sporothrix* species, especially in the disseminated pattern.

Key words: Cats; fungus; proteins; skin lesions; *Sporothrix*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Casos de notificação de esporotricose humana e felina no estado do Paraná, no ano de 2024 (janeiro a junho), segundo SESA-PR. A divisão está realizada segundo as Regionais de Saúde do estado. (Adaptado pelo AUTOR, 2024).....20
- Figura 2.** Regiões anatômicas mapeadas e as porcentagens (%) de acometimento (Fonte: SANTOS et al., 2023).....23
- Figura 3 A e B.** Felino acometido com quadro disseminado de esporotricose, apresentando múltiplas lesões na região da face (A) e lateral (B) do corpo. (Fonte: PUCPR, 2022)24
- Figura 4.** Aspecto lesional cutâneo de esporotricose em braço direito de uma mulher. (Fonte: CRUZ, 2022).....26
- Figura 5 A e B.** Observação de leveduras (setas) compatíveis com *Sporothrix* spp. em análise citológica de lesão facial em um felino acometido por esporotricose. (Fonte: AUTOR, 2022).....29

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Cópia da autorização do Comitê de Ética de Uso em Animais (CEUA/PUCPR).....	66
---	----

SUMÁRIO

	Página
<i>CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO, REVISÃO DE LITERATURA E OBJETIVOS</i>	14
1 Introdução	15
2 Revisão de literatura	17
2.1 Definição e etiologia	17
2.2 Histórico e epidemiologia	17
2.3 Sinais clínicos	21
2.3.1 Esporotricose felina	21
2.3.2 Esporotricose humana	25
2.4 Resposta imunológica	26
2.5 Achados laboratoriais	27
2.6 Diagnóstico	28
2.7 Análise de componentes principais	30
3 Objetivos	32
4 Referências	33
<i>CAPÍTULO II. ARTIGO A SER SUBMETIDO À REVISTA VETERINARY SCIENCES</i>	41
1. INTRODUCTION	2
2. MATERIALS AND METHODS	2
2.1. ETHICAL STATEMENT	2
2.2. ANIMALS	3
2.3. LABORATORY ANALYSIS	3

2.4 STATISTICAL ANALYSIS	5
3. RESULTS	6
4. DISCUSSION	13
5. CONCLUSIONS	14
REFERENCES	16
Supplementary Materials	20
<i>CAPÍTULO III. Considerações finais e perspectivas</i>	67

***CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO, REVISÃO DE LITERATURA E
OBJETIVOS***

1 Introdução

A esporotricose é uma micose subcutânea causada pelo fungo do gênero *Sporothrix spp.* A doença é endêmica em diversas regiões do mundo, sendo o Brasil o país com o maior número de casos notificados. O fungo habita o solo, matéria orgânica em decomposição e vegetação, sendo sua incidência crescente em áreas urbanas e periurbanas. É considerada uma zoonose com alto impacto na saúde pública, devido aos seus aspectos epidemiológicos estarem ligados a áreas com alta densidade populacional e condições sanitárias precárias. Os gatos apresentam papel crucial na propagação do fungo, sendo a espécie com maior suscetibilidade a infecção.

O fungo é fortemente adaptado a regiões de clima tropical e subtropical, tendo maior prevalência na última década em estados do sudeste e sul do Brasil, como: Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. O Paraná enfrenta um aumento nas notificações em gatos nos últimos anos, evoluindo de 363 casos em 2020 para 3.290 (2023). A maior incidência está localizada na capital Curitiba e região metropolitana, principalmente em bairros periféricos e de menor estrutura habitacional.

No contexto clínico, a esporotricose felina apresenta manifestações clínicas variadas que podem incluir lesões nodulares, ulceradas e geralmente de aspecto granulomatoso, com grande potencial de disseminação sistêmica. Afeta principalmente a região da face, cervical e membros. A propagação ocorre sobretudo por meio de arranhões e/ou mordeduras, sendo relacionado à alta incidência de animais com acesso a rua, machos, adultos e não castrados. A vigilância epidemiológica e o diagnóstico precoce são essenciais para evitar a disseminação e reduzir a morbidade associada à doença.

A confirmação da infecção fúngica pode ser realizada por diferentes métodos diagnósticos, como: análises citológicas, culturas fúngicas, histopatológicos e testes sorológicos ou moleculares. Exames de triagem, como análises hematológicas e provas bioquímicas, são importantes para a avaliação

diagnóstica inicial e no acompanhamento do tratamento dos pacientes diagnosticados com esporotricose.

Por ser uma doença emergente de impacto zoonótico e pela facilidade do *S. brasiliensis* em causar novos surtos e epidemias entre gatos domésticos, a identificação de correlações no perfil da resposta sanguínea desses animais poderia auxiliar na definição de um prognóstico inicial para o indivíduo, contribuir para o desfecho clínico mais favorável dos animais doentes e, no contexto da saúde única, diminuir o impacto de transmissão zoonótica dos gatos no ciclo epidemiológico do fungo. Além disso, o desenvolvimento de modelos de predição de doenças, especialmente zoonóticas, contribuem na identificação de padrões clínicos e epidemiológicos, além de possibilitar a implementação de medidas preventivas que mitigam riscos à população e aos animais.

2 Revisão de literatura

2.1 Definição e etiologia

A esporotricose é uma zoonose de etiologia micótica causada por fungos do gênero *Sporothrix* spp. Pertencente à família Ophiostomataceae, ordem dos Ophiostomatales, o gênero *Sporothrix* possui atualmente 53 espécies, sendo *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei* emergentes e causadoras de infecções cutâneas em humanos e outros mamíferos (RODRIGUES; HAGEN; DE CAMARGO, 2022).

As espécies de *Sporothrix* apresentam diferenças relacionadas com a prevalência, de acordo com a localização geográfica, o grau de virulência e patogenicidade, origem ambiental e sensibilidade aos antifúngicos. *S. brasiliensis* é reconhecida como a espécie de maior grau de virulência e considerada o principal agente etiológico causador da esporotricose em gatos e humanos (ETCHECOPAZ et al., 2021).

O fungo é dimórfico e espécies como *S. Schenckii* e *globosa* podem ser encontradas em solos ricos em matéria orgânica sob a forma filamentosa. O outro formato, leveduriforme, é encontrado quando cultivado em temperatura de 37°C e em parasitismo no hospedeiro vertebrado. Os seres humanos e, principalmente os felinos, são mais suscetíveis a infecção devida suas temperaturas corpóreas serem consideradas ideais para o desenvolvimento fúngico. (LOPES-BEZERRA et al., 2018; GREMIÃO et al., 2017; RABELLO et al., 2021;).

2.2 Histórico e epidemiologia

A esporotricose foi descrita pela primeira vez em humanos nos Estados Unidos da América (EUA) em 1898, por Schenck, sendo isolada e descrita como causada por um fungo do gênero *Sporotrichum*. Em 1900, Hektoen e Perkins relataram um caso semelhante e, a partir do mesmo isolamento, os autores descreveram a espécie como sendo *Sporothrix schenckii*. Em 1912, De Beurmann e Gougerot publicaram mais de 200 casos registrados na França ao

longo de 10 anos (SCHENCK, 1898; HEKTOEN; PERKINS, 1900; DE BEURMANN; GOUGEROT, 1912).

A primeira descrição de esporotricose humana e animal no Brasil ocorreu em conjunto, em 1907, por Lutz e Splendore. Os autores isolaram o *S. schenckii* a partir de lesões em ratos, e ressaltaram a possibilidade de transmissão a partir de mordedura, pois o agente foi isolado na cavidade oral destes animais. Em gatos domésticos, o primeiro relato de caso de esporotricose naturalmente adquirida ocorreu nos EUA em 1952, por Singer e Muncie, e em 1956 no Brasil (FREITAS; MIGLIANO; ZANI NETO, 1956; LUTZ; SPLENDORE, 1907).

No Brasil, a infecção foi descrita em diferentes hospedeiros, como equinos, caninos, felinos, ratos e bovinos, além de seres humanos (MACEDO; COSTA, 1978; COPETTI et al., 2002). Estudos apontam maior suscetibilidade à infecção aos gatos domésticos (GREMIÃO et al., 2017; RABELLO et al., 2021).

Atualmente, as espécies de *Sporothrix* estão distribuídas globalmente e novos surtos e epidemias são registrados em diferentes regiões, sendo *S. brasiliensis* o principal responsável por epizootias urbanas da doença. MORGADO et al. (2022) mencionam a América do Sul como continente de maior prevalência de esporotricose animal, seguida da Ásia e Europa. A espécie *S. luriei* é encontrada com frequência na África do Sul. A *S. globosa* está presente nos Estados Unidos, China, Japão, Itália, Espanha, Reino Unido, Índia, Argentina e Venezuela (MORRIS-JONES, 2002; GREMIÃO et al., 2020; HERNANDEZ-CASTRO et al., 2022; THOMSON et al., 2023). Um estudo recente também identificou casos de esporotricose felina na Austrália, com transmissão zoonótica, ampliando sua distribuição geográfica e reforçando o problema de saúde global emergente (MIRANDA et al., 2024).

A espécie identificada com maior grau de patogenicidade, *Sporothrix brasiliensis*, foi descrita como restrita a América do Sul por THOMSON et al. (2023). Porém, estudos recentes evidenciam animais e humanos portadores do fungo, que saíram do Brasil, sendo então relatados em outros países como Reino Unido, EUA, Chile e Argentina (ETCHECOPAZ et al., 2021; BARNACLE et al., 2023; THOMSON et al., 2023; XAVIER et al., 2023).

A prevalência do fungo está relacionada a regiões de clima tropical e subtropical, sendo considerada a micose de implantação mais comum em humanos e gatos na América Latina, apresentando-se endêmica em diversas regiões. Atualmente, o Brasil é o país que concentra o maior número de casos de esporotricose felina e humana (GREMIÃO et al., 2021; SILVA; NEGRINI, 2023).

Em 2023, a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu a doença como uma zoonose negligenciada devido ao impacto significativo na saúde pública (WHO, 2023). A incidência de esporotricose animal está relacionada a áreas de baixa estrutura higiênico-sanitária e habitacional (CRUZ, 2022).

Inúmeros casos de infecção por *S. brasiliensis* foram relatados em gatos e seres humanos no Rio de Janeiro desde 1998. Segundo dados da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), até 2015 foram 4.703 gatos domésticos diagnosticados com a infecção. Desde então, estados da região sudeste e sul do país vem enfrentando uma crescente no número de surtos (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016; GREMIÃO et al., 2017).

Mais de 90% dos surtos urbanos de esporotricose humana e felina no Brasil são relacionados ao *S. brasiliensis* (THOMSON et al., 2023). A espécie é adaptada aos tecidos de mamíferos, que desempenham papel principal nos surtos urbanos e auxiliam na propagação da doença, como observado no município de Curitiba, no estado do Paraná (RÜNCOS et al., 2017; CRUZ, 2022).

O estado do Paraná enfrenta uma expansão dos casos notificados de esporotricose humana e animal no decorrer dos últimos anos (PARANÁ, 2024). A partir da Resolução da Secretaria de Estado da Saúde do Paraná (SESA) número 093/2022, o governo do Estado definiu a infecção como de interesse estadual e notificação compulsória nos serviços de saúde públicos e privados de todo o seu território, sendo o primeiro estado do Brasil a ceder o medicamento para tratamento dos casos de esporotricose animal (PARANÁ, 2024).

De acordo com a SESA-PR, os dados preliminares referentes as notificações dos casos de esporotricose humana e felina no estado do Paraná em 2024, no período até junho, foram obtidos e estão apresentados na Figura 1.

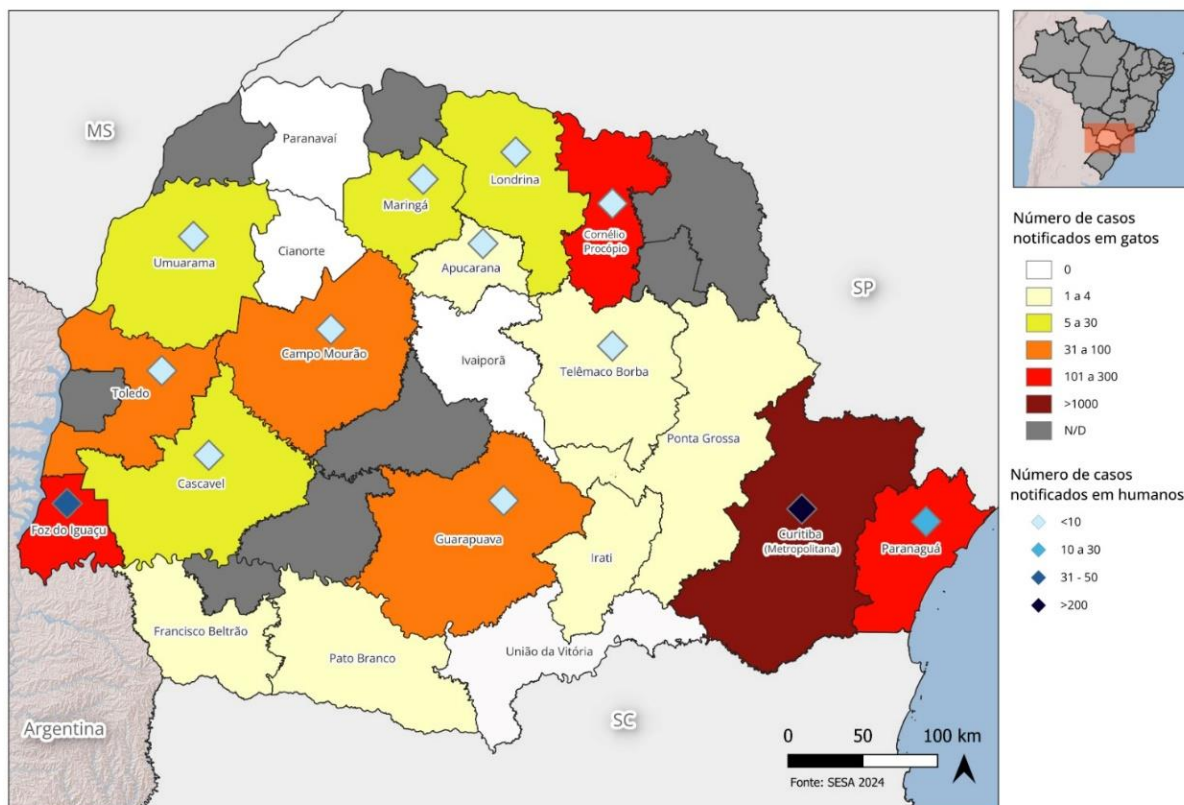


FIGURA 1. Casos de notificação de esporotricose humana e felina no estado do Paraná, no ano de 2024 (janeiro a junho), segundo SESA-PR. A divisão está realizada segundo as Regionais de Saúde do estado. (Adaptado pelo AUTOR, 2024).

