

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS**

PAULO MENDES PEÇANHA

**FATORES GEOGRÁFICOS E CLIMÁTICOS
DETERMINANTES DA OCORRÊNCIA DE
Paracoccidioides spp. NO ESTADO DO ESPÍRITO
SANTO, BRASIL**

VITÓRIA
2022

PAULO MENDES PEÇANHA

**FATORES GEOGRÁFICOS E CLIMÁTICOS DETERMINANTES DA
OCORRÊNCIA DE *Paracoccidioides* spp. NO ESTADO DO ESPÍRITO
SANTO, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Doenças Infecciosas.

Orientador: Prof. Dr. Aloísio Falqueto

VITÓRIA

2022

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

P364f Peçanha, Paulo Mendes, 1950-
Fatores geográficos e climáticos determinantes da
ocorrência de Paracoccidioides spp. no estado do Espírito
Santo, Brasil / Paulo Mendes Peçanha. - 2022.
77 f.

Orientador: Aloísio Falqueto.
Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas) - Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Paracoccidioidomicose. 2. Modelagem de nicho ecológico.
3. Determinantes geográficos e climáticos. I. Falqueto, Aloísio.
II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
da Saúde. III. Título.

CDU: 61



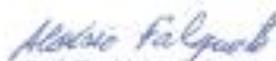
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE TESE DE DOUTORADO

O(a) doutorando(a) Paulo Mendes Pezanha apresentou a tese intitulada "Variáveis geográficas e climáticas determinantes da ocorrência de Parasitoides sp no estado do Espírito Santo" em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de Doutor em Doenças Infecciosas do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, sua qualidade e relevância, a Comissão Examinadora decidiu (x) aprovar () reprovar a tese habilitando Paulo Mendes Pezanha a obter o Grau de Doutor (a) em Doenças Infecciosas.

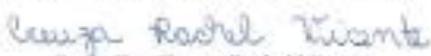
Vitória, 08 de agosto de 2022.


Prof. Dr. Alécio Falgado
Orientador


Prof. Dr. Flávio de Oliveira Teles
Universidade Federal do Paraná - Membro Externo


Prof. Dr. Daniel Wagner de Castro Lima Santos
Universidade Federal do Maranhão - Membro Externo


Profa. Dra. Sarah Gonçalves Tavares
Universidade Federal do Espírito Santo - Membro Interno


Profa. Dra. Cruzia Rachel Viçente
Universidade Federal do Espírito Santo - Membro Interno


Paulo Mendes Pezanha
Discente



PAULO MENDES PEÇANHA

**FATORES GEOGRÁFICOS E CLIMÁTICOS DETERMINANTES DA
OCORRÊNCIA DE *Paracoccidioides* spp. NO ESTADO DO ESPÍRITO
SANTO, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Doenças Infecciosas.

Aprovada em 08 de agosto de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Aloísio Falqueto

Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Flávio Queiróz-Telles Filho

Universidade Federal do Paraná
Examinador Externo

Prof. Dr. Daniel Wagner de Castro Lima Santos

Universidade Federal do Maranhão
Examinador Externo

Prof. Dr. Renato Lirio Morelato

Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia- EMESCAM
Examinador Externo- Suplente

Profª Drª. Sarah Gonçalves Tavares

Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno

Profª Drª Creuza Rachel Vicente

Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno

Profª. Drª. Angélica Espinosa Barbosa Miranda

Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno – Suplente

DEDICATÓRIA

À Angélica (esposa), Marcelo, Pedro e Paula (filhos) pelo incondicional apoio e participação na vida e na realização deste projeto.

*À João Pedro e Eduardo (netos) que chegaram juntos com a produção desta tese
e a Igor, Priscila e Carol que completam a família.*

Aos meus pais (in memoriam) – Ozéas e América – que sempre vibraram a cada etapa vencida pelos filhos.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*Ao Prof. Dr. Délio Delmaestro (In memoriam),
companheiro e amigo por longos anos no
acompanhamento dos pacientes com
Paracoccidioidomicose. Seu entusiasmo e disposição
foram inspiradores.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr Aloísio Falqueto pela orientação e apoio na realização desta tese contribuindo com o seu conhecimento e disponibilidade no desenvolvimento de todo o trabalho.

Aos professores Dr. Flávio de Queiróz-Telles Filho, Dr. Daniel Wagner de Castro Lima Santos, Dr. Renato Lirio Morelato, Dr^a. Sarah Gonçalves Tavares, Dr^a Creuza Rachel Vicente e Dr^a. Angélica Espinosa Barbosa Miranda, integrantes da banca examinadora, pela disponibilidade, análise e contribuições ao estudo.

Ao Prof. Dr. Gustavo Rocha Leite pela disponibilidade, apoio e competência na aplicação da metodologia com o algoritmo MiaMaxent, além da revisão dos manuscritos, fundamentais à execução do estudo.

À Dr^a Viviane Coutinho Meneguzzi pela participação na realização do geoprocessamento que possibilitou a identificação dos pontos de ocorrência do *Paracoccidioides* sp. no estado do Espírito Santo.

Aos médicos da enfermaria de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM), Dr. Carlos Urbano Gonçalves Ferreira Jr, Dr^a. Cláudia Biasutti e Dr^a Fabíola Assad Antunes pela atenção aos pacientes durante longos anos e em particular, pelo apoio no período de desenvolvimento desta tese.

Aos Profs. Aloisio Falqueto e Ricardo Tristão Sá, por manterem a assistência aos pacientes, alunos e médicos residentes da DIP no período de realização desta tese.

Aos alunos da graduação, internos e médicos residentes do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) Hucam, pelo atendimento aos pacientes e registros de informações indispensáveis ao desenvolvimento desta tese.

Aos alunos da Liga de Infectologia pela atualização do banco de dados de Paracoccidioidomicose, fundamental no fornecimento de informações para o desenvolvimento desta tese.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM) por terem possibilitado toda a minha vida acadêmica e profissional além da realização desta tese.

Ao HUCAM por acolher e tratar os pacientes com Paracoccidioidomicose entre tantas outras patologias ao longo de todos esses anos.

Aos pacientes de Paracoccidioidomicose pela confiança na nossa equipe, nos permitindo desenvolver esta significativa série de casos ao longo destes quarenta anos.

À Prof^a Sarah Gonçalves Tavares e Técnicos do laboratório de Micologia da UFES, Simone Bravim Maifrede em especial, pelo apoio nos diagnósticos da pesquisa.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Clínicas do HUCAM pela competência na realização de exames de pacientes com Paracoccidioidomicose ao longo dos anos da pesquisa.

À Equipe de Enfermagem da Clínica Médica 4^o andar e do Ambulatório de Doenças Infecciosas pelo carinho e dedicação no cuidado com os pacientes portadores de Paracoccidioidomicose atendidos no HUCAM.

À Equipe do Serviço de Arquivo Médico e Estatística-SAME/HUCAM por preservar e disponibilizar informações tão importantes na execução deste trabalho, durante os quarenta anos de avaliação da pesquisa.

À Prof^a Dr^a Leila Massaroni pela disponibilidade, competência e habilidade na formatação desta tese.

“A vida é sobre o que fazemos na estrada. É sobre o caminho.”

Milton Nascimento

RESUMO

A Paracoccidioidomicose (PCM) é uma infecção fúngica provocada por *Paracoccidioides* spp., que ocorre originalmente na América Latina e, mesmo tendo transcorrido 114 anos da identificação do agente, seu nicho ecológico ainda é pouco conhecido. Este estudo tem por objetivo definir as variáveis geográficas e climáticas determinantes da ocorrência de nichos naturais do fungo, que propiciam a ocorrência da infecção humana por *Paracoccidioides* no estado do Espírito Santo, importante região endêmica de PCM no Sudeste do Brasil. A população do estudo foi composta por casos diagnosticados com PCM, atendidos no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes/UFES no período de 1978 a 2018. Os dados epidemiológicos foram coletados nos prontuários dos pacientes e, os dados ambientais, a partir do georreferenciamento das localidades de procedência dos pacientes. Dados climáticos foram obtidos da base de dados WorldClim e informações geográficas foram extraídas do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) e do Sistema Integrado de Bases Georreferenciadas do estado do Espírito Santo (GEOBASES). Para a construção dos modelos de distribuição de *Paracoccidioides* foi utilizado o algoritmo de máxima entropia (MIAmaxent R package) capaz de estimar a distribuição provável de uma determinada espécie na área estudada, a partir de dados de presença. A validação dos modelos do nicho ecológico foi realizada por meio da Curva Característica de Operação do Receptor (ROC-plot). As variáveis que mais contribuíram para a construção do modelo preditivo de nicho ecológico de *Paracoccidioides* foram: precipitação no mês mais úmido (BIO 13), com 53% de contribuição, precipitação na estação mais seca (BIO 17), com 25%, radiação solar - valor mínimo dos 12 meses (SRADI), com 11%, pressão do vapor d'água - desvio padrão dos 12 meses (VAPRD), com 11%, e tipo de solo (GEOBASES), com contribuição de 6%. Além de quantificar a contribuição de cada variável, destacando a importância das precipitações na construção do modelo, neste estudo foi demonstrado pela primeira vez, a contribuição da radiação solar e pressão do vapor d'água na ocorrência do fungo. Os resultados deste trabalho, orientam investimentos públicos no treinamento de equipes regionais de saúde dirigidas para o diagnóstico e tratamento precoce da PCM, doença potencialmente incapacitante e mortal. Além de identificar áreas com maior probabilidade de ocorrência dos nichos naturais de *Paracoccidioides* aqui no estado, nossos achados podem ainda ser extrapolados para estados vizinhos do Sudeste brasileiro, onde aparecem áreas com clima e topografia semelhantes às do Espírito Santo.

Palavras chaves: Paracoccidioidomicose; Modelagem de nicho ecológico; Determinantes geográficos e climáticos.

ABSTRACT

Paracoccidioidomycosis (PCM) is a fungal infection caused by *Paracoccidioides* spp, which originally occurs in Latin America, and even 114 years after the identification of the agent, its ecological niche is still poorly understood. This study aims to define the geographic and climatic variables that determine the occurrence of natural niches of the fungus, which favor the occurrence of human infection by *Paracoccidioides* in the state of Espírito Santo, an important region with endemism in Southeast Brazil. The study population consisted of cases diagnosed with PCM and treated at the Infectious Diseases Unit of the University Hospital Cassiano Antônio Moraes from the Federal University of ES, Brazil from 1978 to 2018. Epidemiological data were collected through the information contained in medical records and, the environmental data, from georeferencing locations of origin of the patients. Climatic data were obtained from the WorldClim database and geographic information was retrieved from the National Institute for Space Research (INPE) and the Integrated System of Geospatial Bases of the state of Espírito Santo (GEOBASES). For the construction of the distribution models of *Paracoccidioides*, the maximum entropy algorithm (MIAmaxent R package) was used, capable of estimating the probable distribution of a certain species in the studied area, from presence-only data. The validation of the ecological niche models was performed using the Receptor Operation Characteristic Curve (ROC-plot). The variables that contributed the most to the construction of the predictive model of the ecological niche of *Paracoccidioides* were precipitation in the wettest month (BIO 13), with 53% of the contribution, precipitation in the driest season (BIO 17), with 25%, solar radiation – 12-month minimum value (SRADI), with 11%, water vapor pressure – 12-month standard deviation (VAPRD), with 11% and soil type (GEOBASES), with a contribution of 6%. In addition to quantifying the contribution of each variable and highlighting the importance of precipitation in the construction of the model, this study demonstrates for the first time the contribution of solar radiation and water vapor pressure in the occurrence of the fungus. These results can also guide public investments in training health teams regionally, for early diagnosis and treatment of PCM, this potentially disabling and deadly disease. In addition to identifying areas with a higher probability of occurrence of natural niches of *Paracoccidioides* here in the state, our findings can also be extrapolated to neighboring states in Southeast Brazil, where areas with climate and topography like those of Espírito Santo appear.

Keywords: Paracoccidioidomycosis; Ecological niche modeling; Geographic and climatic determinants.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Pontos de ocorrência dos casos de Paracoccidioomicose no estado do Espírito Santo registrados no período de 1978 a 2018.
- Figura 2 - Resultados de validação do modelo AUC, incluindo a validação-cruzada aleatória (VCA) e a validação-cruzada espacialmente estratificada (VCE).
- Figura 3 - Frequência da presença observada de *Paracoccidiooides* representada pelos pontos pretos e a linha vermelha como uma regressão local mais suave através das variáveis ambientais significativas retidas nos modelos finais: Solo 03, Precipitação do mês mais úmido (Bio 13), Precipitação do trimestre mais seco (Bio 17), Radiação solar kJm - 2 dias - 1 (SRADI), Pressão de vapor de água kPa (VAPRD).
- Figura 4 – Contribuição das principais variáveis ambientais utilizadas neste estudo: Solo 03, Precipitação do mês mais úmido (Bio 13), Precipitação do trimestre mais seco (Bio 17), Radiação solar kJm - 2 dias - 1 (SRADI), Pressão de vapor de água kPa (VAPRD).
- Figura 5 - Modelo de distribuição final para *Paracoccidiooides* no estado do Espírito Santo, Sudeste do Brasil. Os pontos de ocorrência utilizados na modelagem também são mostrados no mapa.
- Figura 6 – Resultado da interpolação dos tipos de solo no estado do ES: latossolo e outros.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil epidemiológico e clínico dos pacientes incluídos no estudo

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AUC-	Área sob a curva
BA-	Estado da Bahia
Bio 13 -	Precipitação do mês mais úmido
Bio 17 -	Precipitação do trimestre mais seco
DIP -	Doenças Infecciosas e Parasitárias
ES-	Estado do Espírito Santo
GEOBASES - Espírito Santo	Sistema Integrado de Bases Georreferenciadas do estado do Espírito Santo
HUCAM -	Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes
INCAPER-	Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural
INPE -	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
MG –	Estado de Minas Gerais
PCM –	Paracoccidiodomicose
ROC-plot -	Curva Característica de Operação do Receptor
SRADI-	Radiação solar kJm - 2 dias – 1
VAPRD -	Pressão de vapor de água kPa
VCA-	Varição Cruzada Aleatória
VCE –	Varição Cruzada Espacialmente Estratificada
UV –	Radiação Ultra Violeta
SP-	Estado de São Paulo
UFES -	Universidade Federal do Espírito Santo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	20
3. REVISÃO DA LITERATURA	22
3.1. ETIOLOGIA- MICROBIOLOGIA	22
3.2. EPIDEMIOLOGIA	25
3.2.1. Incidência e Prevalência	25
3.2.2. Ocupação	27
3.2.3. Hábitos – Tabagismo/Etilismo	28
3.3. ECOLOGIA	28
4. MATERIAL E MÉTODO	33
4.1. ÁREA DE ESTUDO	33
4.2. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	34
4.3. VARIÁVEIS AMBIENTAIS	36
4.4. MODELAGEM DE DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIE (SDM)	38
4.5. AVALIAÇÃO DO MODELO	39
4.6. ASPECTOS ÉTICOS	40
5. RESULTADOS	42
6. DISCUSSÃO	53
7. REFERÊNCIAS	62
ANEXOS	71

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Paracoccidioidomicose (PCM) é uma infecção fúngica sistêmica, adquirida pela inalação dos propágulos do fungo no solo, que compromete primariamente pulmões e vias aéreas superiores, podendo ainda atingir vários órgãos e sistemas do organismo humano (SHIKANAY-YASUDA et al., 2017).

