

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS- UNIFAL- MG

Julianne Caravita Grisolia

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO SOBRE A ESPOROTRICOSE-
INFECÇÃO EM ÁREAS RURAIS DO SUL DE MINAS GERAIS**

Alfenas/MG

2015

Julianne Caravita Grisolia

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO SOBRE A ESPOROTRICOSE-
INFECÇÃO EM ÁREAS RURAIS DO SUL DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia Aplicadas à Saúde
como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Kleber
Chavasco.

Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz
Cosme Cotta Malaquias

Alfenas/MG

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Grisolia, Julianne Caravita

Inquérito soroepidemiológico sobre a prevalência da esporotricose-
infecção em áreas rurais do Sul de Minas Gerais / Julianne Caravita
Grisolia. -- Alfenas/MG, 2015.
42 f.

Orientador: Jorge Kleber Chavasco.
Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) -
Universidade Federal de Alfenas, 2015.
Bibliografia.

1. Esporotricose. 2. Sporothrix. 3. Técnica Imunoenzimática.
4. Prevalência. I. Chavasco, Jorge Kleber. II. Título.

CDD-616.969

Julianne Caravita Grisolia

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO SOBRE A ESPOROTRICOSE-
INFECCÃO EM ÁREAS RURAIS DO SUL DE MINAS GERAIS**

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde para Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Aprovada dia 10 de dezembro de 2015

Profª: Dra. Ana Carolina Barbosa Padovan
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Profª : Dr. João Evangelista Fiorini
Instituição: UNIFENAS

Assinatura: 

Profª: Dr. Jorge Kleber Chavasco
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Alfenas, pela oportunidade oferecida fornecida aos alunos do curso de Pós Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde.

Aos professores do Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde, pelos conhecimentos transmitidos ao longo do curso.

Ao Professor Jorge Kleber Chavasco, pela orientação dedicada a mim neste trabalho.

Ao Professor Luiz Cosme Cotta Malaquias, pela co-orientação dedicada a mim neste trabalho, pelos conhecimentos transmitidos e pelo acolhimento no Laboratório.

Ao Professor Zoilo Pires Camargo, pelo preparo do antígeno utilizado neste trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro concedido.

À minha família, por todo apoio e amor dedicados a mim.

Aos meus amigos e colegas de Laboratório.

E principalmente a Deus.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

O que fazemos para nós morre conosco.

O que fazemos pelos outros e pelo mundo,

continua e é imortal.

Albert Pine

RESUMO

A esporotricose é uma micose subcutânea caracterizada por lesões na pele e no tecido subcutâneo, ocasionada pela inoculação do *Sporothrix schenckii*. Essa doença apresenta as seguintes formas clínicas: cutânea localizada, linfocutânea e disseminada, podendo evoluir para uma forma sistêmica. O fungo causador da doença se apresenta em forma de hifas entre 25° e 30°C no ambiente e na forma leveduriforme a 37°C nos tecidos. No meio ambiente seu crescimento depende de condições climáticas como umidade e temperatura. Determinados grupos de pessoas podem estar mais expostos ao agente causador da doença, como por exemplo, moradores de áreas rurais. Apesar de possuir uma distribuição mundial, a esporotricose possui maior prevalência em países de clima tropical e subtropical. No Brasil, relatos sobre a doença são frequentes. Desta forma o trabalho teve como objetivo a realização de um inquérito soropidemiológico sobre a prevalência da esporotricose em localidades rurais de quatro cidades do sul de Minas Gerais. Neste trabalho foi utilizado o teste de ELISA indireto no levantamento da soroprevalência da esporotricose. Dados obtidos nesta pesquisa numa população avaliada de 631 pessoas mostraram uma soroprevalência de 44,69%, ou seja, 282 pessoas com teste positivo para a esporotricose. A distribuição da soroprevalência para a esporotricose com relação a diferentes faixas etárias e gênero não apresentou diferença estatística significativa. É relatada, pela primeira vez, a soroprevalência da esporotricose em localidades rurais no sul do Estado de Minas Gerais, Brasil.

Palavras-chave: Esporotricose. *Sporothrix schenckii*. Teste imunoenzimático (ELISA).
Soroprevalência.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis characterized by lesions in the skin and subcutaneous tissue, caused by inoculation of *Sporothrix schenckii*. The disease has the following clinical forms: cutaneous fixed, lymphocutaneous and disseminated which can progress to a systemic infection. The fungus disease presents itself in the form of hyphae between 25° and 30° C in the ambient medium and yeast at 37 °C in tissues. Environmental growth depends on weather conditions such as humidity and temperature. Certain groups of people may be more exposed to the causative agent of disease, such as residents of rural areas. Despite having a worldwide distribution, sporotrichosis has most prevalent in tropical and subtropical countries. In Brazil, reports of the disease are frequent. In Brazil, reports of the disease are frequent. Thus the study aimed to carry out a seroepidemiological survey of the prevalence of esporotriciose in four rural locations in southern Minas Gerais. In this study we used indirect ELISA test on survey of the prevalence of sporotrichosis. Data obtained in this study evaluated a population of 631 individuals showed a prevalence of 44.69%, i.e. 282 people testing positive for sporotrichosis. The distribution of seroprevalence for sporotrichosis with respect to different age groups and gender showed no significant statistical difference. It is reported, for the first time, the seroprevalence of sporotrichosis in rural locations in the south of Minas Gerais State, Brazil.

Keywords: Sporotrichosis. *Sporothrix schenckii*. Enzyme immunoassays (ELISA).
Seroprevalence.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Número de moradores, por localidade, envolvidos nesta pesquisa.....	21
Tabela 2-	Distribuição de gênero, idade média, mínimo e máximo de moradores de áreas rurais.....	26
Tabela 3-	Distribuição dos participantes da pesquisa, por gênero e por cidades.....	27
Tabela 4-	Valores das médias e desvio padrão das densidades óticas a 490 nm após adição de uréia 6M utilizando soros de pacientes com esporotricose, indivíduos esporotriquina negativos e de pacientes com paracoccidiodomicose (PCM).....	27
Tabela 5-	Distribuição por gênero masculino e feminino dos valores das médias e desvio padrão das densidades óticas a 490 nm entre moradores de áreas rurais.....	29
Tabela 6-	Distribuição da soroprevalência da esporotricose em moradores de áreas rurais por gênero masculino e feminino.....	31
Tabela 7-	Distribuição da soroprevalência da esporotricose em moradores de áreas rurais por faixa etária.....	31
Tabela 8-	Distribuição da prevalência da esporotricose por cidades.....	32
Tabela 9-	Distribuição da prevalência da esporotricose por gênero feminino com relação a localidades.....	32
Tabela 10-	Distribuição da prevalência da esporotricose por gênero masculino com relação a localidades.....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Forma filamentosa do <i>S. schenckii</i>	13
Figura 2-	Forma leveduriforme do <i>S. schenckii</i>	13
Figura 3-	Características macroscópicas das colônias de <i>S. schenckii</i>	13
Figura 4-	Esporotricose linfocutânea.....	15
Figura 5-	Esporotricose cutânea disseminada.....	15
Figura 6-	Esporotricose cutânea localizada.....	15
Figura 7-	Distribuição geográfica, por país, de casos publicados sobre esporotricose no século XXI.....	17
Figura 8-	Mapa mostrando a localização das cidades envolvidas no estudo.....	22
Figura 9-	Valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm após adição de uréia 6M utilizando soros de indivíduos com esporotricose, indivíduos esporotriquina negativos e de indivíduos com paracoccidioidomicose.....	28
Figura 10-	Valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm após adição de uréia 6M dos positivos e negativos.....	29
Figura 11-	Valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm de soros de moradores de áreas rurais discriminado por gênero masculino e feminino.....	30

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	OBJETIVOS.....	20
2.1.	Objetivo Geral.....	20
2.2.	Objetivos Específicos.....	20
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1.	Local, população de estudo e seleção das amostras.....	21
3.2.	Características das cidades envolvidas na pesquisa.....	22
3.3.	Produção de antígenos de <i>S. schenkii</i>	23
3.4.	Ensaio Imunoenzimático – ELISA.....	24
3.5.	Descrição de várias sócio-demográficas e associação com resultados do ELISA.....	25
3.6.	Análise dos dados.....	26
4.	RESULTADOS.....	26
4.1.	Caracterização da população.....	26
4.2.	Resultados do teste de ELISA.....	27
4.3.	Soroprevalência da esporotricose pelo teste de ELISA utilizando soros de moradores de área rural.....	31
4.4.	Distribuições da soroprevalência da esporotricose por cidades pelo teste de ELISA.....	32
5.	DISCUSSÃO.....	34
6.	CONCLUSÃO.....	38
	REFERÊNCIAS.....	39
	ANEXO.....	43

1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea caracterizada por lesões na pele e no tecido subcutâneo, ocasionada pela inoculação do *Sporothrix schenckii* na pele. A infecção por meio do *S. schenckii* está relacionada a áreas do corpo expostas a traumas, como membros superiores, face e membros inferiores, normalmente causados pela inoculação traumática com material contaminado com *S. schenckii*, (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006). É uma doença que acomete tanto o homem como também uma grande variedade de animais (SCHUBACH et al., 2004).