O histórico das notificações em gatos no estado foi de 731 casos no ano de 2021, 1.412 em 2022, 3.290 casos em 2023 e, até o mês de junho de 2024, são 2.004 notificações, demonstrando a contínua propagação do fungo por praticamente todo o Paraná (PARANÁ, 2024).

Curitiba, a capital do estado, é o município com o maior Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHM) do Paraná, segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) de 2010 (IBGE, 2010). Apesar deste contexto, há distintos padrões populacionais, com áreas de menor estrutura urbana, alta densidade demográfica e rede sanitária precária. Em estudo realizado com 190 gatos atendidos e diagnosticados com esporotricose nos anos de 2016 a 2020, a análise epidemiológica constatou que a maior

concentração de casos ocorria em bairros de zonas periféricas da cidade e região metropolitana, sendo que 64% dos gatos tinham acesso a rua (CRUZ, 2022).

O ciclo epidemiológico envolve uma tríade entre felinos, humanos e ambiente. A disseminação da esporotricose está relacionada com fatores de vulnerabilidade socioeconômica, baixa educação em saúde, posse irresponsável de animais e a falta de estrutura higiênico-sanitária as populações (ETCHECOPAZ et al., 2021; CRUZ, 2022).

A doença acomete principalmente gatos machos, adultos, não castrados e sem raça definida, muitos deles semidomiciliados ou em situação de rua (GONÇALVES et al., 2019). Esses animais são vulneráveis a qualquer tipo de infecção e os maiores responsáveis pela disseminação do fungo em meios urbanos (CRUZ, 2022; MIRANDA et al., 2018).

O padrão vulnerável dos felinos é decorrente dos hábitos inerentes à espécie, que varia entre afiar as garras, enterrar dejetos em solo e a lambedura corporal como forma de autolimpeza (SILVA; NEGRINI, 2023). O patógeno se abriga nas garras, leitos ungueais e cavidade oral do animal, sendo transmitido através de arranhadura, mordedura, contato com exsudatos lesionais com alta carga parasitária e aerossóis (RODRIGUES et al., 2020; XAVIER et al., 2023).

2.3 Aspectos clínicos

2.3.1 Esporotricose felina

A lesão inicial ocorre no local da inoculação e tem aspecto nodular e firme, inicialmente de evolução subaguda, mas tendendo a evolução crônica, com necrose de liquefação e aparecimento de ulcerações ao longo do tempo, presença de exsudatos purulentos e/ou serosanguinolentos (STEFANISZEN et al., 2023). Em gatos, acomete os tecidos cutâneo, subcutâneo e a rede linfática, podendo disseminar para outros órgãos e evoluir para infecções sistêmicas (SCHUBACH et al., 2004). O período de incubação da esporotricose pode variar de acordo com a forma de exposição ao fungo (GREMIÃO et al., 2021). Quando

a infecção ocorre pela forma de levedura, o período de incubação é de geralmente 14 dias. Em casos de infecção a partir de formas hifóides provenientes do ambiente, este tempo pode ser superior a 3 ou 4 semanas (THOMSON et al., 2023).

Apesar de serem sinais inespecíficos, os gatos podem apresentar letargia, depressão, anorexia e febre. Eventualmente, há acometimento sistêmico sem a presença de sinais clínicos evidentes, sendo relatados quadros assintomáticos da doença (GREMIÃO et al., 2020).

A esporotricose felina pode se manifestar com lesões cutâneas únicas (fixa), múltiplas (disseminada), extracutâneas ou linfocutâneas. Comumente há o desenvolvimento de sinais sistêmicos, com envolvimento de mucosas, levando a um quadro disseminado da doença (DE SOUZA et al., 2018). A mucosa nasal é a mais acometida, mas as lesões podem ser observadas pela face, região cervical e membros, sendo frequente a ocorrência de três ou mais lesões (GREMIÃO et al., 2021; SCHUBACH et al., 2004).

SANTOS et al. (2023) mapearam a distribuição de lesões de 102 gatos diagnosticados com esporotricose, os resultados estão demonstrados na Figura 2:

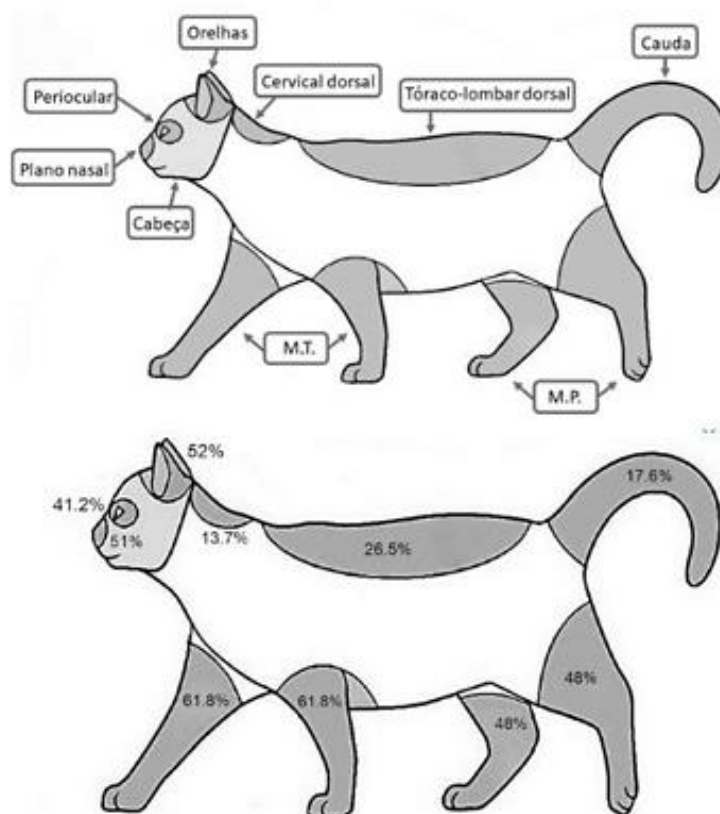


FIGURA 2. Regiões anatômicas mapeadas e as porcentagens (%) de acometimento (Fonte: SANTOS et al., 2023).

O padrão lesional da cutânea fixa é caracterizado por ser único e localizado no ponto de inoculação do fungo. Há desenvolvimento de um nódulo firme, com inflamação peri-lesional que tende a ulceração (cancro esporotricótico). A infecção geralmente permanece restrita ao local (MORGADO et al., 2011).

As lesões disseminadas representam a forma clínica mais encontrada na esporotricose felina (BOECHAT et al., 2022). São lesões múltiplas, geralmente em mais de três locais, caracterizadas por placas ou nódulos cutâneos de centro ulcerados (Figura 3A e B), lesões ulcerosas, exsudativas, crostosas e coalescentes, com alta carga de leveduras (GREMIÃO et al., 2015; MIRANDA et al., 2018). Pode estar associado com sinais respiratórios, lesões intranasais e disseminação linfática (DE SOUZA et al., 2018).

Zonas de necrose também podem se expandir em alguns animais pelo tecido subcutâneo e levar a exposição muscular e/ou óssea (RODRIGUES; HAGEN; DE CAMARGO, 2022; SANTOS et al., 2023).

A forma extracutânea está associada a presença de sinais respiratórios, oftálmicos ou sistêmicos, que podem aparecer em conjunto com outros quadros lesionais (GREMIÃO et al., 2021). Os sinais clínicos respiratórios são caracterizados pela presença de espirros, estríduos e descargas nasais, com lesões em ponte nasal ou granulomas intranasais, que podem preceder a presença de lesões cutâneas (CRUZ, 2022).

Lesões oftálmicas também são relatadas e caracterizadas por blefaroconjuntivite granulomatosa, uni ou bilateral (VOESE, 2021). A presença de múltiplas úlceras na pele de felinos foi associada a sua disseminação extracutânea (GREMIÃO et al., 2021). Um estudo evidenciou o isolamento de *Sporothrix spp.* em gatos a partir de exames histopatológicos dos pulmões, baço, linfonodos e região nasal com envolvimento ósseo (SANTOS et al., 2023).



FIGURA 3. Felino apresentando quadro disseminado de esporotricose, apresentando múltiplas ulcerações exsudativas e serosanguinolentas na região da face (A) e lateral (B) do corpo. (Fonte: PUCPR, 2022)

Gatos portadores de doenças imunodepressoras, como a causada pelo vírus da leucemia felina (FeLV), podem ser suscetíveis a doenças fúngicas (DAVIES; TROY, 1996). Apesar da FeLV não ser um fator predisponente para o desenvolvimento da esporotricose, de acordo com Miranda et al. (2018) pode ser considerado um fator agravante do quadro clínico da doença (RABELLO et al., 2021).

2.3.2 Esporotricose humana

Em seres humanos, é comumente observado o quadro lesional linfocutâneo (Figura 4), caracterizado por um foco de lesão cutânea inicial, linfangite ascendente, múltiplas lesões nodulares que se distribuem ao longo do trajeto linfático e linfadenite regional (CRUZ, 2022). A lesão cutânea fixa é a segunda forma clínica mais comum, mas sem envolvimento linfático.

Em centros urbanos, a forma mais importante de transmissão a humanos é pela via zoonótica, majoritariamente através dos gatos (RODRIGUES et al., 2022). Esses animais, muitas vezes domiciliados e com acesso à rua, adquirem o fungo ao entrarem em contato com animais infectados durante seus deslocamentos. Ao retornarem ao ambiente doméstico, transmitem a infecção aos tutores por meio de arranhaduras ou mordeduras. Em estudo de COGNIALLI et al. (2024), há uma prevalência maior da infecção em mulheres adultas envolvidas em atividades domésticas.

Ocasionalmente a infecção pode ocorrer pela inalação de conídios, favorecendo o aparecimento da forma pulmonar (MIRANDA, 2013). A esporotricose humana é importante em casos de indivíduos imunocomprometidos e infectados pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), pois se manifesta de forma mais agressiva e com possibilidade de disseminação sistêmica (RABELLO et al., 2021).



FIGURA 4. Aspecto lesional linfocutâneo de esporotricose cutânea em membro anterior na superfície extensora do antebraço direito de uma mulher. (Fonte: CRUZ, 2022)

2.4 Resposta imunológica

A resposta imune desencadeada pela exposição ao fungo *Sporothrix* envolve a imunidade inata e adaptativa, que podem ser iniciadas através do reconhecimento das células epiteliais e da ativação de receptores Toll-like (TLR) presentes nas primeiras células fagocitárias enviadas pelo hospedeiro (CARLOS et al., 2009; MIRANDA, 2013).

A resposta imune celular desempenha um papel fundamental nas infecções em felinos, especialmente por meio da formação de um processo granulomatoso. O envolvimento de macrófagos e linfócitos T CD4⁺ é evidenciado, sendo o aumento de células CD4⁺ associadas aos linfócitos T auxiliares do tipo 1 (Th1) estão relacionados a lesões únicas, de baixa carga fúngica e uma resposta imune organizada (MIRANDA et al., 2016; GREMIÃO et al., 2017).

A forma eficaz do granuloma é capaz de controlar a expansão fúngica e destruir o agente, por fagocitose, pelo Sistema Monocítico Fagocitário (SMF) e células T citotóxicas. (MIRANDA et al., 2016). VAN DE VEERDONK e NETEA (2010) sugerem que, em infecções fúngicas, a resposta imune do hospedeiro parece depender de uma resposta do tipo Th1.

Uma resposta imune celular eficiente contra agentes infecciosos está ligada a produção de interleucinas pró-inflamatórias como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral (TNF) (CARLOS et al., 2009). Essas proteínas são produzidas pelos macrófagos, presentes nas respostas inata e adaptativa. A diminuição dessas citocinas em camundongos infectados por *Sporothrix spp.* foi associada a uma redução da resposta imune, aumento da carga fúngica e piora no estado geral do hospedeiro (CARLOS et al., 1994).

A participação da resposta imune humoral também é descrita (MAIA et al., 2006). Citocinas do tipo Th2, como interleucina-10 (IL-10) e a interleucina-4 (IL-4), são liberadas durante toda a infecção, mas aumentam ao longo das semanas e podem estar ligadas com a diminuição da imunidade celular (MIRANDA, 2013).

2.5 Achados laboratoriais

No perfil hematológico e bioquímicos de cães infectados pelo fungo foi observado a presença de anemia (52% dos casos), eosinofilia e neutrofilia. Para as variáveis bioquímicas, houve a diminuição da concentração de albumina em 61,8% dos casos e o aumento da concentração das proteínas plasmáticas totais em 32% dos animais (SCHUBACH et al., 2006).

As alterações hematológicas e bioquímicas em gatos descritas nas infecções por *Sporothrix* geralmente são similares com outros quadros infecciosos e de fungos invasivos, como *Cryptococcus sp.* e *Histoplasma sp.*, sendo hiperglobulinemia e leucograma inflamatório os achados mais comuns (BARRS et al., 2024).

Anemias não-regenerativas, com apresentação normocítica e normocrômica, são comuns em felinos com esporotricose. Há, também,

leucocitose com neutrofilia e presença de bastonetes. Hipoalbuminemia também é um achado comum em pacientes com a lesão disseminada de esporotricose (SCHUBACH et al., 2004). MADRID et al. (2012) observaram leucocitose, neutrofilia e anemia como principais alterações em gatos com esporotricose, sendo constatado alterações apenas em pacientes com a lesão cutânea disseminada. Os felinos com a forma cutânea fixa apresentaram valores dentro dos parâmetros de referência.

2.6 Diagnóstico

O método “padrão ouro” para o diagnóstico de esporotricose em gatos é o isolamento e identificação do *Sporothrix spp.* por cultura fúngica em ágar Sabouraud dextrose (MIRANDA, 2013). Ocorre o crescimento da fase micelial em temperatura ambiente (25°C) com posterior crescimento da fase leveduriforme a 37°C. O material coletado pode ser suabe do exsudato lesional, aspirado ou biópsia da lesão. O resultado confirmatório pode sair em até 30 dias (YAO et al., 2020; GREMIÃO et al., 2021).

De forma alternativa e presuntiva, são utilizadas na rotina outras técnicas de diagnóstico, como: análises citológicas e histopatológicas das lesões. A citologia é realizada por impressão das lesões em lâmina de vidro, com coloração por corantes hematológicos rápidos e visualização das leveduras em microscópio, que são caracterizadas por serem envoltas por um halo claro, pleomórficas e de coloração basofílica (Figura 5B) (CRUZ, 2022).

O exame dermatohistopatológico pode ser realizado a partir de biópsia da lesão, fixando a amostra em formol a 10% e corando com hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS) ou impregnação pela prata de Grocott (GMS), a fim de definir a etiologia fúngica por meio da visualização de estruturas leveduriformes (DA SILVA et al., 2020; GREMIÃO et al., 2015).

Um estudo realizado por SILVA et al. (2018) comparou a sensibilidade entre três métodos diagnósticos para esporotricose felina (análise citológica, histopatológica e imuno-histoquímica), sendo constatado maior sensibilidade

para as análises histopatológicas, desde que coradas com GMS (91,3%), seguidas da imuno-histoquímica (88,6%) e citologia com 87,0%.

