



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VERIDIANA LENARTOVICZ BOEIRA

Aspectos celulares e moleculares de parasitos intestinais com foco em  
*Ascaris* sp e *Urbanorum* spp, em aldeia indígena Guarani do Paraná, Sul  
do Brasil

MARINGÁ  
2022

VERIDIANA LENARTOVICZ BOEIRA

Aspectos celulares e moleculares de parasitos intestinais com foco em *Ascaris* sp e *Urbanorum* spp, em aldeia indígena Guarani do Paraná, Sul do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Área de concentração – Biologia Celular e Molecular) da Universidade Estadual de Maringá, para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Max Jean de Ornelas Toledo

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Cristiane Maria Colli

MARINGÁ  
2022

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

- L563a      Lenartovicz-Boeira, Veridiana  
Aspectos celulares e moleculares de parasitos intestinais com foco em *Ascaris* sp e *Urbanorum* spp, em aldeia indígena Guarani do Paraná, Sul do Brasil / Veridiana Lenartovicz-Boeira. -- Maringá, PR, 2023.  
111 f.: il. color., figs., tabs., maps.
- Orientador: Prof. Dr. Max Jean de Ornelas Toledo.  
Coorientadora: Profa. Dra. Cristiane Maria Colli.  
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular), 2023.
1. Biologia molecular. 2. *Ascaris* sp. 3. *Urbanorum* spp. 4. Microscopia eletrônica de varredura. 5. Populações indígenas. I. Toledo, Max Jean de Ornelas, orient. II. Colli, Cristiane Maria, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Celular). IV. Título.

CDD 23.ed. 571.6

VERIDIANA LENARTOVICZ BOEIRA

Aspectos celulares e moleculares de parasitos intestinais com foco em *Ascaris* sp e *Urbanorum* spp, em aldeia indígena Guarani do Paraná, Sul do Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Área de concentração – Biologia Celular e Molecular) da Universidade Estadual de Maringá, para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 25/11/2022

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Max Jean de Ornelas Toledo  
Universidade Estadual de Maringá

---

Prof. Dr. Cristiano Lara Massara  
Fundação Oswaldo Cruz – Instituto René Rachou

---

Prof. Dr. Marco Aurelio Schüler de Oliveira  
Universidade Estadual de Maringá

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Amanda Regina Nichi de Sá  
Universidade Estadual de Maringá

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Maria Colli  
Universidade Estadual de Maringá

## BIOGRAFIA

**Veridiana Lenartovicz Boeira** nasceu em 10 de outubro de 1977, em Apucarana, Paraná, filha de José Canteri Lenartovicz e Julia Ercilia Pires Lenartovicz. Possui graduação em Farmácia com habilitação em Análises Clínicas pela Universidade Estadual de Maringá - UEM (2000) e mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PBC), área de concentração Biologia Celular e Molecular da UEM (2002) sob orientação da Dr<sup>a</sup> Rosane Marina Peralta. Iniciou a carreira docente na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - Campus Cascavel, em julho de 2002, onde ingressou como docente efetiva da disciplina de Parasitologia Clínica, no curso de Farmácia. Em 2008 obteve o título de especialista em Ativador de Processos de Mudança na Educação Superior de Profissionais de Saúde pela Escola Nacional de Saúde Pública – ENSP. Foi docente de ensino superior no curso de especialização em Análises Clínicas da Unioeste (2005-2008), coordenadora do curso de Farmácia da Unioeste (2006), diretora de Apoio Pedagógico da Pró-Reitoria de Graduação da Unioeste (2007-2011) e Pró-Reitora de Graduação (2008) e de 2010 até o presente, docente e orientadora no curso de residência em Farmácia – Análises Clínicas. Além das aulas de graduação e pós-graduação, realizou durante a caminhada acadêmica orientações, desenvolvimento de projetos de extensão e pesquisa, participação em grupo de pesquisa com desenvolvimento da linha Diagnóstico e controle de doenças infecciosas e parasitárias, membro do Núcleo Docente Estruturante do Curso de Farmácia, tutoria em residência farmacêutica e bancas de avaliação e concursos. Iniciou o curso de doutorado em 2018 pelo mesmo programa de pós-graduação que cursou o mestrado, PBC desenvolvendo o projeto intitulado Epidemiologia molecular de parasitoses intestinais em aldeia indígena Guarani no Paraná, Sul do Brasil, sob orientação do Prof. Dr. Max Jean de Ornelas Toledo e co-orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristiane Maria Colli. Além das atividades de ensino, também atua como plantonista responsável técnica no Laboratório de Parasitologia do Hospital Universitário do Oeste do Paraná.

*Dedico este trabalho aos meus pais José (in memoriam) e Julia que sempre me incentivaram a buscar meus objetivos com integridade e fé. Ao meu esposo, Orli e aos meus filhos Guilherme e Marília que me fazem ter orgulho de minhas escolhas e do meu caminhar como esposa e mãe.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela graça da vida e por me dar o privilégio de concluir mais uma etapa da minha caminhada acadêmica, principalmente após períodos tão difíceis em meio à pandemia do SARS-CoV-2.

Agradeço aos meus pais, que me oportunizaram crescer em um lar de amor e harmonia, incentivando meus avanços acadêmicos, aos meus irmãos amigos que me fazem gargalhar e tantas vezes ouviram meus desabafos e não me deixaram esmoecer, principalmente ao Tiago, “Toddyinho”, que me recebeu em sua casa durante esses anos de doutorado.

Agradecimentos ao meu esposo Orli que foi minha base e meu porto seguro em todos esses anos, que entendeu minha falta e minhas ansiedades, que soube o momento certo de dizer vai e o de dizer pare. Aos meus filhos Guilherme e Marília, que estiveram comigo em tantas idas e vindas à Maringá. Eu peço desculpas pelos momentos em que não estive totalmente dedicada a vocês... sempre me enchem de orgulho ao demonstrar todo o seu apoio. Amo vocês três demais e agradeço eternamente.

A todos os meus familiares que estão sempre torcendo por mim, colocando a mim e a minha família em suas orações.

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) pela estrutura fornecida para o desenvolvimento da minha pesquisa e formação acadêmica ao longo da graduação e pós-graduação. Agradeço à Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), em especial ao Diretor do Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Dr. Ralpo Rinaldo dos Reis, que entendeu a necessidade de minhas ausências, reposições e substituições, sem os quais não seria possível a realização deste projeto de vida, devido ao fato de não ter o afastamento das minhas atividades docentes. Agradeço também PROEXT/MEC e CNPq pelo apoio financeiro para execução do trabalho.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Max Jean de Ornelas Toledo, pela parceria desde o meu concurso para docente, pela compreensão e pela amizade. Pelo incentivo e por comprar a minha ideia de pesquisa com populações indígenas, mesmo não sendo mais sua principal linha de pesquisa, mas pelas quais demonstrou sempre grande interesse. Grata também pelo grande exemplo de responsabilidade e cuidados para com o ensino e a pesquisa.

Agradecimento à Dra. Cristiane Maria Colli, minha co-orientadora, que sempre soube ser acolhedora, compreensiva e dedicada abrindo mão de seu tempo sempre que foi preciso, que soube como dar os puxões de orelha de forma gentil direcionando os caminhos e por quem tenho admiração, como profissional e amiga.

Aos professores do Laboratório de Análises Clínicas, Pesquisa e Extensão da UNIOESTE – LACEPE, em especial Dr. Rinaldo Ferreira Gandra que me cedeu estrutura e equipamentos para realizar as pesquisas moleculares e Dr. Alex Sandro Jorge por compartilhar as ansiedades e os sucessos no caminho do doutorado e a professora Suzana Bender, minha colaboradora na melhor essência da palavra, pelo incentivo, ajuda e apoio.

Aos meus alunos e orientandos do curso de Farmácia e também do curso de Residência em Análises Clínicas da UNIOESTE, por entenderem minhas trocas de aula, atividades modulares, substituições nesses anos de doutorado e por me mostrarem mais uma vez que meu caminho na docência vale a pena.

Às queridas Ana Paula de Abreu e Renata Coltro Bezagio pela acolhida no laboratório da Parasitologia da UEM, por todas as partilhas científicas na biologia molecular e pelos gratificantes e descontraídos momentos de conversa, pelas palavras de apoio, enfim pelo carinho e atenção que me receberam. Aos demais colegas do Laboratório de Parasitologia da UEM, em especial a todos do Grupo de Pesquisa em Biologia e Epidemiologia Molecular de *Trypanosoma cruzi* pelas ajudas, sugestões, conversas e conselhos e por, mesmo não estarmos juntos no dia-a-dia do laboratório, me apoiaram e compartilharam experiências.

À Dra. Danielle Lazarin Bidóia, pela disponibilidade e empenho nas análises do material por microscopia eletrônica.

À atenciosa secretária do PBC Erica Nagasava por, mesmo que a distância, me atender prontamente, me direcionar e auxiliar em todos os anos de doutorado.