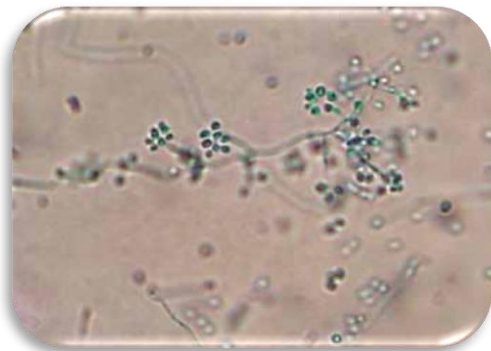
Desde os primeiros relatos da esporotricose, o gênero *Sporothrix* foi considerado como somente uma espécie patogênica, o *Sporothrix schenckii* que sempre foi reconhecido como uma espécie uniforme em suas características fenotípicas, sendo uma espécie de fungo dimórfico da família Ophiostomataceae, pertencente ao filo Ascomycota.

A partir de sequenciamento gênico demonstrou-se que a espécie *S. schenckii* constitui em um complexo é composto das seguintes espécies: *S. albicans*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. luriei*, *S. mexicana* e *S. schenckii*. A heterogeneidade morfológica e genética de cepas de *S. schenckii* isoladas a partir de material patológico foi registrada em diversos trabalhos publicados ao longo dos últimos anos (ARAUJO et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2014). Após análises de parâmetros fenotípicos e genotípicos estudados em 127 culturas de *S. schenckii*, isoladas de casos clínicos em várias regiões do mundo, foi proposta a criação de três novas espécies, além do *S. schenckii*, o *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. mexicana*, e posteriormente, foi proposto que a variante morfológica denominada *S. schenckii* variação *luriei* fosse transformada em uma nova espécie com a denominação de *S. luriei* (MARIMON et al., 2008). As espécies *S. brasiliensis* e *S. schenckii* são frequentes no Brasil, a espécie *S. mexicana* é presente no México, e *S. globosa* é frequente em países como China, Índia, Japão, EUA, Espanha e Itália (MAHAJAM, 2014).

O fungo causador dessa doença, *S. schenckii* *sensu strictu* se apresenta sobre forma de hifas entre 25° e 30°C no ambiente e leveduriforme a 37 °C nos tecidos dos hospedeiros e em cultura (FIGURAS 1 e 2 respectivamente). A colônia deste fungo apresenta uma coloração branca acinzentada e aspecto liso, que ao amadurecerem apresentam superfície membranosa com saliências em forma de filamentos (FIGURA 3) (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011).

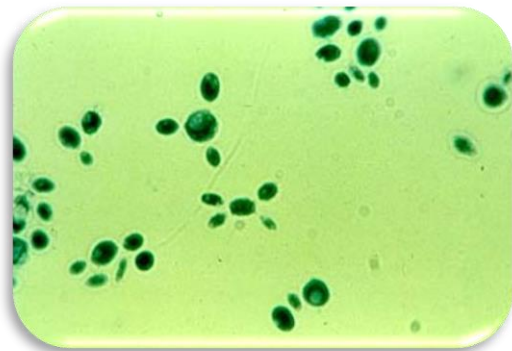
Tem como habitat a matéria vegetal, residindo em cascas de árvores e solos ricos em matéria orgânica e vegetação, principalmente em locais quentes e úmidos (SCHECHTMAN, 2010 a, b; MATTEI et al, 2011). Como este fungo é muito frequente em solos e fragmentos vegetais, alguns grupos de pessoas constituem grupos de risco por exposição ocupacional ao *S. schenckii*, como por exemplo, moradores de áreas rurais (LOPES et al., 1999; MARTINS, 2006).

Figura 1 - Forma filamentosa do *S. schenckii*.



Fonte: Schechman, 2010 a

Figura 2 - Forma leveduriforme do *S. schenckii*



Fonte: <http://www.vet.uga.edu>

Figura 3- Características macroscópicas das colônias de *S. schenckii*



Fonte: Barros; Almeida-Paes; Schubach (2011)

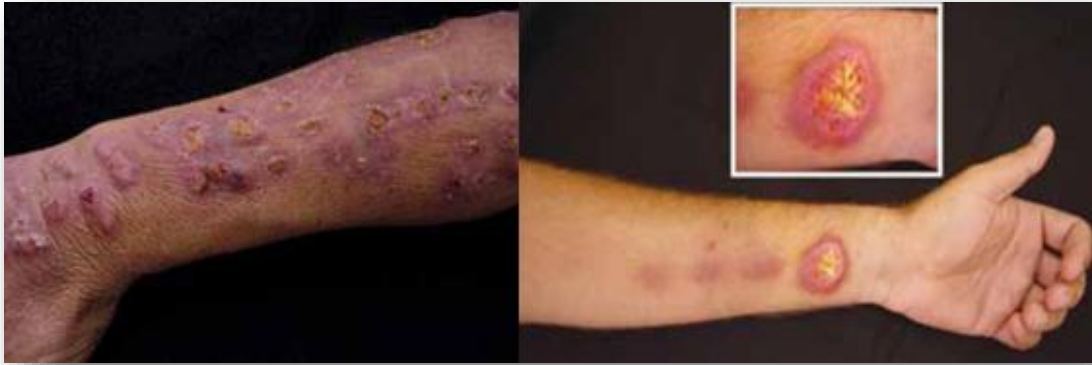
É uma doença que se apresenta sob as formas cutânea localizada, cutânea disseminada, linfocutânea e extracutânea (FIGURAS 4, 5 e 6). As formas cutâneas resultam de uma disseminação hematogênica do fungo a partir de um foco de inoculação (CABELLO et al., 2011; SCHUBACH et al., 2004). Por sua vez, a forma linfocutânea os sinais clínicos

como infiltrações nodulares e ulceradas no local da inoculação do fungo podem comprometer os vasos linfáticos adjacentes e pode evoluir para uma forma sistêmica da doença (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006). Na forma cutânea disseminada pode haver o comprometimento de um ou mais órgãos, podendo atingir músculos, articulações e até ossos em uma fase mais avançada da doença, normalmente associada a alguma doença debilitante (SCHECHTMAN, 2010 a, b). A forma pulmonar (extracutânea) se manifesta por meio da inalação de conídios, geralmente relacionado com imunodeficiência, tornando a esporotricose pulmonar uma doença oportunista (NETO et al., 1999). A severidade das formas clínicas da esporotricose depende do local e da profundidade da infecção, da virulência da cepa do fungo e também do estado imunológico do paciente (SCHUBACH et al., 2004).

Existe uma diferença entre esporotricose-doença e esporotricose-infecção. Normalmente os casos de esporotricose-infecção acometem indivíduos aparentemente saudáveis (independente de gênero ou faixa etária) e que apresentam uma reação positiva para antígenos de *S. schenckii* em teste intradérmico ou sorológico, mas não desenvolvem a doença clínica. Por sua vez, casos de esporotricose-doença, além de apresentarem testes como esporotriquina e sorológicos positivos, apresentam formas clínicas da doença (ALMEIDA-PAES et al., 2007; RESENDE; FRANCO, 2001; SCHUBACH et al., 2004).

Existem poucos dados sobre a resposta imunológica contra a esporotricose, sendo que não é completamente entendida. Sabe-se que o estado imunológico do paciente é importante para desempenhar um papel de proteção à doença, sendo que pacientes com resposta imune comprometida são mais susceptíveis a infecção. Desta forma os mecanismos de fiscalização do sistema imunológico desempenham papel importante no controle da disseminação do patógeno. A resposta imunológica inata possui um papel chave na resposta contra o *S. schenckii*, onde macrófagos e o sistema complemento são ativados. Lipídeos de parede celular do *S. schenckii* estão ligados à ativação de TNF- α estimulando uma resposta próinflamatória. A principal via de resposta humoral é através do perfil Th2. A parede celular do *S. schenckii* também pode ativar outros perfis da resposta adaptativa. Diferentes estirpes de *S. schenckii* podem ativar de forma diferente a resposta de Th1 através da ativação diferencial de células dendríticas (MARTÍNEZ-ÁLVARES et al., 2014).

Figura 4- Esporotricose linfocutânea.



Fonte: Schechman (2010a).

Figura 6 - Esporotricose cutânea disseminada.



Figura 5- Esporotricose cutânea localizada



Fonte: Schechtman (2010a).

Fonte: <http://www.micologia.com.br/ esporotricose.shtml>.