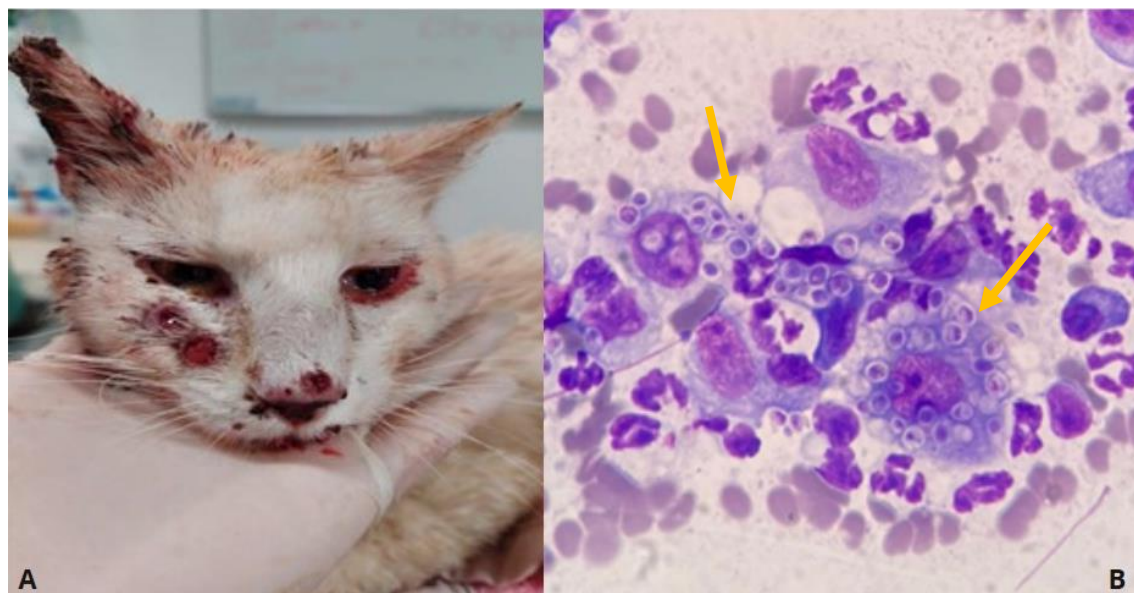


FIGURA 5. Observação de leveduras (B - setas) compatíveis com *Sporothrix* spp. em análise citológica de lesão facial em um felino acometido por lesões cutâneas disseminadas de esporotricose (A). (Fonte: AUTOR, 2022)

Ensaio imunoenzimático (ELISA) podem ser utilizados para o diagnóstico da esporotricose felina (RODRIGUES et al., 2018). Os testes são realizados a partir de amostras de sangue e soro dos pacientes e possuem alta sensibilidade e especificidade (FERNANDES et al., 2011).

A reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) é outro método diagnóstico que pode ser utilizado, principalmente em casos previamente negativos ou que apresentam baixa carga fúngica. A técnica permite a detecção do agente e das espécies do fungo (ZHANG et al., 2019).

O diagnóstico da esporotricose pode ser difícil nos casos de baixa carga fúngica, sendo necessário o uso de mais de uma das técnicas mencionadas (SILVA et al., 2018). Ademais, o tratamento prévio com antifúngicos tópicos ou sistêmicos pode influenciar os resultados dos testes diagnósticos laboratoriais, reduzindo a sensibilidade dos mesmos (SANTOS et al., 2023).

O diagnóstico precoce da esporotricose felina é essencial para garantir a prevenção da infecção aos humanos, especialmente indivíduos suscetíveis com doenças imunossupressoras, crianças e idosos, além de diminuir o crescimento fúngico e a capacidade de transmissão do agente entre os gatos (GREMIÃO et al., 2020).

A esporotricose felina tem como principais diagnósticos diferenciais neoplasias, como carcinoma de células escamosas, leishmaniose, histoplasmose, criptococose, micobacteriose, nocardiose, piodermite bacterianas e quadros inflamatórios eosinofílicos (GREMIÃO et al., 2021).

2.7 Análise de componentes principais

O método PCA (Análise de Componentes Principais) é uma técnica estatística multivariada que analisa uma tabela de dados e extrai as informações mais importantes, comprimindo o tamanho do conjunto de dados e simplificando sua interpretação. Em suma, é fundamentado nos conceitos de seleção e extração de dados, com posterior redução da dimensão. Além disso, é um dos métodos mais comuns de resumir padrões de correlações entre variáveis, reduzindo a quantidade de variáveis e as transformando em fatores, que são utilizados para reproduzir a matriz de correlação. Com este método é possível obter a descrição da relação entre as variáveis em vez de apenas uma análise teórica, sendo amplamente empregado em casos de múltiplas variáveis correlacionadas (LAM et al., 2005; ABDI; WILLIANS, 2010; TABACHNICK; FIDELL, 2013).

Os componentes principais são variáveis criadas através de combinações lineares entre as variáveis originais (ABDI; WILLIANS, 2010). A partir disso, pode-se identificar com maior facilidade tendências e padrões de correlação de um conjunto de dados. Geralmente, dois componentes principais são calculados na PCA. O componente principal 1 (PC1) captura a maior variabilidade no conjunto de dados, retendo a maior parte das informações. O PC2 (Componente principal 2) captura a segunda maior quantidade de variação nos dados, ou seja, aquilo que o PC1 não conseguiu explicar. Os dois componentes principais não

são correlacionados entre si e são apresentados em um gráfico de dispersão (JOLLIFFE; CADIMA, 2016; ABDI; WILLIAMS, 2010).

Embora o método PCA não seja uma ferramenta preditiva, pode ser utilizado como um redutor de complexidade dos dados e de melhoria no desempenho do processo de um modelo de predição, a partir da formação e análise dos componentes principais. O modelo preditivo pode ser realizado por regressão linear, regressão logística, máquina de vetores ou árvores de decisão (JURAFSKY et al., 2008).

CHANG et al. (2016) utilizaram a análise de componentes principais para analisar perfis bioquímicos séricos de raças distintas de cães para identificar possíveis diferenças fenotípicas e componentes genéticos da espécie. Da mesma forma, URIBE-QUEROL et al. (2023) utilizaram a mesma sistemática (PCA), somado a um modelo preditivo, para avaliar a taxa de sobrevivência em cães com tumores mamários. Em ambos os estudos, a análise de componentes principais obteve resultados satisfatórios.

3 Objetivos

O objetivo do presente estudo é avaliar se dados clínicos e laboratoriais usualmente empregados e acessíveis na rotina clínica veterinária apresentam indicadores que possam caracterizar a evolução e progressão das lesões de felinos diagnosticados com esporotricose, contribuindo na identificação de fatores preditivos associados às apresentações clínicas da doença.

A hipótese deste estudo a ser testada é a de que a aplicação do método de análise de componentes principais (PCA) poderá gerar uma correlação entre as variáveis hematológicas e bioquímicas obtidas dos gatos confirmadamente infectados para contribuir no estabelecimento de indicadores preditivos para a esporotricose felina.

4 Referências

- ABDI, H.; WILLIAMS, L.J. Principal Component Analysis. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 2, n.4, p.433-459, 2010.
- ALMEIDA-PAES, R.; PIMENTA, M.A.; PIZZINI, C.V.; MONTEIRO, P.C.F.; PERALTA, J.M.; NOSANCHUK, J.D.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R.M. Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 244–249, mar. 2007.
- BARNACLE, J. R.; CHOW, Y.J.; BORMAN, A.M.; WYLLIE, S.; DOMINGUEZ, V.; RUSSEL, K.; ROBERTS, H.; ARMSTRONG-JAMES, D.; WHITTINGTON, A.M. The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America. **Medical Mycology Case Reports**, v. 39, p. 14–17, mar. 2023.
- BARRS, V. R.; BECZOWSKI, P.M.; TALBOT, J.J.; HOBI, S.; TEOH, S.N.; MUGUIRO, D.H.; SHUBITZ, L.F.; SANDY, J. Invasive Fungal Infections and Oomycoses in Cats: 1. Diagnostic approach. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 26, n. 1, p. 1098612X231219696, jan. 2024.
- BRILHANTE, R.S.N.; DA SILVA, M.L.Q.; PEREIRA, V.S.; DE OLIVEIRA, J.S.; MACIEL, J.M.; DA SILVA, I.N.G.; GARCIA, L.G.S.; GUEDES, G.M.M.; CORDEIRO, R.A.; PEREIRA-NETO, W.A.; DE CAMARGO, Z.P.; RODRIGUES, A.M.; SIDRIM, J.J.C.; CASTELO-BRANCO, D.S.C.M.; ROCHA, M.F.G. Potassium iodide and miltefosine inhibit biofilms of *Sporothrix schenckii* species complex in yeast and filamentous forms. **Medical Mycology**, v. 57, n. 6, p. 764–772, nov. 2018.
- CARLOS, I. Z.; SASSÁ, M.F.; SGARBI, D.B.G.; PLACERES, M.C.P.; MAIA, D.C.G. Current Research on the Immune Response to Experimental Sporotrichosis. **Mycopathologia**, v. 168, n. 1, p. 1–10, fev. 2009.
- CARLOS, I. Z.; ZINI, M.M.; SGARBI, D.B.G.; ANGLUSTER, J.; ALVIANO, C.S.; SILVA, C.L. Disturbances in the production of interleukin-1 tumor and necrosis factor in disseminated murine sporotrichosis. **Mycopathologia**, v. 127, n. 3, p. 189–194, set. 1994.
- Conselho Regional de Medicina Veterinária do Paraná (CRMV-PR). **Enfrentamento Esporotricose**. Disponível em: <https://crm-v-pr.org.br/paginas-centralizadas/40_272_Eventos.html>. Acesso em: 29 set. 2024.
- COPETTI, M.V.; SANTURIO, J. M.; ARGENTA, J. S.; LEAL, A. B. M.; GONCALVES, L. M.; ALVES, S. H. Esporotricose equina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 30, n.2, p.135-138, ago. 2002.

CRUZ, A.C.O. **Aspectos epidemiológicos e socioeconômicos associados à esporotricose felina e humana em Curitiba (PR)**. 2022. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2022.

DA SILVA, F. S.; CUNHA, S.C.D.; MORAES, V.A.; FERREIRA, A.M.R. Esporotricose felina: um relato de caso de disseminação cutânea e sistêmica em gato negativo para FIV e FeLV. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 27, n. 4, p. 183-187, dez. 2020.

DAVIES, C.; TROY, G. Deep mycotic infections in cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 32, n. 5, p. 380–391, set. 1996.

DE BEURMANN, L.; GOUGEROT, H. Les sporotrichoses. **Paris: Librairie Félix Alcan**, p. 852, 1912.

DE SOUZA, E. W.; BORBA, C.D.; PEREIRA, S.A.; GREMIÃO, I.D.F.; LANGOHR, I.M.; OLIVEIRA, M.M.E.; DE OLIVEIRA, R.V.C.; DA CUNHA, C.R.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R.M.; DE MIRANDA, L.H.M.; MENEZES, R.C. Clinical features, fungal load, coinfections, histological skin changes, and itraconazole treatment response of cats with sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p.9074, jun. 2018.

ETCHECOPAZ, A.; TOSCANINI, M.A.; GISBERT, A.; MAS, J.; SCARPA, M.; IOVANNITTI, C.A.; BENDEZÚ, K.; NUSBLAT, A.D.; IACHINI, R.; CUESTAS, M.L. *Sporothrix brasiliensis*: A Review of an Emerging South American Fungal Pathogen, Its Related Disease, Presentation and Spread in Argentina. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 3, p. 170, fev. 2021.

FERNANDES, G.F.; LOPES-BEZERRA, L.M.; BERNARDES-ENGEMANN, A.R.; SCHUBACH, T.M.; DIAS, M.A.; PEREIRA, S.A.; DE CAMARGO, Z.P. Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. **Veterinary Microbiology**, v. 147, n. 3-4, p. 445-449, jan. 2011.

FREITAS, D. C. DE; MIGLIANO, M. F.; ZANI NETO, L. Esporotricose. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo**, v. 5, n. 4, p. 601, dez. 1956.

GONÇALVES, J.; GREMIÃO, I.D.F.; KÖLLING, G.; DUVAL, A.E.D.; RIBEIRO, P.M.T. Esporotricose, o gato e a comunidade. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, p. 769–787, jun. 2019.

GREMIÃO, I. D. F.; MENEZES, R.C.; SCHUBACH, T.M.P.; FIGUEIREDO, A.B.F.; CAVALCANTI, M.C.H.; PEREIRA, S.A. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 15–21, jan. 2015.

GREMIÃO, I. D. F.; OLIVEIRA, M.M.E.; DE MIRANDA, L.H.M.; FREITAS, D.F.S.; PEREIRA, S.A. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, n. 3, p. 621–624, mar. 2020.

GREMIÃO, I. D. F.; DA ROCHA, E.M.D.; MONTENEGRO, H.; CARNEIRO, A.J.B.; XAVIER, M.O.; DE FARIAS, M.R.; MONTI, F.; MANSO, W.; PEREIRA, R.H.M.A.; PEREIRA, S.A.; LOPES-BEZERRA, L.M. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 107–124, set. 2021.

GREMIÃO, I. D. F.; MIRANDA, L.H.M.; REIS, E.G.; RODRIGUES, A.M.; PEREIRA, S.A. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLOS Pathogens**, v. 13, n. 1, p. e1006077, jan. 2017.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. F. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. A new pathogenic fungus. **Journal of Experimental Medicine**, v. 5, n. 1, p. 77–89, out. 1900.

HERNÁNDEZ-CASTRO, R.; PINTO-ALMAZÁN, R.; ARENAS, R.; SÁNCHEZ-CÁRDENAS, C.D.; ESPINOSA-HERNADÉZ, V.M.; SIERRA-MAEDA, K.Y.; CONDE-CUEVAS, E.; JÚAREZ-DURÁN, E.R.; XICOHTENCATL-CORTES, J.; CARRILO-CASAS, E.M.; STEVEN-VELÁSQUEZ, J.; MARTÍNEZ-HERRERA, E.; RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C. Epidemiology of Clinical Sporotrichosis in the Americas in the Last Ten Years. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 6, p. 588, mai. 2022.

HIRUMA, M.; YAMAKI, K.; SHIMIZU, T.; OHATA, H.; KUKITA, A. Ultrastructural study of tissue reaction of mice against *Sporothrix schenckii* infection. **Archives of Dermatological Research**, v. 280, p. 94-100, 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **IDHM Municípios 2010**. Disponível em: <<https://www.undp.org/pt/brazil/idhm-municipios-2010>>. Acesso em: 29 set. 2024.

JOLLIFFE, I. T.; CADIMA, J. Principal component analysis: a review and recent developments. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 374, n. 2065, p. 20150202, 13 abr. 2016.