O agente etiológico da PCM é *Paracoccidioides* spp., fungo termodimórfico classificado na família *Onygenaceae*, Ordem *Onygenales*, Filo *Ascomycota*, grupo comum à maioria dos agentes das micoses sistêmicas endêmicas. Estudos moleculares mostraram que *Paracoccidioides* não é uma espécie única (TEIXEIRA et al., 2009) mas, um complexo de quatro espécies distintas que inclui *Paracoccidioides brasiliensis sensu stricto*, com as variantes S1a e S1b; *Paracoccidioides americana*, também conhecida como PS2; *Paracoccidioides restrepiensis* (PS3); *Paracoccidioides venezuelensis* (PS4) e *P. lutzii*, isolada mais frequentemente na região Centro Oeste do Brasil (TURISSINI et al., 2017; QUEIROZ-TELLES et al., 2020).

A PCM é endêmica na América Latina, onde foi relatada desde o México até a Argentina. O Brasil aparece como coração da endemia com 80% dos casos, seguido à distância por Colômbia, Venezuela, Equador e Argentina (RESTREPO et al., 2012). No Brasil, as áreas de maior endemismo são as regiões Sudeste, Sul e Centro-oeste, sendo relatado, nos últimos anos, aumento do número de casos na região Norte e estado do Maranhão.

A PCM ocorre caracteristicamente em pessoas provenientes da zona rural, que trabalham na lavoura ou em atividades relacionadas ao manejo do solo (RESTREPO et al., 2012; SHIKANAY-YASUDA et al., 2017; WANKE & LONDERO, 1994; PEÇANHA et al., 2017). Outras atividades profissionais relacionadas com o solo como terraplanagem, operação de máquinas agrícolas, jardinagem e construção civil, também estão relacionadas à doença.

A infecção é prioritariamente adquirida nas duas primeiras décadas de vida, com um pico de incidência entre 10 e 20 anos de idade. No entanto, a maior frequência da doença ativa e progressiva ocorre em adultos entre os 30 e 60 anos de idade (WANKE & LONDERO, 1994; SHIKANAY-YASUDA et al., 2017). É marcante também o fato de que as manifestações clínicas podem surgir muitos anos após o contato com o solo, com os pacientes já residindo em centros urbanos e desenvolvendo outras atividades profissionais (RESTREPO et al. 2012; PEÇANHA et al., 2017). Daí a importância de estudos epidemiológicos visando à associação da doença com os prováveis locais onde os pacientes se infectaram e trazendo informações mais precisas sobre o nicho ecológico do fungo.

O nicho ecológico de *Paracoccidioides* ainda não é bem conhecido, no entanto existem evidências de que seu habitat seja o solo, proliferando em locais úmidos e ricos em proteínas, onde variações de temperatura sejam mínimas. Nesses locais, o fungo cresceria em sua fase micelial, produzindo conídios que seriam inalados sob a forma de aerossol, alcançando os alvéolos pulmonares (TERÇARIOLI et al., 2007). Entretanto, são clássicas as dificuldades no isolamento de *Paracoccidioides* por meio de análises de amostras de solo em áreas endêmicas exaustivamente estudadas

pelos métodos convencionais (SILVA-VERGARA et al., 1998). Isso tem determinado a busca de novas metodologias que permitam aprimorar o conhecimento dos nichos do fungo no meio ambiente e sua forma de interação com os hospedeiros.

Com o desenvolvimento da biologia molecular e a aplicação de métodos de geoprocessamento nas pesquisas, é possível vislumbrar novos caminhos para o avanço no conhecimento dos nichos naturais de *Paracoccidioides* (BAGAGLI & MARQUES, 2010; BARROZO et al., 2010; THEODORO et al., 2005).

O Espírito Santo (ES) é um estado da região Sudeste do país, em que a PCM tem se revelado como uma das principais micoses sistêmicas endêmicas (PEÇANHA et al., 2017; SANTOS et al., 2003). Por apresentar grande diversidade de relevo e condições climáticas, com território intercalando planícies e montanhas, clima quente, ameno e frio, áreas secas e chuvosas (menos de 1000 mm a mais de 2400 mm/ ano), pode-se afirmar que o estado se constitui em um laboratório natural para o estudo da influência das variáveis geoclimáticas na ocorrência de *Paracoccidioides* na natureza.

A partir dos casos humanos de PCM ocorridos em áreas endêmicas no estado do ES, inferimos que nas localidades de procedência dos doentes ocorreriam os nichos naturais do fungo no meio ambiente. Neste estudo, utilizamos modelos de distribuição, visando identificar variáveis geográficas e climáticas associadas à ocorrência de *Paracoccidioides* no espaço geográfico do estado do ES. Trata-se de algoritmo baseado no princípio de máxima entropia, um método usado para escolher a melhor distribuição de probabilidade que se ajusta aos dados estudados (PHILLIPS et al., 2006; PHILLIPS et al., 2004).

2. OBJETIVOS

2.1 - OBJETIVO GERAL:

Identificar as variáveis geográficas e climáticas associadas à ocorrência dos nichos naturais de *Paracoccidioides* no estado do Espírito Santo (ES).

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Fazer levantamentos de casos humanos de Paracoccidioidomicose (PCM) ocorridos no estado do ES, no período de 1978 a 2018.

- Mapear, por meio do registro de coordenadas geográficas, os locais de procedência dos casos humanos de PCM no estado do ES.

- Relacionar as variáveis geográficas e climáticas potencialmente associadas à ocorrência da infecção humana por *Paracoccidioides* no estado do ES.

- Por meio de algoritmo de Máxima Entropia, associar os pontos de ocorrência dos casos humanos de PCM, com as respectivas variáveis geográficas e climáticas locais.

- Elaborar mapa representativo das áreas de provável ocorrência dos nichos naturais de *Paracoccidioides* no estado do ES.

***REVISÃO DA
LITERATURA***

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. ETIOLOGIA - MICROBIOLOGIA

A Paracoccidioidomicose (PCM) é causada por *Paracoccidioides* spp., identificado pela primeira vez em 1908 por Adolfo Lutz como causador de uma nova doença fúngica (LUTZ, 1908). Taxonomicamente, é classificado na família *Onygenaceae*, Ordem Onygenales, Filo Ascomycota, grupo comum compartilhado pela maioria dos agentes das micoses sistêmicas endêmicas como *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* e *Coccidioides posadasii*, além de *Histoplasma capsulatum* (QUEIROZ-TELLES et al., 2020; RESTREPO et al., 2012; BAGAGLI et al., 2021).

Estudos moleculares filogenéticos e filogeográficos indicam que vários membros da família *Onygenaceae* podem ter se originado nas Américas por volta de 3 a 20 milhões de anos atrás (QUEIROZ-TELLES et al., 2011; BAGAGLI et al., 2006), tendo evoluído em associação com hospedeiros mamíferos ao longo de milênios (BAGAGLI et al., 2008). Estudos moleculares também mostraram que *P. brasiliensis* era uma espécie com vários genótipos distintos sendo S₁, PS₂, e PS₄ encontradas no Brasil, Argentina, Uruguai, Peru, Paraguai e Venezuela, e PS₃ restrita à Colômbia (ARANTES et al., 2012; MATUTE et al., 2006). Posteriormente, estudos com amostras da região Centro-Oeste brasileira e do Equador, demonstraram que um isolado denominado Pb01 não se agrupava em nenhuma das espécies crípticas descritas anteriormente, constituindo-se em nova espécie de *Paracoccidioides* denominada *P.*

lutzii em homenagem a Adolfo Lutz, que um século atrás havia descoberto o agente da PCM (LUTZ, 1908; TEIXEIRA et al., 2009).

Em estudo mais recente, Turissini e colaboradores (2017) propuseram elevar à categoria de espécie as quatro variantes genéticas de *P. brasiliensis*, distinguíveis por meio de métodos morfológicos e moleculares. Assim, a variante PS2 foi denominada *Paracoccidioides americana*, PS3 passou a se chamar *Paracoccidioides restrepiensis* e PS4 *Paracoccidioides venezuelensis*, ao passo que a denominação *Paracoccidioides brasiliensis* ficou restrita para S1 (TURISSINI et al., 2017). Dessa forma, todas essas espécies passaram a constituir o denominado complexo *P. brasiliensis*. Diferenças na distribuição geográfica dessas espécies têm sido demonstradas, evidenciando que *P. brasiliensis* é mais difundida no Brasil, Argentina e Paraguai. *Paracoccidioides lutzii* tem sido isolada mais frequentemente na região Centro Oeste do Brasil e no Equador. *Paracoccidioides americana* é encontrada esporadicamente na Venezuela e Sudeste do Brasil, enquanto *P. restrepiensis* e *P. venezuelensis* aparecem respectivamente na Colômbia e Venezuela (Queiroz-Telles et al., 2020). Diferenças também podem ser observadas na morfologia dos conídios, alongados para o *P. lutzii*, medindo de 2 a 22 μm , enquanto os de *P. brasiliensis*, mais arredondados, mediriam de 2 a 5 μm (TEIXEIRA et al., 2014; QUEIROZ-TELLES et al., 2020).

Uma característica comum às espécies de *Paracoccidioides* é o termodimorfismo. Quando cultivadas em temperatura ambiente menor que 28° C, produzem colônias brancas, algodonosas, aderentes ao meio, após 20 a 30 dias de incubação. À microscopia óptica evidencia-se a forma micelial, com hifas filamentosas

hialinas, septadas e finas, capazes de formar diferentes tipos de conídios como clamidoconídios, conídios terminais e artroconídios, sendo estes últimos os propágulos infectantes (QUEIROZ-TELLES et al., 2011; COLOMBO et al., 2007; LACAZ et al., 2002). As hifas e conídios são uninucleados, tendo a camada externa da parede celular composta basicamente por beta-1,3-glucana e a camada interna formada de quitina (RESTREPO & TOBON, 2010).

A forma de levedura do fungo, que aparece em cultivos incubados entre 35 e 37° C, também é observada em tecidos e fluidos humanos. As colônias crescem em 10 a 28 dias com coloração creme e aspecto cerebriforme (LACAZ et al., 2002; RESTREPO & TOBON, 2010). A morfologia característica de *Paracoccidioides* é de uma célula mãe arredondada, multinucleada, com 5 a 30µm de diâmetro apresentando brotamentos simples ou múltiplos (blastoconídios).

A transformação de micélio em levedura é fundamental na patogenicidade do fungo. Este processo envolve mudanças na composição percentual de beta-1,3-glucana presente no micélio e de alfa-1-5-glucana na levedura, além de outras alterações na composição química da parede celular. O principal fator envolvido no dimorfismo é a temperatura, contribuindo, também, fatores como nutrientes e o ar. É de se destacar que isolados incapazes de efetuar essa transição morfológica não são patogênicos (LACAZ et al., 2002; COLOMBO et al., 2011; RESTREPO & TOBON, 2010).

3.2. EPIDEMIOLOGIA

3.2.1. Incidência, prevalência e mortalidade

Uma das características mais marcantes da PCM é sua distribuição geográfica limitada à América Latina. A doença endêmica tem sido relatada desde o México (23° Norte) até à Argentina (34° Sul), sendo uma das micoses sistêmicas mais importantes da região. O maior número de casos ocorre no Brasil (80%), seguido à distância por Colômbia, Venezuela, Equador e Argentina. A doença não foi relatada ainda no Chile e algumas ilhas do Caribe (RESTREPO et al., 2020; MARTINEZ, 2017). Estima-se que 10 milhões de pessoas estejam infectadas por *Paracoccidioides* na América Latina e desses, 1 a 2% desenvolverão a forma clínica da doença (QUEIROZ-TELLES et al., 2011).

A taxa anual de incidência no Brasil varia entre 3 e 4 novos casos por milhão até 1 a 3/100.000 habitantes em áreas de alto endemismo (SHIKANAY-YASUDA et al., 2017; WANKE & LONDERO, 1994), e vem alcançando 9 a 40 casos por 100 000 habitantes nas últimas décadas, em áreas hiper endêmicas na Amazônia, de mais recente colonização (VIEIRA et al., 2014). No estudo mais amplo realizado no Brasil relativo à mortalidade da PCM, a taxa média relatada foi de 1,45/milhão de habitantes com um total de 3.181 mortes atribuídas à PCM no período de 1980 a 1985 (COUTINHO et al., 2002). Essa taxa de mortalidade vem se reduzindo nas regiões Sul e Sudeste do Brasil enquanto aumenta na região Norte. O estado do Paraná, que apresentava a mais alta taxa de mortalidade da região Sul do Brasil variando de 3 a 4.29 por milhão de habitantes entre 1980-1995, apresentou entre 2007 e 2020 uma

mortalidade anual média de 1.17 por milhão de habitantes (SUGUIURA et al.,2022), enquanto o estado de Rondônia, na região Norte variou de 3.65 por milhão de habitantes entre 1980-1995 para 8.2 no período de 2002 a 2004 (VIEIRA et al., 2014). . Fora da América Latina, mais de 100 casos de PCM foram descritos na América do Norte, Europa e Ásia, porém todos os pacientes tinham morado previamente em região endêmica (RESTREPO et al., 2020). A doença é distribuída de forma heterogênea na América Latina, da mesma forma que no Brasil, onde áreas de alto endemismo são localizadas próximas a outras com incidência muito baixa (WANKE & LONDERO, 1994; MARTINEZ, 2017).