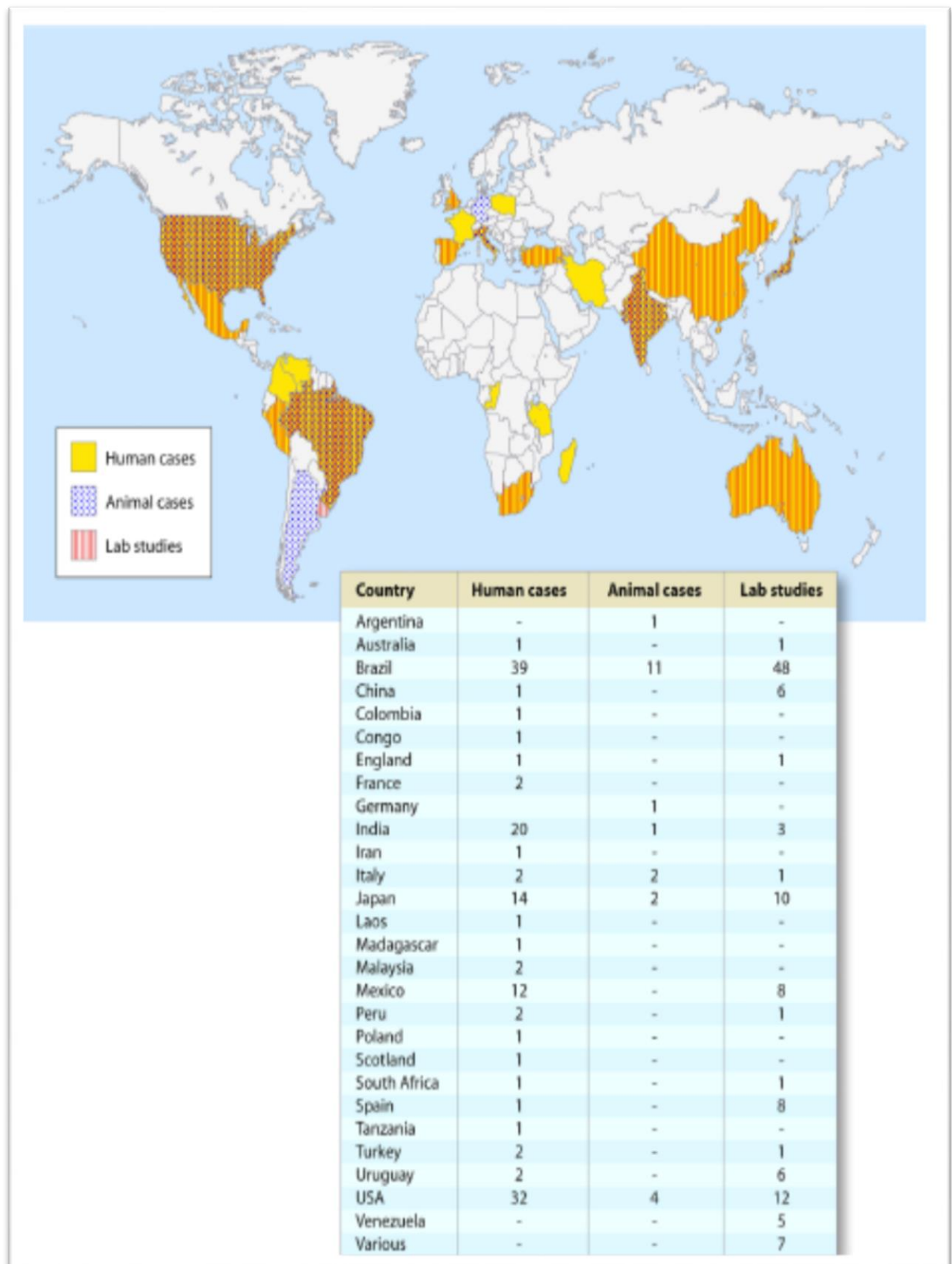
A esporotricose foi descrita pela primeira vez nos Estados Unidos em 1898 como uma doença de risco ocupacional, afetando agricultores, jardineiros e trabalhadores agrícolas (MONTENEGRO et al., 2014). A doença tem sido relatada em diversas áreas do mundo, sendo que a maioria dos casos publicados é proveniente da América Central e América do Sul (SCHECHTMAN, 2010 a, b). É uma doença que possui uma distribuição ampla e que despreza fronteiras geográficas, apresentando prevalência variável de país para país e de região para região (FIGURA 7) (RESENDE; FRANCO, 2001; SCHECHTMAN, 2010 a, b).

Na América do Sul, o Brasil e Uruguai possuem a maior quantidade de casos relatados sobre a doença, sendo que no Uruguai os casos são encontrados principalmente em caçadores de tatus (ALVES et al., 2010; LOPES et al., 1999). No Brasil, casos da doença variam de região para região, sendo que o Estado do Rio de Janeiro é considerado endêmico para a doença tratando-se de transmissão zoonótica por gatos (MONTENEGRO et al., 2014).

No período de 2002 a 2004 foram diagnosticados 572 casos de transmissão zoonótica por gatos domésticos. Na área metropolitana do Rio de Janeiro estima-se que a esporotricose represente mais de 3.800 em felinos, 4000 em humanos, e 120 casos em cães no período de 1998 a 2012. Casos de transmissão zoonótica também tem sido relatadas na região Sul do Brasil, com características semelhantes à epidemia no Rio de Janeiro (BARROS et al., 2004; CRUZ, 2013; ARAUJO et al.; 2015).

Com o aumento significativo de casos clínicos confirmados de esporotricose em humanos no Brasil, houve um interesse significativo sobre esse tema (BARROS et al, 2004; MARTINS, 2006).

Figura 7 - Distribuição geográfica, por país, de casos publicados sobre esporotricose no século XXI.



Fonte: Barros; Almeida-Paes; Schubach (2011).

Para o diagnóstico da esporotricose são utilizadas provas laboratoriais como o cultivo, a intradermorreação e ensaios sorológicos. Apesar de muitos imunoenaios novos terem sido desenvolvidos para diagnóstico de histoplasmose, paracoccidiodomicose, cromoblastomicose e candidíase, existe uma escassez de imunoenaios eficazes para diagnóstico da esporotricose (ALMEIDA-PAES et al., 2007).

Em técnicas como o cultivo, as amostras são inoculadas em Ágar Sabouraud e incubadas a 25- 30°C, e são confirmadas como positivas quando ocorre o crescimento do fungo a 35-37°C e sua conversão para a forma de levedura. A intradermorreação é feita pela inoculação da esporotriquina (extrato bruto de *S. schenckii*) por via intradérmica, e a reação é medida depois de 48 horas, sendo positiva quando ocorre a formação de um nódulo com diâmetro maior do que 5 mm (RESENDE; FRANCO, 2001). Dados na literatura mostram prevalências da esporotricose por meio de testes de intradermorreação com esporotriquina. Sánchez-Alemán; Araiza; Bonifaz (2004) mostram uma prevalência de 6,25% em uma amostra de 144 indivíduos. Outros dados indicam uma prevalência de 13,67% para esporotricose- infecção em indivíduos trabalhadores da Mineração Morro Velho, em Minas Gerais (RODRIGES; RESENDE, 1996).

Para o diagnóstico da esporotricose também são utilizados teste sorológicos, dentre estes estão testes de aglutinação, testes de imunorreação, e teste imunoenzimáticos (SCHUBACH et al., 2004).

O teste imunoenzimático (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay - ELISA) tem sido empregado no diagnóstico de diferentes patologias. De uma forma geral o teste de ELISA tem como papel central a detecção da presença de anticorpos para antígenos permitindo o diagnóstico indireto da infecção, e, portanto, identificar a prevalência da exposição ao *S. schenckii* em indivíduos com esporotricose doença (ALMEIDA-PAES et al, 2007). Alguns trabalhos utilizaram como antígenos, extrato bruto da forma leveduriforme ou filamentosa do fungo, em outros antígenos purificados (ALMEIDA-PAES et al, 2007; FERNANDES et al., 2011; LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006). Almeida-Paes et al. (2007) encontraram uma especificidade de 89% e uma sensibilidade de 97%. Em Fernandes et al. (2011) apresentaram um teste de ELISA para diagnóstico da esporotricose em gatos utilizando de extrato bruto de exoantígeno, onde obtiveram uma sensibilidade de 96 % e especificidade de 98%.

Devido escassez de dados sobre a prevalência da esporotricose-infecção e principalmente no Sul do Estado de Minas Gerais, o presente trabalho foi realizado com o

objetivo de conhecer a soroprevalência da esporotricose em áreas rurais de Alfenas, Divisa Nova, Campos Gerais e Fama.

O presente estudo utilizou a técnica de ELISA descrita em Coelho (2013), que descreve um teste capaz de diagnosticar infecções por esporotricose e eliminar respostas cruzadas com outras infecções.

2 OBJETIVOS

A seguir será descrito os objetivos gerais e específicos do presente trabalho.

2.1 Objetivo Geral

Realizar inquérito soroepidemiológico sobre a prevalência da esporotricose infecção em áreas rurais do Sul de Minas Gerais através de ensaio imunoenzimático (ELISA).

2.2 Objetivos Específicos

1. Realizar o ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizando soros de pacientes com esporotricose, soros de indivíduos esporotriquina negativos e com soros moradores de áreas rurais.
2. Estimar a soroprevalência da esporotricose em localidades rurais do Sul de Minas Gerais nas cidades de Alfenas, Divisa Nova, Campos Gerais e Fama.
3. Avaliar a soroprevalência da esporotricose de acordo com a faixa etária e gênero.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir será descrito a metodologia utilizada para execução do presente estudo.