LAM, K. C.; HU, T. S.; NG, S. T. Using the principal component analysis method as a tool in contractor pre-qualification. **Construction Management and Economics**, v. 23, n. 7, p. 673–684, set. 2005.

LOPES-BEZERRA, L. M.; MORA-MONTES, H.M.; ZHANG, Y.; NINO-VEGA, G.; RODRIGUES, A.M.; DE CAMARGO, Z.P.; DE HOOG, S. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. **Medical Mycology**, v. 56, n.1, p. 126–143, abr. 2018.

LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R. O. Sporothrix schenckii and sporotrichosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, n. 2, p. 293–308, jun. 2006.

LUTZ A, SPLENDORE A. Sobre uma mycose observada em homens e ratos. **Revista Médica de São Paulo**, v.1, n.3, p. 429-454, 1907.

MACEDO, M.M.; COSTA, E.O. Estudo da ocorrência da esporotricose-infecção em animais da espécie bovina. **Rev. Fac. Med. vet. Zootec**, v. 15, n. 1, p. 59-68, 1978.

MADRID, I. M.; MATTEI, A.S.; TELES, A.J.; CLEFF, M.B.; NOBRE, M.; MEIRELES, M.C.A. Alterações hematológicas em felinos com esporotricose cutânea. **Arq. ciênc. vet. zool. UNIPAR**, p. 33–35, 2012.

MAIA, D.C.; SASSÁ, M.F.; PLACERES, M.C.; CARLOS, I.Z. Influence of Th1/Th2 cytokines and nitric oxide in murine systemic infection induced by Sporothrix schenckii. **Mycopathologia**, v.161, n.1, p.11-19, jan. 2006.

MIRANDA, L. H. M. **Avaliação da resposta inflamatória in vivo e in vitro na esporotricose felina em diferentes apresentações clínicas**. 2013. Tese (Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2013.

MIRANDA, L. H. M. et al. Zoonotic feline sporotrichosis: a small case cluster in Perth, Western Australia, and a review of previous feline cases from Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 102, n. 12, p. 638-645, out. 2024.

MIRANDA, L. H. M.; QUINTELLA, L.P.; DOS SANTOS, I.B.; MENEZES, R.C.; FIGUEIREDO, F.B.; GREMIÃO, I.D.F.; OKAMOTO, T.; DE OLIVEIRA, R.V.C.; PEREIRA, S.A.; TORTELLY, R.; SCHUBACH, T.M.P. Histopathology of Canine Sporotrichosis: A Morphological Study of 86 Cases from Rio de Janeiro (2001–2007). **Mycopathologia**, v. 168, n. 2, p. 79–87, abr. 2009.

MIRANDA, L. H. M.; SILVA, J.N.; GREMIÃO, I.D.F.; MENEZES, R.C.; ALMEIDA-PAES, R.; REIS, E.G.D.; DE OLIVEIRA, R.V.C.; DE ARAUJO, D.S.A.; FERREIRO, L.; PEREIRA, S.A. Monitoring fungal burden and viability of *Sporothrix* spp. in skin lesions of cats for predicting antifungal treatment response. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, p. 92, set. 2018.

MIRANDA, L. H. M.; SANTIAGO, M.A.; SCHUBACH, T.M.P.; MORGADO, F.N.; PEREIRA, S.A.; DE OLIVEIRA, R.V.C.; CONCEIÇÃO-SILVA, F. Severe feline sporotrichosis associated with an increased population of CD8low cells and a decrease in CD4+ cells. **Medical Mycology**, v. 54, n. 1, p.29-39, jan. 2016.

MORGADO, D.P.; CASTRO, R.; RIBEIRO-ALVES, M.; CORRÊA-MOREIRA, D.; CASTRO-ALVES, J.; PEREIRA, S.A.; MENEZES, R.C.; OLIVEIRA, M.M.E. Global distribution of animal sporotrichosis: A systematic review of *Sporothrix* sp. identified using molecular tools. **Current research in microbial sciences**, v. 3, p. 100140, maio 2022.

MORRIS-JONES, R. Sporotrichosis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 27, n. 6, p. 427–431, set. 2002.

OROFINO-COSTA, R.; DE MACEDO, P.M.; RODRIGUES, A.M.; BERNARDES-ENGEMANN, A.R. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 92, n. 5, p. 606–620, out. 2017.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. Gabinete do Secretário. **Resolução nº 093/2022, de 07 de março de 2022**. Curitiba, 2022. Disponível em: <[resolucao_sesa_no_093_2022.pdf \(saude.pr.gov.br\)](https://saude.pr.gov.br/resolucao_sesa_no_093_2022.pdf)>. Acesso em: 21 set. 2024.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. **Esporotricose**. Curitiba, 2024. Disponível em: <<https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Esporotricose>>. Acesso em: 29 mar. 2024.

PEREIRA, S. A.; PASSOS, S.R.L.; SILVA, J.N.; GREMIÃO, I.D.F.; FIGUEIREDO, F.B.; TEIXEIRA, J.L.; MONTEIRO, P.C.F.; SCHUBACH, T.M.P. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. **Veterinary Record**, v. 166, n. 10, p. 290–294, mar. 2010.

RABELLO, V. B. S.; ALMEIDA, M.A.; BERNARDES-ENGEMANN, A.R.; ALMEIDA-PAES, R.; DE MACEDO, P.M.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R.M. The Historical Burden of Sporotrichosis in Brazil: a Systematic Review of Cases Reported from 1907 to 2020. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 231–244, nov. 2021.

RODRIGUES, A. M.; TERRA, P.P.D.; GREMIÃO, I.D.F.; PEREIRA, S.A.; OROFINO-COSTA, R.; DE CAMARGO, Z.P. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia**, v. 185, n. 5, p. 813–842, fev. 2020.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. *Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 7, p. e1005638, jul. 2016.

RODRIGUES, A. M.; HAGEN, F.; DE CAMARGO, Z. P. A Spotlight on *Sporothrix* and Sporotrichosis. **Mycopathologia**, v. 187, n. 4, p. 407–411, jul. 2022.

RODRIGUES, A.M.; GONÇALVES, S.S.; DE CARVALHO, J.A.; BORBA-SANTOS, L.P.; ROZENTAL, S.; DE CAMARGO, Z.P. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. **J. Fungi**, v. 8, n.8, p. 776, jul. 2022.

RÜNCOS, L.H.E.; BRAGA, K.F.; RIBEIRO, S.S.; MONTI, F.S.; CHI, K.D.; FARIAS, M.R. Aspectos epidemiológicos da esporotricose felina no município de Curitiba, estado do Paraná, Brasil, entre 2014 e 2016. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 15, n. 3, p. 90, mar. 2017.

SANTOS, A. F.; AZEVEDO, M.I.; AMARAL, C.I.; GROM, N.A.; MARINHO, F.; DE OLIVEIRA, C.S.F.; SOARES, D.F.M.; MORAIS, M.H.F.; BRANDÃO, S.T.; MENEZES, R.C.; ECCO, R. Feline sporotrichosis: Characterization of cutaneous and extracutaneous lesions using different diagnostic methods. **Veterinary pathology**, v. 61, n. 2, p. 221-231, jul. 2023.

SCHENCK, B.R. On Refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the sporotrichosis. **Bulletin of the Johns Hopkins Hospital**, v.93, p. 286-290, 1898.

SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.B.L.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T.; PEREIRA, S.A.; DOS SANTOS, I.B.; PAES, R.A.; LEME, L.R.P.; WANKE, B. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998-2003). **Medical Mycology**, v. 44, n. 1, p. 87–92, fev. 2006.

SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.B.L.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T.; FIALHO-MONTEIRO, P.C.; REIS, R.S.; PEREZ, M.A.; WANKE, B. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 10, p. 1623–1629, maio 2004.

SILVA, G. L. DA; NEGRINI, L. K. DE O. Esporotricose em felinos domésticos: revisão de literatura. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 21, maio 2023.

SILVA, J. N.; MIRANDA, L.H.M.; MENEZES, R.C.; GREMIÃO, I.D.F.; OLIVEIRA, R.V.C.; VIEIRA, S.M.M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; FERREIRO, L.; PEREIRA, S.A. Comparison of the Sensitivity of Three Methods for the Early Diagnosis of Sporotrichosis in Cats. **Journal of Comparative Pathology**, v. 160, p. 72–78, abr. 2018

STEFANISZEN, A. G.; FERREIRA, L.V.O.; GUIMARÃES-OKAMOTO, P.T.C.; MELCHERT, A. Recent Advances in the Management of Feline Sporotrichosis. **Journal of Advanced Veterinary Research**, v. 13, n. 5, p. 850-856, jul. 2023.

TABACHNICK, B. G.; FIDELL, L. S. **Using multivariate statistics**. 6th. ed. Boston: Pearson Education, 2013.

THOMSON, P.; GONZÁLEZ, C.; BLANK, O.; RAMÍREZ, V.; RÍO, C.D.; SANTIBÁÑEZ, S.; PENA, P. Sporotrichosis Outbreak Due to Sporothrix

brasiliensis in Domestic Cats in Magallanes, Chile: A One-Health-Approach Study. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 2, p. 226, fev. 2023.

VAN DE VEERDONK, F. L.; NETEA, M. G. T-cell Subsets and Antifungal Host Defenses. **Current Fungal Infection Reports**, v. 4, n. 4, p. 238–243, dez. 2010.
VOESE, F. M. Esporotricose ocular num felino: relato de caso. **Lume - Repositório digital da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)**, 2021. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/232919>>. Acesso em: 25 set. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Sporotrichosis**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sporotrichosis>>. Acesso em: 29 mar. 2024.

XAVIER, M.O.; POESTER, V.R.; TRÁPAGA, M.R.; STEVENS, D.A. Sporothrix brasiliensis: Epidemiology, Therapy, and Recent Developments. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 9, p. 921–921, set. 2023.

YAO, L.; SONG, Y.; CUI, Y.; ZHOU, J.; ZHONG, S.; ZHAO, D.; LI, S. Pediatric Sporotrichosis in Jilin Province of China (2010-2016): a Retrospective Study of 704 Cases. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 9, n. 3, p. 342–348, jul. 2020.

***CAPÍTULO II. ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA
VETERINARY SCIENCES***

Normas da revista: <https://www.mdpi.com/journal/vetsci/instructions>

Article

Application of Principal Component Analysis as a prediction model for feline sporotrichosis

Franco Bresolin Pegoraro¹, Rita Maria Venâncio Mangrich-Rocha², Saulo Henrique Weber³, Marconi Rodrigues de Farias³ and Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt^{1,*}

¹ School of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ), São Paulo State University (UNESP), campus Botucatu, São Paulo, Brazil; franco.pegoraro@unesp.br (FBP); elizabeth.schmidt@unesp.br (EMSS)

² School of Medicine and Life Sciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Paraná State, Curitiba, Brazil; rita.rocha@pucpr.br (RMVMR)

³ Graduate Program in Animal Science, School of Medicine and Life Sciences, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Paraná State, Curitiba, Brazil; saulo.weber@pucpr.br (SHW)

* Correspondence: elizabeth.schmidt@unesp.br (EMSS)

Simple Summary: Sporotrichosis is a global zoonotic disease caused by the fungus *Sporothrix* spp. This fungus has been causing epidemics in urban centers, mainly in Latin America, with cats being the most susceptible species, serving as major vectors for disease transmission to humans. Our study investigated the predictive indicators of disease progression by examining the blood profiles and cutaneous lesions patterns of 70 cats diagnosed with *Sporothrix brasiliensis*. The results of this study were obtained by specific statistical analysis that correlated the blood profile of diseased cats with two cutaneous lesions patterns (fixed and disseminated). Of the 70 cats with confirmed sporotrichosis, 56 were males, a correlation that is closely linked to the animals' behaviors of engaging in fighting, scratching trees, and roaming in open areas. In terms of blood profile, total plasma protein level was recognized as a predictive indicator of the progression of cutaneous lesion patterns in cats with this fungal infection.

Abstract: Sporotrichosis is a worldwide zoonotic disease that is spreading and causing epidemics in large urban centers. Cats are the most susceptible species to develop the disease, which could cause significant systemic lesions. The aim was to investigate and to identify predictive indicators of disease progression by correlations between the blood profile (hematological and biochemical analytes) and cutaneous lesion patterns of 70 cats diagnosed with *Sporothrix brasiliensis*. The higher occurrence in male cats in this study could be related to being non-neutered and having access to open spaces. Principal component analysis (PCA) with two principal components, followed by binary logistic regression, and binary logistic regression analysis, with independent variables and backward elimination modeling, were performed to evaluate hematological (n = 56) and biochemical (n = 34) analytes, including red blood cells, hemoglobin, hematocrit, leukocytes, segmented neutrophils, band neutrophils, eosinophils, lymphocytes, monocytes, total plasma protein, albumin, urea, creatinine, and alanine aminotransferase. Two logistic regression models (PCA and independent variables) were employed to search for a predicted model to correlate fixed (isolated) and disseminated cutaneous lesion patterns. Total plasma protein concentration may be assessed during screening diagnosis as it has been recognized as an independent predictor for the dissemination of cutaneous lesion patterns, with the capability of serving as a predictive biomarker to identify the progression of cutaneous lesions induced by *S. brasiliensis* infections in cats.

Keywords: *Sporothrix* spp.; Cats; Predictive Function; Fungus; Plasma Proteins

Citation: To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: Firstname
Lastname

Received: 8 November 2024

Revised: 23 December 2024

Accepted: 5 January 2025

Published: 9 January 2025



Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Sporotrichosis is a globally disseminated fungal zoonosis caused by *Sporothrix* spp. Over 50 species have been identified, with *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. luriei* being the most frequent agents of cutaneous infections in humans and animal species, mainly in cats [1,2]. The infection is prevalent in tropical and subtropical regions, and it is considered to be the most frequent implantation mycoses in Latin America [3]. Brazil reported the highest number of globally diagnosed cases in cats and humans, with the southeastern region recognized as the epicenter of cat-transmitted sporotrichosis in humans [3,4,5]. More than 90% of urban sporotrichosis outbreaks are linked to *S. brasiliensis*, identified as the species with the highest pathogenicity index [6,7,8].

Cats are susceptible to infection and to disease transmission [3,8]. Species-specific behaviors, such as contact with soil and organic matter, territorial disputes, scratching, and biting, are the main sources of fungal propagation, with traumatic inoculation being the most common route of infection development [4,7,8,9,10,11]. The spread of sporotrichosis is significantly influenced by socioeconomic vulnerability and irresponsible pet ownership, as many infected cats are either semi-domesticated or stray animals [3,7,8,9,10,11].

Studies regarding the immune response in cats infected with *Sporothrix* are still limited. Cats generally develop poor granuloma formation and elevated fungal burdens in lesions, suggesting an inefficient immune response [1,10,11,12,13,14].