Às minhas amigas e amigos, que viveram comigo os altos e baixos desse período de pós-graduação, que foi desafiador e exigente, mas que mostrou que o esteio está ali, com bom ou mal humor, com risos ou lágrimas.

À toda a comunidade Guarani da aldeia de Santa Rosa do Ocoy pelo interesse e participação neste trabalho.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a finalização deste trabalho, meu muito obrigada!

## Resumo Geral

Doenças parasitárias acometem populações de baixa renda, afetando mais de um bilhão de pessoas no mundo e são consideradas negligenciadas, por não despertarem a atenção de grandes indústrias farmacêuticas e nem de investimentos governamentais em pesquisa. No Brasil, a prevalência geral das enteroparasitoses é desconhecida, uma vez que essas doenças no país não são de notificação compulsória. Estima-se então, uma prevalência de 2 a 36% e que pode chegar a 70% nos indivíduos em idade escolar, o que revela um importante cenário de preocupação na saúde pública nacional. A associação das parasitoses intestinais à pobreza generalizada mostra-se um problema social relevante. Essas doenças estão amplamente disseminadas entre os povos indígenas brasileiros, em função das precárias condições socioeconômico-culturais a que estão expostos e mesmo com o estabelecimento de ações higiênico-sanitárias, muitas vezes, é difícil controlar as reinfecções. A redução da morbi-mortalidade devida aos enteroparasitos nesta população ainda continua sendo um desafio para as autoridades sanitárias. Buscou-se avaliar a prevalência de parasitoses intestinais em população escolar indígena Guarani, sendo 87,6% das amostras fecais coletadas positivas. Com isso, atentou-se para a presença de infecção por *Ascaris lumbricoides* nos escolares e a criação de suínos em algumas casas, surgindo o interesse em direcionar pesquisas sobre a epidemiologia molecular desse parasito na aldeia tendo como alvo o fragmento *ITS1* de *Ascaris* sp. *A. lumbricoides* é o parasito mais prevalente em regiões endêmicas para geohelmintoses apresentando uma ampla distribuição geográfica. A alta prevalência de helmintíases está intimamente relacionada às más condições de saneamento básico e práticas de higiene precárias, condições estas diretamente associadas à pobreza, sendo a parcela da população mais acometida por essas infecções, crianças em idade escolar. Uma das espécies de parasito animal mais reportado em suínos é o helminto *Ascaris suum*. No Brasil, estudos avaliando

a ascaridíase suína demonstraram que os maiores percentuais de positividade para a infecção foram encontrados, principalmente, nos sistemas de criação extensivo, de caráter familiar, com uma variação de 2,3 a 22% de positividade para *Ascaris*. As espécies *A. lumbricoides* e *A. suum* já foram consideradas crípticas por possuírem grande semelhança biológica e morfológica. O real cenário da ascaridíase humana e suína, em regiões endêmicas e não-endêmicas, permanece uma incógnita e uma pergunta difícil de ser respondida pelos métodos coproparasitológicos convencionais. Contudo, análises genéticas utilizando diferentes marcadores moleculares têm sido propostas para avaliar o potencial zoonótico de *A. suum*, casos de infecção cruzada e híbridos, e a real epidemiologia da ascaridíase humana e suína, bem como as suas relações evolutivas. Amostras de fezes de escolares, de suínos e de solo foram coletadas com objetivo de avaliar a epidemiologia molecular pelo fragmento *ITS1* de *Ascaris*, em aldeia indígena Guarani no Sul do Brasil. A amplificação de *ITS1* por PCR mostrou a presença de banda de 398 pb característica da espécie *A. lumbricoides* e da banda de 176 pb característica da espécie *A. suum* nas amostras de humanos e nas amostras de suínos, indicando infecção cruzada entre as duas espécies hospedeiras da aldeia pesquisada. As amostras de solo avaliadas apresentaram as duas bandas tanto individual como simultaneamente, sugerindo a contaminação do solo por fezes humanas e suínas, constituindo em uma fonte de infecção para ambos os hospedeiros. A presença de *Urbanorum* spp também foi verificada em 5,3% (4/75) dos escolares da aldeia. As manifestações clínicas e a epidemiologia de parasitos intestinais são bastante conhecidas, entretanto, pouco se sabe sobre o *Urbanorum* spp., um parasito do intestino humano recentemente descrito, emergente na América do Sul. Neste estudo, apresenta-se os primeiros casos de infecção por *Urbanorum* spp. em uma população indígena no Brasil além de uma revisão de literatura sobre os casos de infecção por este protozoário. Embora os dados sobre o encontro de *Urbanorum* spp. em seres humanos estejam aumentando, ainda há poucos

relatos de infecção por este parasito na literatura. A classificação taxonômica deste parasito necessita de maior rigor científico, reafirmando a necessidade de novas investigações, como cultura parasitológica *in vitro*, análises moleculares, morfológicas e ultraestruturais com microscopia eletrônica. Além das análises de microscopia óptica pelos métodos de sedimentação em água e de centrifugo-flutuação, foram feitas análises de microscopia eletrônica de varredura. *Urbanorum* spp teve a primeira descrição em 1993 e desde então 12 publicações, sendo 8 delas no Brasil, encontram-se nas bases de dados para acesso aos resultados. Além da elevada prevalência de enteroparasitos, o encontro de *Urbanorum* spp. em amostras fecais de escolares indígenas foi relatado pela primeira vez no Brasil, sendo possível a observação das formas parasitárias mesmo após congelamento da amostra fecal a -20 °C. O tratamento em massa com albendazol em dose única de 400 mg nos escolares avaliados não foi eficaz, visto que este parasito foi encontrado em amostras coletadas após administração de duas doses deste medicamento. Com isso, pode-se concluir que medidas mais eficazes e direcionadas ao controle de parasitos intestinais levando-se em consideração as particularidades culturais dessa população devem ser aplicadas, como desestimular e coibir a defecação no solo, evitar o contato com fezes de animais e solo da aldeia, fontes de infecção de *Ascaris*, e acesso a água tratada e de boa qualidade para evitar novos casos de infecção por *Urbanorum* spp e outros protozoários intestinais prevalente na população, além da associação de medidas de educação em saúde, principalmente junto aos escolares, o que pode resultar em benefícios à saúde indígena e, conseqüentemente, melhorar suas condições de vida.

**Palavras-chave:** escolares, população indígena, parasitoses intestinais, *Ascaris* sp, biologia molecular, ITS1, *Urbanorum* spp, saúde pública.



## Sumário

<b>Apresentação</b> .....	1
<b>Capítulo I</b> .....	3
<b>Aspectos epidemiológicos de parasitos intestinais com ênfase em <i>Ascaris sp</i> e <i>Urbanorum spp</i> em uma aldeia indígena Guarani no Paraná, Sul do Brasil</b>	
Introdução.....	4
Objetivos.....	20
Aplicação dos resultados da pesquisa.....	20
Referências.....	21
<b>Capítulo II</b> .....	30
<b>Epidemiologia molecular de <i>Ascaris sp</i> em humanos, animais e solo de uma aldeia Guarani no sul do Brasil</b>	
Resumo.....	33
Introdução.....	35
Materiais e métodos .....	37
Resultados.....	44
Discussão.....	46
Conclusões.....	50
Referências.....	51
Tabelas e figuras.....	58
<b>Capítulo III</b> .....	61
<b><i>Urbanorum spp</i>: aspectos morfológicos e revisão da literatura</b>	
Resumo.....	64
Introdução.....	68
Materiais e métodos.....	69
Resultados.....	70
Discussão.....	76
Referências.....	78
<b>Anexos</b> .....	82

## Apresentação

Esta tese é composta por três capítulos. O primeiro, intitulado “**Aspectos epidemiológicos de parasitos intestinais com ênfase em *Ascaris sp* e *Urbanorum spp* em uma aldeia indígena Guarani no Paraná, Sul do Brasil**”, compreende uma revisão bibliográfica sobre as parasitoses intestinais em populações indígenas e os parasitos para os quais foram direcionadas nossas pesquisas, considerando a importância epidemiológica e os primeiros achados em populações indígenas. O segundo, trata-se de um artigo sobre a epidemiologia do helminto *Ascaris sp* em aldeia indígena Guarani no Paraná, sul do Brasil, sua frequência na população escolar, bem como no solo e em animais, e a avaliação molecular das espécies em cada elo da cadeia de transmissão. Este artigo foi intitulado “**Epidemiologia molecular de *Ascaris sp* em humanos, animais e solo de uma aldeia Guarani no sul do Brasil**”. O terceiro capítulo trata-se de um artigo sobre *Urbanorum spp*, um parasito intestinal não descrito anteriormente em população indígena no Brasil, com revisão bibliográfica sobre os relatos do seu encontro, a descrição dos casos na população estudada, imagens de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura, esta última, sem antecedentes. Este artigo foi intitulado “***Urbanorum spp* aspectos morfológicos e revisão de literatura**”. De acordo com o regulamento do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PBC), os artigos foram redigidos seguindo as normas das revistas para as quais serão submetidos, conforme descrito abaixo.