No Brasil, as áreas clássicas de maior endemismo são as regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste. A doença é menos comum em áreas de clima árido como o Nordeste. Nos últimos anos, houve aumento do número de casos na região Norte e Maranhão, conforme já referido, provavelmente relacionado ao desmatamento para abertura de novas fronteiras agrícolas (QUEIROZ-TELLES et al., 2011; VIEIRA et al, 2014). Importante destacar, que pelo fato da PCM não ser doença de notificação compulsória na maioria dos estados brasileiros, esses dados podem estar subestimados

Resultados de inquéritos epidemiológicos realizados por meio de testes cutâneos com paracoccidiodina, antígeno de *P. brasiliensis*, sugerem que a infecção seja adquirida nas duas primeiras décadas de vida, com pico na segunda década, não havendo diferenças de gênero (WANKE & LONDERO, 1994; SHIKANAY-YASUDA et al., 2017).

Em todas as casuísticas, observa-se que a grande maioria dos pacientes vive em área rural ou exerceu atividade agrícola nas primeiras décadas de vida tendo,

possivelmente, adquirido a infecção nessa época, embora as manifestações clínicas surjam muitos anos depois, quando grande parte deles já se dedica a outras atividades (SHIKANAY-YASUDA et al., 2017; PEÇANHA et al., 2017; MARTINEZ, 2017)

Estudos epidemiológicos realizados em populações dos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo permitiram evidenciar a ocorrência de *Paracoccidioides* em áreas com diferentes características geográficas e climáticas. Inquérito com paracoccidioidina realizado por Pedrosa revelou taxa de positividade de 60,6% em população rural do Rio de Janeiro (PEDROSA, 1976). Ainda naquele estado, Rios-Gonçalves e colaboradores realizaram inquéritos com paracoccidioidina em crianças de dois distritos situados em diferentes níveis de altitude. No primeiro, a 380m de altitude, a taxa de positividade foi de 25,2% enquanto no segundo, situado a 900m de altitude, a taxa alcançou 73,4% (RIOS-GONÇALVES et al., 1998). Wanke (1976), por sua vez, estudando população urbana do Rio de Janeiro, encontrou 15,6% de positividade. Na região Noroeste do Espírito Santo, demonstramos que a taxa de positividade à paracoccidioidina alcançou 33,15%, em amostra populacional composta por crianças e adultos de área rural (in press). Em São Paulo, também situado na região Sudeste brasileira, bem como na Colômbia, inquéritos com paracoccidioidina mostraram prevalências próximas de 70% entre lavradores (LACAZ et al., 2002; RESTREPO et al., 2010). A análise conjunta dos estudos epidemiológicos realizados no Brasil, Colômbia e Venezuela permitiu estimar em 10% a taxa de infecção por *P. brasiliensis* em populações de áreas endêmicas (WANKE & LONDERO, 1994).

3.2.2. Ocupação

A PCM ocorre comumente em pessoas provenientes da zona rural, que trabalham ou trabalhavam na lavoura ou em atividades relacionadas ao manejo do solo (SHIKANAY-YASUDA et al., 2017; WANKE & LONDERO, 1994). Tem marcada predominância entre trabalhadores rurais de baixa renda, apresentando características de doença ocupacional (SILVA-VERGARA et al., 1998; QUEIROZ-TELLES et al., 2011; MARTINEZ, 2017).

3.2.3. Hábitos – Tabagismo/Etilismo

A associação do tabagismo e do etilismo como fatores de risco para o desenvolvimento da forma crônica da PCM foi demonstrada em um estudo caso-controle realizado no ES por dos Santos e colaboradores, publicado em 2003. Após comparação de 70 pacientes com a forma crônica da PCM com 180 pacientes no grupo controle foi demonstrado que o risco de adoecimento foi 14 vezes maior entre tabagistas e 3,6 vezes maior entre indivíduos com ingestão de álcool maior que 50g/dia (dos Santos et al., 2003). Além de aumentar o risco de ocorrência da PCM, o tabaco causa efeitos patogênicos diretos nas vias respiratórias, agravando a evolução clínica e comprometendo o prognóstico dos pacientes. A associação com o alcoolismo já havia sido demonstrada em publicação anterior de Martinez & Moya (1992).

3.3. ECOLOGIA

Embora o nicho ecológico de *Paracoccidioides* não esteja ainda bem definido, existem evidências de que seu habitat seja o solo, proliferando em locais úmidos e ricos em proteínas, onde variações de temperatura sejam mínimas. Nesses locais, o fungo cresce em sua fase micelial produzindo conídios que, sob a forma de aerossol são inalados, alcançando os alvéolos pulmonares. Borelli (1972) sugeriu que os nichos do fungo deveriam se localizar em buracos na terra, associados a tocas de roedores e tatus. Trabalhos mais recentes demonstraram que *P. brasiliensis* tem bom crescimento em solos com textura argilosa ou arenosa, em condições de alta umidade, e pouco crescimento em condições de baixa umidade. Foi também observado que o fungo é incapaz de crescer em alguns solos com elevados teores de Alumínio trocável, encontrados em áreas de baixa endemicidade (ARANTES, 2012; TERÇARIOLI et al., 2007).

O primeiro isolamento de *Paracoccidioides* de amostras do solo foi obtido por Shome e Batista na década de 1960 em uma fazenda de criação de gado, em Recife – Pernambuco (SHOME & BATISTA, 1963). Em 1967, novo isolamento do fungo no solo foi relatado por Negroni, na região de Chaco, Argentina (NEGRONI, 1967). Alguns anos depois, Albornoz obteve sucesso no isolamento de *Paracoccidioides* de amostras do solo, em uma plantação de café na Venezuela (ALBORNOZ, 1971). Em 1989, Gezuele isolou o fungo de amostras de fezes de pinguim, coletadas na ilha King George's, na região Antártica (GEZUELE, 1989). Em Uberlândia- MG, Ferreira e colaboradores também obtiveram sucesso isolando *Paracoccidioides* de ração de cachorro, provavelmente devido ao contato direto do alimento com o solo (FERREIRA

et al., 1990). Silva-Vergara (1998) e colaboradores, por sua vez, investigaram exaustivamente a presença de *Paracoccidioides* em plantação de café no município de Ibiá-MG, região de onde procedia número significativo de pacientes com PCM. Apenas um isolamento positivo foi obtido no exame de 760 amostras coletadas no solo, folhas de café, frutos e palha (SILVA-VERGARA et al., 1998).

Outro indício da presença de *Paracoccidioides* no solo é o encontro de infecção natural pelo fungo em tatus da espécie *Dasypus novemcinctus* (NAIFF et al., 1986; BAGAGLI et al., 1998; SILVA-VERGARA et al., 2000). Alguns tatus apresentavam sinais de doença caracterizada por granulomas e necrose em pulmão e baço, associados à presença do fungo. A distribuição territorial do *D. novemcinctus* se sobrepõe às áreas em que incide a PCM em humanos, reforçando a hipótese da existência local de nichos de *Paracoccidioides* no solo (RESTREPO, 1994; FRANCO et al., 2000).

Além de *D. novemcinctus*, outra espécie de tatu (*Cabassous centralis*) e uma preguiça (*Choloepus didactylus*), também já foram encontrados infectados pelo fungo, ampliando o número de animais hospedeiros de *Paracoccidioides* (ARANTES, 2012; TREJO-CHÁVEZ et al., 2011). Demonstrou-se, além disso, que animais de hábitos terrestres têm maior frequência de infecção em relação aos que vivem em árvores, reforçando o conceito de que os nichos naturais do fungo estariam no solo (COSTA et al., 1995).

Infecção natural por *Paracoccidioides* em animais domésticos já foi relatada em cães por Ricci e colaboradores (2004) e Farias e colaboradores (2005). Inquéritos por meio de reação intradérmica ou sorologia já haviam evidenciado que, além dos cães,

também cavalos, bois e ovelhas têm sido frequentemente encontrados infectados pelo fungo (COSTA et al., 1995; MARQUES, 2003).

Nos últimos anos, o encontro de animais silvestres naturalmente infectados abriu novas perspectivas em estudos sobre a ecologia de *Paracoccidioides*, em diferentes regiões da América (ARANTES et al., 2016; BARROZO et al., 2009; THEODORO et al., 2005). A utilização de técnicas de biologia molecular para pesquisa de material genético do fungo em amostras ambientais tem se revelado um método investigativo de grande utilidade no estudo da frequência, área de ocorrência e epidemiologia de *Paracoccidioides* (BAGAGLI et al., 2010). Nesse sentido, a Reação em Cadeia de Polimerase - PCR (*Polymerase Chain Reaction*), mais utilizada, destaca-se especialmente pela sensibilidade e especificidade do método. Não obstante sua utilidade para detecção de nichos naturais de *Paracoccidioides*, ressaltamos que se trata de uma técnica com custos relativamente altos e abrangência muito limitada, em termos de previsão da área com probabilidade de ocorrência do fungo.

Considerando ainda as dificuldades de isolamento do *P. brasiliensis* de amostras do solo pelos métodos convencionais, salientamos a necessidade de se buscar novos métodos de estudo que possibilitem conhecer melhor a extensão das áreas geográficas com probabilidade de ocorrência de nichos naturais de *Paracoccidioides*.

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. ÁREA DE ESTUDO

O estado do Espírito Santo está localizado na costa Atlântica do Sudeste do Brasil, entre os paralelos 17°53'29" – 21°18'03" S e meridianos 39°41'18" – 41°52'45" W. Tem aproximadamente 46.000 km², com uma extensão máxima norte-sul de 374 km e uma largura de 130 a 150 km (FEITOZA et al., 2001). O ES corresponde a 0,5% do território brasileiro, sendo dividido em 78 municípios.

O território do ES é longitudinalmente entrecortado pela Serra do Mar, um sistema de montanhas com 1500 km de comprimento, com elevações que atingem até 2900 m acima do nível do mar no Pico da Bandeira, Serra do Caparaó. O estado tem clima tropical, com uma temperatura média anual de 22°C (9 – 24°C) e precipitação média anual de 1200 mm (900 – 1600 mm) (FICK & HIJMANS, 2017). Apresenta também extensas planícies ao longo da costa Atlântica, com vários ecossistemas determinados por suas características geográficas (FEITOZA et al., 2001).

O estado abrange a parte sul do Corredor Central da Mata Atlântica, havendo alto grau de endemismo e diversidade de espécies nessa região (TABARELLI et al., 2005).

Segundo estimativas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE para 2020, o estado do ES possuiria população de 4.064.062 habitantes (2,22% do

Brasil); desses, 3.413.804 (83,4%) viveriam na zona urbana e 650.248 (16,6%) na zona rural.

A agricultura é a terceira atividade econômica do Espírito Santo, responsável por 15% da receita e geração de 800 mil empregos. O principal produto é o café (60% da renda da agricultura) com 576 mil hectares plantados, gerando 360 mil postos de trabalho, sendo a atividade agrícola que mais emprega, e cuja produção se mantém em crescimento. A agricultura familiar está presente em 80% das propriedades rurais do estado, o manejo permanece manual e o contato homem/solo continua intensivo.

4.2. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Para o presente estudo foram considerados casos procedentes do ES, diagnosticados com Paracoccidioidomicose, atendidos no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM), hospital referência para doenças infecciosas no estado, durante período de 1978 a 2018.

Os critérios de inclusão estabelecidos para o estudo foram:

- Pacientes procedentes de localidades definidas e georreferenciadas no ES e que nasceram e sempre moraram na mesma localidade.
- Pacientes que moraram durante a 1ª e 2ª décadas de vida na localidade referenciada, mudando-se a seguir.

Os critérios de exclusão estabelecidos para o estudo foram:

- Pacientes procedentes de outros estados, embora diagnosticados e tratados no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) do HUCAM.
- Pacientes procedentes do ES, sem a informação exata da localidade a ser referenciada.

As informações analisadas nos prontuários foram: idade, gênero, raça, profissão e principal cultivo, caso lavrador. A avaliação da procedência baseou-se nas informações sobre as primeiras duas décadas de vida dos pacientes, valorizando conceito estabelecido no Consenso Brasileiro de Paracoccidioidomicose de que esse é o período mais provável de ocorrência da infecção por *Paracoccidioides* (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017; WANKE & LONDERO, 1994).

Os casos da doença foram confirmados, pelo achado de estruturas compatíveis com *Paracoccidioides* spp. em exame direto de secreções: raspado de lesão de pele ou mucosa, escarro, lavado broncoalveolar, punção aspirativa de linfonodo; biópsia com estudo histopatológico compatível com PCM e sorologia positiva para a doença, sendo necessário no mínimo um dos parâmetros positivos para selar o diagnóstico.

Todos os dados foram registrados em protocolo padronizado e inseridos no banco de dados para consolidar as informações.

Para reduzir o viés de amostragem dos pontos de ocorrência de *Paracoccidioides*, aplicamos o método de rarefação espacial nos dados de ocorrência usando a extensão SDM Toolbox v2.4 no ArcGis. Essa ferramenta remove os pontos de ocorrência espacialmente auto correlacionados reduzindo registros múltiplos para registros únicos numa distância especificada.

As informações contidas no banco de dados dos casos-índices da infecção humana foram cruzadas com informações geoclimáticas das respectivas localidades de origem dos pacientes, buscando a identificação das variáveis de maior impacto na ocorrência de *Paracoccidioides* no estado do Espírito.

4.3. VARIÁVEIS AMBIENTAIS

As variáveis ambientais usadas na modelagem incluíram 19 variáveis bioclimáticas, 12 variáveis físicas, e duas variáveis topográficas (altitude e declividade). As 19 variáveis bioclimáticas, derivadas de temperatura e precipitação, foram obtidas da base de dados WorldClim (versão 2.1, lançada em janeiro de 2020, <https://www.worldclim.org/>). As informações climáticas para criar essas variáveis foram geradas através da interpolação de dados climáticos obtidos de aproximadamente 50.000 estações ambientais distribuídas em todo o mundo no período de 1970 a 2000 (FICK & HIJMANS, 2017).

As 12 variáveis físicas derivadas de radiação solar mensal, velocidade do vento e pressão do vapor d'água (mínimo, máximo, média, e desvio padrão), foram obtidas da base de dados WorldClim (versão 2.1, lançada em janeiro de 2020, <https://www.worldclim.org/>).

As variáveis topográficas – altitude e declividade – foram obtidas do TOPODATA, *Banco de Dados Geomorfométricos do Brasil*, <http://www.dsr.inpe.br/topodata/>, do INPE, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais.

Informações do *Shuttle Radar Topography Mission of US Geological Survey* foram também usadas para gerar essas duas variáveis topográficas. Dados mais específicos para o estado do ES sobre tipo de solo foram adquiridas por meio do Sistema Integrado de Bases Georreferenciadas do Estado do Espírito Santo (GEOBASES), que apresenta um acervo de dados sobre recursos naturais regionais, desenvolvido pelo Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural (INCAPER), em colaboração com diversas instituições federais brasileiras. Esta base de uso comum é coordenada por uma Unidade Central, localizada na Secretaria Executiva do GEOBASES, e apoiada por Unidades Locais, sendo uma em cada instituição conveniada. O Centro de Ciências da Saúde da UFES é conveniado ao GEOBASES.