The incubation period for *Sporothrix* spp. in yeast form is approximately 14 days [3,11]. The initial lesions are firm, nodular, and isolated skin formations but tend to disseminate over time, progressing to ulcerations, crust formations, and granulomatous conditions [4,11,14]. The infection affects the skin, subcutaneous tissues, and lymphatic system, with the potential to disseminate to other organs, resulting in systemic disease. The clinical manifestations of sporotrichosis include cutaneous (isolated/fixed or disseminated with or without respiratory signs), lymphocutaneous, and extracutaneous forms, with the possibility of multiple presentations in the same animal [10,11,12,13,14,15]. There could be hematological and biochemical changes that could be related to an inefficient immune response during *Sporothrix* spp. infection in cats [1,4,10]. The diagnosis of feline sporotrichosis is based on the patient's epidemiological profile, anamnesis, and clinical examination, including diagnostic tests such as fungal culture and lesion cytopathology [16]. Moreover, histopathology, immunohistochemistry, and molecular techniques can also be employed in clinical practice [5,14,15].

We hypothesized that hematological and biochemical analytes could be useful as predictive markers of the development of cutaneous lesions in feline sporotrichosis. Therefore, the aim of this study was to evaluate these analytes as potential predictors of lesion pattern differentiation by applying the principal component analysis method to identify possible correlations between analytes that could have an effect on the prediction of infection.

2. Materials and Methods

2.1. Ethical Statement

This study was approved by the Ethics Committee for Animal Use (CEUA/PUCPR n°8167130623), Curitiba, Brazil, and conducted in accordance with national legislation on animal protection.

2.2. Animals

This is a retrospective study. Clinical records and laboratory data were collected from the database of the Veterinary Teaching Hospital of PUCPR from August 2016 to August 2023. Four hundred and forty-eight patients included in this study were client-owned clinical cases diagnosed with sporotrichosis. Of these cats, 292 had laboratory results. However, complete clinicopathological data were available for only 75 cats. Five animals were excluded for concurrent diseases. Thus, a total of 70 cats diagnosed with sporotrichosis were included in this study. Clinical and laboratory data were extracted, including hematological and biochemical analytes, information regarding the sex of the animal, and the type of lesion was assessed for fixed cutaneous or disseminated cutaneous.

2.3. Laboratory Analysis

The diagnosis of *Sporothrix* spp. infection in all cats (Figure 1A,B) was confirmed through cytological imprints of lesions in slides and microscopic visualization of the yeast by Diff Quick staining (Instant Prov Kit; Newprov®, Pinhais, Brazil) and by fungal culture of lesion exudates using a sterile swab. Samples were seeded onto Sabouraud dextrose 4% agar, supplemented with chloramphenicol and mycosel agar, and incubated at 25 °C. *Sporothrix* spp. was confirmed upon observed characteristic colony growth, which initially appears moist and white, by microscopic evaluation ($\times 1000$ magnification, Eclipse E200; Nikon®, Kobe, Japan) and by a lactophenol blue-stained smear to identify the characteristic hyphae and “daisy-like” clusters of *Sporothrix* spp. conidia [17,18].

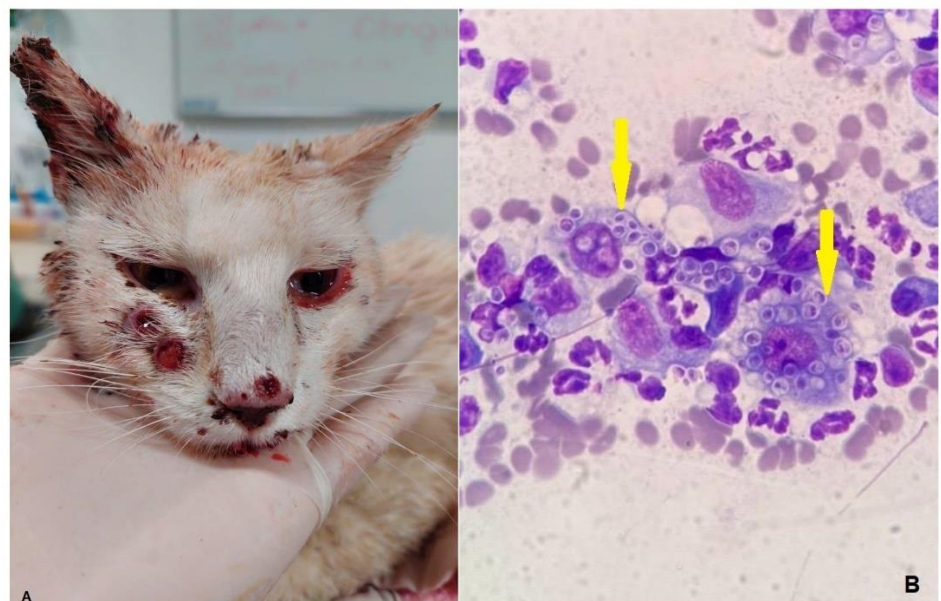


Figure 1. (A) Ulcerated cutaneous lesions in the face of a cat with *Sporothrix* spp. infection. (B) Cytological imprint (Diff Quick stain) of a *Sporothrix* spp. cutaneous lesion in a cat. Note the several yeast-like forms within macrophages (arrows).

Genotyping for *Sporothrix* spp. was conducted in 58 of the 70 cats. Different strains were used as a reference. *S. brasiliensis* 5110 (American Type Culture Collection MYA-4823) and *S. schenckii* CBS 130,112 were used as controls for molecular identification. *Sporothrix schenckii* CBS 130,112 and *S. schenckii* CBS 130,113 were used as controls. For amplified fragment length polymorphism (AFLP) fingerprinting, *S. schenckii* CBS 130099, *S. schenckii* CBS 130113, *S. schenckii* CBS 130114, *S. globosa* CBS 130116, *S. globosa* CBS 130,117, and *S. mexicana* CBS 132,926 were included. DNA extraction was performed using MagNA Pure 96 DNA, following the Pathogen 200 SV protocol (Roche Diagnostics, Roche Diagnostics GmbH), as previously described [19]. Briefly, a small portion of each culture was placed in a microtube with lysis solution (400 µL MagNA Pure Bacteria Lysis Buffer) and ceramic beads (MagNA Lyser Green Beads), after which the cells were lysed by a MagNA Lyser instrument (Roche Diagnostics) for 30 s at 6500 rpm, and the DNA was extracted and purified with MagNA Pure 96. A polymerase chain reaction (PCR) amplifying introns two to four and exons two to five of the calmodulin gene was used for species identification using primers Cmd5 5'-CCGAGTACAAGGARGCCTTC-3' and Cmd6 5'-CCGATRGAGGTCATRACGTGG-3', as previously described [20]. Amplicons were purified according to the AmpliClean method (NimaGen), and sequencing PCR was performed using 0.5 µL Brilliant Dye premix, 1.75 µL Brilliant Dye 5x sequencing buffer (NimaGen), 1 µL Cmd6 primer (5.0 µM), 5.75 µL water, and 1 µL purified DNA. Afterward, products were purified using the D-Pure purification protocol (NimaGen) and sequenced on a 3500 XL genetic analyzer (Applied Biosystems). The resulting calmodulin sequences were compared with NCBI GenBank sequences using BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, accessed on 1 June 2022) to determine their identity. The generated calmodulin sequences were deposited under GenBank accession numbers OQ571231-OQ571318.

Sporothrix isolates were subjected to amplified fragment length polymorphism (AFLP) genotyping using a method described previously [21]. In short, extracted DNA was submitted to a combined restriction-ligation using 2 U of EcoRI (New England Biolabs), 2 U of MseI (New England Biolabs), 50 pmol of EcoRI adapter (5'-TCGTAGACTGC GTACC-3' and 5'-AATTGGTACGCAGTC-3'), 50 pmol of MseI adapter (5'-GACGATGAGTCCTGAC-3' and 5'-TAGTCAGGACTCAT-3'), and 1 U of T4 DNA ligase (Promega). The restriction-ligation products were used in an amplification reaction with EcoRI (5'-FLU-GACTG CGTACCAATTCAC-3') and MseI (5'-GATGAGTCCTGACTAAA-3')-based primers, and amplicons were diluted 50× using water. A mix containing 1 µL of the diluted amplicons, 8.9 µL water, and 0.12 µL LIZ600 (Applied Biosystems) was submitted to a heating step at 95 °C for 1 min followed by 4 °C for 5 min and run on the ABI 3500XL genetic analyzer (Applied Biosystems), according to the manufacturer's instructions. Data were analyzed using BioNumerics version 7.5 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) with Pearson's correlation coefficient and the unweighted pair group method with an arithmetic mean clustering algorithm. Genomic libraries were prepared and sequenced with the MiSeq

platform (Illumina, San Diego, CA, USA) in 2 by 150-bp paired-end-read mode at Eurofins. Reads are publicly available at NCBI under BioProject ID: PRJNA836433. The read data were uploaded to the Galaxy tool, FastQC was used to assess read data quality, and no trimming was performed [22]. Sequenced strains were aligned against the *S. brasiliensis* 5110 reference genome (GCA_000820605.1) using BWA-MEM v0.7.17.1 [23]. Read duplicates were removed using RmDup, local realignment was performed using BamLeftAlign, and unpaired reads were removed with BAM Filter. Reads with a MAPQ score <60 were removed. Potential variations in genes associated with antifungal resistance were analyzed by visualization with JBrowse v1.16.11 [24].

The blood profile results from the clinical pathology laboratory data included, as hematological analytes, red blood cell count (RBC); hemoglobin; hematocrit (PCV); platelet counting; white blood cell count (WBC); and differential leukocyte count, including segmented neutrophils, band neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils, and basophils; concentrations of total plasma and serum protein, albumin, creatinine, and urea; and the serum activities of alanine aminotransferase (ALT) and gamma-glutamyl transferase (GGT), as biochemical analytes. In brief, complete blood counts (RBC and WBC) and hemoglobin concentrations were determined for every animal using an automated hematology analyzer (Ebram 18 Hemascreen; Ebram, São Paulo, Brazil). Hematocrit was determined by the microhematocrit method. Total plasma protein concentration was determined by refractometry. Total serum protein, albumin, creatinine, urea, ALT, and GGT were measured using an automated analyzer (Flexor EL80; EliTech Clinical Systems®, Puteaux, France), following the instructions of the manufacturer, using commercial kits (EliTech Clinical Systems®; Puteaux, France).

2.4 Statistical analysis

The study focused on two main clinical patterns presentations of feline sporotrichosis: fixed cutaneous (G1) and disseminated cutaneous (G2). Normal distribution was tested using the Shapiro–Wilk normality test. The nonparametric Mann–Whitney test was used to compare the groups. Data are reported as median, percentiles (25 and 75%), and range (minimum and maximum), unless otherwise stated. These statistics were performed using the statistical software Graph-Pad Prism Version 9.5.1 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

A cross-sectional observation study was conducted, and principal component analysis (PCA) was applied to evaluate associations between analytes and to reduce dimensionality. The components were established and subsequently organized to predict the lesion types of feline sporotrichosis, aiming to identify analytes related to disease progression. Additionally, independent variables were analyzed within the predictive model. The development of the predictive model for lesion patterns was based on hematological ($n = 56$) and biochemical ($n = 34$) data. Binary logistic regression was employed for each dataset using two methodologies: (1) PCA to reduce dimensionality, resulting in two principal components (PC1 and PC2), followed by binary logistic regression; and (2) binary logistic regression incorporating all

independent variables with a backward elimination approach. For these analyses, PCA was presented with correlation matrices, eigenvalues, and eigenvectors, applied to assess the variance explained and convert variables into components in the logistic regression. The Kaiser–Meyer–Olkin (KMO) test and Bartlett’s test of sphericity were performed to assess the adequacy of the factor analysis. Moreover, a rotated component matrix using Varimax rotation and Kaiser normalization was generated to standardize coefficients and organize principal components. The Hosmer–Lemeshow test was implemented to evaluate the alignment of the logistic regression models. In the backward elimination model, variables with p-values > 0.05 (starting with the highest p-value) were manually removed from the model, reducing the number of predictors and including only significant variables. Principal component analyses and binary logistic regression statistics were performed using IBM® SPSS Statistics Version 25 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). For all analyses, p-values less than 0.05 were considered significant.

Outliers: To ensure accurate data analysis and in accordance with guidelines [25], values unrelated to the underlying disease (sporotrichosis) were excluded from the data distribution. Additionally, given the high incidence of platelet clumps and the limited number of total serum protein results, these analytes were excluded from PCA analysis. The final statistical analysis included the following analytes: RBC, hemoglobin, PCV, WBC, segmented neutrophils, band neutrophils, lymphocytes, eosinophils, monocytes, total plasma protein, albumin, creatinine, urea, and ALT.

3. Results

Of the 70 cats with confirmed sporotrichosis diagnosis and complete clinicopathological data, 56 were males (80%) and 14 females (20%). All 58 cats had positive genotyping (identification and isolation) results for *Sporothrix brasiliensis*, independently of the type of lesion and/or sex. Cats were separated into two groups based on the type of lesions: Group 1 (G1) fixed cutaneous (n = 13; 18.5%): 12 males and one female; Group 2 (G2) disseminated cutaneous (n = 57; 81.5%): 47 males and 10 females. Of the cats with fixed cutaneous lesions, nine males and one female were non-neutered, three were neutered, and the information was not available for one cat. Additionally, seven domestic males and the female in G1 had access to open spaces, and four males did not have access to open spaces. Regarding cats with disseminated cutaneous lesions (G2), 31 males and 6 females were non-neutered, 14 males and 4 females were neutered, and the information was not available for 3 animals. Of the cats in G2, 31 domestic males and 4 females had access to open spaces; 3 males and 4 females did not have access to open spaces, and 8 males and 2 females were kept outside all the time (half-domestic).

The results for the hematological analyte comparison of both groups are presented in Table 1. Cats in G2 had significantly higher segmented neutrophils and total plasma protein when compared to those in G1. Red blood cells, hematocrit, hemoglobin, WBC, band neutrophils, lymphocytes, eosinophils, monocytes, and platelets counts were not significantly different between groups and were within RI [26] (Table 1).

Table 1. Results of the comparison of hematological analytes between cats with sporotrichosis: median, range (minimum and maximum), interquartile [25% and 75%], *p*-value and reference interval (RI).