3.1. Local, população de estudo e seleção das amostras

Neste estudo, os soros foram obtidos de moradores de diferentes localidades rurais do Sul de Minas Gerais, a saber: Alfenas, Divisa Nova, Campos Gerais e Fama (TABELA 1). A Figura 8 mostra o mapa das cidades relacionadas no estudo. Após esclarecimento sobre os objetivos do trabalho aos moradores das localidades rurais, foi feita a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Posteriormente foi realizado o preenchimento da ficha cadastral, com dados pessoais como nome completo, data do nascimento, profissão, estado civil, gênero, residência, naturalidade, telefone para contato, informações relativas ao estado de saúde geral e medicações em uso. Com a autorização dos moradores foi feita a coleta de sangue para obtenção do soro. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFAL-MG com número: 003/2012 (Anexo1).

Tabela 1: Número de moradores, por localidade, envolvidos nesta pesquisa.

Localidade	Número de moradores
Alfenas	234
Divisa Nova	52
Campos Gerais	242
Fama	103
Total	631

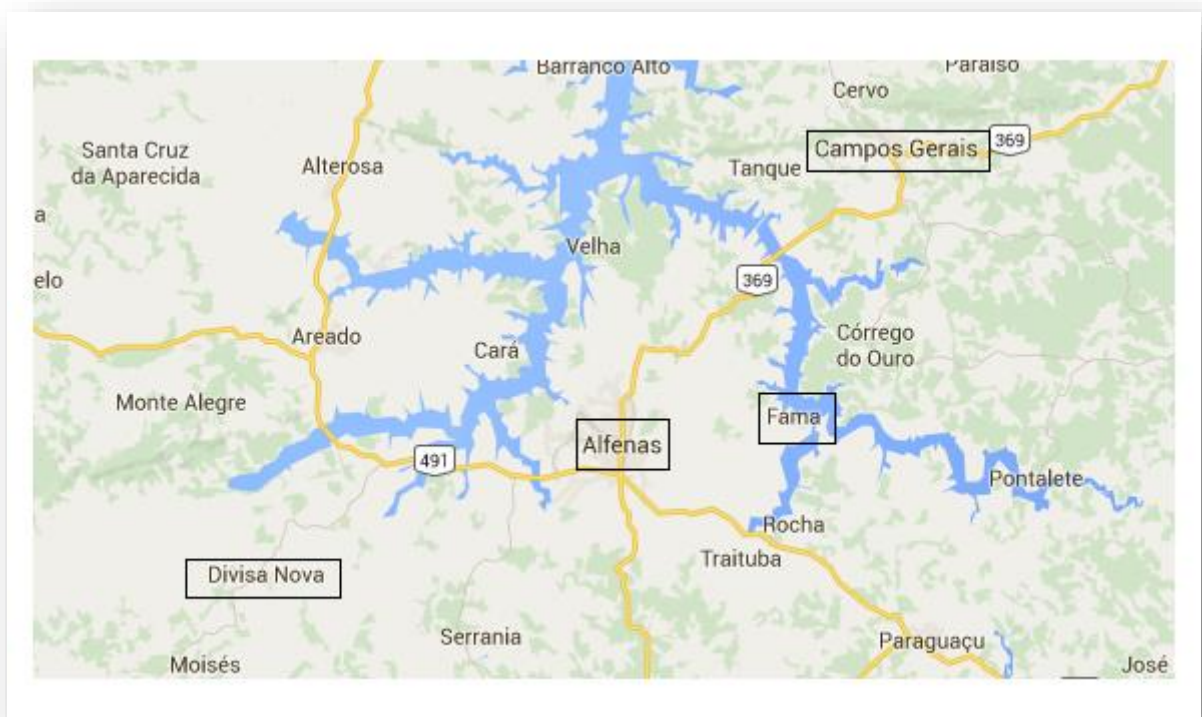
Fonte: do autor

Para a realização deste estudo foram utilizadas além das amostras de soros dos moradores de áreas rurais, soros de indivíduos esporotriquina negativos para utilização destes como controles negativos no teste de ELISA, e soros de pacientes com esporotricose para controles positivos. Para coleta dos soros controles foram feitas a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Para os controles negativos foi

realizado o teste de esporotriquina, sendo este negativo, realizou-se a coleta de sangue e estes foram estabelecidos como indivíduos esporotriquina negativos. Por sua vez, os soros dos controles positivos foram coletados após confirmação por exame clínico e laboratorial. Também foram utilizados soros de pacientes com paracoccidiodomicose.

Quatro amostras de soro de pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de esporotricose foram obtidos do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil (3 homens e 1 mulher) (2 linfocutânea, 1 cutâneo fixa e 1 forma disseminadas), 11 amostras de soro de indivíduos com um teste de pele esporotriquina-negativos (6 homens e 5 mulheres) e 8 amostras de soro de pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de forma adulta crônica da paracoccidiodomicose (PCM) foram usados na padronização do ensaio ELISA aqui realizada (6 homens e 2 mulheres).

Figura 8 – Mapa mostrando a localização das cidades envolvidas no estudo.



Fonte: Google Maps (2015)

3.2. Características das cidades envolvidas na pesquisa

Alfenas

Localizada no Sul Estado de Minas Gerais, possui uma população estimada em 78.712 habitantes. O clima predominante na região é do tipo tropical mesotérmico, sendo a temperatura média anual de 19°C, o verão e a primavera são as estações mais quentes, onde as máximas diárias chegam a 28 a 30°C. Com relação ao regime de chuvas, o clima é úmido, com precipitação média anual de aproximadamente 1 590 mm. A atividade agropecuária na cidade é muito importante, desenvolvendo culturas como: de arroz, alho, batata-inglesa, feijão, milho, cana-de-açúcar, mandioca, soja, tomate e frutas. Mais em primeiro plano está o café, principal produto que vem mantendo um nível bom de produção. É consumido internamente e exportado para outros municípios e estados e outros países (<http://www.cidades.ibge.gov.br>).

Campos Gerais

Localizado no Sul do Estado de Minas Gerais, possui a população estimada em 28.879 habitantes. A principal fonte de renda do município é a agropecuária, principalmente a produção de café, pois é um dos grandes produtores estaduais. A cidade possui uma importante cooperativa para os produtores de café da região, a COOPERCAM, tendo também na cidade a COOXUPÉ. Na cidade também cultivam-se feijão, milho e batata (<http://www.cidades.ibge.gov.br>).

Divisa Nova

Localizada no Sul de Minas Gerais, possui uma população estimada em 6.031 habitantes. A principal fonte de renda da região é a agropecuária, sendo caracterizada pela produção de gados, suínos e também de culturas de café e cana de açúcar (<http://www.cidades.ibge.gov.br>).

Fama

Localizada no Sul de Minas Gerais, no Lago de Furnas com uma população estimada em 2.423 habitantes. Possui uma temperatura média anual de 19,6°C e uma precipitação

média anual de 1592,7 mm. Caracterizada pela produção de culturas de café, cana de açúcar e soja (<http://www.cidades.ibge.gov.br>).

3.3. Produção de antígenos de *S. schenckii*

A cepa do *S. schenckii* usada no presente estudo foi a Ss118 (isolado de um caso humano de esporotricose linfocutânea) (RODRIGES et al.; 2015 a, b). O isolado foi identificado por testes bioquímicos, morfologia das colônias típicas, e aparência microscópica de crescimento em meio de cultura aos 25 e 37° C, e esta cepa está disponível na coleção de cultura do banco de Micologia do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fiocruz, Brasil. O exoantígeno utilizado no ELISA foi preparado com a forma micelial desta estirpe de acordo com o método de MENDOZA et al. (2002). Em resumo, uma amostra da fase micelial *S. schenckii* foi inoculada no meio Sabouraud dextrose (Difco Laboratories, Detroit, MI), seguido de incubação a 28 °C em um agitador rotatório a 100 rpm por 14 dias. Posteriormente, o sobrenadante de cultura foi filtrado através de uma membrana de acetato de celulose de 0,45 µm (Millipore Corp Billerica, MA), concentrado 10 vezes por liofilização e dialisado contra água destilada a 4 °C durante 3 dias. Timerosal (1:5000) foi adicionado como conservante. A concentração da proteína foi medida pelo método de Bradford. O antígeno foi conservado a - 20 °C até o uso. O antígeno foi cedido pelo Prof Dr Zoilo Pires de Camargo, da UNIFESP, São Paulo.

3.4. Ensaio Imunoenzimático – ELISA

O método de ELISA indireto é utilizado com a finalidade de detecção e quantificação de anticorpos, necessitando para sua reação uma fase sólida (placas de poliestireno) onde o antígeno foi adsorvido.

A técnica de ELISA foi realizada conforme Coelho (2013). Placas de poliestireno com 96 poços de fundo chato (NUNC) foram sensibilizadas com antígeno na concentração de 5 µg/mL de proteína em tampão carbonato-bicarbonato 0,1 M e pH 9.6. Em seguida, a placa foi mantida em geladeira a 4°C por 12 horas. Logo após a placa foi lavada cinco vezes com solução de NaCl 0,9% tamponada por fosfato, retirando o excesso de solução. Posteriormente,

a placa foi bloqueada com 200 μ L por poço com solução de leite em pó desnatado a 5% (Molico) em PBS-TWEEN e incubada por uma hora em estufa a 37°C. A placa foi lavada novamente 5 vezes com solução de NaCl 0,9% tamponada por fosfato. Foram feitas diluições (1/800, 1/1600, 1/3200, 1/6400) dos soros em PBS-TWEEN com gelatina a 3%. As amostras de soro eram compostas por soros dos moradores, paciente esporotriquina positivo e de indivíduos esporotriquina negativos. Em seguida a placa foi incubada durante uma hora a 37°C. A placa foi lavada cinco vezes com solução de NaCl 0,9% tamponada por fosfato. Após este período foi adicionado 100 μ L de uma solução 6M de uréia por 5 minutos, a ureia 6M tem como objetivo a eliminação de respostas Ag-Ac de baixa afinidade e, portanto, permitir a detecção de respostas de alta afinidade, assim eliminar possíveis respostas cruzadas (COELHO, 2013).