**Capítulo II** - Lenartovicz-Boeira V., Carvalho M.S., Gandra R.F., Abreu A.P., Bezagio R.C., Colli C. M., Toledo M.J.O. **Epidemiologia molecular de *Ascaris sp* em humanos, animais e solo de uma aldeia Guarani no sul do Brasil**. Será submetido ao periódico *PLOS Neglected Tropical Diseases* (Fator de impacto 2021-2022: 4,52). <https://journals.plos.org/plosntds/s/submission-guidelines>

**Capítulo III** - Lenartovicz-Boeira V., Carvalho M.S., Bidóia D.L., Colli C. M. e Toledo M.J.O. “***Urbanorum spp*: aspectos morfológicos e revisão de literatura**”. Será submetido ao periódico *Acta Tropica* (Fator de impacto 2021-2022: 3,22) <https://www.elsevier.com/journals/acta-tropica/0001-706X/guide-for-authors>

## CAPÍTULO I

### **Aspectos celulares e moleculares de parasitos intestinais em aldeia indígena Guarani no Paraná, Sul do Brasil, com foco em *Ascaris* sp e *Urbanorum* spp**

*Revisão bibliográfica e objetivos do estudo.*

## **Aspectos celulares e moleculares de parasitos intesinais em aldeia indígena Guarani no Paraná, Sul do Brasil, com foco em *Ascaris spp* e *Urbanorum spp***

### **1. Introdução**

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), doenças parasitárias são consideradas negligenciadas, por não despertarem a atenção de grandes indústrias farmacêuticas e nem de investimentos governamentais em pesquisa, acometendo populações que vivem com baixa renda, afetando mais de um bilhão de pessoas, com um custo de bilhões de dólares anualmente (DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS, 2021).

A transmissão dos parasitos intestinais ocorre por via ativa, através da penetração de larvas pela pele e por via passiva oral, com a ingestão de água ou alimentos contaminados com formas infectantes como ovos embrionados ou cistos, sendo sua maior prevalência vinculada a áreas que se apresentam com condições higiênico-sanitárias precárias, associadas à falta de tratamento adequado de água e esgoto, além do contato pessoa a pessoa (NEVES et al., 2022).

No Brasil, a prevalência geral das enteroparasitoses é desconhecida, uma vez que essas doenças não são de notificação compulsória. O que se estima de prevalência decorre de estudos pontuais e de geo-helmitos associados aos estudos da esquistossomíase. Estima-se então uma prevalência de 2 a 36% e que pode chegar a 70% nos indivíduos em idade escolar, o que revela um importante cenário de preocupação na saúde pública nacional (AGUIAR-SANTOS et al., 2013; SILVA et al., 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

A realidade na deficiência sanitária de minorias brasileiras pode ser fruto de entraves políticos e má administração de recursos financeiros, pois os investimentos estão associados a parcerias governamentais e busca pelo poder. Nessa ótica, o cidadão brasileiro alocado em grupos

desfavorecidos acaba por viver em condições precárias de vida, onde não existe serviço público para tratamento de água e condições adequadas de higiene (ANDRADE et al., 2011).

A associação das parasitoses intestinais à pobreza generalizada mostra-se um problema social relevante. Os acessos aos serviços de saneamento e saúde necessitam estar no centro das discussões de políticas públicas efetivas, e de maneira a atender as pessoas que vivem em condições insalubres, a fim de garantir melhor qualidade de vida para essa população (SILVA et al., 2016).

A baixa qualidade da água e baixas condições de saneamento e higiene foram relatadas no estudo de Oishi et al. (2019). Entretanto, os autores salientam que a prevalência das enteroparasitoses no local de estudo tem diminuído com o passar dos anos devido às melhorias nas fontes de água potável e instalações de saneamento, e às campanhas de tratamento em massa.

As atividades educativas podem funcionar como importantes ferramentas no controle das enteroparasitoses, em especial no compartilhar de saberes sobre as formas de prevenção e transmissão. Entretanto, essas atividades necessitam estar alinhadas às características culturais de cada grupo, como faixa etária, nível de escolaridade e adequadas à realidade local. Deve-se respeitar o conhecimento já adquirido, sendo importante o início dessas atividades desde a pré-escola, pois a população com maior risco de aquisição dessas infecções é o público infantil (TEIXEIRA, 2016).

Ações de educação em saúde podem ser uma medida ainda mais eficaz no controle das enteroparasitoses em localidades onde há boas condições de saneamento ambiental, pois permitem a melhoria dos hábitos de higiene da população, como a higiene das mãos e dos alimentos consumidos sem cozimento, facilitadas pela qualidade da água (FONSECA et al., 2017).

Algumas dessas ações foram conduzidas no Estado do Paraná nos últimos anos, sendo atendidas populações de risco como periferias de grandes centros, populações indígenas e quilombolas.

## 1.1 Ascaridíase

### 1.1.1 *Ascaridíase Humana*

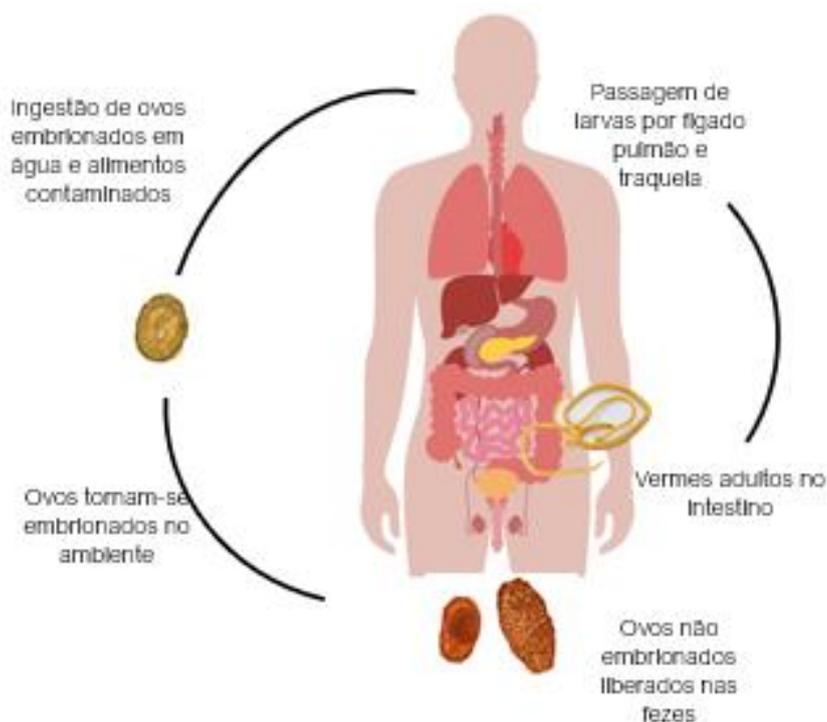
A ascaridíase humana é uma doença infecciosa cujo agente etiológico reportado é o helminto parasito, nematódeo, pertencente a ordem Ascarididae, *Ascaris lumbricoides*, descrito por Linnaeus em 1758. Esta espécie faz parte do grupo dos helmintos transmitidos pelo solo (HTS), juntamente com *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis* e ancilostomídeos. Estes helmintos estão inclusos no grupo das Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) acometendo, aproximadamente, 1 bilhão de pessoas em todo o mundo, com cerca de 4 bilhões de pessoas em risco de serem infectadas (SILVA et al., 2003; PULLAN et al., 2014; JOURDAN et al., 2018).

*Ascaris lumbricoides* é o geo-helminto mais prevalente em regiões onde o saneamento é precário e o fornecimento de água é comprometido, apresentando uma ampla distribuição geográfica, infectando cerca de 447 milhões de indivíduos, com percentuais de infecção acima de 20%, em regiões da Ásia, África Sub-Sahariana e América Latina (O'LORCAIN & HOLLAND 2000; PULLAN et al., 2014; OKOYO et al., 2020). Nestas regiões, a alta prevalência de helmintíases está intimamente relacionada às más condições de saneamento básico e práticas de higiene precárias, condições estas diretamente associadas à pobreza, além dos fatores climáticos que favorecem o ciclo biológico do parasito (LAI et al., 2019). Apesar dos casos de ascaridíase majoritariamente não evoluírem para o óbito, essa doença acarreta anos de vida vividos com deficiência, consistindo em um sério problema econômico e de saúde nos países afetados (WHO, 2010).