Analytes	Group 1	Group 2	<i>P</i> value	RI [20]
	(n = 13)	(n = 57)		
	Median	Median		
	(min – max) [25% - 75%]	(min – max) [25% - 75%]		
RBC (10 ⁶ /μL)	7.87	7.42	0.370	5 - 10
	(5.08 – 9.88)	(3.65 – 12.3)		
	[6.68 – 9.45]	[6.10 – 8.86]		
Hemoglobin (g/L)	127	117	0.063	80 - 150
	(100 – 166)	(64 – 175)		
	[109 – 140]	[89 – 131]		
Hematocrit (%)	40	35.5	0.149	30 - 45
	(28 – 45)	(19 – 48)		
	[32.5 – 41.7]	[29.7 – 40]		
WBC (/μL)	11,150	14,675	0.128	5,500 – 19,500
	(6,100 – 22,600)	(4,250 – 46,200)		
	[7,288 – 15,638]	[9,825 – 20,975]		
Segmented Neutrophils (/μL)	5,931	9,923	0.027	2,500 – 12,500
	(2,869 – 13,728)	(2,805 – 44,352)		
	[3,616 – 9,042]	[5,319 – 12,360]		
Band neutrophils (/μL)	30.5	65	0.329	0 - 300
	(0 – 624)	(0 – 3,048)		
	[0 – 146.3]	[0 – 541]		

	3,445	3,194		
	(1,761 – 9,270)	(408 – 9,168)		
Lymphocytes (/μL)	[2372 – 4837]	[1,775 – 4,842]	0.347	1,500 – 7,0000
	723	433		
	(176 – 1,390)	(0 – 3,850)		
Eosinophils (/μL)	[543 – 1,081]	[216 – 733]	0.032	100 – 1,500
	228	395.5		
	(0 – 1,408)	(0 – 1,899)		
Monocytes (/μL)	[61.7 – 626.3]	[133 – 875]	0.247	100 – 1,400
	300	337		
	(240 – 516)	(195 – 860)		
Platelets (10³/μL)	[249 – 401]	[283 – 459]	0.24	300 - 800
	71	78		
	(64 – 82)	(62 – 120)		
Total plasma protein (g/L)	[65 – 79]	[74 – 84]	0.019	60 - 80

G1: fixed cutaneous; G2: cutaneous disseminated. Mann–Whitney U tests. *P*-values less than 0.05 are considered statistically significant. RBC: total red blood cells counting; WBC: total white blood cell counting.

The biochemical analyte comparison results for G1 and G2 are presented in Table 2. No significant differences were found for albumin, creatinine, urea, the activities of GGT and ALT, and total serum protein between G1 and G2. However, albumin concentrations were below the RI [27] for both groups of cats.

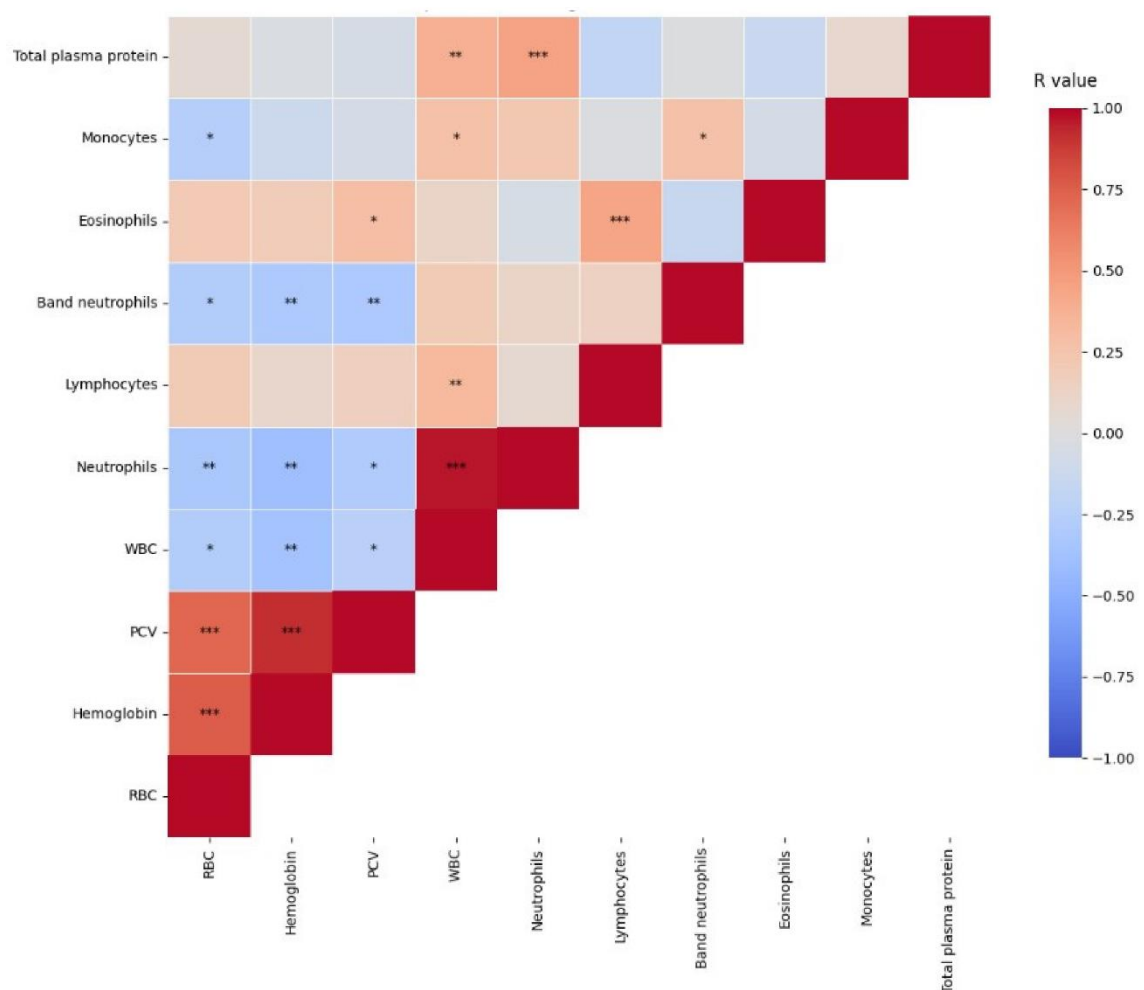
Table 2. Results of the comparison of biochemical analytes between cats with sporotrichosis: median, range (minimum and maximum), interquartile [25% e 75%], *P* value and reference interval (RI).

Analytes	Group 1	Group 2	P value	RI [21]
	(n = 13)	(n = 57)		
	Median	Median		
	(min – max) [25% - 75%]	(min – max) [25% - 75%]		
Total serum protein* (g/L)	75	76	0.558	60 - 80
	(63 – 76)	(62 – 86)		
	[63 – 76]	[67 – 81]		
Albumin (g/L)	26.9	26	0.532	28 – 39
	(15.2 – 31.5)	(9.1 – 33.9)		
	[16.9 – 30.6]	[18.11 – 28.7]		
Creatinine (μmol/L)	116.6	102.5	0.053	70 - 177
	(99 – 135.2)	(30.9 – 164.4)		
	[107.8 – 121.1]	[86.6 – 121.1]		
Urea (mmol/L)	8.79	7.70	0.171	3.6 - 10.7
	(6.62 – 11.2)	(1.64 – 16.5)		
	[7.72 – 10.4]	[6.82 – 9.27]		
ALT (U/L)	54.2	29.6	0.325	10 - 100
	(5.0 – 79.2)	(1.3 – 216.0)		
	[30.0 – 74.0]	[11.7 – 57.0]		
GGT (U/L)	2.0	2.0	0.267	0 - 6
	(1.3 – 3.9)	(0.7 – 9.6)		
	[1.5 – 2.8]	[2 – 3.2]		

G1: Fixed cutaneous; G2: disseminated cutaneous. Mann–Whitney U tests. p-values less than 0.05 are considered statistically significant; * n = 12 cats for each group.

The correlations among the ten hematological analytes obtained by the PCA model are presented in Figure 2. Significant positive correlations were observed for PCV with RBC ($r = 0.7$, $p < 0.001$) and hemoglobin ($r = 0.9$, $p < 0.001$). Red blood cells with hemoglobin ($r = 0.7$, $p < 0.001$) and segmented neutrophils with WBC ($r = 0.9$, $p < 0.001$) were also positively correlated. Additionally, segmented neutrophils with TPP and lymphocytes with eosinophils had significantly positive moderated correlations ($r = 0.4$, $p < 0.001$).

Figure 2. Heatmap for hematological analyte correlations of cats with sporotrichosis. Ranges to positive correlations as dark red ($r = 1$) and negative correlations as dark blue ($r = -1$). p-values of significance are indicated as *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, and ***, $p < 0.001$. (PCV—hematocrit; neutrophils—segmented neutrophils; r value—correlation coefficient).



Low negative correlations were observed between hemoglobin, WBC, and segmented and band neutrophils ($r = 0.3$, $p < 0.01$). Although there were other statistically significant ($p < 0.05$) correlations, they were weak ($r = 0.2$) (Figure 2). Significant correlations were not observed between urea, creatinine, GGT, and ALT (Figure S1).

For the hematological analyte evaluation performed by PCA, the first (PC1) and second principal (PC2) rotated components explained 95.2% and 4.1% of the variance in the dataset, respectively. Together, PC1 and PC2 captured 99.3% of the total variability, indicating that these components effectively summarized the dataset (Table S1). For the biochemical PCA analysis, PC1 rotated components explained 90.0% of the variance. When both components were considered, they accounted for 99.9% of the total variability (Table S2).

For the hematological loading (i.e., biplot) analysis, clustering was observed among RBC, PCV, and hemoglobin, indicating a strong correlation in terms of principal components. Total WBC, segmented and band neutrophils, monocytes, and TPP were correlated with Component 1 (horizontal axis). Lymphocyte had the highest loading on Component 2 (vertical axis) (Figure 3). Regarding the biochemical biplot, urea had a strong correlation with Component 2, while ALT had a strong correlation with Component 1. Albumin and creatinine were closer positioned, indicating their similar contribution with Component 1, but with a weak correlation (Figure 4).

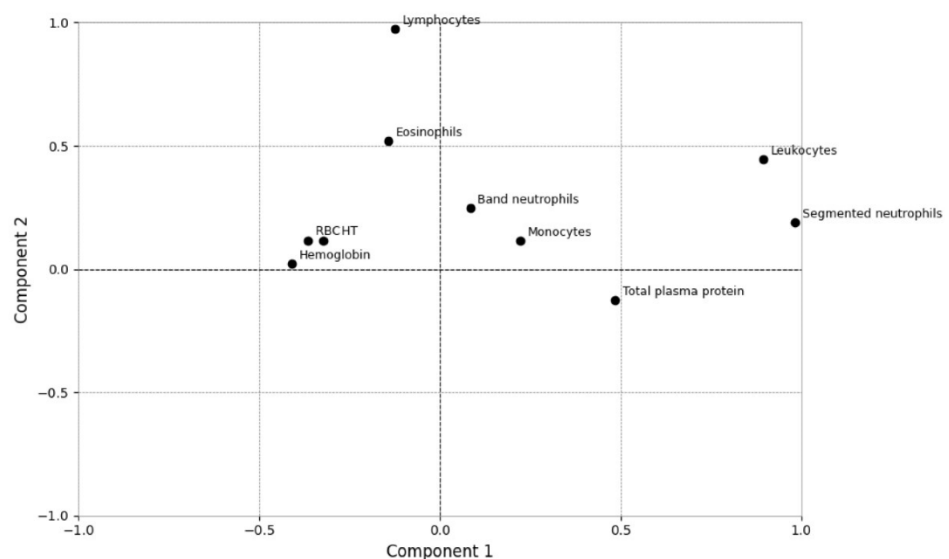


Figure 3. Biplot representation of hematological analytes of cats with sporotrichosis and its dispersion. (PCV—hematocrit; leukocytes—WBC; neutrophils—segmented neutrophils).

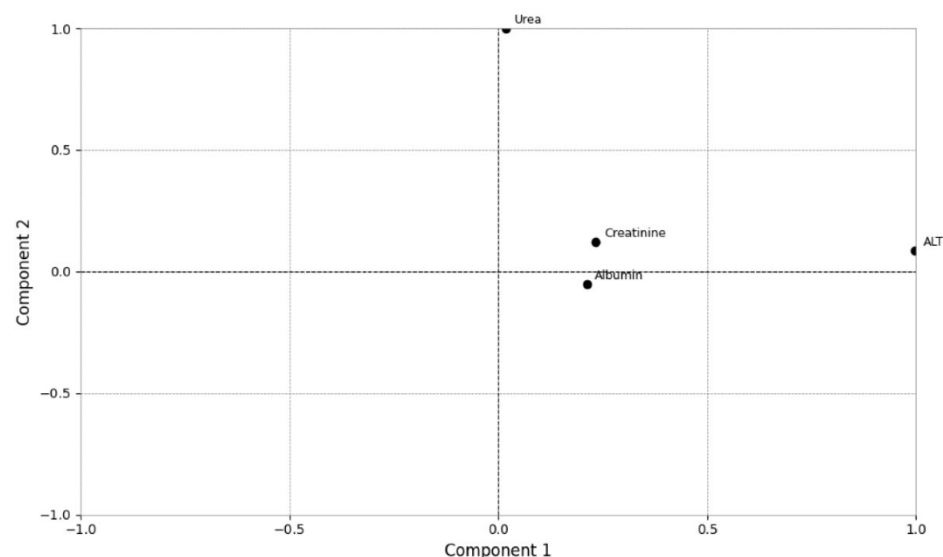


Figure 4. Biplot representation of biochemical analytes in cats with sporotrichosis and its dispersion. (ALT—alanine aminotransferase).

The predictive model of lesion type in feline sporotrichosis based on the principal components (PC1 and PC2) of hematological analytes explained 80.4% of the analyzed cases (cutoff value: 0.500). For biochemical analytes, the model explained 88.2% of cases (cutoff value: 0.500) (Tables S3 and S4).

The logistic regression results had a significant level ($p = 0.04$) for hematological PC1 when compared to lesion pattern, but the predictor had no effect on the odds ratio (OR) (OR = 1.0). Neither PC2 nor the constant were statistically significant in this case (Table S5). For the biochemical principal components, neither PC1, PC2, nor the constant were statistically significant (Table S6). The logistic regression analysis developed for a predictive model associated with the most frequent lesion patterns observed in cats diagnosed with sporotrichosis (G1 and G2), the proposed model between independent hematological and biochemical analytes, correctly classified 76.8% of the independent hematological cases, and for the biochemical analytes, the rate was 88.2% (cutoff value for both analyses = 0.5) (Tables S7 and S8).

Backward elimination begins by fitting a multiple linear regression model with all independent variables (Table S9). The analytes with the highest p -values are removed from the model and a new model is produced. This process is repeated until the analyte has a p -value below the threshold, typically $p = 0.05$. The analytes that do not reach the threshold are removed. In this study, TPP was the unique statistically significant and constant result for an analyte: $p = 0.01$ and $p = 0.04$, respectively (Table 3). By this analytical method, an odds ratio of 3.3-fold increase for TPP was observed. Thus, the predictive function calculated from our results meant that, for each increase of 1 g/dL (or for every 10 g/L) in TPP concentration in cats with sporotrichosis, the chance of developing disseminated cutaneous lesions was increased 3.3-fold. Regarding the biochemical analytes (Table 3), the only remaining significant analyte was urea ($p = 0$); however, the predictor had no effect on the odds ratio (OR = 1.0).

Table 3. Binary logistic regression analysis with the final analytes (urea and total plasma protein) of cats with sporotrichosis obtained by manual backward elimination model for independent variables.