A seguir, a placa foi lavada cinco vezes com NaCl 0,9% tamponada por fosfato. Foram adicionados 100 μ L por poço do conjugado de soro de cabra anti IgG humana marcada com peroxidase (SIGMA) na diluição de 1:8000 em PBS-TWEEN com gelatina a 3% incubada por uma hora a 37°C. A placa foi lavada cinco vezes com solução de NaCl 0,9% tamponada por fosfato. Em cada poço foi adicionado 100 μ L do substrato o-fenilenodiamina (OPD) (SIGMA) (20 mg OPD, 40 mL de tampão citrato 0,1M pH 4,5 e 40 μ L de H₂O₂ 30%) e deixado em repouso por oito minutos em ausência de luz. A reação foi então interrompida pela adição de 30 μ L de H₂SO₄ 2N por poço. A leitura da placa foi realizada por densidade óptica utilizando-se o comprimento de onda de 490 nm em leitor de placas (Zenith).

A análise de soros positivos e negativos para esporotricose foi realizado com base no ponto de corte, que foi estabelecido a partir da média da densidade óptica mais duas vezes o desvio padrão da absorbância do soro de um indivíduo esporotriquina negativo (GUIMARÃES, 2006).

3.5. Descrição de variáveis sócio demográfica e associação com resultados do teste de ELISA.

Foram realizadas distribuições de frequência dos dados sócio demográficos (idade e gênero) e estes foram distribuídos de acordo com os resultados obtidos no ensaio de ELISA positivo ou negativo.

3.6. Análise dos dados

A análise descritiva dos dados foi realizada utilizando-se o programa estatístico. Foi realizada análise univariada da distribuição de frequência das principais variáveis, com o objetivo de caracterizar a população atendida. Para as variáveis contínuas, foram calculadas a média, mediana e quartis. A existência de associação entre as variáveis contínuas foi avaliada utilizando análise de variância para comparações entre grupos. As variáveis categóricas foram comparadas utilizando o teste do Qui-quadrado.

4 RESULTADOS

A seguir serão apresentados os resultados obtidos neste estudo.

4.1. Caracterização da população

Foram avaliados 631 soros de indivíduos moradores de localidades rurais do Sul de Minas Gerais (Alfenas, Divisa Nova, Campos Gerais e Fama) sendo 344 indivíduos do sexo masculino (54,52%) e 287 do sexo feminino (45,48%). A média de idade foi de $42,52 \pm 15,67$ anos. A idade mínima foi de 10 anos e a máxima de 86 anos (TABELA 2).

Tabela 2: Distribuição de gênero, idade média, mínimo e máximo de moradores de áreas rurais.

	Masculino	Feminino	Total
Número (%)	344 (54,52%)	287 (45,48%)	631 (100%)
Média de idade	$43,31 \pm 16,35$	$41,57 \pm 14,92$	$42,52 \pm 15,67$
(Mínimo-máximo)	(10-86)	(12-82)	(10-86)

Fonte: do autor

Dos 631 indivíduos de moradores de localidades rurais do Sul de Minas Gerais, 52 indivíduos são da localidade de Divisa Nova (30 homens e 22 mulheres), 242 indivíduos da localidade de Campos Gerais (130 homens e 112 mulheres), 103 indivíduos da localidade de

Fama (52 homens e 51 mulheres) e 234 indivíduos de Alfenas (132 homens e 102 mulheres) (TABELA 3).

Tabela 3: Distribuição dos participantes da pesquisa, por gênero e por cidades.

Gênero	Cidades				
	Divisa Nova	Campos Gerais	Fama	Alfenas	Total
Masculino	57,69% (30)	53,72% (130)	50,49% (52)	56,41% (132)	54,51% (344)
Feminino	42,31% (22)	46,28% (112)	49,51% (51)	43,59% (102)	45,49% (287)
Total	100% (52)	100% (242)	100% (103)	100% (234)	100% (631)

Fonte: do autor

4.2. Resultados do teste de ELISA

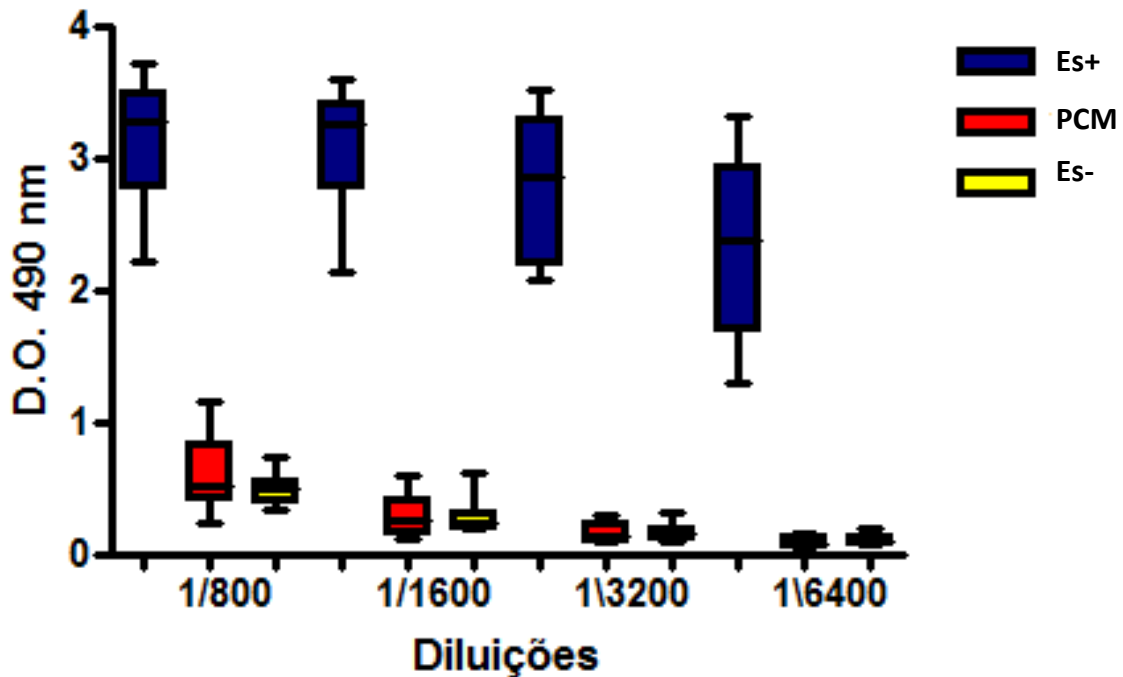
A Tabela 4 e Figura 9 mostram os valores médios das densidades ópticas de soro de pacientes com esporotricose, soros de indivíduos esporotriquina negativo e de indivíduos com paracoccidiodomicose (PCM) após adição de ureia 6M. Pode ser observada uma maior densidade óptica dos soros de pacientes com esporotricose em todas as diluições testadas quando comparado às densidades obtidas a partir de soros de indivíduos esporotriquina negativos e pacientes com PCM. Os soros dos pacientes com PCM apresentaram densidades ópticas semelhantes com as densidades encontradas nos controles esporotriquina negativos.

Tabela 4: Valores das médias e desvio padrão das densidades óticas a 490 nm após adição de uréia 6M utilizando soros de pacientes com esporotricose, indivíduos esporotriquina negativos e de pacientes com paracoccidiodomicose (PCM).

Grupos	Diluições dos soros			
	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
Esporotricose	3,134 ± 0,476	3,099 ± 0,433	2,817 ± 0,555	2,335 ± 0,691
Esporotriquina negativos	0,493 ± 0,130	0,274 ± 0,117	0,173 ± 0,071	0,103 ± 0,037
PCM doença	0,615 ± 0,301	0,295 ± 0,166	0,159 ± 0,079	0,093 ± 0,043

Fonte: do autor

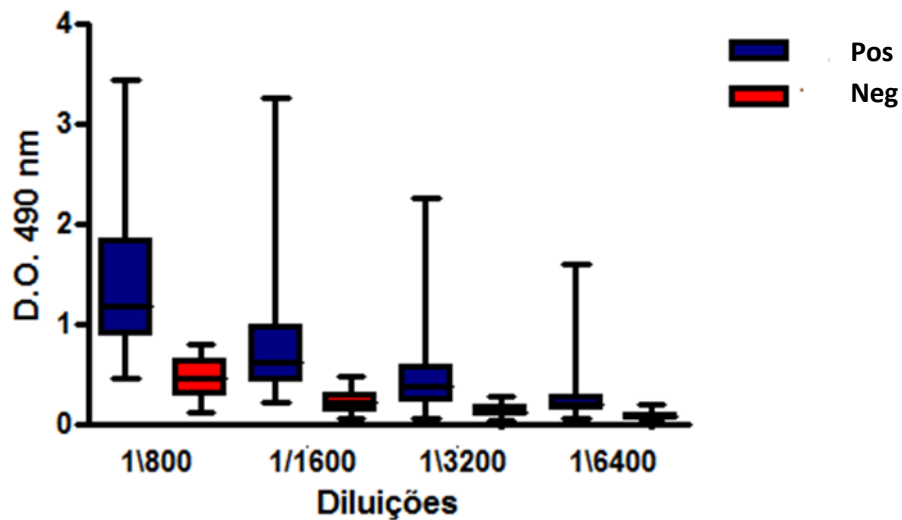
Figura 9 - Valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm após adição de uréia 6M utilizando soros de indivíduos com esporotricose, indivíduos esporotriquina negativos e de pacientes com paracoccidioidomicose. Es+: Esporotricose (n:4); Es-: indivíduos esporotriquina negativos (n:11); PCM: pacientes com paracoccidioidomicose (n:8).