Todas as variáveis estavam no formato *raster* com resolução de 30 arcseg (arco-segundo), aproximadamente equivalente a 1 km.

Utilizamos para as análises espaciais deste estudo o Sistema de Informação Geográfica ArcGIS versão 10.8 (ESRI, Redlands, CA, USA) e o datum World Geodetic System (WGS84).

4.4. MODELAGEM DE DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES (SDM)

Os modelos de distribuição de espécies usam algoritmos de aprendizado de máquinas para estimar a distribuição de uma espécie usando seus dados de presença conhecidos e variáveis ambientais (PHILLIPS et al., 2006). O algoritmo de máxima entropia é uma abordagem de aprendizado de máquinas de uso geral, que usa uma

formulação matemática para modelagem de distribuição de espécies utilizando somente dados de presença (PHILLIPS et al., 2006; PHILLIPS, 2008). Este algoritmo é baseado no princípio de máxima entropia, um método usado para selecionar a melhor distribuição de probabilidade que se ajusta aos dados do estudo (PHILLIPS et al., 2006, PHILLIPS et al., 2004).

Utilizamos o MIAMaxent R package v1.2.0, rodando dentro do ambiente R versão 4.0.0, para os procedimentos de modelagem deste estudo. MIAMaxent é uma abordagem de modelagem que usa somente dados de presença, um método estatístico para modelagem de distribuição de espécies semelhante ao Maxent, mas que utiliza um método de regularização diferente. Os modelos mais simples tipicamente produzidos por este método, o *subset selection*, são melhor interpretados ecologicamente, tornando os modelos de distribuição mais embasados na teoria ecológica (MEROW et al., 2013).

Dividimos os dados de ocorrência nos grupos de treino para geração e de teste para avaliação do modelo. Porém, o modelo final foi processado usando todos os pontos de ocorrência e replicando 100 vezes, randomizando somente os pontos de pseudo-ausência.

4.5. AVALIAÇÃO DO MODELO

Para avaliação do modelo, foram utilizados dois tipos de divisão treino-teste — (1) validação-cruzada aleatória, que divide os dados randomicamente em 80% treino

e 20% teste, e (2) validação-cruzada espacialmente estratificada, com dados divididos conforme linhas de latitude e longitude que dividem locais de ocorrência em quatro partes com números iguais. Tanto localidades de ocorrência, quanto pseudo-ausências são direcionadas para cada uma das quatro partes, conforme a sua posição com relação as linhas de latitude e longitude. A validação-cruzada espacialmente estratificada é um método alternativo para lidar com autocorrelação espacial, que tende a inflar a performance na validação-cruzada aleatória (VALAVI et al., 2019).

Para compensar o erro de previsão “fora-da-amostra” na validação-cruzada aleatória o processo foi replicado 100 vezes. A validação-cruzada espacialmente estratificada foi executada usando o método *block*, disponível no ENMeval R package, que produz avaliações espacialmente independentes e fornece estimativa do modelo ideal de complexidade para a Modelagem de Distribuição de Espécies (MUSCARELLA et al., 2014).

Em seguida foi utilizada a análise da Curva Característica de Operação do Receptor (curva ROC) que é criada pela medida da sensibilidade (taxa de verdadeiros positivos) sobre a especificidade (taxa de falsos positivos) para todos os limites de probabilidade disponíveis (MANEL & WILLIAMS, 2001). A área sob a curva (AUC) pode ser interpretada como uma medida da habilidade do algoritmo de discriminar entre uma condição ambiental significativa ou uma análise randômica de pixels (PHILLIPS et al., 2006). Quanto mais próximo o valor da AUC for de 1,0, melhor a performance do modelo. Para esse estudo, nós usamos a interpretação de Hosmer e Lemeshow que considera valores de AUC de 0,5–0,6 (sem discriminação), 0,6–0,7

(discriminação), 0,7–0,8 (modelo aceitável), 0,8–0,9 (modelo excelente), 0,9–1,0 (modelo excepcional) (HOSMER & LEMESHOW, 2000). Para minimizar problemas com esse parâmetro, a análise do nosso estudo foi restrita a uma região bem estudada e calculamos a AUC a partir de várias replicações dos pontos de presença originais (LOBO & JIMÉNEZ-VALVERDE, 2008; PETERSON & PAPES, 2008).

A contribuição preditiva de cada variável para o modelo final foi obtida usando a fração da variação total explicada (HALVORSEN et al., 2015). Isto é representado pelo aumento na fração de desvio explicado quando uma dada variável é adicionada ao modelo.

4.6. ASPECTOS ÉTICOS

O estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em pesquisas envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, conforme parecer n. 3.908.025 de 10 de março de 2020 (ANEXO 1).

RESULTADOS

5. RESULTADOS

Foram analisados protocolos de 718 pacientes com PCM, atendidos no período de 40 anos (1978-2018) no Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias – HUCAM. Foram incluídos na pesquisa 211 pacientes (29,4%) com informações adequadas e excluídos 400 procedentes do ES com informações imprecisas e 107 pacientes procedentes de estados vizinhos, principalmente MG e BA. Dos 78 municípios do ES, 63 (80%) estavam representados na amostra.

Pacientes incluídos eram predominantemente do gênero masculino (91%) entre a 3ª e 6ª décadas de vida, lavradores (80%), apresentando, sobretudo, a forma crônica do adulto da PCM (88,6%) (Tabela 1).

Tabela 1 – Perfil epidemiológico e clínico dos 211 pacientes incluídos no estudo.

. Distribuição por gênero		Profissão	
Masculino	192 (91,0%)	Lavrador	170 (80,5%)
Feminino	19 (9,0%)	Do lar	13 (6,0%)
Idade		Estudante	12 (5,5%)
< 10	3 (1,4%)	Outros	16 (8,0%)
10-19	9 (4,3%)	Procedência	
20-29	11 (5,2%)	Nasceram e sempre moraram no mesmo local	76 (36,0%)
30-39	39 (18,5%)	Viveram 1ª e 2ª décadas na localidade referenciada	135 (64,0%)
40-49	53 (25,1%)	Forma clínica	
50-59	59 (27,9%)	Forma crônica do adulto (FCA)	187 (88,6%)
60-69	23 (10,9%)	Forma aguda/ subaguda (FAS)	24 (11,4%)
≥ 70	14 (6,7%)		

Fonte: Próprio Autor

No que se refere à localidade de origem, 76 (36%) nasceram e sempre moraram no local referenciado e 135 (64%) viveram a 1ª e 2ª décadas na localidade referenciada, mudando em seguida, muitas vezes para região urbana, com baixa exposição ao *Paracoccidioides*.

A partir dos pacientes incluídos, foram referenciados 179 pontos de ocorrência da PCM no Espírito Santo, mostrados na Figura 1.

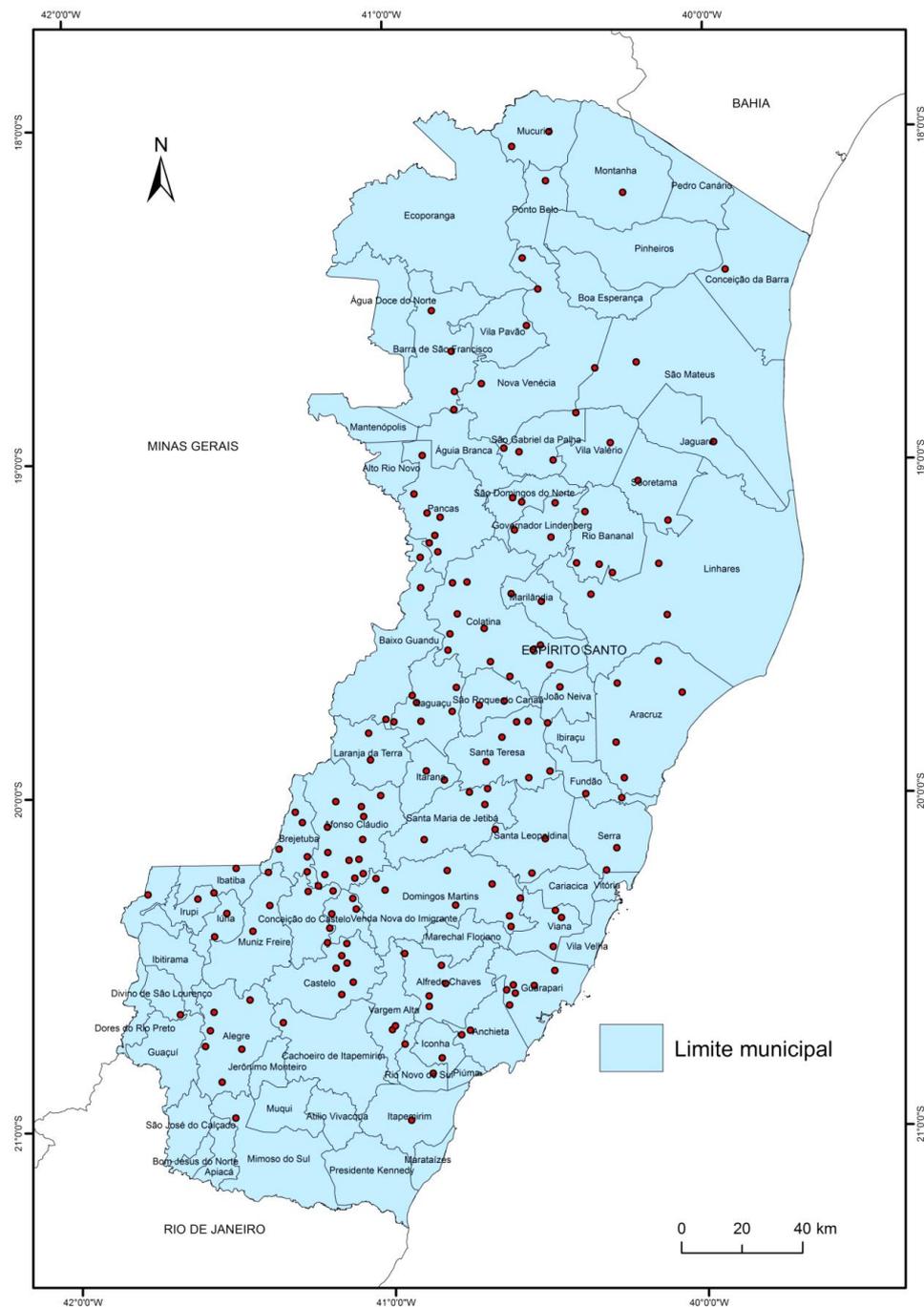


Figura 1 – Pontos de ocorrência dos 179 casos de Paracoccidioidomycose no estado do Espírito Santo, registrados no período de 1978 a 2018.

A partir dos pontos de ocorrência (presença), foi construído o modelo preditivo do nicho ecológico de *Paracoccidioides* spp. com utilização do MIAMaxent R package v1.2.0. rodando no R versão 4.0.0.

A validação com o AUC nos dados de teste teve uma média de 0,71, indicando boa qualidade dos dados e desempenho do teste, utilizando os critérios interpretativos de Hosmer e Lemeshow (2000).

Foram utilizadas mediana e amplitude para representação da validação-cruzada espacialmente estratificada porque elas são medidas mais apropriadas para lidar com somente quatro observações do método *block* de estratificação geográfica (Figura 2).

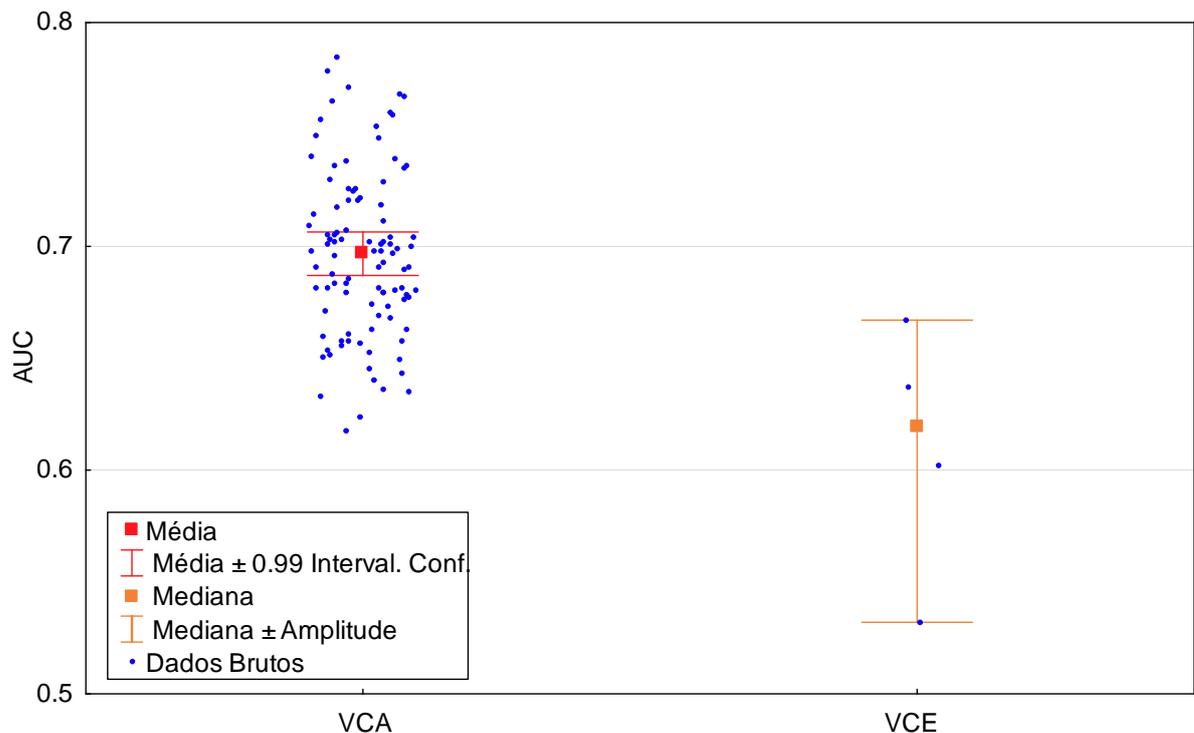


Figura 2 – Resultados de validação do modelo AUC, incluindo a validação-cruzada aleatória (VCA) e a validação-cruzada espacialmente estratificada (VCE).

A frequência dos pontos de presença observados mostra quão comumente *Paracoccidioides* ocorre no curso das variáveis ambientais que aparecem no modelo final, tornando possível reconhecer padrões na frequência de ocorrência observada (figura 3).