Analytes	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Inferior	Superior
Urea	0,037	0,011	12,190	1,000	0,000	1,038	1,016	1,060
Total plasma protein	1,201	0,509	5,562	1,000	0,018	3,322	1,225	9,012
Constant	7,789	3,786	4,234	1,000	0,040	0,000	-	-

Urea ($P = 0$), total plasma protein ($P = 0.01$) and constant ($P = 0.04$) were significant. (B: regression coefficient; S.E: standard error; df: degrees of freedom; Sig.: significance; Exp(B): exponentiate coefficient (odds ratio); C.I: confidence interval).

Following these results, a predictive function was developed based on the evidence of TPP obtained in the binary logistic regression analysis demonstrating the possibility of progression from a fixed cutaneous lesion to a disseminated cutaneous pattern. The formula for calculating this predictive function is expressed as follows:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(7.789 + 1.201 \times \text{total plasma protein})}}$$

4. Discussion

Consistent with previous reports, most of the animals in this study were male cats with disseminated cutaneous lesions [12,14,28,29,30]. The higher occurrence found in domestic males of this study could be related to having access to open spaces and being non-neutered, which could include the species' habits of fighting and scratching trees [3,16]. Furthermore, there is a prevailing presence of non-neutered male cats that are infected with *Sporothrix* spp. [3,12,15,28,29,30].

Previous investigations in humans and Murinae suggested that both innate and adaptative immune response could be similar to the anti-*Sporothrix* response in cats [10,11,31,32,33]. Nevertheless, the immune response to feline sporotrichosis is still not well understood [28]. It is known that cats infected with *S. brasiliensis* or other virulent *Sporothrix* species have the potential to develop disseminated infections, suggesting the ability of the fungus to interfere with Th1-mediated immunity [4,8,11,16,34]. Thus, cell-mediated immunity appears to play a key role in the antifungal response in *Sporothrix*

spp. infection in cats, and the Th1 cellular response could be the specific tool for controlling the disease by aiding in the growth of granulomas [10,11,30,31,34]. Additionally, in other fungal infections like histoplasmosis, candidiasis, and cryptococcosis, animals with a compromised Th1 immune response are susceptible to more severe and disseminated infection [35,36,37].

The main changes observed in cats with *Sporothrix* spp. infection were significant increases in segmented neutrophils and TPP concentrations in cats with the disseminated cutaneous (G2) lesion pattern. These findings could reflect the response to concomitant fungus and bacterial infection, suggesting an intense neutrophil chemotaxis induced by cell-mediated immunity [10,34,38] and activation of the acute phase response, which increases the concentration of serum globulin [39]. In this study, Component 1 had a strong association with inflammatory response analytes (WBC, segmented neutrophils, and total plasma protein) (Figure 3) and the logistic regression analysis demonstrated that PC1 had a significant value ($p = 0.04$), suggesting a correlation between these analytes and worsening sporotrichosis skin lesions.

In Murine models, the humoral response induced by Th2 cells induces antibody production, especially IgE and IgG [33,34,35], which was also suggested by an investigation in cats responding to *Sporothrix* antigens [40]. These increased Ig concentrations result in hyperproteinemia. Furthermore, cats from both groups of this study had hypoalbuminemia when compared to RI values. These findings, combined with segmented neutrophilia and high TPP concentrations, could indicate sustained production of immunoglobulins in response to sporotrichosis and to the systemic inflammation caused by disseminated cutaneous lesions [10,11,30,31,40]. Additionally, hypoalbuminemia associated with hyperglobulinemia was previously found in *Sporothrix* spp. infections in cats [15]. It is worth mentioning that the cats in this study did not have clinical or laboratory signs of dehydration.

In Veterinary Medicine, there are low numbers of PCA and predictive model studies about blood analytes. In dogs with mammary tumors, the combined PCA of leukogram, albumin/globulin, age, and tumor size was a strong predictor of survival rate [41]. In addition, a non-effusive feline infectious peritonitis predictive diagnosis was also developed with PCA analysis [42]. Our study evaluated two basic logistic regression models (PCA and independent variables) for hematological and biochemical analytes in cats with sporotrichosis. Both performed well and successfully identified that the TPP concentration could be considered as a predictive marker for cutaneous lesions in cats with sporotrichosis. Therefore, the evidence of TPP obtained by the binary logistic regression analysis demonstrates the possibility of progression from a fixed cutaneous lesion to a disseminated cutaneous pattern. Our hypothesis is that increased TPP concentration is strongly associated with a probability of the development of disseminated cutaneous lesions in feline sporotrichosis, suggesting its potential as a future prognostic prospect.

5. Conclusions

In conclusion, the changes found in this study could provide an overview of the hematological and biochemical effects produced by *S. brasiliensis*

infection in cats with fixed and disseminated cutaneous lesions. Total plasma protein concentration could be a valuable marker for identifying cats at risk of developing more severe disseminated cutaneous lesions and the calculated predictive function could be considered as a screening tool for cats with sporotrichosis. Total plasma protein determination during daily routine laboratory evaluations could have the potential of serving as a predictive biomarker to identify the progression of cutaneous lesions induced by *S. brasiliensis*, especially in an endemic area for this infection.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/vetsci12010032/s1>.

Figure S1: Heatmap for biochemical analyte correlations of cats with sporotrichosis. Ranges to positive correlations as dark red ($r = 1$) and negative correlations as dark blue ($r = -1$). There was no statistically significant difference. $p > 0.05$ (ALT, alanine aminotransferase; r value—correlation coefficient).

Table S1: Hematological analytes of cats with sporotrichosis with raw and rescaled eigenvalues of the two principal components (PC1 and PC2).

Table S2: Biochemical analytes of cats with sporotrichosis with raw and rescaled eigenvalues of the two principal components (PC1 and PC2).

Table S3. Binary classification and Predictive model of Principal Component Analysis for hematological analytes in cats with sporotrichosis.

Table S4. Binary classification and predictive model of Principal Component Analysis for biochemical analytes in cats with sporotrichosis

Table S5. Logistic regression equation for hematological analytes of cats with sporotrichosis (PC1 and PC2 variables)

Table S6. Logistic regression equation for biochemical analytes of cats with sporotrichosis (PC1 and PC2 variables).

Table S7. Binary classification for hematological analytes of cats with sporotrichosis

Table S8. Binary classification for biochemical analytes of cats with sporotrichosis

Table S9. Backward elimination model equation with independent hematological analytes of cats with sporotrichosis

Author Contributions: Conceptualization, E.M.S.S.; methodology, E.M.S.S., F.B.P., R.M.V.M.R., and S.H.W.; formal analysis, F.B.P., and S.H.W.; investigation, E.M.S.S., F.B.P., and R.M.V.M.R.; writing—original draft preparation, E.M.S.S. and F.B.P.; writing—review and editing, all authors; visualization, all authors; supervision E.M.S.S., and R.M.V.M.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Ethics Committee for Animal Use of PUCPR (protocol code n°8167130623, Curitiba, 1 August 2023).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all animal owners involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available in Supplementary Materials.

Acknowledgments: The authors are grateful to the Veterinary Clinical School, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, for the data availability and support; to Amanda Bombassaro (Department of Medical Microbiology and Infectious Disease Canisius—Wihelmina Hospital—The Netherlands), Vânia Aparecida Vicente, and Gessica Slompo de Deus (Department of Bioprocess and Engineering, Engineering Bioprocess and Biotechnology Graduate Program—Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil) for *Sporothrix brasiliensis* genotyping (identifying and isolating); and to Kung Dark Chi and Fabiana dos Santos Monti (PUCPR, Curitiba, Brazil).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Rodrigues, A.M.; Gonçalves, S.S.; De Carvalho, J.A.; Borba-Santos, L.P.; Rozental, S.; Camargo, Z.P.D. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *J. Fungi* **2022**, *8*, 776.
2. Orofino-Costa, R.; Macedo, P.M.D.; Rodrigues, A.M.; Bernardes-Engemann, A.R. Sporotrichosis: An Update on Epidemiology, Etiopathogenesis, Laboratory and Clinical Therapeutics. *An. Bras. Dermatol.* **2017**, *92*, 606–620.
3. Santos, M.T.; Nascimento, L.F.D.J.; Barbosa, A.A.T.; Martins, M.P.; Tunon, G.I.L.; Santos, P.O.M.; Dantas-Torres, F.; Dolabella, S.S. The Rising Incidence of Feline and Cat-transmitted Sporotrichosis in Latin America. *Zoonoses Public Health* **2024**, *71*, 609–619.
4. Gremião, I.D.F.; Menezes, R.C.; Schubach, T.M.P.; Figueiredo, A.B.F.; Cavalcanti, M.C.H.; Pereira, S.A. Feline Sporotrichosis: Epidemiological and Clinical Aspects. *Med. Mycol.* **2015**, *53*, 15–21.
5. Gremião, I.D.F.; Oliveira, M.M.E.; Monteiro De Miranda, L.H.; Saraiva Freitas, D.F.; Pereira, S.A. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* **2020**, *26*, 621–624.
6. Thomson, P.; González, C.; Blank, O.; Ramírez, V.; Río, C.D.; Santibáñez, S.; Pena, P. Sporotrichosis Outbreak Due to *Sporothrix brasiliensis* in Domestic Cats in Magallanes, Chile: A One-Health-Approach Study. *J. Fungi* **2023**, *9*, 226.
7. Etchecopaz, A.; Toscanini, M.A.; Gisbert, A.; Mas, J.; Scarpa, M.; Iovannitti, C.A.; Bendejú, K.; Nusblat, A.D.; Iachini, R.; Cuestas, M.L. *Sporothrix brasiliensis*: A Review of an Emerging South American Fungal Pathogen, Its Related Disease, Presentation and Spread in Argentina. *J. Fungi* **2021**, *7*, 170.
8. De Oliveira, P.R.F.; De Carvalho, J.A.; Costa, T.R.; Silva, B.P.E.; Da Silva, G.G.; Rodrigues, A.M.; Mota, R.A. Emerging Cases of Cat-Transmitted Sporotrichosis Driven by *Sporothrix brasiliensis* in Northeast Brazil. *Mycopathologia* **2024**, *189*, 66.
9. Rabello, V.B.S.; Almeida, M.A.; Bernardes-Engemann, A.R.; Almeida-Paes, R.; De Macedo, P.M.; Zancopé-Oliveira, R.M. The Historical Burden of Sporotrichosis in Brazil: A Systematic Review of Cases Reported from 1907 to 2020. *Braz. J. Microbiol.* **2022**, *53*, 231–244.
10. Miranda, L.H.M.; Santiago, M.D.A.; Schubach, T.M.P.; Morgado, F.N.; Pereira, S.A.; Oliveira, R.D.V.C.D.; Conceição-Silva, F. Severe Feline Sporotrichosis Associated with an Increased Population of CD8low Cells and a Decrease in CD4+ Cells. *Med. Mycol.* **2015**, *54*, 29–39.

11. Gremião, I.D.F.; Miranda, L.H.M.; Reis, E.G.; Rodrigues, A.M.; Pereira, S.A. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLoS Pathog.* **2017**, *13*, e1006077.
12. De Miranda, L.H.M.; Silva, J.N.; Gremião, I.D.F.; Menezes, R.C.; Almeida-Paes, R.; Dos Reis, É.G.; De Oliveira, R.D.V.C.; De Araujo, D.S.D.A.; Ferreiro, L.; Pereira, S.A. Monitoring Fungal Burden and Viability of *Sporothrix* spp. in Skin Lesions of Cats for Predicting Antifungal Treatment Response. *J. Fungi* **2018**, *4*, 92.
13. Gremião, I.D.F.; Rocha, E.M.d.S.d.; Montenegro, H.; Carneiro, A.J.B.; Xavier, M.O.; de Farias, M.R.; Monti, F.; Mansho, W.; Pereira, R.H.d.M.A.; Pereira, S.A.; et al. Guideline for the Management of Feline Sporotrichosis Caused by *Sporothrix brasiliensis* and Literature Revision. *Braz. J. Microbiol.* **2021**, *52*, 107–124.
14. Santos, A.F.; Azevedo, M.I.; Amaral, C.I.; Grom, N.A.; Marinho, F.; de Oliveira, C.S.F.; Soares, D.F.d.M.; Morais, M.H.F.; Brandão, S.T.; Menezes, R.C.; et al. Feline Sporotrichosis: Characterization of Cutaneous and Extracutaneous Lesions Using Different Diagnostic Methods. *Vet. Pathol.* **2024**, *61*, 221–231.
15. Schubach, T.M.P.; Schubach, A.; Okamoto, T.; Barros, M.B.L.; Figueiredo, F.B.; Cuzzi, T.; Fialho-Monteiro, P.C.; Reis, R.S.; Perez, M.A.; Wanke, B. Evaluation of an Epidemic of Sporotrichosis in Cats: 347 Cases (1998–2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2004**, *224*, 1623–1629.
16. Maschio-Lima, T.; Marques, M.D.R.; Lemes, T.H.; Brizzotti-Mazuchi, N.S.; Caetano, M.H.; De Almeida, B.G.; Bianco, L.M.; Monteiro, R.C.; Rodrigues, A.M.; De Camargo, Z.P.; et al. Clinical and Epidemiological Aspects of Feline Sporotrichosis Caused by *Sporothrix brasiliensis* and in vitro Antifungal Susceptibility. *Vet. Res. Commun.* **2021**, *45*, 171–179.
17. Reis, B.D.; Cobucci, F.O.; Zaccaron, L.H.; D’Acri, A.M.; Lima, R.B.; Martins, C.J. Sporotrichosis in an Unusual Location—Case Report. *An. Bras. Dermatol.* **2015**, *90* (Suppl. S1), 84–87.
18. Lopes-Bezerra, L.M.; Schubach, A.; Costa, R.O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *An. Acad. Bras. Ciências* **2006**, *78*, 293–308.
19. de Groot, T.; Puts, Y.; Berrio, I.; Chowdhary, A.; Meis, J.F. Development of *Candida auris* short tandem repeat typing and its application to a global collection of isolates. *mBio* **2020**, *11*, e02971-19.
20. Hong, S.B.; Cho, H.S.; Shin, H.D.; Frisvad, J.C.; Samson, R.A. Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2006**, *56*, 477–486.
21. Zhang, Y.; Hagen, F.; Stielow, B.; Rodrigues, A.M.; Samerpitak, K.; Zhou, X.; Feng, P.; Yang, L.; Chen, M.; Deng, S.; et al. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000 human and animal case reports. *Persoonia* **2015**, *35*, 1–20.
22. Afgan, E.; Baker, D.; Batut, B.; van den Beek, M.; Bouvier, D.; Čech, M.; Chilton, J.; Clements, D.; Coraor, N.; Grüning, B.A.; et al. The galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46*, W537–W544.
23. Li, H.; Durbin, R. Fast and accurate long-read alignment with burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* **2010**, *26*, 589–595.
24. Skinner, M.E.; Uzilov, A.V.; Stein, L.D.; Mungall, C.J.; Holmes, I.H. JBrowse: A next-generation genome browser. *Genome Res.* **2009**, *19*, 1630–1638.
25. Arnold, J.E.; Camus, M.S.; Freeman, K.P.; Giori, L.; Hooijberg, E.H.; Jeffery, U.; Korchia, J.; Meindel, M.J.; Moore, A.R.; Sisson, S.C.; et al. ASVCP Guidelines: Principles of Quality Assurance and Standards for Veterinary Clinical Pathology (Version 3.0): Developed by the American Society for Veterinary