Fonte: do autor

A Figura 10 mostra os valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas de soros de moradores das áreas rurais. Pode ser observada uma maior densidade óptica dos soros de moradores positivos para esporotricose em todas as diluições testadas, em comparação com às densidades obtidas de soros de moradores negativos para a esporotricose.

Figura 10 - Valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm de moradores residentes em áreas rurais positivos e negativos.



Fonte: do autor

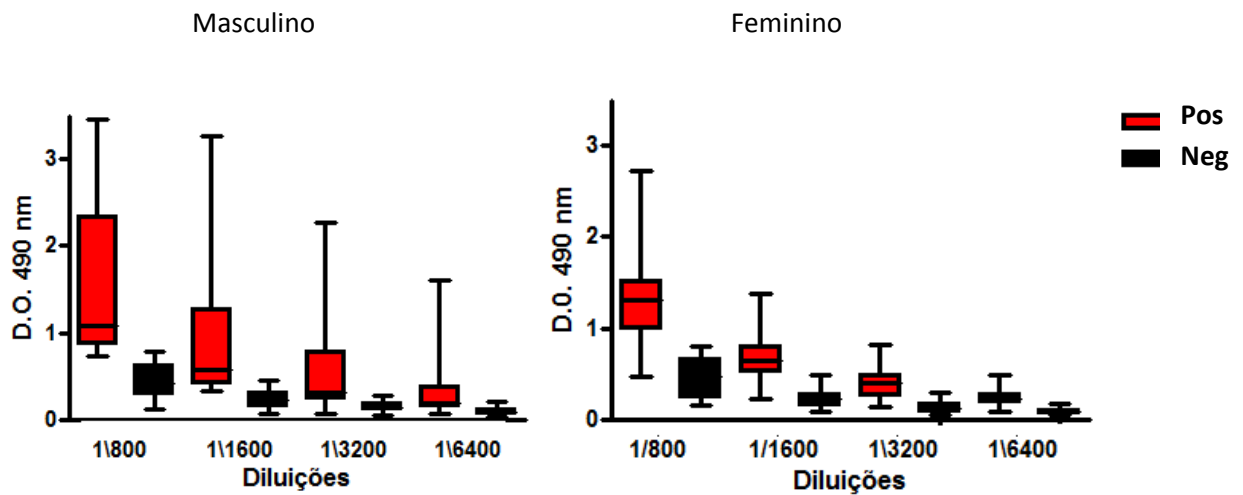
A Tabela 5 e Figura 11 mostram os valores de densidade óptica discriminados por gênero. Como ser observado, os valores de densidades ópticas foram semelhantes em todas as diluições mostradas, sugerindo não haver diferença entre gênero masculino e feminino.

Tabela 5: Distribuição por gênero masculino e feminino dos valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm entre moradores de áreas rurais.

Gênero	Diluições dos soros			
	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
Masculino	0,864 ± 0,768	0,502 ± 0,621	0,307 ± 0,404	0,196 ± 0,285
Feminino	0,772 ± 0,558	0,395 ± 0,301	0,231 ± 0,175	0,142 ± 0,097

Fonte: do autor

Figura 11- Valores das médias e desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm de soros de moradores de áreas rurais positivos e negativos discriminado por gênero masculino e feminino.



Fonte: do autor

4.3. Soroprevalência da esporotricose pelo teste de ELISA utilizando soros de moradores de área rural

Com objetivo de determinar a soroprevalência da esporotricose em moradores de localidades rurais, fixamos a diluição do soro em 1/1600 e estabelecemos o ponto de corte utilizando a média da densidade óptica dos soros de indivíduos esporotriquina negativos mais duas vezes o desvio padrão para cada placa. Valores de densidade óptica acima do ponto de corte foram considerados positivos e abaixo negativos. Os dados da Tabela 6 mostram que a prevalência para esporotricose foi de 44,69% (153 homens e 129 mulheres respectivamente), apresentando uma positividade de 44,48% para homens e de 44,95% para mulheres, não havendo diferença quanto ao gênero ($p=0,428$). Resultado semelhante foi encontrado utilizando o ponto de corte referente às diluições dos soros de 1/3200 e 1/6400 (dados não mostrados).

Tabela 6: Distribuição da soroprevalência da esporotricose em moradores de áreas rurais por gênero masculino e feminino.

ELISA	Gênero		Total	P
	Masculino	Feminino		
Negativo	55,52% (191)	55,05% (158)	55,31% (349)	0,428
Positivo	44,48% (153)	44,95% (129)	44,69% (282)	
Total	100% (344)	100% (287)	100% (631)	

Fonte: do autor

Quanto à distribuição por faixa etária, a prevalência em indivíduos com idade acima de 50 anos de idade foi de 44,86%. Na faixa etária de 16 a 29 anos a prevalência foi de 44,44% e na faixa etária de 30 a 49 anos foi de 44,68%. Os dados não se diferem estaticamente ($p= 0,997$) (TABELA7).

Tabela 7: Distribuição da soroprevalência da esporotricose em moradores de áreas rurais por faixa etária.

ELISA	Faixa etária (anos)			Total	P
	10-29	30-49	>50		
Negativo	55,56% (80)	55,31% (151)	55,14% (118)	55,31% (349)	0,997
Positivo	44,44% (64)	44,68% (122)	44,86% (96)	44,69% (62)	
Total	100% (144)	100% (273)	100% (214)	100% (631)	

Fonte: do autor

4.4 Distribuições da soroprevalência da esporotricose por cidades pelo teste de ELISA

A prevalência encontrada nas regiões rurais estudadas não apresentou diferença estatística ($p= 0,375$). Na cidade de Divisa Nova a prevalência foi de 48,08%, na cidade de Campos Gerais foi de 45,87%, na cidade de Fama foi de 36,9% e na cidade de Alfenas foi de 46,16% (TABELA 8).

Tabela 8: Distribuição da prevalência da esporotricose por cidades.

ELISA	Cidades				P
	Divisa Nova	Campos Gerais	Fama	Alfenas	
Negativo	51,92% (27)	54,13% (131)	63,1% (65)	53,84%(126)	
Positivo	48,08% (25)	45,87% (111)	36,9% (38)	46,16% (108)	0,375
Total	100% (52)	100% (242)	100% (103)	100% (234)	

Fonte: do autor

Com relação ao gênero feminino com relação as localidades estudadas, a prevalência da esporotricose também não apresentou diferença estatística significativa ($p= 0,582$) (TABELA 9).

Tabela 9: Distribuição da prevalência da esporotricose por gênero Feminino com relação a localidades.

Feminino	Localidades (Cidade)					P
	Divisa Nova	Campos Gerais	Fama	Alfenas	Total	
Negativo	8,23% (13)	38,61% (61)	20,89% (33)	32,28% (51)	100% (158)	
Positivo	6,98% (9)	39,53% (51)	13,95% (18)	39,53% (51)	100% (129)	0,582
Total	7,67% (22)	39,02% (112)	17,77% (51)	35,54% (102)	100% (287)	

Fonte: do autor

A prevalência da esporotricose no gênero masculino com relação às localidades estudadas não apresentou uma diferença estatística significativa ($p= 0,371$) (TABELA 10).

Tabela 10: Distribuição da prevalência da esporotricose por gênero Masculino com relação a localidades.

Masculino	Localidades (Cidade)					P
	Divisa Nova	Campos Gerais	Fama	Alfenas	Total	
Negativo	7,33% (14)	36,65% (70)	16,75% (32)	39,27% (75)	100% (191)	
Positivo	10,46% (16)	39,22% (60)	13,07% (20)	37,25% (57)	100% (153)	0,371
Total	8,72% (30)	37,79% (130)	15,12% (52)	38,37% (132)	100% (344)	

Fonte: do autor

5 DISCUSSÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea causada pela inoculação do fungo *Sporothrix schenckii* na pele, sendo caracterizada por lesões na pele e no tecido subcutâneo (SCHECHTMAN, 2010 a, b). O fungo é composto por complexo de espécies crípticas, separadas por diferentes espécies filogeneticamente diferentes (MARIMON et al., 2006). No Brasil, as espécies mais comuns são as *S. schenckii* e *S. brasiliensis* (MAHAJAM, 2014). Sendo que *S. brasiliensis* está relacionada a transmissões por via zoonótica (MONTENEGRO et al., 2014).