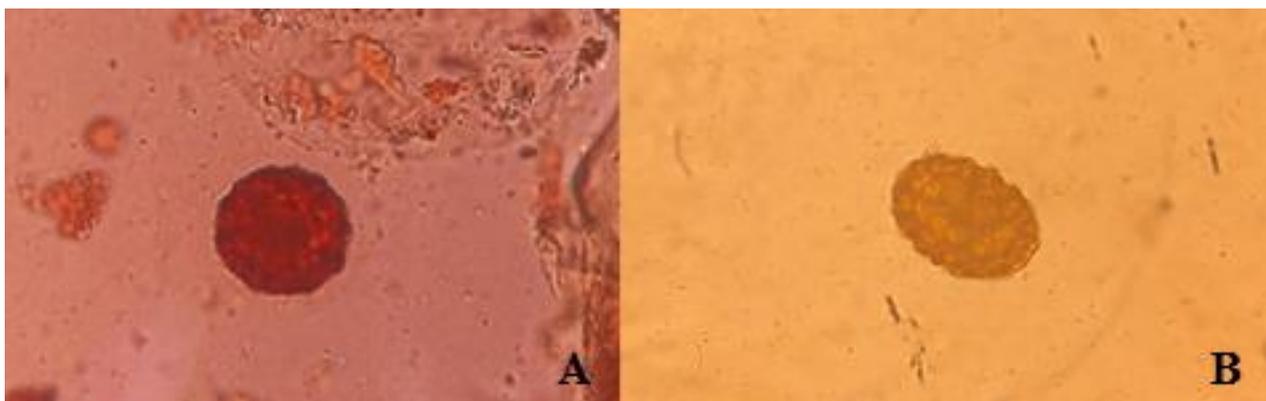
A parcela da população mais acometida pela infecção são as crianças em idade escolar que, na população não indígena, corresponde aos menores de 15 anos, consistindo em uma infecção idade-dependente (ANUAR et al., 2014; KARSHIMA, 2018; OKOYO et al., 2020). Nesta faixa etária, os danos decorrentes da infecção, mesmo silenciosos, podem causar prejuízos relevantes ao

desenvolvimento físico e cognitivo dos acometidos (JARDIM-BOTELHO et al., 2008; TOLEDO et al., 2009; BLOUIN et al., 2018). Na maioria dos casos os infectados são assintomáticos e, quando há sintomas, as manifestações são dependentes da fase do ciclo biológico do parasito e carga parasitária, além das questões inerentes ao hospedeiro, como o status nutricional e imunológico, podendo haver obstrução intestinal e óbitos, em casos mais graves (UMETSU et al., 2014; MBANGA et al., 2019).

A transmissão de *Ascaris* (Figura 1) ocorre de forma oral-fecal a partir da ingestão de ovos embrionados, contendo a larva de terceiro estágio (L3), presentes em água ou alimentos contaminados. Os ovos, recém-eliminados nas fezes (Figura 2), precisam passar por um período de embrionamento no solo, com temperaturas médias entre 25 e 35 °C durante cerca de 30 dias, podendo permanecer viáveis por vários meses ou mesmo anos, dependendo das condições climáticas (BROOKER et al., 2006; KIM et al., 2012; NEVES, 2022).



**Figura 1** - Representação esquemática do ciclo biológico de *Ascaris lumbricoides*. Fonte: Autor.



**Figura 2** – Ovos de *Ascaris sp* em amostra fecal humana. **A.** Ovo não embrionado de *Ascaris sp*; **B.** Ovo embrionado de *Ascaris sp* com visualização da membrana mamilonada (mais externa). Microscopia óptica em aumento de 400X, corados por Lugol. Fonte: autor.

### 1.1.2 *Ascaridíase Suína*

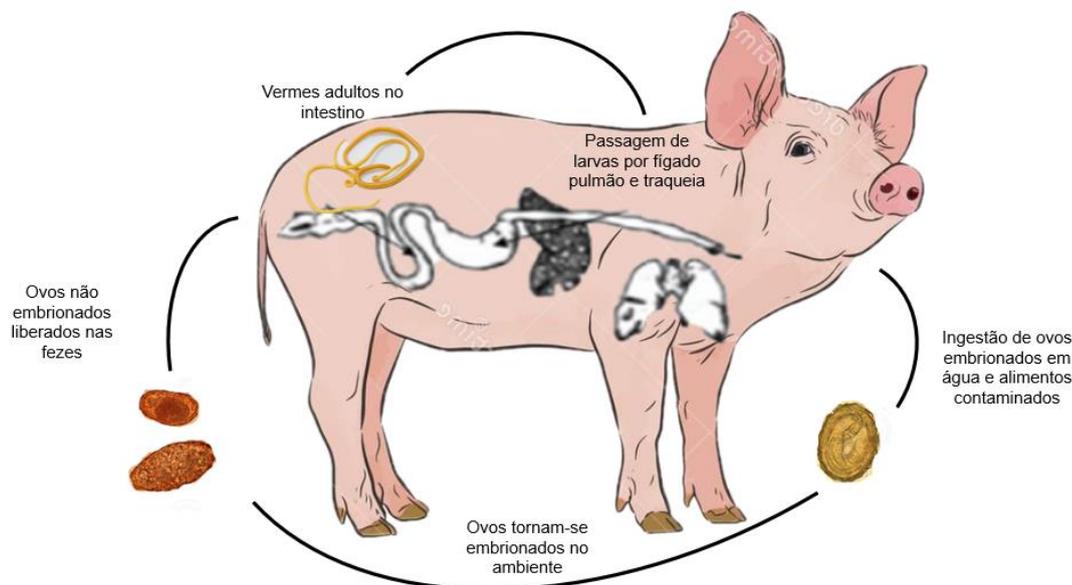
Estima-se elevado percentual de infecção por parasitos intestinais em rebanhos suínos no mundo, principalmente entre os criados em sistemas de produção animal extensivos e orgânicos, quando comparados aos sistemas de produção animal industrializados. Nestes rebanhos, uma das espécies de parasito mais reportado é o helminto *Ascaris suum*, descrito por Goeze (1782) (ROEPSTORFF et al., 2011; NISSEN et al., 2011; THAMSBORG et al., 2013; KATAKAM et al., 2016).

Normalmente a infecção em suínos é subclínica, tornando o diagnóstico frequentemente negligenciado, no entanto, alguns animais podem apresentar perda de peso e redução da conversão alimentar em virtude do elevado parasitismo intestinal, resultando em condenação do fígado devido à intensa migração das larvas, causando perdas econômicas significativas (ROEPSTORFF et al., 2011; THAMSBORG et al., 2013; FAUSTO et al., 2015).

É possível encontrar níveis variados de infecção por *Ascaris* em todas as fases de vida dos suínos, sendo que os mais densamente parasitados são os suínos em fase de engorda (ROEPSTORFF et al.,

2011). No entanto, a carga parasitária entre suínos mostra uma distribuição agregada em que 22 a 27% dos animais albergam cerca de 80% da carga parasitária total dentro de uma população (NEJSUM et al., 2009). No Brasil, estudos avaliando a ascaridíase suína demonstraram que, os maiores percentuais de positividade para a infecção foram encontrados, principalmente, nos sistemas de criação extensivo, de caráter familiar, com uma variação de 2,3 a 22% de positividade para *Ascaris* (BARBOSA et al., 2015; ARAÚJO et al., 2020). Em contrapartida, entre suínos criados em sistemas de produção industrializados, foi detectada uma prevalência que variou de 0,09 a 1,85% de infecção por *Ascaris* (d'ALENCAR et al., 2006; ANTUNES et al., 2011; BARBOSA et al., 2015).

O ciclo biológico de *A. lumbricoides* e de *A. suum* é bastante similar. Sucintamente, o hospedeiro suíno é infectado ao ingerir os ovos larvados contendo as L3, que estão presentes em água ou alimentos contaminados (Figura 3). Esses ovos têm longa viabilidade no solo, sendo relatado o encontro de ovos viáveis após nove anos nos países nórdicos que, associado ao ato coprofágico dos suínos, aumentam substancialmente as chances de infecção (NEJSUM et al., 2009; ROEPSTORFF et al., 2011).



**Figura 3** - Representação esquemática do ciclo biológico de *Ascaris suum*. Fonte: Autor.

As espécies *A. lumbricoides* e *A. suum* já foram consideradas crípticas por possuírem grande semelhança biológica e morfológica, sendo possível diferenciá-las, apenas por detalhes nos dentículos labiais dos espécimes adultos observados somente por microscopia eletrônica de varredura. A identificação espécie-específica, por visualização dos ovos por microscopia óptica é impossível, uma vez que estes são morfológicamente idênticos (LELES et al., 2012; BARBOSA, 2015).

Infecções experimentais e naturais têm demonstrado que *A. lumbricoides* e *A. suum* tem a capacidade de infectar e completar o seu ciclo biológico no hospedeiro não-próprio (TAKATA, 1951; SPARKS et al., 2015; BARBOSA, 2015; AVERY et al., 2018).

O real panorama da ascaridíase humana e suína, em regiões endêmicas e não-endêmicas, permanece uma incógnita e uma pergunta difícil de ser respondida pelos métodos coproparasitológicos convencionais. Contudo, análises genéticas utilizando diferentes marcadores moleculares têm sido propostas para avaliar o potencial zoonótico de *A. suum*, casos de infecção cruzada e híbridos, e a real epidemiologia da ascaridíase humana e suína, bem como as relações evolutivas de *Ascaris* (ANDERSON, 1995; BETSON et al., 2014; PENG 2007; JESUDOSS-CHELLADURAI et al., 2017; SADAOW et al., 2018).