- Clinical Pathology's (ASVCP) Quality Assurance and Laboratory Standards (QALS) Committee. *Vet. Clin. Pathol.* **2019**, *48*, 542–618.
26. Jain, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*, 4th ed.; Lea and Febiger: Philadelphia, PA, USA, **1986**; pp. 126–139.
 27. Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th ed.; Academic Press: Amsterdam, The Netherlands; Elsevier: Boston, MA, USA, **2008**.
 28. Boechat, J.S.; Oliveira, M.M.E.; Gremião, I.D.F.; Almeida-Paes, R.; Machado, A.C.D.S.; Zancopé-Oliveira, R.M.; Oliveira, R.D.V.C.; Morgado, D.S.; Corrêa, M.L.; Figueiredo, A.B.F.; et al. *Sporothrix brasiliensis* and Feline Sporotrichosis in the Metropolitan Region of Rio de Janeiro, Brazil (1998–2018). *J. Fungi* **2022**, *8*, 749.
 29. Alves, R.C.; Soares, Y.G.S.; Costa, D.F.L.; Firmino, M.O.; Brito Junior, J.R.C.; Souza, A.P.; Galiza, G.J.N.; Dantas, A.F.M. Fungal Diseases in Dogs and Cats in Northeastern Brazil. *Pesqui. Veterinária Bras.* **2023**, *43*, e07169.
 30. De Miranda, L.H.M.; Santiago, M.D.A.; Frankenfeld, J.; Reis, E.G.D.; Menezes, R.C.; Pereira, S.A.; Gremião, I.D.F.; Hofmann-Lehmann, R.; Conceição-Silva, F. Neutrophil Oxidative Burst Profile Is Related to a Satisfactory Response to Itraconazole and Clinical Cure in Feline Sporotrichosis. *J. Fungi* **2024**, *10*, 422.
 31. Romani, L. Immunity to Fungal Infections. *Nat. Rev. Immunol.* **2011**, *11*, 275–288.
 32. Carlos, I.Z.; Sassá, M.F.; Da Graça Sgarbi, D.B.; Placeres, M.C.P.; Maia, D.C.G. Current Research on the Immune Response to Experimental Sporotrichosis. *Mycopathologia* **2009**, *168*, 1–10.
 33. Maia, D.C.G.; Sassá, M.F.; Placeres, M.C.P.; Carlos, I.Z. Influence of Th1/Th2 Cytokines and Nitric Oxide in Murine Systemic Infection Induced by *Sporothrix schenckii*. *Mycopathologia* **2006**, *161*, 11–19.
 34. Uenotsuchi, T.; Takeuchi, S.; Matsuda, T.; Urabe, K.; Koga, T.; Uchi, H.; Nakahara, T.; Fukagawa, S.; Kawasaki, M.; Kajiwar, H.; et al. Differential Induction of Th1-Prone Immunity by Human Dendritic Cells Activated with *Sporothrix schenckii* of Cutaneous and Visceral Origins to Determine Their Different Virulence. *Int. Immunol.* **2006**, *18*, 1637–1646.
 35. Horwath, M.C.; Fecher, R.A.; Deepe, G.S. *Histoplasma capsulatum*, Lung Infection and Immunity. *Future Microbiol.* **2015**, *10*, 967–975.
 36. De Souza, E.W.; Borba, C.D.M.; Pereira, S.A.; Gremião, I.D.F.; Langohr, I.M.; Oliveira, M.M.E.; De Oliveira, R.D.V.C.; Da Cunha, C.R.; Zancopé-Oliveira, R.M.; De Miranda, L.H.M.; et al. Clinical Features, Fungal Load, Coinfections, Histological Skin Changes, and Itraconazole Treatment Response of Cats with Sporotrichosis Caused by *Sporothrix brasiliensis*. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 9074.
 37. Van De Veerdonk, F.L.; Netea, M.G. T-Cell Subsets and Antifungal Host Defenses. *Curr. Fungal Infect. Rep.* **2010**, *4*, 238–243.
 38. Tizard, I.R. *Veterinary Immunology*, 9th ed.; Elsevier Health Sciences: London, UK, **2013**.
 39. Cerón, J.J.; Eckersall, P.D.; Martínez-Subiela, S. Acute Phase Proteins in Dogs and Cats: Current Knowledge and Future Perspectives. *Vet. Clin. Pathol.* **2005**, *34*, 85–99.
 40. Rodrigues, A.M.; Fernandes, G.F.; Araujo, L.M.; Della Terra, P.P.; Dos Santos, P.O.; Pereira, S.A.; Schubach, T.M.P.; Burger, E.; Lopes-Bezerra, L.M.; De Camargo, Z.P. Proteomics-Based Characterization of the Humoral Immune Response in Sporotrichosis: Toward Discovery of Potential Diagnostic and Vaccine Antigens. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2015**, *9*, e0004016.

-
41. Uribe-Querol, E.; Romero-Romero, L.; Govezensky, T.; Rosales, C. Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Principal Component Analysis Offer Prognostic Advantage for Dogs with Mammary Tumors. *Front. Vet. Sci.* **2023**, *10*, 1187271.
 42. Dunbar, D.; Babayan, S.A.; Krumrie, S.; Haining, H.; Hosie, M.J.; Weir, W. Assessing the Feasibility of Applying Machine Learning to Diagnosing Non-Effusive Feline Infectious Peritonitis. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 2517.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Supplementary Materials

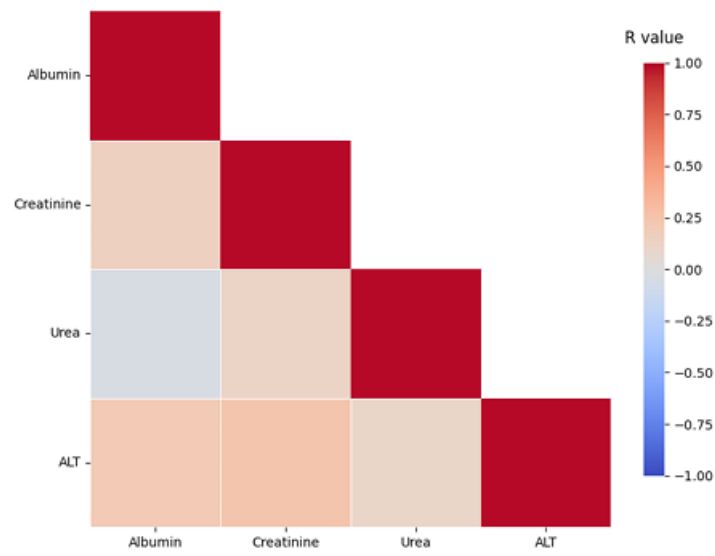


Figure S1: Heat map for biochemical analytes correlations of cats with sporotrichosis. Ranges to positive as dark red ($r = 1$) and negative correlation as dark blue ($r = -1$). There was no statistically significant difference. $P > 0.05$ (ALT, alanine aminotransferase; r value - correlation coefficient).

Table S1. Hematological analytes of cats with sporotrichosis with raw and rescaled eigenvalues of the two principal components (PC1 and PC2).

Component	Sum of Squared Loadings (Extraction)			Sum of Squared Loadings (Rotation)			
	Total	% Variance	% Cumulative	Total	% Variance	% Cumulative	
Raw	1	176914164.2	95.182	95.182	157954338.8	84.982	84.982
	2	7674629.558	4.129	99.311	26634455.03	14.33	99.311
Rescaled	1	2.571	25.711	25.711	2.495	24.947	24.947

	2	1.492	14.92	40.631	1.568	15.684	40.631
--	---	-------	-------	--------	-------	--------	--------

PC1 and PC2 together captured 99.3% of total variability

Table S2: Biochemical analytes of cats with sporotrichosis with raw and rescaled eigenvalues of the two principal components (PC1 and PC2).

Component	Sum of Squared Loadings (Extraction)				Sum of Squared Loadings (Rotation)		
	Total	(%) Variance	(%) Cumulative	Total	(%) Variance	(%) Cumulative	
Raw	1	1634.465	90.088	90.088	1619.999	89.291	89.291
	2	179.468	9.892	99.98	193.934	10.689	99.98
Rescaled	1	1.115	27.881	27.881	1.092	27.297	27.297
	2	1.001	25.017	52.898	1.024	25.602	52.898

Both components accounted for 99.9% of total variability

Table S3. Binary classification and predictive model of Principal Component Analysis for hematological analytes in cats with sporotrichosis

		Predicted Outcome		Percent correct
Binary Classification Table		F	D	
Observed Outcome	F	1	11	8.3

	D	0	44	100
	Percentage global			80.4

(F) fixed and (D) disseminated cutaneous lesions

Table S4. Binary classification and predictive model of Principal Component Analysis for biochemical analytes in cats with sporotrichosis

		Predicted Outcome		Percent correct
Binary Classification Table		F	D	
	F	0	4	0
Observed Outcome	D	0	30	100
Percentage global				88.2

(F) fixed and (D) disseminated cutaneous lesions

Table S5. Logistic regression equation for hematological analytes of cats with sporotrichosis (PC1 and PC2 variables)

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
PC1	0	0	4.11	1	0.043	1	1	1

PC2	0	0	1.403	1	0.236	1	1	1
Constant	0.605	0.877	0.477	1	0.49	1.832		

PC1: $P = 0.043$. B: regression coefficient; S.E: standard error; df: degrees of freedom; Sig.: significance; Exp(B): exponentiated coefficient (odds ratio); C.I: confidence interval.

Table S6. Logistic regression equation for biochemical analytes of cats with sporotrichosis (PC1 and PC2 variables).

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
PC1	-0.003	0.013	0.048	1	0.827	0.997	0.972	1.023
PC2	-0.076	0.054	1.957	1	0.162	0.927	0.834	1.031
Constant	5.922	3.021	3.843	1	0.05	373.287		

All variables: no significant difference. B: regression coefficient; S.E: standard error; df: degrees of freedom; Sig.: significance; Exp(B): exponentiated coefficient (odds ratio); C.I: confidence interval.

Table S7. Binary classification of hematological analytes in cats with sporotrichosis

Binary Classification Table	Predicted Outcome		Percent correct
	F	D	
F	3	9	25
Observed Outcome D	4	40	90.9

Percentage global	76.8
--------------------------	------

(F) fixed and (D) disseminated cutaneous lesions

Table S8. Binary classification of biochemical analytes in cats with sporotrichosis

	Predicted Outcome		Percent correct
	F	D	
Binary Classification Table			
	F	0	4
	D	0	30
Observed Outcome	D	0	30
Percentage global			88.2

(F) fixed and (D) disseminated cutaneous lesions

Table S9. Backward elimination model equation with independent hematological analytes of cats with sporotrichosis

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
Analytes							Lower	Upper
RBC	0.09	0.395	0.052	1	0.82	1.094	0.504	2.374
Hemoglobin	-0.353	0.474	0.556	1	0.456	0.702	0.278	1.777
Hematocrit	0.046	0.171	0.071	1	0.789	1.047	0.749	1.463

WBC	0	0.004	0.005	1	0.946	1	0.992	1.008
Segmented neutrophils	0	0.004	0.009	1	0.926	1	0.992	1.009
Lymphocytes	0	0.004	0	1	0.987	1	0.992	1.008
Band neutrophils	0.002	0.004	0.195	1	0.659	1.002	0.994	1.01
Eosinophils	0	0.004	0.006	1	0.938	1	0.992	1.009
Monocytes	0	0.005	0.005	1	0.946	1	0.991	1.009
Total plasma protein	1.221	0.726	2.828	1	0.093	3.39	0.817	14.067
Constant	-6.246	5.214	1.435	1	0.231	0.002		

RBC: total red blood cells; WBC: total white blood cells; B: regression coefficient; S.E: standard error; df: degrees of freedom; Sig: significance; Exp(B): exponentiated coefficient (odds ratio); C.I: confidence interval.

CAPÍTULO III. Considerações finais e perspectivas

A escolha do modelo de análise de componentes principais (PCA) partiu da ideia de ser uma grande ferramenta de identificação e expressão de padrões de dados, bem como sua capacidade de reduzir a dimensionalidade dos dados. O PCA foi uma ferramenta útil neste projeto na formação de correlações entre as variáveis hematológicas e no auxílio da obtenção de um fator prognóstico da esporotricose felina. Através da utilização do PCA abre-se a possibilidade do emprego de novas análises utilizando componentes principais para outros métodos diagnósticos, como análises sorológicas, na tentativa de melhorar a função prognóstica desta e de outras doenças causadas por agentes infecciosos.

Estudos com outras formas metodológicas, como observacionais longitudinais, podem ser realizados futuramente para verificar a possibilidade de prever a evolução prognóstica da doença, como favorável ou desfavorável, visto que os animais seriam observados durante o tempo de progressão da doença e do tratamento, possivelmente relatando o quadro prognóstico evolutivo da doença.

A partir da análise deste estudo é possível evidenciar que exames de triagem e de fácil acesso presentes na rotina clínica veterinária podem auxiliar na prevenção da evolução clínica lesional de doenças, como o caso da esporotricose felina.

Apesar da maior ocorrência no sul e sudeste, a rápida disseminação do fungo por todo o Brasil, principalmente da espécie *Sporothrix brasiliensis*, evidencia a necessidade de desenvolver campanhas educativas e políticas públicas relacionadas ao controle e conscientização sobre os riscos da doença.

ANEXO 1



Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Utilização do método PCA (Principal Component Analysis) para estabelecer o prognóstico em casos de esporotricose felina.", protocolada sob o CEUA nº 8167130623 (ID 000037), sob a responsabilidade de **Rita Maria Venancio Mangrich Rocha e equipe; Franco Bresolin Pegoraro; Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CEUA/PUCPR) na reunião de 25/07/2023.

We certify that the proposal "Use of the PCA (Principal Component Analysis) method to establish the prognosis in cases of feline sporotrichosis.", utilizing 200 Cats (males and females), protocol number CEUA 8167130623 (ID 000037), under the responsibility of **Rita Maria Venancio Mangrich Rocha and team; Franco Bresolin Pegoraro; Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Pontifical Catholic University of Paraná (CEUA/PUCPR) in the meeting of 07/25/2023.

Finalidade da Proposta: Peças e dados já coletados

Vigência da Proposta: de 07/2023 a 07/2025 Área: Medicina Veterinária

Origem: Não aplicável biotério

Espécie: Gatos

sexo: Machos e Fêmeas

Idade: 0 a 20 anos

Quantidade: 200

Linhagem: Qualquer

Peso: 0 a 20 kg

Curitiba, 01 de agosto de 2023

Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Prof. Maria Leonor Gomes de Sá Vianna
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