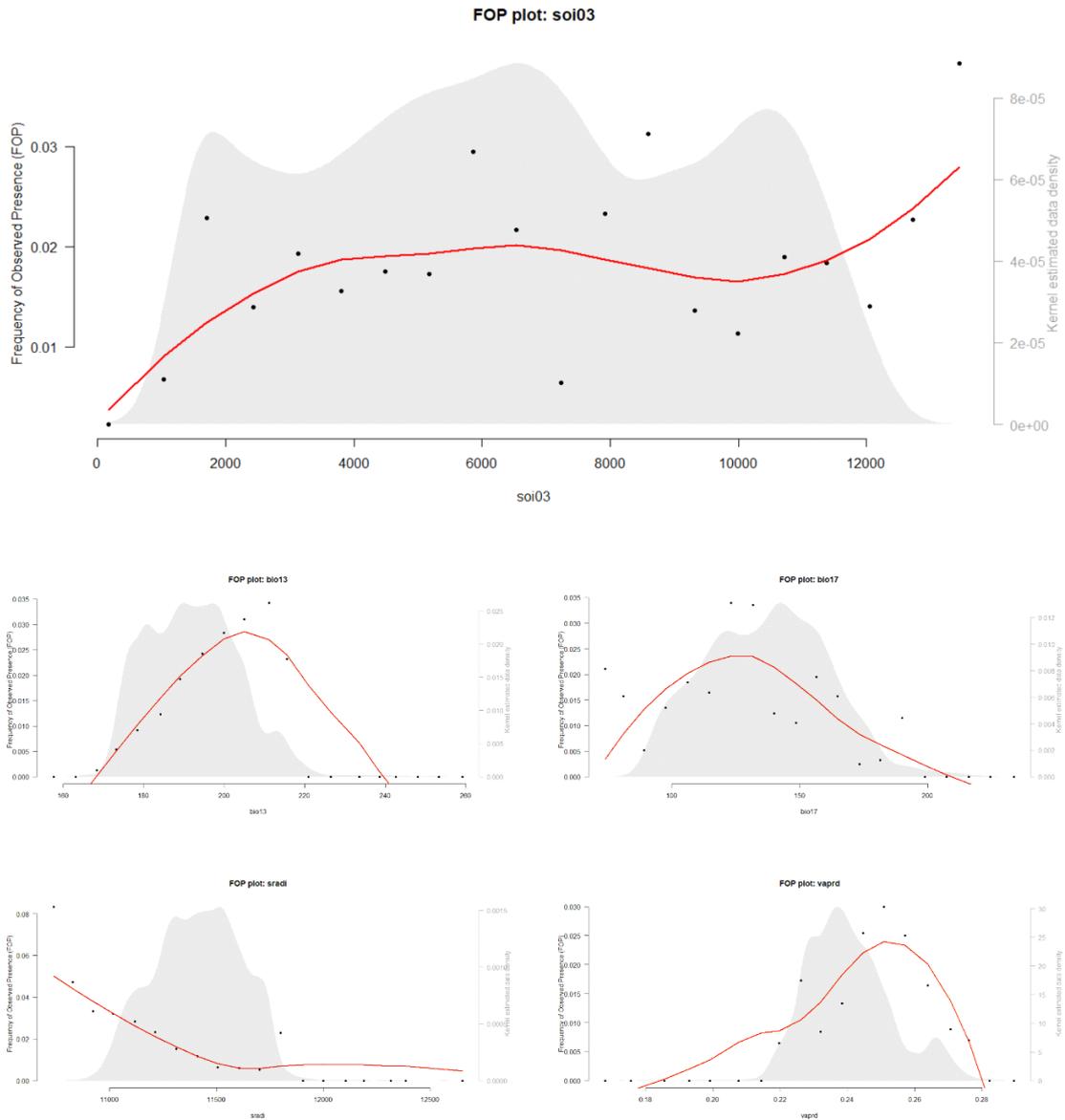


Figura 3 – Frequência da presença observada de *Paracoccidioides* representada pelos pontos pretos e a linha vermelha como uma regressão local mais suave através das variáveis ambientais significativas retidas nos modelos finais: Solo 03, Precipitação do mês mais úmido (Bio 13), Precipitação do trimestre mais seco (Bio 17), Radiação solar kJm - 2 dias - 1 (SRADI), Pressão de vapor de água kPa (VAPRD).

As variáveis ambientais com maior contribuição estão representadas também na figura 4. Das variáveis ambientais selecionadas, as que mais contribuíram para a construção do modelo preditivo de nicho ecológico de *Paracoccidioides* foram: 1) Precipitação no mês mais úmido (BIO 13) com 53%; 2) Precipitação na estação mais seca (BIO 17), 25%; 3) Radiação solar - valor mínimo dos 12 meses (SRADI) 11%; 4) Pressão do vapor d'água - desvio padrão dos 12 meses (VAPRD) 11%; 5) Tipo de solo (GEOBASES) – com contribuição de 6%.

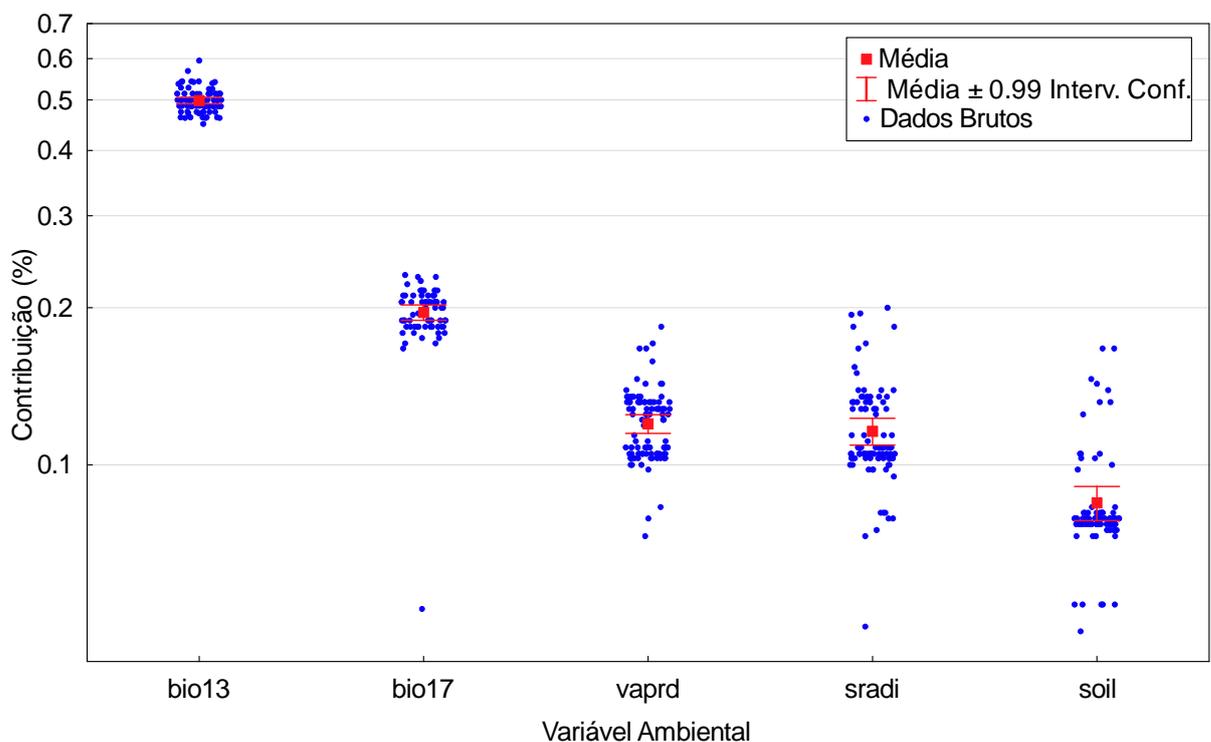


Figura 4 – Contribuição das principais variáveis ambientais utilizadas neste estudo: Solo 03, Precipitação do mês mais úmido (Bio 13), Precipitação do trimestre mais seco (Bio 17), Radiação solar kJm⁻² dias⁻¹ (SRADI), Pressão de vapor de água kPa (VAPRD).

O modelo final projetado no mapa abaixo indica os principais pontos de ocorrência de *Paracoccidioides* no Espírito Santo. Podemos observar nítida concentração de pontos em regiões serrana e noroeste do estado (figura 5). A região serrana é caracterizada por precipitação mais intensa na estação quente do ano e baixa precipitação nos meses mais frios. Intensidade dos pontos se acentua à medida em que se avança para o oeste do ES, em direção à divisa com Minas Gerais. Faixa leste apresenta menor ocorrência do fungo (figura 5).

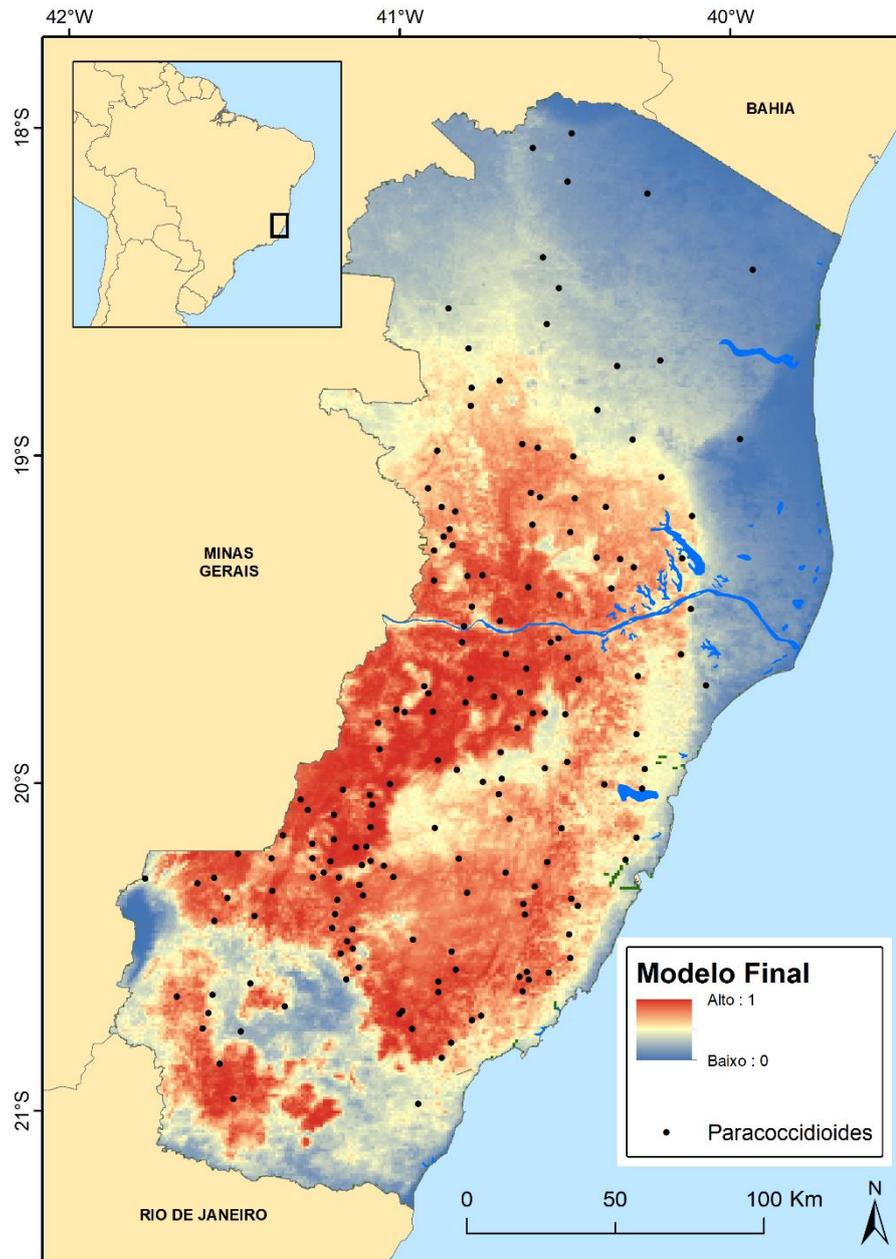


Figura 5 – Modelo de distribuição final para *Paracoccidioides* no estado do Espírito Santo, Sudeste do Brasil. Os pontos de ocorrência utilizados na modelagem também são mostrados no mapa.

Análise da variável tipo de solo mostra que a maior concentração de pontos de ocorrência foi registrada em regiões com latossolo amarelo, latossolo vermelho (argilosos), principalmente na bacia hidrográfica do rio Doce, iniciando-se ao norte e

alcançando concentração ainda mais intensa na calha sul do Rio Doce. Raros pontos de ocorrência foram verificados em regiões de neossolo flúvico e gleissolo melânico, presentes na planície litorânea e no norte do estado (figura 6), como também em parte da região sul correspondente às áreas quentes e secas na bacia do rio Itapemirim.