#### 1.1.4 Marcadores moleculares

O cenário epidemiológico de *Ascaris* é subestimado, tendo em vista a aplicação de técnicas que não permitem um diagnóstico espécie-específico, principalmente nos países em desenvolvimento. Portanto, a aplicação de metodologias moleculares que possibilitam um diagnóstico em nível de espécie é imprescindível para a compreensão da real epidemiologia da ascaridíase no mundo (SANTOS, 2021; SILVA et al, 2021).

No âmbito da ascaridíase, análises comparativas do DNA ribossômico (rDNA) compreendendo a região ITS (Espaço Transcrito Interno, do inglês *Internal Transcribed Spacer*), gene 5.8S de *A.*

*lumbricoides* e *A. suum* demonstraram que a região ITS-2 é idêntica entre as espécies, não sendo informativa para diferenciação (ZHU et al., 1999; ZHU et al., 2000). No entanto, a região ITS-1 tem deleções em determinadas posições na sequência de *A. lumbricoides* e polimorfismos em certas posições no alinhamento entre as duas espécies, totalizando seis posições nucleotídicas divergentes. A soma desses fatores resulta em uma divergência genética de 1,3% entre as sequências nucleotídicas de ITS-1 de *A. lumbricoides* e *A. suum*, com uma variação de até 0,2% dentro do táxon, permitindo diferenciá-las (ZHU et al., 1999; SADAOW et al., 2018; PALMA et al., 2019).

As análises a partir do DNAr têm permitido a identificação de diferentes genótipos de *Ascaris*. Peng et al. (2003) verificaram a presença de cinco genótipos (G1-G5) em diferentes regiões da China usando sequências parciais do ITS-1, sendo que o genótipo mais prevalente em amostras isoladas a partir de humanos foi o G1, caracterizado por uma Guanina (G) na posição nucleotídica 133, uma Timina (T) na posição 246 e quatro deleções. Entre os suínos, o genótipo dos isolados de *Ascaris* mais prevalente foi o G3, caracterizado por uma Citosina (C) na posição 133, uma Adenina (A) na posição 246 e uma deleção. A distribuição destes genótipos sugere uma afiliação hospedeiro dependente. Os outros genótipos foram compartilhados por ambas as espécies e apresentaram uma baixa prevalência, sendo um indicativo de hibridização e fluxo gênico limitado.

No Brasil, amostras de *Ascaris* isoladas de humanos, apresentam maior prevalência do genótipo G1, no entanto, um novo genótipo foi encontrado, sendo designado como G6, caracterizado pela deleção de uma timina (T) na posição 127 (T127del) da sequência nucleotídica (LELES et al., 2009).

O uso do marcador ITS-1 também permitiu a identificação de possíveis híbridos em amostras de *Ascaris* isoladas de humanos (DUTTO E PETROSILLO, 2013; SADAOW et al., 2018) e constatou a infecção cruzada por *A. suum* em humanos no Japão (ARIZONO et al., 2010).

Análises comparativas utilizando o genoma mitocondrial de *A. lumbricoides* e *A. suum* revelaram que as sequências têm 14.303 pb e 14.311 pb, respectivamente (LIU et al., 2012) com amostras

originárias da China, demonstrando uma identidade genética que variou de 96,6 a 99,5% entre as espécies. Os resultados das amostras analisadas nas pesquisas de Santos (2021) demonstraram um padrão de transmissão bem separado entre as espécies. Todavia, análises de outros grupos, utilizando marcadores do DNAm e microssátelites detectaram o compartilhamento de haplótipos e genótipos entre humanos e suínos na população brasileira, sendo um indicativo de que a infecção cruzada está ocorrendo em algumas regiões (LELES et al., 2009; IÑIGUEZ et al., 2012; MONTEIRO et al., 2019).

#### 1.1.5. Prevenção e controle da ascaridíase

A única estratégia disponível para tratamento da ascaridíase humana, bem como de outras helmintíases, são as poucas classes de fármacos anti-helmínticos disponíveis, sendo estes amplamente utilizados nos rebanhos como medidas de tratamento e profilaxia. No entanto, devido ao uso indiscriminado, tem sido reportada uma redução significativa na eficácia de alguns destes fármacos como Ivermectina e Albendazol para nematódeos gastrointestinais de ovinos e bovinos, como *Haemonchus* e *Cooperia* (GASBARRE, 2014; PLAYFORD et al., 2014). Com relação a *A. suum*, polimorfismos de nucleotídeos únicos - SNP (*single nucleotide polymorphism*) relacionados à resistência nunca foram descritos (PALMA et al., 2020). No entanto, um estudo *in vitro* realizado China e Dinamarca, demonstrou que é necessária uma dose elevada de levamisol para inibir efetivamente a migração e sobrevivência das larvas de *A. suum* em suínos, demonstrando uma preocupante redução da eficácia deste fármaco (ZHAO et al., 2017).

Nos países em desenvolvimento, a deficiência ou ausência de saneamento básico, a manutenção de práticas de higiene precárias e uma elevada parcela da população com baixos índices econômicos são alguns dos fatores que têm sido apontados como elementos causais para a permanência da endemicidade em algumas regiões, apesar da redução dos níveis de infecção em decorrência das campanhas de administração de fármacos (anti-helmínticos) em massa (AFM) (WHO, 2010; ANUAR et al., 2014; OKOYO et al., 2020). Concernente à AFM, apesar dos amplos benefícios decorrentes das

campanhas de tratamento profilático, de acordo com o nível de endemicidade de cada região, alguns trabalhos têm reportado SNPs relacionados à resistência de *A. lumbricoides* aos benzimidazóis, configurando mais um desafio no contexto desta helmintíase (DIAWARA et al., 2013; FURTADO et al., 2019).

O grande desafio para a prevenção e tratamento dessas doenças são ações governamentais e implementação das políticas públicas, visto que o principal meio de controle das parasitoses intestinais está nos bons hábitos e modo de vida da população, aliada ao aumento da renda familiar, acesso à educação e saúde de qualidade, moradia digna e saneamento básico, além de práticas em educação para a saúde (TOLEDO et al., 2009; TEIXEIRA, 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

## **1.2 *Urbanorum* spp**

*Urbanorum* spp. é um protozoário que foi descrito em amostras fecais pelo pesquisador Francisco Tirado Santamaría, professor de parasitologia da Universidad Industrial de Santander na Colômbia e, até o momento, o encontro deste gênero foi relatado apenas em indivíduos da América do Sul, no Equador, Peru, Colômbia e Brasil (SANTAMARÍA, 2013; VILLAFUERTE et al., 2016; DÍAZ & PERLAZA, 2017; DE AGUIAR & ALVES, 2018).

Morfologicamente, o protozoário foi comparado às amebas, embora com dimensões maiores, apresentando uma estrutura arredondada de diâmetro entre 50 e 100  $\mu\text{m}$  e que quando colorado com lugol apresenta um conteúdo de cor amarelo claro e uma dupla membrana externa com poros pelos quais emergem de seu interior estruturas hialinas, semelhantes a pseudópodes. Sua reprodução parece ser por divisão binária, o que o classifica como um protozoário (SANTAMARÍA, 2013; VILLAFUERTE et al., 2016).

A transmissão de *Urbanorum* spp. é por via fecal-oral e ocorre de forma semelhante à de outros parasitos intestinais, principalmente devido à falta de higiene pessoal e consumo de água e alimentos

contaminados por formas do protozoário (Figura 3). Embora sua patogenia ainda não tenha sido descrita, uma síndrome diarreica aguda, com cólicas e amostras fecais líquidas, pH ácido, sem muco, sangue ou leucócitos, caracteriza os sintomas clínicos (DÍAZ & PERLAZA, 2017).

Situações específicas vêm sendo apontadas na literatura como possíveis fatores de risco para sua transmissão, dentre elas destacam-se o fato de viver em áreas com precárias condições de saneamento básico, dificuldade de acesso à água potável e ser morador de área rural (DÍAZ & PERLAZA, 2017; DE AGUIAR & ALVES, 2018)

Embora os relatos sobre o encontro de *Urbanorum* spp. em seres humanos estejam aumentando, ainda há poucos casos de infecção relatados na literatura. A classificação taxonômica necessita de maior rigor científico, reafirmando a necessidade de novas investigações, como cultura parasitológica *in vitro*, análises moleculares, morfológicas e ultraestruturais com microscopia eletrônica.