A esporotricose possui uma ampla distribuição geográfica, apresentando prevalência variável entre países e regiões (RESENDE; FRANCO, 2001) sendo mais ocorrente em zonas tropicais e temperadas, onde o clima favorece a propagação do fungo (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011). A América Latina possui alta prevalência da doença. No Brasil, casos da doença variam de região para região, sendo que o Estado do Rio de Janeiro é considerado endêmico para a doença tratando-se de transmissão zoonótica por gatos (PAES et al., 2007). Dados sobre a esporotricose no Estado de Minas Gerais são escassos, desta forma ressalta-se a importância do conhecimento da prevalência da doença Sul de Minas Gerais onde a prevalência não foi relatada.

O solo sempre foi considerado um dos principais reservatórios do *S. schenckii*, constituindo-se uma importante fonte de contaminação. A doença é observada mais comumente em indivíduos que têm contato constante com plantas e solo, por causa disso, ela é considerada uma doença ocupacional (BARROS; ALMEIDA-PAES; SCHUBACH, 2011). Portanto, ressalta a importância do estudo ter sido realizado em localidades rurais do Sul de Minas Gerais.

Barros et al., (2010) descrevem uma epidemia de esporotricose-doença em seres humanos no Rio de Janeiro, em 1998, resultante de transmissão zoonótica. O estudo foi baseado em informações fornecidas por 255 indivíduos, destes 94 indivíduos com esporotricose e 161 indivíduos sem sintomas da doença que conviviam com gatos com esporotricose. A prevalência de esporotricose foi quatro vezes maior entre os indivíduos que cuidavam de animais. Desta forma no Estado do Rio de Janeiro houve uma maior prevalência em mulheres acima de 40 anos, que estavam envolvidas em trabalhos domésticos, e cuidado de gatos com esporotricose (BARROS et al., 2010). Dados da prevalência da esporotricose-

doença na região Sul do Brasil sugerem uma maior prevalência em homens com mais de 40 anos, sendo estes trabalhadores rurais, com atividades de alto risco de contaminação (ALVES et al., 2010).

O diagnóstico “padrão ouro” para esporotricose-doença é a identificação do fungo em amostras biológicas ou em cultura. Apesar da cultura apresentar uma alta especificidade, a sua sensibilidade é baixa, o que pode levar a diagnósticos falsos negativos (SCOTT; MUCHMORE, 1989). Para o diagnóstico da esporotricose e outras doenças subcutâneas também são utilizadas provas sorológicas, dentre elas o teste imunoenzimático (ELISA) (SCOTT; MUCHMORE, 1989; PAES et al., 2007). O teste de ELISA para esporotricose foi descrito na literatura apresentando uma boa especificidade e sensibilidade (ALMEIDA-PAES et al, 2007; BERNARDES-ENGEMANN et al., 2015; LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006). Neste trabalho foi utilizado o teste de ELISA como ferramenta para levantamento da soroprevalência da esporotricose-infecção em localidades rurais no sul de Minas Gerais. Com intuito de diminuir possíveis respostas cruzadas, foram utilizadas várias diluições do soro e tratamento por 5 minutos com uréia 6M. O tratamento com uréia 6M ao eliminar as ligações Ag-Ac com baixa afinidade permite a detecção de anticorpos com alta afinidade, com isso pode-se eliminar os possíveis resultados falsos positivos e identificar com maior confiança os verdadeiros soros positivos (PAJUABA; SILVA; MINEO, 2010; NAMUJU, et al., 2011). No estudo realizado por Coelho (2013) foi mostrado que a técnica de ELISA para esporotricose foi eficiente em discriminar soros de pacientes com esporotricose, soros de pacientes com paracoccidiodomicose e soros de indivíduos esporotriquina negativos.

No teste de ELISA foi utilizado o antígeno do *S. schenckii*. Como demonstrado em Rodrigues et al. (2015 a, b) diferentes espécies *Sporothrix*, ou seja, *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, e *S. globosa*, possuem assinaturas antigênicas similares em humanos, em felinos e em murinos, desta forma pode-se dizer que os determinantes antigênicos (epitopos) podem ser conservados, e estas semelhanças antigênicas entre *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, e *S. globosa* são explicadas pela proximidade filogenética no complexo *S. schenckii*. Em Fernandes et al. (2013) foi demonstrado os exoantígenos de *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. schenckii* apresentam a segregação de moléculas que variam de 46 e 60 kDa que estão relacionadas a GP 70 que é uma glicoproteína importante para o diagnóstico clínico da esporotricose independente do agente etiológico, sendo assim o uso do *S. schenckii* como antígeno não altera o resultado do estudo, pois possui a capacidade de diagnosticar a esporotricose de forma geral.

Na Tabela 4 e Figura 9 são mostrados as médias e o desvio padrão das densidades ópticas a 490 nm em soros de pacientes com esporotricose, indivíduos esporotriquina negativos e pacientes com PCM. Pode-se observar valores de densidades ópticas superiores encontrados nos pacientes com esporotricose quando comparado com os valores dos indivíduos com PCM. Os valores de densidades ópticas de indivíduos com esporotriquina negativos e dos pacientes com PCM foram semelhantes. É importante ressaltar que resultados semelhantes foram obtidos quando se utilizou dados de outras diluições. Namujju et al (2011), conseguiram associar anticorpos de alta e baixa afinidade em mulheres africanas com risco de infecção por certas estirpes do vírus papiloma humano (HPV) utilizando o teste de ELISA semelhante ao empregado por Coelho (2013).

Com relação à soroprevalência da esporotricose-infecção observou-se um percentual de 44,69% de positividade em 631 moradores de localidades rurais do sul de Minas Gerais. Para o gênero masculino a prevalência foi de 44,48%, e para o gênero feminino a prevalência foi de 44,95% (TABELA 6).

Dados sobre prevalência da esporotricose-infecção são raros. Rodrigues; Resende (1996) encontraram uma prevalência de 13,67% para esporotricose-infecção em 417 trabalhadores da Mineração Morro Velho em Minas Gerais utilizando teste intradérmico com esporotriquina. Por sua vez, Sánchez-Alemán; Araiza; Bonifaz (2004) descrevem uma prevalência de 6,25% em uma amostra de 144 indivíduos para esporotricose no México também utilizando teste de intradermoreação. Dados descritos por Ghosh et al (1999) na Índia relatam uma prevalência para a esporotricose que variou de 22,9 a 40,0% também utilizando o teste intradérmico. Observaram ainda que a prevalência aumenta de acordo com o aumento da idade em ambos os gêneros, sendo essa mais elevada em populações que se dedicavam a horticultura, jardinagem e carpintaria (43,2%) e agricultura (33,9%), prevalências semelhantes às encontradas no presente estudo.

Com relação às faixas etárias a soroprevalência também não apresentou uma diferença estatística ($p= 0,997$), sendo que a prevalência encontrada em indivíduos na faixa etária de 10 a 29 anos foi de 44,44%, na faixa etária de 30 a 49 anos foi de 44,68% e na faixa etária acima de 50 anos foi de 44,86% (TABELA 7). Os dados apresentados neste trabalho são diferentes dos dados apresentados por Ghosh et al. (1999), que relatam que a prevalência aumenta conforme o aumento das faixas etárias. Por sua vez os dados apresentados aqui com relação às faixas etárias também se diferem dos apresentados por Alves et al. (2010), avaliando a esporotricose-doença em trabalhadores rurais e Barros et al. (2010), avaliando

trabalhadores domésticos, pois ambos identificaram uma maior prevalência para a esporotricose acima de 40 anos.

Quando avaliado a diferença da prevalência entre as localidades rurais analisadas foi observado não haver diferença estatística significativa ($p= 0,375$), onde a prevalência foi de 48,08%, 45,87%, 36,9%, e 46,16% nas localidades de Divisa Nova, Campos Gerais, Fama e Alfenas respectivamente (TABELA 8). Quando avaliado as diferenças da prevalência nos gêneros masculino e feminino com relação às localidades rurais estudadas, foi observado que os dados também não variam estatisticamente ($p= 0,371$ e $p= 0,582$ respectivamente) (TABELA 9 e 10).

De acordo com Barros et al. (2011) a esporotricose afeta ambos os gêneros e todas as faixas etárias. E, portanto, as diferenças entre a prevalência para homens e mulheres e a diferenças da prevalência entre as faixas etárias, estão ligadas com a exposição ao fungo. É importante ressaltar que o presente estudo foi realizado com moradores de localidades rurais (Divisa Nova, Fama, Campos Gerais e Alfenas), sendo que estas localidades são principalmente caracterizadas por uma predominância da agropecuária, onde a cultura de café se destaca. Conforme descrito anteriormente estas localidades possuem uma proximidade entre elas, sendo uma região de clima tropical mesotérmico (quente e úmido) e caracterizada como uma região de cafeicultura. Os moradores dessas localidades rurais são principalmente trabalhadores envolvidos com atividades agropecuárias, tendo contato com solo e fragmentos vegetais, portanto, possuem contato frequente com solo e matéria orgânica. Desta forma podemos explicar porque não foram encontradas diferenças estatísticas significativas na prevalência da esporotricose em relação ao gênero e a faixas etárias e entre as localidades rurais estudadas.