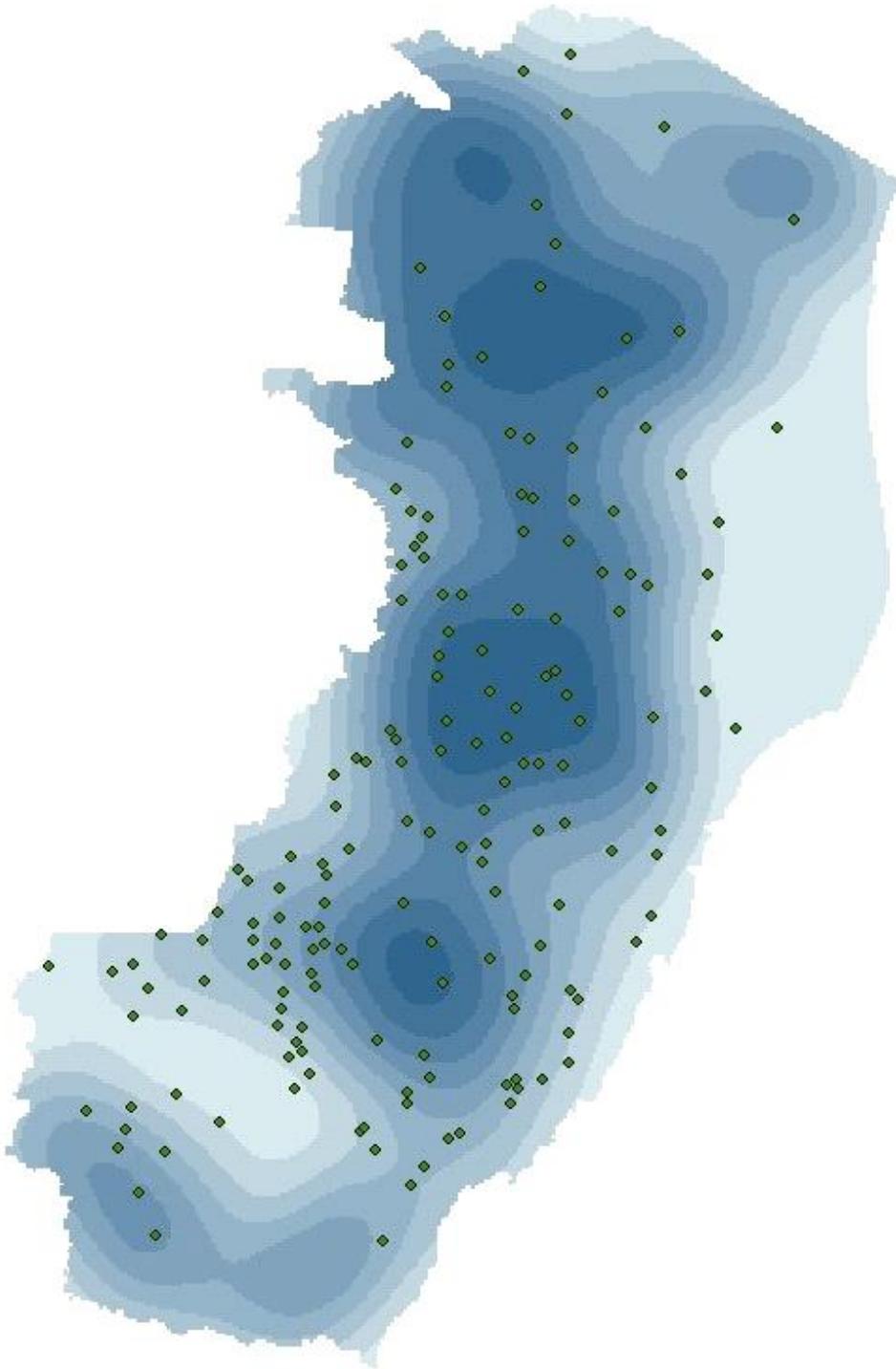


Figura 6 – Resultado da interpolação dos tipos de solo no estado do ES em relação a ocorrência de PCM: latossolo e outros.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A modelagem de nicho ecológico e distribuição preditiva de doenças, utilizando o algoritmo de máxima entropia Maxent e o MIAMaxent, tem sido utilizada com frequência para investigar como os fatores ambientais podem influenciar na ocorrência de doenças infecciosas (REED et al., 2008). Essa técnica tem se mostrado ainda mais útil em trabalhos nos quais somente marcadores de presença estão disponíveis, como é o caso deste estudo. No que se refere aos fungos dimórficos, já foram publicadas modelagens de Blastomicose Norte Americana (REED et al., 2008) e Coccidioidomicose Weaver et al., 2020), sendo este o primeiro estudo relativo à Paracoccidioidomicose.

Foram incluídos no estudo 211 (29,4%) de 718 pacientes, possibilitando referenciar 179 pontos de ocorrência no ES. O uso de amostras menores, mas que contenham menor erro de precisão geográfica, proporciona melhor desempenho da modelagem de nicho da espécie alvo (DALAPICOLLA, 2016). Obviamente, pacientes que nasceram e sempre moraram na mesma localidade, forneceram a informação mais precisa. Seguiram-se os que viveram as duas primeiras décadas no local referenciado, observando-se o conceito corrente na literatura de que seria esse o período da infecção por *Paracoccidioides*. (SHIKANAY-YASUDA et al., 2017; WANKE & LONDERO, 1994; MARTINEZ, 2007).

A amostra estudada tende a se concentrar nas regiões noroeste e serrana do estado (figuras 1 e 5), conforme anteriormente publicado (PEÇANHA PM, 2017), sendo predominantemente constituída por lavradores adultos, do gênero masculino, com diagnóstico entre os 30 e 60 anos de idade e portadores da forma crônica da

PCM, dentro do previsto na literatura (SHIKANAY-YASUDA et al., 2017; PEÇANHA et al., 2017; PANIAGO et al., 2003).

Neste estudo, utilizamos um protocolo de modelagem que está na ponta dos métodos atuais. O processo de modelagem do pacote MIAMaxent trata de várias deficiências conhecidas do SDM, tais como transformação variável e seleção de modelos (VOLLERING et al., 2019). Aplicamos as melhores práticas em nossa modelagem, incluindo a contabilização do viés de amostragem/autocorrelação espacial rarefeita da ocorrência da espécie, estabelecendo uma extensão de área de estudo adequada, calculando a média da AUC de várias réplicas para contabilizar o desempenho fora da amostra do modelo, e utilizando a estratificação espacialmente estratificada de validação cruzada (GUISAN, 2017; LOBO & JIMENEZ-VALVERDE, 2008; PETERSON & PAPES, 2008). Os dois tipos distintos de validações da AUC foram aplicados aos nossos modelos para comparar os extremos - em um extremo estava a validação cruzada aleatória mais amplamente utilizada, e no outro extremo estava a validação cruzada estratificada espacialmente. O primeiro é conhecido por inflar a AUC, e o segundo é conhecido por fornecer um valor mais confiável e realista da AUC. Mesmo os métodos relativamente rigorosos para validação de modelos, observamos uma mediana de 0,708, o que, segundo Hosmer e Lemeshow (2000), a classifica como um modelo aceitável.

As duas variáveis que mais contribuíram para o modelo foram a precipitação no mês mais úmido (53 %) e no trimestre mais seco (25%). A precipitação contribui para a retenção de água e, conseqüente umidade do solo, indispensáveis à proliferação do *Paracoccidioides* (TERÇARIOLI et al., 2007; RESTREPO et al., 2012). Admite-se que a maior concentração das chuvas nos três meses de verão favoreça a

reprodução e manutenção de *Paracoccidioides*, no solo, ao passo que a menor precipitação, associada à redução da temperatura e o solo mais seco no inverno, favoreceriam a liberação e dispersão aérea das formas infectantes do fungo (BARROZO et al., 2009; ARANTES et al., 2016).

No ES, estas condições climáticas aparecem de forma marcante nas regiões noroeste e serrana do estado, que sobressaem pela maior ocorrência de casos humanos da doença (figura 5). Uma condição comum a ambas as regiões é a atividade laboral desenvolvida pela população, caracterizada pela agricultura de subsistência, em que as famílias trabalham em pequenas propriedades, com manejo braçal e contato intensivo com o solo (PEÇANHA et al., 2017). Além da alternância de períodos úmidos e secos nessas regiões, chama-se atenção para a atividade agrícola predominante, o cultivo de café, cuja colheita não mecanizada exige contato intenso com o solo, justamente na estação seca de inverno quando a esporulação e dispersão do fungo seriam mais intensas.

O regime de chuvas também constitui fator determinante das condições de acidez e alcalinidade do solo, que influenciam na formação dos nichos naturais onde prolifera *Paracoccidioides*. Nesse sentido, o solo menos ácido na faixa oeste da região serrana também favoreceria a proliferação do fungo. Podemos observar, pela análise dos resultados (figura 5), que a faixa leste da região serrana mostrou-se menos propícia à ocorrência dos casos de PCM. Nessa faixa, as correntes de ar saturado de umidade vindas do oceano Atlântico propiciam a maior precipitação pluviométrica do território capixaba, com chuvas distribuídas em todas as estações do ano. O regime de chuvas intensas, sem definição das estações chuvosa e seca, promove a

acidificação solo e lixiviação de elementos minerais, o que tornaria o ambiente menos favorável à ocorrência de *Paracoccidioides* (figura 5).

Estudos experimentais e ecológicos mostraram que a umidade do solo favorece a reprodução de *Paracoccidioides* e solos úmidos se constituiriam em micronichos naturais onde o fungo poderia crescer mais intensamente (TERÇARIOLL et al., 2007; CALLE et al., 2001). Por outro lado, teores elevados de Alumínio trocável, associados à acidez elevada no solo, constituiriam fatores desfavoráveis à proliferação do fungo (TERÇARIOLLI et al., 2007; COLOMBO et al., 2011). Solos excessivamente úmidos, encharcados, não favorecem a ocorrência de PCM, por não possibilitarem a dispersão do agente causal (ARANTES et al., 2016).

O tipo de solo contribuiu com 6,0 % na construção do modelo. Os pontos de ocorrência de PCM na faixa oeste do estado se localizam em áreas de latossolo amarelo e vermelho, argilosos, presentes tanto nos terrenos da calha norte do Rio Doce, região noroeste do ES, quanto naqueles da calha sul, em direção à região serrana, onde também se encontra nitossolo vermelho e argissolo vermelho/amarelo (FEITOZA et al., 2010; CUNHA et al., 2016). Ambas as regiões apresentam relevo montanhoso, no entanto a região noroeste apresenta mais áreas planas, de menor altitude e temperaturas mais altas ao longo do ano, tornando-se menos propícia à ocorrência de *Paracoccidioides*. Já, a região serrana, ao sul, apresenta condições climáticas mais propícias, especialmente na faixa oeste onde a estação chuvosa e a seca são mais bem definidas.

O neossolo flúvico na planície litorânea (arenoso), mostra raros pontos de ocorrência, em contraponto à alta ocorrência nas localidades de solo predominantemente argilosos das regiões noroeste e serrana (figuras 3 e 5). Estudos

experimentais mostram que *Paracoccidioides* cresce em ambos os tipos de solo, mas solos argilosos retêm mais água e nutrientes o que favoreceria a proliferação do fungo (TERÇARIOLI et al., 2007), ao contrário dos solos arenosos do litoral.

Radiação Solar, (valor mínimo dos 12 meses), contribuiu com 11% no modelo, evidenciando a importância desta variável para a ocorrência do *Paracoccidioides* no ES. A modulação natural da radiação solar determina níveis de temperatura apropriados no solo, contribuindo para o desenvolvimento do fungo na natureza. Pesquisas mostram que variações limitadas de temperatura (17-24°C), associadas à alta precipitação na estação chuvosa com aumento da umidade, favorecem o desenvolvimento de *Paracoccidioides* (RESTREPO et al., 2001; COLOMBO et al., 2011).

No estado do Espírito Santo as regiões noroeste e serrana se caracterizam por apresentar relevo acidentado, intercalando montanhas e vales recebendo diferentes ângulos de incidência da radiação solar, que favoreceriam a ocorrência de nichos naturais do fungo. Por outro lado, na região norte do ES, onde haveria condições de solo propícias para ocorrência do fungo, o relevo quase plano vem acompanhado de baixa ocorrência de *Paracoccidioides* (figuras 5 e 6), talvez pela maior incidência da radiação solar, com temperaturas mais elevadas, inibindo a proliferação do fungo. Na literatura encontramos descrição de séries de casos na região da Serra da Mantiqueira, estado do Rio de Janeiro (RIOS-GONÇALVES et al., 1998), e em Minas Gerais (PEDROSO et al., 2012), com relevo semelhante à região Serrana do ES, bem como na região Andina da Colômbia, até 1500 m de altitude (RESTREPO et al., 2001; CALLE et al. 2001).

Foi possível demonstrar também que a radiação solar constituiu variável muito importante em modelagem de nicho ecológico de *Coccidioides* spp., favorecendo desenvolvimento do agente no solo (WEAVER et al., 2020). Segundo os autores, a habilidade de depositar melanina em sua parede celular protegeria o fungo de temperaturas extremas e radiação UV, concedendo-lhe vantagem sobre outros competidores.

Ambientes com alto índice de radiação solar, podem ser observados também no Nordeste brasileiro, onde a presença de *Coccidioides* spp. já foi registrada (WANKE et al, 1999). Por outro lado, o excesso de radiação solar e altas temperaturas contribuem para a baixa ocorrência de *Paracoccidioides* na região Nordeste.

Neste trabalho, a pressão do vapor d'água, um parâmetro que tem relação direta com umidade do ar, foi outra variável que contribuiu com 11% na modelagem com MiaMaxent. Barrozo e colaboradores (2010) demonstraram aumento na incidência de PCM aguda/subaguda relacionada à umidade absoluta do ar mais elevada na região de Botucatu-SP. *Paracoccidioides* spp. proliferam no solo e dispersam com o manejo da terra, sendo a umidade do ar fundamental à manutenção de propágulos/conídios viáveis, capazes de infectar o hospedeiro humano. Outros autores assinalam a importância das precipitações como determinantes da ocorrência do *Paracoccidioides* spp., (TERÇARIOLI et al., 2007; RESTREPO et al., 2001), havendo inclusive maior liberação de artroconídios com o aumento na umidade absoluta do ar (BARROZO et al., 2010).

A umidade do ar também constituiu variável importante em SDM usando MaxEnt para mapeamento da presença de *Cryptococcus neoformans* na Turquia (ERGIN et al, 2019), como também na Colômbia, em áreas com grande número de

casos de criptococose, na parte inferior dos Andes (MAK et al., 2015). Variações climáticas também já foram relacionadas a flutuações temporais na incidência da histoplasmoze disseminada (HANF et al., 2012). Em conjunto, essas publicações evidenciam a importância das variáveis ambientais na ocorrência das micoses sistêmicas endêmicas.

É importante destacar que esta é a primeira publicação associando a ocorrência de *Paracoccidioides* às variáveis radiação solar e pressão de vapor d'água. Salientamos, também, que embora destaquesmos a contribuição individual de cada variável, o resultado desta modelagem reflete o produto da interação de diversos fatores geográficos e climáticos, determinando a ocorrência efetiva de *Paracoccidioides*.

Outro mérito desta publicação é que nossos achados podem ainda ser extrapolados para os estados vizinhos de Minas Gerais e Rio de Janeiro, com regiões de clima e topografia semelhantes às do ES. A modelagem espacial direcionada à área das doenças infecciosas vem ganhando espaço e se apresentando como ferramenta útil tanto para pesquisadores da área, quanto para gestores de saúde, no sentido de contribuir para o planejamento, monitoramento e avaliação de programas de saúde pública.

Como limitações do estudo, assumimos que a falta de registro de casos humanos seria indicativa de não ocorrência do fungo no solo, premissa essa que pode não ser verdadeira. Além disso, a parcela de pacientes excluídos do trabalho por falta de informação exata da localidade de procedência pode ter reduzido o número de pontos de ocorrência do fungo. Tais fatos podem trazer limitações na interpretação

dos resultados, mesmo considerando a precisão da ferramenta utilizada na modelagem de nicho ecológico.

REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

ALBORNOZ, M.B. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from rural soil in Venezuela. **Sabouraudia**, v.9, n.3, p.248-253, 1971

ARANTES, T.D. **Detecção de *Paracoccidioides sp.* em amostras ambientais aerossóis** (dissertação). Botucatu: Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista; 2012

ARANTES, T.D; THEODORO, R.C; TEIXEIRA, M.M; BOSCO, S.M.G; BAGLAGLI, E. Environmental mapping of *Paracoccidioides* spp in Brazil reveals new clues into genetic diversity, biogeography and wild host association. **PLoS Neglected Tropical Disease**, v. 10, n.4:e0004606, 2016

BAGAGLI E et al. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) captured in an endemic area of paracoccidioidomycosis. The **American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 58, p. 505-512, 1998.

BAGAGLI, E; BOSCO, S.M.G; THEODORO, R.C; FRANCO, M. Phylogenetic and evolutionary aspects of *Paracoccidioides brasiliensis* reveal a long coexistence with animal host that explain several biological features of the pathogen. **Infection Genetics and Evolution**. Amsterdam: Elsevier B.V., v. 6, n. 5, p. 344-351, 2006.

BAGAGLI, E; THEODORO, D.C; BOSCO, S.M.E; MC EWEN, J.G. *Paracoccidioidis brasiliensis*: phylogenetic and ecological aspects. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4, p. 197-20, 2008.

BAGAGLI, E; MARQUES, S.A. Micologia médica molecular: impacto na epidemiologia e ecologia dos fungos. In: **Compêndio de Micologia Médica**, Ed. Guanabara Koogan Rio de Janeiro, 2ed., p.123:137, 2010.

BAGAGLI, E; MATUTE, D.R; GARCES, H.G et al. *Paracoccidioides brasiliensis* Isolated from Nine-Banded Armadillos (*Dasypus novemcinctus*) Reveal Population Structure and Admixture in the Amazon Basin. **Journal of Fungi**, v. 7, n.1, p. 1-11, 2021.

BARROZO, L.V; MENDES, R.P; MARQUES, S.A; BERNARD, G; SILVA, M.S; BAGAGLI E. Climate and acute/subacute paracoccidioidomycosis in a hiperendemic area in Brazil. **International Journal of Epidemiology**, n.38, v. 6, p 1642-1649, 2009

BARROZO, L.V; BERNARD, G; SILVA, M.E.S; BAGAGLI, E; MARQUES, S.A; MENDES R.P. First descriptions of a cluster of acute/subacute

paracoccidioidomycosis cases and its association with a climate anomaly. **PLoS Neglect Tropical Diseases**, n.4, v.3, p. e643, 2010.

BORELLI D. Some ecological aspects of paracoccidioidomycosis. In: **Proceedings Panamerican Symposium on Paracoccidioidomycosis**, Medellin, Colombia, p. 59-64, 1972.

CALLE, D; ROSERO, D.S; OROSCO, L.C; CAMARGO, D; CASTAÑEDA, E, RESTREPO, A. Paracoccidioidomycosis in Colombia: An ecological study. **Epidemiology and Infection**, v.126, p.309-315, 2001.

COLOMBO A.L., QUEIROZ-TELLES, F. Paracoccidioidomycosis. In: Mandell GD, Kauffmam CA Eds. **Atlas of Infectious Diseases**. 2nd ed. Philadelphia: Current Medicine; p. 53-70, 2007

COLOMBO, A.L.; TOBÓN A.; RESTREPO, A.; QUEIROZ-TELLES, F.; NUCCI, M. Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. **Medical Mycology**, v. 49, n.08, p. 785-798, 2011.

COSTA, E.O. DINIZ, L.D.S.M; FVA NETTO, C; ARRUDA, C; DAGLI, M.L.Z. Delayed hypersensitivity test with paracoccidioidin in captive Latin american wild mammals. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v.33, n.1, p.39-42, 1995.

COUTINHO, Z.F; SILVA, D.D.; LAZERA, M.; PETRI, V.; OLIVEIRA, R.M.D.; SABROZA, P.C.; WANKE, B. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n.5, p:1441-1454, 2002.

CUNHA, A.M.; FEITOZA, H.N.; FEITOZA, L.R. Atualização da legenda do mapa de reconhecimento de solos do Estado do Espírito Santo e implementação de interface no Geobases para uso dos dados em SIG. **Geografares**, n.22, vol II ISSN 2175-3709, 2016.

DALAPICOLLA, J. 2016. Tutorial de modelos de distribuição de espécies: guia teórico. **Laboratório de Mastozoologia e Biogeografia**. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória. Disponível em <http://blog.ufes.br/lamab/tutoriais>.. Acesso em 30 de junho de 2022.

ERGIN, C.; MUSTAFA, S.; DOGEN, A.; ILKIT, M. Prediction of species distribution of *Cryptococcus neoformans* throughout Turkey. **Mikrobiyoloji Bulteni**, v. 53, n.2, p. 233-238, 2019.

FARIAS, M.R.; WERNER, J.; MURO, M.; MARQUES, S.A et al. Canine paracoccidioidomycosis: case report of generalized lymphadenitis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47 n. 64, p. 64, 2005.

FEITOZA, L.R.; STOCKING, M.; RESENDE, M. Natural resources information systems for rural development: approaches for Espírito Santo state, Brazil. Vitória: **Incapar**, 2001.

FEITOZA, L.R.; CASTRO, L.L.F.; RESENDE, M.; et al. Mapa das Unidades Naturais do Estado do Espírito Santo. Vitória: Emcapa, 1999. 1 mapa, color. Escala 1:400 000. Mapa das Unidades Naturais do Estado do Espírito Santo – informações básicas. Vitória: **Incapar**, 2010, 54 p. (Série Documentos, n.182).

FERREIRA, M.S.; FREITAS, L.H.; LACAZ, C.S. et al. Isolation and characterization of *Paracoccidioides brasiliensis* strain from a dog food probably contaminated with soil in Uberlândia, Brasil. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v.282, p. 53-256, 1990.

FICK, S.E.; HIJMANS, R.J. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. **International Journal of Climatology**, v. 37, n.12, p.4302-4315, 2017.

FRANCO, M.; BAGAGLI, E.; SCAPOLIO, S.; LACAZ, C.S. A critical analysis of isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from soil. **Medical Mycology**, v. 38, n. 3, p.185-191, 2000.

GEZUELE, E. Aislamiento de *Paracoccidioides* sp de heces de pinguino de la Antártida. **Anais do Encontro Internacional sobre Paracoccidioidomycosis**. Caracas, Venezuela, 1989. Anais, p.B-2.

GUISAN, A.; THUILLER, W.; ZIMMERMANN, N.E. Habitat suitability and distribution models: with applications in R. Cambridge University Press, 2017.

HALVORSEN, R.; MAZZONI, S.; BRYN. A.; BAKKESTUEN, V. Opportunities for improved distribution modelling practice via a strict maximum likelihood interpretation of MaxEnt. **Ecography** (Cop) v. 38, n. 2, p.172–183, 2015.

HANF, M.; ADENIS, A.; CARME, B.; COUPPIE P & NACHER M. Disseminated Histoplasmosis seasonal incidence variations: A supplementary argument for recente infection? **J. AIDS Clinic Res**, v. 3, n. 8, p. 1000175, 2012.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. Applied Logistic Regression [Internet]. Second Edi. **Applied Logistic Regression**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2000.

Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/0471722146>, Acesso em 30 de junho de 2022.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; et al. Paracoccidiodomicose, In: Lacaz CS, Porto, Martins JEC et al, Eds. **Tratado de Micologia Médica**. São Paulo: Servier; 2002: 639-729.

LOBO, J.M.; JIMÉNEZ-VALVERDE, A.; REAL, R. AUC: a misleading measure of the performance of predictive distribution models. **Global ecology and Biogeography**, v. 17, n.2, p.145–151, 2008.

LUTZ, A. Uma mycose pseudococcidica localizada na boca e observada no Brazil. Contribuição ao conhecimento das hypho-blastomycoses americanas. **Bras-Méd**, 1908; 22:121-4.

MAK, S.; VÉLEZ, N.; CASTAÑEDA, E.; ESCANDÓN, P.; COLOMBIAN GROUP The Fungus among Us: *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* Ecological Modeling for Colombia. **Journal Fungi**. v.1, n3, p. 332–344, 2015

MANEL, S.; WILLIAMS, H.C.; ORMEROD, S.J. Evaluating presence–absence models in ecology: the need to account for prevalence. **Journal of applied Ecology**, v.38, n.5, p.921-931, 2001.

MARQUES, S.A. Paracoccidiodomycosis: Epidemiological, clinical and treatment updating. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.88, v.5, p.700-711, 2013.

MARTINEZ, R.; MOYA, M.J. The relationship between paracoccidiodomycosis and alcoholism. **Revista de Saúde Pública**, v. 26, n.1, p. 12-16, 1992.

MARTINEZ, R. New trends in paracoccidiodomycosis epidemiology. **Journal of fungi**, v.3, n.1, p.1, 2017.

MATUTE, D.R.; MCEWEN, J.G.; PUCCIA, R.; MONTES, B.A. Cryptic speciation and recombination in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis* as revealed by gene genealogics. **Molecular Biology and Evolution**, v.23, n.1, p. 65-73, 2006.

MEROW, C.; SMITH, M.J.; SILANDER, J.A. A practical guide to MaxEnt for modeling species' distributions: what it does, and why inputs and settings matter. **Ecography**, v.36, n.10, 2013.

MUSCARELLA, R.; GALANTE, P.J.; SOLEY-GUARDIA, M.; BORJA, R.A.; KASS, J.M.; URIARTE, M.; ANDERSON, R.P. ENMeval: An R package for conducting spatially

independent evaluations and estimating optimal model. **Methods in Ecology and Evolution**. 2014, v.5, n.11, p. 1198–205, 2014.

NAIFF, R.D.; FERREIRA, L.C.L.; BARRETT, T.V.; NAIFF, M.F.; ARIAS, J.R. Paracoccidioidomicose euzoótica em tatus (*Dasyus novemcinctus*) no estado do Pará. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 28, n.1, p.19-27, 1986.

NEGRONI P. Aislamiento del *Paracoccidioides brasiliensis* de una muestra de tierra del Chaco Argentino. **Boletín de la Academia Nacional de Medicina Buenos Aires**, v.45, p.513-516, 1967.

PANIAGO, A.M.M.; AGUIAR, J.I.A.; AGUIAR, E.S, et al. Paracoccidioidomicose: estudo clínico e epidemiológico de 422 casos observados no estado de Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n.4, p.455-459, 2003.

PEÇANHA, P.M.; FERREIRA, M.E.B.; PEÇANHA, M.A.M, et al. Paracoccidioidomycosis: Epidemiological and Clinical Aspects in 546 Cases Studied in the State of Espírito Santo, Brazil. **American journal of tropical medicine and hygiene**, v.97, n. 3, p. 836-844, 2017.

PEDROSA, P.N. **Paracoccidioidomicose, inquérito intradérmico com Paracoccidioidina em zona rural do estado do Rio de Janeiro** [Tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1976

PEDROSO, V.S.P.; LYON, A.C.; ARAÚJO, S.A.; VELOSO, J.M.R.; PEDROSO, E.R.P.; TEIXEIRA, A.L. Paracoccidioidomycosis case series with and without central nervous system involvement. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n.5, p.586-590, 2012.

PETERSON, A.T.; PAPES, M.S.J. Rethinking receiver operating characteristic analysis applications in ecological niche modeling. **Ecological modelling**, v.213, n.1, p.63-72, 2008.

PHILLIPS, S.J.; DUDÍK, M.; SCHAPIRE, R.E. A maximum entropy approach to species distribution modeling. In: **Proceedings of the 21st International conference on Machine learning**. 2004. p.83.

PHILLIPS, S.J.; ANDERSON, R.P.; SCHAPIRE, R.E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. **Ecological Modelling**, v.190, n. 3-4, 231-259, 2006.

PHILLIPS, S.J DM. Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. **Ecography**, v.31, n.2, p.161-175, 2008.

QUEIROZ-TELLES, F.; ESCUISSATO, D.L. Pulmonary Paracoccidioidomycosis. **Seminars in respiratory and critical care medicine**, v. 32, p. 764-774, 2011.

QUEIROZ-TELLES, F.; PEÇANHA-PIETROBOM, P.M.; ROSA JÚNIOR, M.; BAPTISTA, R.M.; PEÇANHA, P.M. New Insights on pulmonary paracoccidioidomycosis. **Seminars in respiratory and critical care medicine**, v. 41, n.1, p. 53-68, 2020.

REED, K.D.; MEECE, J.K.; ARCHER, J.R.; PETERSON, A.T. Ecologic niche modeling of *Blastomyces dermatitides* in Wisconsin. **PloS one**, v. 3, n. 4, p. e2034, 2008.

RESTREPO, A. Ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*. In: Franco, M.; Lacaz, C.S.; Del Negro, G.; Restrepo-Moreno, A. **Paracoccidioidomycosis**, Boca Raton, FL: CRC Press. 1994:121-130.

RESTREPO, A.; MCEWEN, J.G.; CASTAÑEDA, E. The habitat of *Paracoccidioides brasiliensis*: how far from solving the riddle? **Medical Mycology**, v. 39, n. 3, p. 233-241, 2001.

RESTREPO, A.; TOBON, A.M. *Paracoccidioides brasiliensis*. In Mandell, G.D.; Bennett, J.E.; Dolin, R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. 7th ed; Philadelphia: 2010: 3357-336.

RESTREPO, A.; GÓMES, B.L.; TOBÓN, A. Paracoccidioidomycosis: Latin America's own fungal disorder. **Current Fungal Infection Reports**, v. 6, n. 4, p. 303-31, 2012.

RESTREPO, A.; TOBON, A.M.; GONZÁLEZ-MARIN, A. Paracoccidioidomycosis In: Mandell, Douglas, and Bennett's **Principles and Practice of Infectious Diseases**, Ninth ed; Philadelphia: 2020: 3211-3222.

RICCI, G, MOTA, F.T.; WAKAMATSU, A.; SERAFIN, R.C.; BORRA, R.C.; FRANCO, M. Canine paracoccidioidomycosis. **Medical mycology**, v. 42, n.4, p. 379-83, 2004.

RIOS-GONÇALVES, A.J.; LONDERO, A.T.; TERRA, G.M.F.; et al. Paracoccidioidomycosis in children in the state of Rio de Janeiro (Brazil). Geographic distribution and the study of a "resevarea". **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 40, p. 11-13, 1998.

SANTOS, W.A.D.; SILVA, B.M.; PASSOS, E.D.; ZANDONADE, E.; FALQUETO, A. Association between smoking and paracoccidioidomycosis: a case-control study in the state of Espírito Santo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.19, n.1, p. 245-253, 2003.