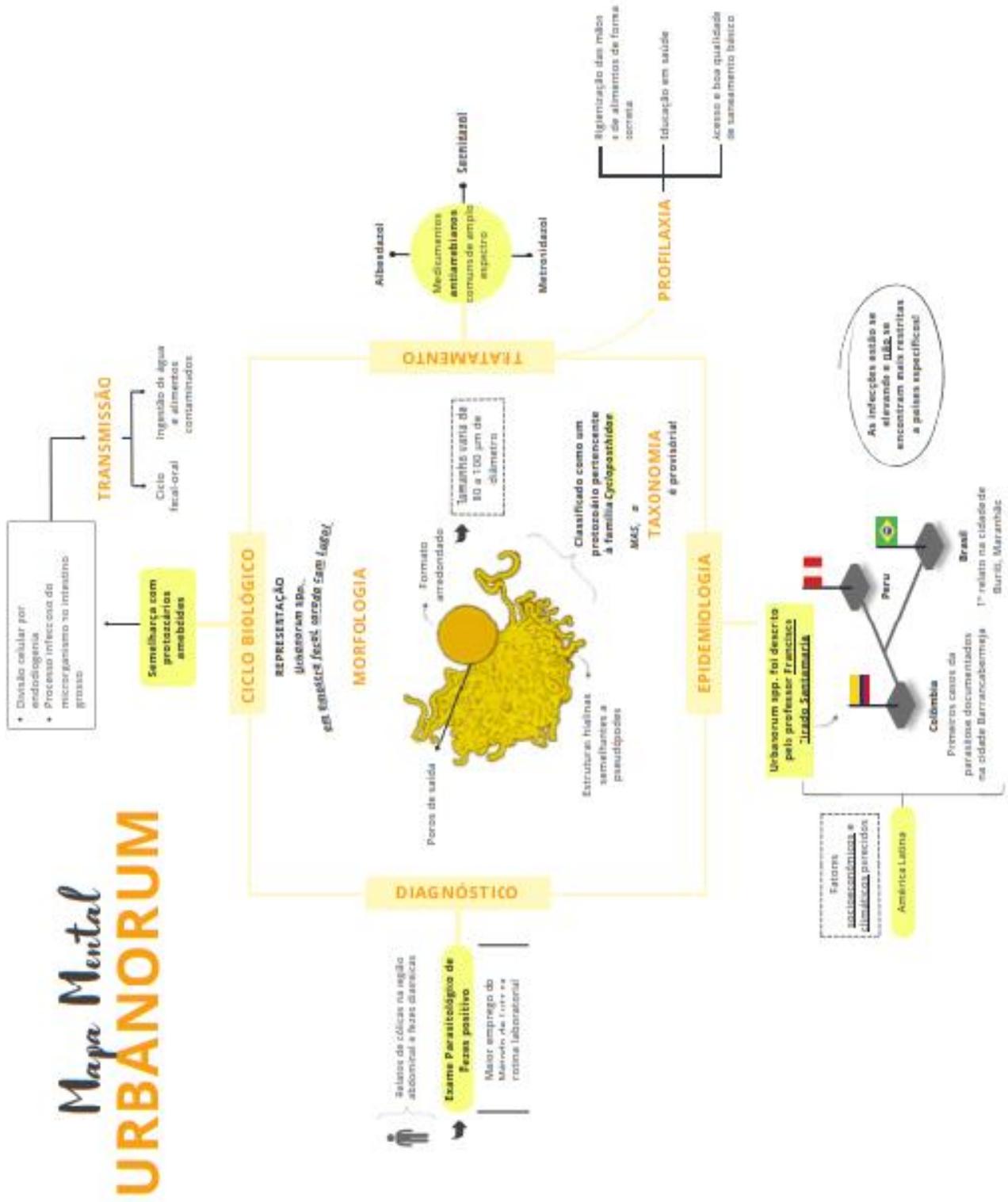


Figura 3 - Representação esquemática sobre *Urbanorum* spp. Fonte: Parasitos fantásticos e onde habitam: atualização das parasitoses no Brasil, 2022.

### **1.3 Saúde de populações indígenas**

Na primeira década do século XXI, a população indígena mundial era estimada em aproximadamente 370 milhões de indivíduos, distribuídos em 90 países. No Brasil, dados do Censo de 2010 mostraram que a população autodeclarada “indígena” aumentou de 734.000 em 2000 para 818.000 em 2010, o que corresponde a cerca de 0,4% da população brasileira. Essa população vive em 683 terras indígenas e em algumas áreas urbanas (ASSIS et al., 2009).

A perda da autoestima, a desestruturação social, econômica e dos valores coletivos também tiveram um papel importante na diminuição da população indígena. Até hoje há situações regionais de conflito, em que se expõe toda a trama de interesses econômicos e sociais que configuram as relações entre os povos indígenas e demais segmentos da sociedade nacional, especialmente no que se refere à posse da terra, exploração de recursos naturais e implantação de grandes projetos de desenvolvimento (COIMBRA, 2014).

Atualmente, não existem dados fidedignos que forneçam informações globais sobre a saúde desses indivíduos. Os dados disponíveis são parciais, gerados pela Fundação Nacional do Índio (FUNAI), Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), por diversas organizações não governamentais, missões religiosas e instituições acadêmicas. O exame desses dados em conjunto mostra um perfil epidemiológico associado a altas taxas de pobreza e desemprego, baixa escolaridade, condições precárias de saneamento e habitação, migração, exclusão social, redução do território, destruição do ecossistema e alterações dos hábitos de vida (TOLEDO et al., 2009; BELO et al., 2012; SIMÕES et al., 2015).

Em relação à morbidade, verifica-se uma alta incidência de infecções respiratórias e gastrointestinais agudas, malária, tuberculose, doenças sexualmente transmissíveis, desnutrição e doenças preveníveis por vacinas, evidenciando um quadro sanitário caracterizado pela alta ocorrência de agravos que poderiam ser significativamente reduzidos com o estabelecimento de ações sistemáticas e continuadas de atenção básica à saúde (COIMBRA, 2014).

#### 1.4 Parasitoses intestinais e populações indígenas

Parasitoses intestinais estão amplamente disseminadas entre os povos indígenas brasileiros, em função das precárias condições socioeconômico-culturais a que estão expostos e mesmo com o estabelecimento de ações em saúde, muitas vezes, é difícil controlar as reinfecções (TOLEDO et al., 2009; BELO et al., 2012; SIMÕES et al., 2015).

No Estado do Paraná, diferentes estudos avaliaram a presença de enteroparasitos em amostras fecais de indígenas de etnia Kaingang, sendo que a prevalência variou de 67% a 95%, conforme a região estudada. Em todos eles houve uma prevalência maior dos helmintos, onde *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* são os mais encontrados, e dos protozoários *Entamoeba* spp e *Giardia duodenalis* (VIEIRA et al., 2005; TOLEDO et al., 2009; SILVA et al., 2016). Resultados semelhantes foram encontrados no solo peridomiciliar de aldeias indígenas do Estado do Paraná, mostrando a relação entre o ambiente e a contaminação humana (MOURA et al., 2010; SILVA et al., 2016).

As prevalências de enteroparasitoses na população indígena brasileira continuam sendo de moderadas a altas, mesmo após a implantação de atividades de controle como melhorias habitacionais, canalização e tratamento da água, tratamento antiparasitário da população e ações de educação em saúde (FAUSTINO et al., 2008). Portanto, a redução da morbi-mortalidade devida aos enteroparasitos nesta população ainda continua sendo um desafio para as autoridades sanitárias (FAUSTINO et al., 2008; COIMBRA, 2014; OLIVEIRA et al., 2016).

Estudo de revisão integrativa de literatura sobre parasitoses intestinais em indígenas no Brasil, revela que ainda há alta incidência de parasitoses intestinais em indígenas, sobretudo nas crianças, com destaque as parasitoses intestinais causadas por *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Hymenolepis nana* e *Ascaris lumbricoides* (CRUZ, 2018).

Em adição, as infecções parasitárias, muitas vezes, encontram-se fora de controle dos serviços de saúde, pela grande transmissibilidade de patógenos, favorecida por fatores de ordem ambiental e sociocultural, sendo ainda um problema de saúde pública negligenciado (MIRANDA et al., 1998; FAUSTINO et al., 2008).

A transmissão das enteroparasitoses ocorre na maioria dos casos por via passiva oral, com a ingestão de água ou alimentos contaminados, sendo sua maior prevalência vinculada a áreas que se apresentam com condições higiênico-sanitárias precárias, associadas à falta de tratamento adequado de água e esgoto e o contato entre as pessoas. (NEVES, 2022).

Tal como é o caso de outros agravos à saúde, a epidemiologia das enteroparasitoses em povos indígenas é pouco conhecida no Brasil. Entretanto houve um aumento da produção de conhecimento ao longo das últimas décadas. Uma parcela importante destes estudos aponta para elevados níveis de prevalência e poliparasitismo, bem como uma alta diversidade de espécies. *Ascaris lumbricoides*, ancilostomídeos, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba coli* aparecem na quase totalidade dos estudos, em geral, com prevalências elevadas, o que aponta para as condições propícias de transmissão (SANTOS, 1994; VIEIRA et al., 2005; TOLEDO et al., 2009; SILVA et al., 2016).