Dados apresentados aqui relatam pela primeira vez a soroprevalência da esporotricose-infecção em localidades rurais do Sul de Minas Gerais.

6 CONCLUSÃO

- A prevalência para esporotricose-infecção em áreas rurais do Sul de Minas Gerais foi de 44,69% (282 indivíduos positivos em 631 moradores).
- Para o gênero masculino a prevalência foi de 44,48% (153 positivos) e para o gênero feminino foi de 44,95% (129 positivos).
- Não foi observado diferença na prevalência entre as faixas etárias.
- Não foi observado diferença na prevalência entre as localidades de Divisa Nova, Campos Gerais, Fama e Alfenas.
- É relatada pela primeira vez a soroprevalência da esporotricose em localidades rurais na região sul de Minas Gerais.

REFERÊNCIAS

ALVES, S. H. et al. *Sporothrix schenckii* associada com a caça de tatu no Sul do Brasil: perfis de susceptibilidade epidemiológicos e antifúngicos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.43, p.523-525, 2010.

ALMEIDA-PAES, R. et al. Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. **Clin. Vaccine Immunol.** v.14, n.3, p. 244-249, 2007.

ARAÚJO, M. L.; et al. Human sporotrichosis beyond the epidemic front reveals classical transmission types in Espírito Santo, Brazil; **Mycoses**, v.58, p.485–490, 2015.

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

BARROS, M. B. L. et al. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Rev. Panam. Salud. Publica.** v. 27, p. 455-60, 2010.

BARROS, M. B. L. et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: Description of a series of cases. **Clin. Infect. Dis.** v. 38, p. 529–535, 2004.

BERNARDES-ENGEMANN, A. R. et al. Validation of a serodiagnostic test for sporotrichosis: a follow-up study of patients related to the Rio de Janeiro zoonotic outbreak. **Med Mycol.** v.53, p.28-33, 2015.

CABELLO, R. R. et al. Disseminated sporotrichosis; **BMJ Case Reports**; n. 10, p. 2010-3404, 2011.

COELHO, L. M. L. **Padronização de ensaio imunoenzimático para diagnóstico da esporotricose.** (Mestrado em Biociências Aplicada a saúde) – UNIFAL, Alfenas-MG, 2013.

CRUZ, L. C. H. Complexo *Sporothrix schenckii*. Revisão de parte da literatura e considerações sobre o diagnóstico e a epidemiologia. **Vet. e Zootec.** (Edição Comemorativa) p. 08-28, 2013.

FERNANDES, G. F. et al.; Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. **Veterinary Microbiology**, v. 147, p. 445-449, 2011.

FERNANDES, G. F. et al. Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different *Sporothrix schenckii sensu stricto* isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis* species. **Virulence** v. 4, n. 3, p. 1–9, April, 2013.

GHOSH, A. et al. Sporotrichosis in Himachal Pradesh (north India). **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 93, n. 1, p. 41-45; Jan-Feb, 1999.

GUIMARÃES, A. J. Proteína M recombinante do *Histoplasma capsulatum*: Mapeamento de epítomos e aplicação no diagnóstico da histoplasmose. **FIOCRUZ**, Rio de Janeiro, 2006.

LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R. O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Ann. Acad. Bras. Cienc.** v. 78, p. 293-308, 2006.

LOPES, J. O. et al. Epidemiologia da esporotricose na região central do Rio Grande do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 32, n. 5, p. 541-545, set-out, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br>> Acesso em 3 de outubro de 2015.

LUTZ, A.; SPLENDORE, A. Sobre uma micose observada em homens e ratos. **Rev. Med.**; v. 21, p. 433-450, 1907.

MAHAJAN, V. K.; Sporotrichosis: An Overview and Therapeutic. **Options Dermatology Research and Practice**, v. 272376, p. 13, 2014.

MARIMON, R. et al. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. **Med Mycol.**; v. 46, p. 621-625, 2008.

MARIMON, R. et al. Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*. **J Clin Microbiol**; v. 44, p. 3251-3256, 2006.

MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A. et al. The immune response against *Candida spp.* and *Sporothrix schenckii*. **Rev. Iberoam Micol.** v. 31, n. 1, p. 62–66, 2014.

MATTEI, A. S. et al. *Sporothrix schenckii* in a hospital and home environment in the city of Pelotas/RS – Brazil. **Ann. Acad. Bras. Cien.** v. 83, n. 4, p. 1359-1362, 2011.

MARTINS, E. B.; **Perfil epidemiológico, clínico e terapêutico da esporotricose no instituto de pesquisa clínica Evandro Chagas – FIOCRUZ, Rio de Janeiro no período de 2002 a 2004;** (Mestrado em Medicina Tropical) -Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 2006.

MENDOZA, M. A. M. et al. Production of culture filtrates of *Sporothrix schenckii* in diverse culture media. **Med. Mycol.** v. 40, p. 447-454, 2002.

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

NAMUJU, P. B. et al.; Low avidity of human papillomavirus (HPV) type 16 antibodies is associated with increased risk of low-risk but not high-risk HPV type prevalence. **BCM Res Notes**, v. 4, p. 170, 2011.

NETO, R. J. et al. Esporotricose cutânea disseminada como manifestação inicial da síndrome da imunodeficiência adquirida- relato de caso. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 32, n. 1, p. 57-61, jan-fev, 1999.

PAJUABA, A. C. A. M.; SILVA; D. A. O.; MINEO J. R. Evaluation of Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assays and IgG Avidity Assays Using a Protein A-Peroxidase Conjugate for Serological Distinction between *Brucella abortus* S19-Vaccinated and Infected Cows. **Laboratory of Immunoparasitology, Institute of Biomedical Sciences, Uberlandia -MG**, fev, 2010.

RESENDE, P. P.; FRANCO, A. V. Esporotricose cutâneo-linfática. **Cad. Bras. Med.** Rio de Janeiro, v. 14, p. 1- 4, jan-dez, 2001.

RODRIGUES, M. T.; RESENDE, M. A.; Epidemiologic skin test survey of sensitivity to paracoccidioidin, histoplasmin and sporotrichin among gold mine workers of Morro Velho Mining, Brazil. **Mycopathologia.** v. 135, n. 2, p. 89-98, 1996.

RODRIGUES, A. M.; et al. Immunoproteomic analysis reveals a convergent humoral response signature in the *Sporothrix schenckii* complex. **J Proteomics** v. 115, p. 8-22, 2015 a.

RODRIGUES, A. M.; et al. Proteomics-based characterization of the humoral immune response in sporotrichosis: Toward discovery of potential diagnostic and vaccine antigens. **PLoS Negl Trop. Dis.** v. 9, n. 0004016, 2015 b.

SÁNCHEZ-ALEMÁN, M. A.; ARAIZA, J.; BONIFAZ, A.; Isolation and characterization of wild *Sporothrix schenckii* strains and investigation of sporotrichin reactors. **Gac Med Mex.** v. 140, n. 5, p. 507-12, Sep-Oct, 2004.

SCHECHTMAN R. C. **Sporotrichosis: Part I.** Skinmed. Instituto de Dermatologia Prof Rubem David Azulay (IDPRDA), Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, v.8, n.4, p. 216-220, Jul-Aug, 2010 a.

SCHECHTMAN R. C. **Sporotrichosis: Part II.** Skinmed. Instituto de Dermatologia Prof Rubem David Azulay (IDPRDA), Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, v. 8, n. 5, p. 275-280, Sep-Oct, 2010 b.

SCHUBACH, T. M. P. et al. Utilidade do coágulo sanguíneo para o isolamento de *Sporothrix schenckii* de gatos naturalmente infectados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.41, n.6, p.404-408, nov, 2004.

SCOTT, E. N.; MUCHMORE, H. G. Immunoblot analysis of antibody responses to *Sporothrix schenckii*. **J. Clin. Microbiol.** v. 27, n. 2, p. 300-4, 1989.

TEIXEIRA, M. M; et al. Comparative genomics of the major fungal agents of human and animal Sporotrichosis: *Sporothrix schenckii* and *Sporothrix brasiliensis*. **BMC Genomics**, v. 15, p. 943, 2014.

XAVIER, M. O.; et al. Esporotricose felina com envolvimento humano na cidade de Pelotas, RS, Brasil. **Cienc. Rural** v. 34, p. 1961–1963, 2004.

ANEXO

Anexo A - Declaração do Comitê de Ética



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas . UNIFAL-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714 . Alfenas/MG . CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1000 . Fax: (35) 3299-1063



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

DECLARAÇÃO

Declaro para todos os fins que o projeto intitulado “INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLÓGICO DA ESPOROTRICOSE EM ÁREAS RURAIS DO MUNICÍPIO DE ALFENAS, MG” foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFAL-MG, recebendo o parecer **APROVADO**, conforme registro em Ata da 93^a. Reunião, de 06 de março de 2012, protocolo N^o: 003/2012.

Alfenas, 13 de março de 2012.


Profa. Dra. Maísa Ribeiro Pereira Lima Brigagão
Coordenador do CEP