SILVA-VERGARA, M.L.; MARTINEZ, A.; CHADU, A.; MADEIRA, M.; FREITAS-SILVA, G; MAFFEI LEITE, C.M. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* strain from the soil of a coffee plantation in Ibiá, State of Minas Gerais, Brazil. **Medical Mycology**, v. 36, n.1, p. 37-42, 1998.

SILVA-VERGARA, M.L.; MARTINEZ, R.; CAMARGO, Z.P.; MALTA, M.H; MAFFEI, C.M.; CHADU, J.B. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in an area where the fungus was recently isolated from soil. **Medical Mycology**, v.38, n. 3, p. 193-199, 2000.

SHIKANAI-YASUDA MA, MENDES RP, COLOMBO AL, QUEIROZ-TELLES, F.D.; KONO, A.S.G.; PANIAGO, A.M.; MARTINEZ, R. Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n.05, p. 715-740, 2017.

SHOME, S.K.; BATISTA, A.C. Occurrence of *Paracoccidioides brasiliensis* in the soil of Recife (Brazil). **Revista da Faculdade de Medicina da Universidade do Ceará**, v.3, p.90-94, 1963.

SUGUIURA, I.M.S.; OMO, MA. Compulsory notification of paracoccidiomycosis: A 14-year retrospective study of the disease in the state of Paraná, Brazil. **Mycosis**, v.65, n.3, p.354-361, 2022.

TABARELLI, M.; PINTO, L.P.; SILVA, J.M.C.; HIROTA, M.; BEDE, L. Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest. **Conservation Biology**, v. 19, n.3, p.695–700, 2005.

TEIXEIRA, M.M.; et al. Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 52, n.2, p. 273-83, 2009.

TEIXEIRA M M, THEODORO RC, OLIVEIRA FF, et al. *Paracoccidioides lutzii* sp. nov.; biological and clinical implications. *Med Mycol* 2014; 52(01):19-28

THEODORO, R.C.; et al. Molecular detection of *Paracoccidioides brasiliensis* in soil. **Medical Mycology**, v. 43, n. 8, p.:725-729, 2005.

TERÇARIOLI, G.R.; et al. Ecological study of *Paracoccidioides brasiliensis* in soil: growth ability, conidia production and molecular detection. **BMC Microbiology**. v. 7, n. 92, 2007.

TREJO-CHÁVEZ, A.; et al. Disseminated paracoccidioidomycosis in a Southern two-toed sloth (*Choloepus didactylus*). **Journal of Comparative Pathology**, v.144, n. 2-3, p. 231-234, 2011.

TURISSINI, D.A.; et al. Species boundaries in the human pathogen *Paracoccidioides*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 106, p. 9-25, 2017.

VALAVI, R.; ELITH, J.; LAHOZ-MONFORT, J.J.; GUILLERA-ARROITA, G. blockCV: An package for generating spatially or environmentally separated folds for k-fold cross-validation of species distribution models. **Methods in Ecology and Evolution**, v.10, n. 2, p 225-232, 2018.

VOLLERING, J.; HALVORSEN, R.; MAZZONI, S. The MIAMaxent R package: Variable transformation and model selection for species distribution models. **Ecology and Evolution**, v.9, n.21, p. 12051-12068, 2019.

VIEIRA, G.D.; ALVES, T.C.; LIMA, S.M.D.; CAMARGO, L.M.A.; SOUZA, C.M. Paracoccidioidomycosis in a western Brazilian Amazon State: Clinical-epidemiologic profile and spatial distribution of the disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p.:63-68, 2014.

WANKE, B.; LONDERO, A.T. Epidemiology and paracoccidioidomycosis infection. In: **Paracoccidioidomycosis**. CRC Press, p. 109-120, 2018.

WANKE, B.; LAZERA, M.; MONTEIRO, P.C.; LIMA, F.C.; LEAL, M.J.; FERREIRA FILHO, P.L.; et al. Investigation of an outbreak of endemic coccidioidomycosis in Brazil's northeastern state of Piauí with a review of the occurrence and distribution of *Coccidioides immitis* in three other Brazilian states. **Mycopathologia**, v.148, n. 2, p. 57-67, 1999.

WANKE, B. **Paracoccidioidomicose, Inquérito Intradermico com Paracoccidioidina em Zona urbana do Município do Rio de Janeiro** (Tese), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1976

WEAVER, E.; KOLIVRAS, K.N.; THOMAS, R.Q.; THOMAS, V.A.; ABBAS, K.M. Environmental factors affecting ecological niche of *Coccidioides* species and spatial dynamics of valley fever in the United States. **Spatial and Spatio-Temporal Epidemiology**, v.32,100317, 2020.

ANEXO 1

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: FATORES GEOGRÁFICOS E CLIMÁTICOS DETERMINANTES DA OCORRÊNCIA DE Paracoccidioides sp NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Pesquisador: Paulo Mendes Pecanha

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 13787019.4.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.908.025

Apresentação do Projeto:

Pesquisador responsável: Paulo Mendes Pecanha

Instituição: CCS/UFES

Finalidade acadêmica: Doutorado

Curso: PPG Doenças Infecciosas

JUSTIFICATIVA: O agente etiológico da Paracoccidioidomicose (PCM) é o Paracoccidioides sp, relatado pela primeira vez em 1908 por Adolfo Lutz, que o reconheceu como causador de uma nova doença fúngica. O nicho ecológico do Paracoccidioides sp ainda não está determinado no entanto existem evidências de que seu habitat seja o solo, proliferando em locais úmidos e ricos em proteínas, onde variações de temperatura sejam mínimas. Nesses locais o fungo cresce em sua fase micelial produzindo conídios que, sob a forma de aerossol, são inalados, alcançando os alvéolos pulmonares. Trabalhos mais recentes demonstraram que o Paracoccidioides sp tem bom crescimento tanto em solos com textura argilosa ou arenosa, em condições de alta umidade e pouco crescimento em condições de baixa umidade. Nesses estudos foi também observado que o fungo é incapaz de crescer em alguns solos com elevados teores de alumínio trocável (H+Al-), encontrados em áreas de baixo endemismo. Considerando a dificuldade de se demonstrar a presença do agente etiológico na natureza, será utilizada neste trabalho a ferramenta de geoprocessamento para modelagem do nicho ecológico do fungo. Para tanto, as informações

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES **Município:** VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 3.908.025

contidas no banco de dados dos casos-índices da infecção humana serão cruzadas com informações geoclimáticas das respectivas localidades de origem dos pacientes.

OBJETIVO PRINCIPAL: Definir as variáveis geoclimáticas encontradas nas localidades de ocorrência da infecção pelo *Paracoccidioides sp.*, a partir de casos humanos.

LOCAL DO ESTUDO: Para o presente estudo, serão considerados casos procedentes do ES, diagnosticados com Paracoccidioidomicose, atendidos no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM), hospital referência para doenças infecciosas no estado do ES, durante período de 1978 a 2018.

INTERVENÇÃO/PROCEDIMENTOS: As informações analisadas nos prontuários são: idade, gênero, raça, profissão e principal cultivo, caso lavrador.

BENEFÍCIOS: Desdobramento de natureza prática será a definição das áreas onde os profissionais de saúde deverão estar mais preparados para o diagnóstico precoce da doença e tratamento adequado. É desconfortável constatar que, após mais de cem anos da identificação do fungo e da doença, pacientes ainda permaneçam meses ou até anos circulando por Serviços de Saúde sem diagnóstico da PCM.

Objetivo da Pesquisa:

Definir as variáveis geoclimáticas encontradas nas localidades de ocorrência da infecção pelo *Paracoccidioides sp.*, a partir de casos humanos.

- Identificar locais de provável ocorrência da infecção humana pelo *Paracoccidioides sp.* no estado do Espírito Santo.
- Traçar mapas da provável ocorrência de nichos naturais do *Paracoccidioides sp.* no Espírito Santo.
- Identificar as variáveis que mais contribuíram para a ocorrência dos nichos naturais do *Paracoccidioides sp.* no território estadual.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o pesquisador, os riscos e benefícios do projeto são:

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES **Município:** VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 3.908.025

-RISCOS: Foi incluída a informação de que o projeto apresenta risco pequeno, pois será conduzido somente o acesso a dados secundários. Além disso, o pesquisador inclui um termo de sigilo e confidencialidade se comprometendo em manter sigilo absoluto dos dados.

-BENEFÍCIOS: Desdobramento de natureza prática será a definição das áreas onde os profissionais de saúde deverão estar mais preparados para o diagnóstico precoce da doença e tratamento adequado. É desconfortável constatar que, após mais de cem anos da identificação do fungo e da doença, pacientes ainda permaneçam meses ou até anos circulando por Serviços de Saúde sem diagnóstico da PCM.

De acordo com a Res. CNS nº466/12, "Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados."

Desta forma, os riscos e benefícios, conforme descritos pelo pesquisador, atendem as exigências da Resolução CNS nº 466/12.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de pesquisa potencialmente relevante, com benefícios previstos prevalecendo sobre os riscos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

No projeto constam os seguintes documentos:

- Folha de rosto: apresentada e adequada
- Projeto detalhado: apresentado e adequado
- TCLE: dispensado
- Termo de Assentimento: dispensado
- Termo de Sigilo e Confidencialidade: apresentado
- Termo de anuência da instituição onde a pesquisa será realizada: apresentado
- Cronograma: apresentado e adequado
- Orçamento: apresentado e adequado

Os termos de apresentação obrigatória estão em conformidade com a Resolução CNS 466/12.

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES **Município:** VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 3.908.025

Recomendações:

Antes de submeter ou ressubmeter seu projeto de pesquisa para o CEP verifique as recomendações abaixo:

Alguns projetos encaminhados ao CEP têm apresentado problemas que tem dificultado a apreciação dos mesmos, atrasando a emissão do parecer e sobrecarregando o colegiado com o grande número de projetos com pendências. Desta forma, o CEP, vem por meio desse encaminhar algumas recomendações, baseadas na RESOLUÇÃO CNS Nº 466, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012 a serem observadas para agilizar a avaliação dos projetos.

1. De acordo com a referida resolução, XI.2 "Cabe ao pesquisador: a) apresentar o protocolo devidamente instruído ao CEP ou à CONEP, aguardando a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa", ou seja, **NENHUMA ETAPA DA PESQUISA QUE ENVOLVA QUALQUER CONTATO COM OS PARTICIPANTES OU SEUS DADOS PODE SER INICIADA ANTES DA APROVAÇÃO DO CEP.**
2. A res. CNS 466/12 dispõe: "V – DOS RISCOS E BENEFÍCIOS; Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados", portanto o pesquisador deverá prever quais situações poderão atingir física ou mentalmente um sujeito. Questionários, por exemplo, podem demandar tempo, causar constrangimento, fazer a pessoa a reviver experiências que podem causar sofrimento psíquico, causar ansiedade, expor informações de um grupo ou comunidade específica, etc. Assim o pesquisador deverá, em todo tipo de projeto, relatar os possíveis riscos mesmo que mínimos, e também as providências e cautelas a serem empregadas para evitar e/ou reduzir os riscos citados.
3. O cronograma deve prever o tempo para os trâmites no CEP. Deve-se considerar a possibilidade do projeto não ser aprovado na primeira avaliação e possuir pendências, além do calendário de reuniões. Dessa forma, o projeto depois de adaptado terá que ser novamente avaliado. Isso pode acarretar em atrasos. Assim, nunca deixe para submeter o projeto, contanto com a aprovação na primeira avaliação.
4. Cumprir com rigor as exigências da Res. CNS 466/12, IV, que trata do Consentimento Livre e Esclarecido. Foi disponibilizado um modelo de TCLE pelo CEP – CCS/UFES a fim de auxiliar na elaboração do referido documento.
5. Verificar se o projeto está sendo vinculando ao CCS, pois caso contrário o projeto pode ser encaminhado para outro CEP/UFES.
6. A Folha de Rosto que deverá ser digitalizada e anexada ao protocolo será gerada pela

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES **Município:** VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 3.908.025

plataforma. Não usar o modelo disponível no site do CONEP.

7. Caso tenha alguma dificuldade em utilizar a Plataforma Brasil (como inclusão de anexo, etc), sugerimos mudar de navegador.

8. Informar e comprovar a existência de Biorrepositório ou Biobanco. A não comprovação inviabiliza a aprovação do projeto.

9. Caso o acesso aos participantes ocorra em local diferente da instituição proponente, uma carta de anuência assinada pelo responsável por este local precisa ser apresentada — por exemplo, hospital, unidade de saúde, escola, asilo, creche, etc.

10. Caso no projeto conste o uso de dados secundários, como prontuários médicos ou outros bancos de dados do tipo, uma carta de anuência assinada pelo responsável pelos dados precisa ser apresentada. Neste caso, ainda é obrigatório a apresentação de um termo de sigilo, privacidade e confidencialidade assinado pelo pesquisador responsável pelo projeto proposto.

11. O orçamento detalhado precisa ser apresentado, independentemente se o projeto caracteriza-se como "financiamento próprio" ou não.

ALGUNS DOCUMENTOS IMPORTANTES

- Resolução CNS n° 466/12 — diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>

- Resolução CNS n° 441/11 — armazenamento e utilização de material biológico humano com finalidade de pesquisa (Biorrepositório ou Biobanco): <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2011/Reso441.pdf>

- Modelo para elaboração do TCLE preparado pelo CEP/CCS/UFES: http://ccs.ufes.br/sites/ccs.ufes.br/files/Roteiro%20para%20elaborac%CC%A7a%CC%83o%20do%20TCLE_0.pdf

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram adequadas e o projeto está de acordo com as exigências do sistema CEP/CONEP e Resolução do CNS 466 de 2012.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES

Município: VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 3.908.025

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1339850.pdf	21/02/2020 12:27:16		Aceito
Outros	SigiloeConfidencialidade.pdf	18/12/2019 08:48:42	Paulo Mendes Pecanha	Aceito
Outros	AutorizaçãodoSetordeProntuarios.pdf	18/12/2019 08:47:37	Paulo Mendes Pecanha	Aceito
Outros	CartaResposta.pdf	18/12/2019 08:45:56	Paulo Mendes Pecanha	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_PCM.docx	26/04/2019 22:46:04	Paulo Mendes Pecanha	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto.pdf	26/04/2019 22:43:47	Paulo Mendes Pecanha	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VITÓRIA, 10 de Março de 2020

Assinado por:
KARLA DE MELO BATISTA
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES Município: VITÓRIA

Teléfono: (71) 3335-7344

E-mail: ccs@ufes.br