Análises genéticas utilizando diferentes marcadores moleculares têm sido propostas para avaliar o potencial zoonótico de *A. suum*, casos de infecção cruzada e híbridos, e a real epidemiologia da ascaridíase humana e suína, bem como as suas relações evolutivas.

### **1.5 Diagnóstico de parasitoses intestinais**

A microscopia óptica é o “padrão ouro” para identificação de ovos, larvas e cistos de parasitos em amostras fecais, sendo de grande aplicabilidade para diagnóstico de infecções parasitárias. Os métodos parasitológicos incluem a utilização de microscopia óptica, com amostras coradas pelo lugol após métodos de concentração. São utilizados métodos qualitativos, como a sedimentação espontânea

(LUTZ, 1919) ou centrífugo-sedimentação com formol-éter (RITCHIE, 1948) e o método de Kato-Katz é o indicado para a quantificação de ovos no material fecal (KATZ et al., 1972).

Nos últimos anos tem ocorrido a validação de testes diagnósticos que utilizam anticorpos monoclonais para a detecção de antígenos dos parasitos, como por exemplo a técnica de imunofluorescência direta (IF) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) (SAVIOLI et al., 2006). No caso de baixas cargas parasitárias, testes imunológicos podem oferecer maior sensibilidade em relação ao método parasitológico, devendo-se atentar para a possibilidade de reações cruzadas, principalmente entre os helmintos (DE CARLI, 2008).

Técnicas de biologia molecular podem também ser usadas e autores relatam que estas são mais sensíveis em comparação com métodos convencionais (LELES et al., 2009; UDA-SHIMODA et al., 2013) além de permitir a diferenciação entre as espécies (PENG et al., 2003; PENG et al., 2007; IÑIGUEZ et al., 2012; COLLI et al., 2015; SANTOS, 2021), embora exijam equipamentos e reagentes mais caros.

Testes moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*) e o sequenciamento do DNA do parasito, permitem a detecção direta em amostras biológicas e ambientais, com alto grau de sensibilidade e especificidade, permitindo a genotipagem adequada dos protozoários e helmintos (OISHI et al., 2019).

Para elucidar questões sobre a transmissão zoonótica de *Ascaris*, e o papel da contaminação do ambiente favorecer infecção, são necessários estudos que avaliem a dinâmica da transmissão destes parasitos entre os elos humano, animal e ambiente em uma mesma área endêmica.

Considerando o risco do solo estar contaminado por formas parasitárias (cistos, oocistos, larvas e/ou ovos), a resistência e viabilidade por longos períodos dessas formas evolutivas no ambiente, o contato íntimo entre as pessoas da população indígena, bem como precários hábitos de higiene e

costumes de manter contato com solo, e ainda a possibilidade de algumas características moleculares parasitárias serem comuns a humanos e animais, faz-se necessária a verificação de todos os possíveis elos da cadeia epidemiológica nesta população da mesma área geográfica (LELES et al., 2012).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Verificar os aspectos moleculares da transmissão de *Ascaris* sp e relatar achados sobre *Urbanorum* spp., em uma aldeia indígena Guarani no Paraná, Sul do Brasil

### **2.2 Específicos**

Determinar a prevalência de parasitos intestinais e os fatores de risco de infecção para a população estudada;

Verificar a importância de hábitos populacionais indígenas na cadeia epidemiológica de transmissão dos parasitos intestinais;

Identificar *Ascaris* sp em amostras de fezes humanas e de animais, e também no solo;

Investigar a ocorrência dos diferentes genótipos dos isolados obtidos por meio de técnicas de PCR e genotipagem;

Identificar amostras positivas para *Urbanorum* spp e verificar a possibilidade de identificação morfológica por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura.

## **3. APLICAÇÃO DOS RESULTADOS DA PESQUISA**

Os resultados dessa pesquisa serão utilizados como dados para avaliar a dinâmica da transmissão das espécies de parasitos com maior frequência na população indígena. Além disso, as técnicas realizadas nos experimentos poderão ser replicadas em outros laboratórios como os utilizados no

desenvolvimento da presente tese de doutorado: Laboratório de Parasitologia Clínica da UNIOESTE, localizado no Município de Cascavel, e no Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), contribuindo para o aprimoramento e consolidação das atividades de pesquisa no Paraná.

Estudos comparativos principalmente com outras populações indígenas, poderão ser realizados buscando observar a presença e distribuição genotípica desses parasitos intestinais, auxiliando em pesquisas epidemiológicas, na implementação de ações de controle mais efetivas e melhorias nas condições de vulnerabilidade de populações de risco, com a possibilidade de replicar essas ações em outros locais.

Com isto podem ser propostas medidas mais eficazes e direcionadas ao controle de parasitos intestinais, levando-se em consideração as particularidades culturais da população, que podem resultar em maiores benefícios à saúde indígena e, conseqüentemente, melhorar suas condições de vida.

Melhorias no diagnóstico de doenças parasitárias com a implementação de técnicas moleculares e o controle do número de pessoas com parasitoses intestinais na população estudada visam reduzir a condição de vulnerabilidade das populações indígenas, com fortalecendo da cidadania e dos direitos individuais com a possibilidade de apontar melhorias das condições sanitárias nessas comunidades.

#### **4. REFERÊNCIAS**

AGUIAR-SANTOS AM, MEDEIROS Z, BONFIM C, ROCHA AC, BRANDÃO E, MIRANDA T, OLIVEIRA P, SARINHO ESC. Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em escolares: filariose linfática e parasitoses intestinais. *J. Pediatr. (Rio J.)*, Porto Alegre, v. 89, n. 3, p. 250-255, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2012.11.003>

ALENCAR AS, FAUSTINO MAG, SOUSA DP, LIMA MM, LEUCIO CA. Infecção por helmintos e coccídios em criação de suínos de sistema confinado localizada no município de Camaragibe, PE. *Ciênc. Vet. Trop.* 2006. 9:19-86.

ANDERSON TJ. *Ascaris* infections in humans from North America: molecular evidence for cross-infection. *Parasitology*. 1995;110 (Pt 2):215-219.

ANDRADE EC, LEITE ICG, RODRIGUES VO, CESCO MG. Parasitoses Intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. *Rev APS*. v.13, n.2, p. 231-240, 2010.

ANTUNES R C, CARRAZZA L G, SANT'ANA D S, OLIVEIRA MT, CARRAZA RG. Prevalência de parasitos gastrintestinais em leitões de terminação relacionada com densidade de alojamento e sexo. *PUBVET*, 2011, Londrina, V. 5, N. 5, Ed. 152, Art. 1020.

ANUAR T, SALLEH F, MOKTAR N. Soil-Transmitted Helminth Infections and Associated Risk Factors in Three Orang Asli Tribes in Peninsular Malaysia. *Scientific Reports* 2014; 4, 4101.

DE ARAÚJO HG, DA SILVA JT, ÁLVARES FBV, FERREIRA LC, AZEVEDO SS, VILELA VLR. Prevalence and risk factors associated with swine gastrointestinal nematodes and coccidia in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Trop Anim Health Prod*. 2020 Jan;52(1):379-385. doi: 10.1007/s11250-019-02032-8. Epub 2019 Aug 7. PMID: 31392555.

ARIZONO N, YOSHIMURA Y, TOHZAKA N, YAMADA M, TEGOSHI T, ONISHI K, UCHIKAWA R. Ascariasis in Japan: is pig-derived *Ascaris* infecting humans? *Jpn J Infect Dis*. 2010 Nov;63(6):447-8. PMID: 21099099.

ASSIS EM, OLIVEIRA RC, MOREIRA LE, PENA JL, RODRIGUES LC, MACHADO-COELHO GLL. 2009. Prevalência de parasitos intestinais na comunidade indígena Maxakali, Minas Gerais, Brasil. *Cad Saúde Pública*. Abr, 29(4): 681-69

AVERY RH, WALL LA, VERHOEVE VI, GIPSON KS, MALONE JB. Molecular Confirmation of *Ascaris suum*: Further Investigation into the Zoonotic Origin of Infection in an 8-Year-Old Boy with Loeffler Syndrome. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2018 Nov;18(11):638-640. doi: 10.1089/vbz.2018.2306. Epub 2018 Aug 7. PMID: 30085905.

BARBOSA, FS. Potencial zoonótico da ascaridiose humana e suína: aspectos moleculares, morfológicos e filogenéticos das espécies *Ascaris lumbricoides* e *Ascaris suum*. Tese (Doutorado em Parasitologia – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2015.

BELO VS, OLIVEIRA RB; FERNANDES PC, NASCIMENTO BWL, FERNANDES FV, CASTRO CLF, SANTOS WB, SILVA ES. 2012. Fatores associados à ocorrência de parasitoses intestinais em uma população de crianças e adolescentes. *Rev Paul Pediatr São Paulo*. Jun, 30(2):195-201.7.

BETSON M, NEJSUM P, BENDALL RP, DEB RM, STOTHARD JR. Molecular epidemiology of ascariasis: a global perspective on the transmission dynamics of *Ascaris* in people and pigs. *J Infect*

Dis. 2014 Sep 15;210(6):932-41. doi: 10.1093/infdis/jiu193. Epub 2014 Mar 31. PMID: 24688073; PMCID: PMC4136802.

BLOUIN B, CASAPIA M, JOSEPH L, GYORKOS TW. A longitudinal cohort study of soil-transmitted helminth infections during the second year of life and associations with reduced long-term cognitive and verbal abilities. PLoS Negl Trop Dis. 2018 Jul 27;12(7):e0006688. doi: 10.1371/journal.pntd.0006688. PMID: 30052640; PMCID: PMC6082574.

BRANDÃO F. Parasitos fantásticos e onde habitam: atualização das parasitoses no Brasil – Brasília: Universidade de Brasília, 2022.

BRASIL. DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS. 2021. Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde Ministério da Saúde Número Especial Mar. ISSN 9352-7864.

BRASIL.Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia Prático para o Controle das Geo-helminthíases / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 33 p: il. 2018.

BROOKER S, CLEMENTS ACA, BUNDY DAP. Global epidemiology, ecology and control of soil-transmitted helminth infections. Adv Parasitol; 62:221–61.2006.

COIMBRA JR, 2014. Saúde e povos indígenas no Brasil: reflexões a partir do I Inquérito Nacional de Saúde e Nutrição Indígena. Cad de Saúd Públ, 30: 855-859.

COLLI CM, BEZAGIO RC, NISHI L, BIGNOTTO TS, FERREIRA EC, FALAVIGNA-GUILHERME AL, GOMES ML. Identical Assemblage of *Giardia duodenalis* in Humans, Animals and Vegetables in an Urban Area in Southern Brazil Indicates a Relationship among Them. PLoS ONE.10(3). 2015.

CRUZ M G. Parasitoses intestinais em indígenas: uma revisão integrativa da literatura. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso Enfermagem, Universidade Federal do Amazonas.

DE AGUIAR RPS, ALVES LL. 2018. *Urbanorum* spp. First Report in Brazil. *Am J Case Rep.* Apr 25;19:486-490. PubMed PMID: 29693648; PubMed Central PMCID: PMC5937210

DE CARLI, G. A. 2008. Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnósticos de parasitoses humanas. 2.ªed. Rio de Janeiro: Atheneu.

DÍAZ GI KL, PERLAZA AKF. 2017. Epidemiology of acute diarrheal syndrome caused by the protozoan *Urbanorum* spp. Degree project prior to obtaining the Bachelor's Degree in Nursing. Ecuador; Milagro, Ecuador. Available from: URL: <http://repositorio.unemi.edu.ec/handle/123456789/3636>

DIAWARA A, HALPENNY CM, CHURCHER TS, MWANDAWIRO C, KIHARA J, KAPLAN RM, STREIT TG, IDAGHDOUR Y, SCOTT ME, BASÁÑEZ MG, PRICHARD RK. Association between response to albendazole treatment and  $\beta$ -tubulin genotype frequencies in soil-transmitted helminths. PLoS Negl Trop Dis. 2013 May 30;7(5):e2247. doi: 10.1371/journal.pntd.0002247.

DUTTO M, PETROSILLO N. Hybrid *Ascaris suum/lumbricoides* (ascarididae) infestation in a pig farmer: a rare case of zoonotic ascariasis. Cent Eur J Public Health. 2013 Dec; 21(4):224-6. doi: 10.21101/cejph.a3798. PMID: 24592729.

FAUSTINO RC, CHAVES M, TOLEDO MJO, MOTA LT, ANGELIS-NETO G, NANNI MR. 2008. Intervenções pedagógicas em educação para a saúde realizadas junto aos grupos indígenas Kaingang de Ivai e Faxinal no Paraná. Cienc Cuid Saude. 7; 6 (Suplem. 2): 433-441.

FAUSTO MC, OLIVEIRA IDE C, FAUSTO GC, CARVALHO LM, VALENTE FL, CAMPOS AK, ARAÚJO JV. *Ascaris suum* in pigs of the Zona da Mata, Minas Gerais State, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2015 Jul-Sep;24(3):375-8. doi: 10.1590/S1984-29612015047. Epub 2015 Aug 14. PMID: 26291146.

FONSECA REP, BARBOSA MCR, FERREIRA BR. High prevalence of enteroparasites in children from Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. Rev Bras Enferm [Internet]. 2017;70(3):566-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2016-0059>

FURTADO LFB, MEDEIROS CDS, ZUCCHERATO LW, ALVES WP, OLIVEIRA, VNGM, SILVA VJ, MIRANDA GS, FUJIWARA RT, RABELO EML. First identification of the benzimidazole resistance-associated F200Y SNP in the beta-tubulin gene in *Ascaris lumbricoides*. PLoS One. 2019;14(10):e0224108.

GASBARRE LC. 2014. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in the US. Vet Parasitol. 30;204(1-2):3-11.

GUTIÉRREZ RC. Clinical case: *Ascaris suum* infestation in straw bedding systems. 2012. Pigs health. 5741.

IÑIGUEZ AM, LELES D, JAEGER LH, CARVALHO-COSTA FA, ARAÚJO A; AMAZONAS RESEARCH GROUP. 2012. Genetic characterisation and molecular epidemiology of *Ascaris* spp. from humans and pigs in Brazil. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. Out; 106(10):604-12.

JARDIM-BOTELHO A, RAFF S, RODRIGUES RDE A, HOFFMAN HJ, DIEMERT DJ, CORRÊA-OLIVEIRA R, BETHONY JM, GAZZINELLI MF. Hookworm, *Ascaris lumbricoides* infection and polyparasitism associated with poor cognitive performance in Brazilian schoolchildren. Trop Med Int Health. 2008 Aug;13(8):994-1004. doi: 10.1111/j.1365-3156.2008.02103.x. Epub 2008 Jul 9. PMID: 18627581.

JESUDOSS CHELLADURAI J, MURPHY K, SNOBL T, BADER C, WEST C, THOMPSON K, BREWER MT. Molecular Epidemiology of *Ascaris* Infection Among Pigs in Iowa. *J Infect Dis*. 2017 Jan 1;215(1):131-138. doi: 10.1093/infdis/jiw507. Epub 2016 Oct 25. PMID: 28077590.

JOURDAN PM, LAMBERTON PHL, FENWICK A. Soil-transmitted helminth infections. *Lancet*.2018;391, p.252–265.

KARSHIMA SN. Prevalence and distribution of soil-transmitted helminth infections in Nigerian children: a systematic review and meta-analysis. *Infectious Disease Poverty*. 2018;7(1):69.

KATAKAM KK, THAMSBORG SM, DALSGAARD A, KYVSGAARD NC, MEJER H. Environmental contamination and transmission of *Ascaris suum* in Danish organic pig farms. *Parasit Vectors*. 2016; 9:80.

KATZ N, CHAVES A & PELLEGRINO J. 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 14:397-400.

KIM MK, PYO KH, HWANG YS, PARK KH, HWANG IG, CHAI JY, SHIN EH. Effect of temperature on embryonation of *Ascaris suum* eggs in an environmental chamber. *Korean J Parasitol*. 2012 Sep;50(3):239-42. doi: 10.3347/kjp.2012.50.3.239.

KÖSTER P C, MALHEIROS AF, SHAW JJ, BALASEGARAM S, PRENDERGAST A, LUCACCIONI H, MOREIRA LM, LEMOS LMS, DASHTI A, BAILO B, MARCILI A, SOARES HS, GENNARI SM, CALERO-BERNAL R, GONZÁLEZ-BARRIO D, CARMENA D. 2021. Multilocus Genotyping of *Giardia duodenalis* in Mostly Asymptomatic Indigenous People from the Tapirapé Tribe, Brazilian Amazon. *Pathogens* 10, no. 2: 206. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020206>

LELES D, ARAÚJO A, VICENTE ACP, IÑIGUEZ AM. Molecular diagnosis of ascariasis from human feces and description of a new *Ascaris* sp. genotype in Brazil. *Vet Parasitol*. 2009; 163:167–70

LELES, D, GARDNER, S L, REINHARD, K, ARAUJO A. 2012. Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* a single species? *Parasites Vectors*. 5: 42. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-42>

LENARTOVICZ-BOEIRA V, COLLI CM, CASAGRANDE L, RIGON FP, MARTELLI EC, PEDER LD, TOLEDO MJO. 2021. Tratamento em massa não reduz a prevalência de parasitas em escolares indígenas Guarani no Brasil. *Res, Soc and Develop*. S.l., v. 10, n.11, pág. e187101119524.

LUTZ A. 1919. O *Schistosomum mansoni* e a schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 11(1):121-55.

MBANGA CM, OMBAKU KS, FAI KN, AGBOR VN. Small bowel obstruction complicating an *Ascaris lumbricoides* infestation in a 4-year-old male: a case report. *J Med Case Reports* 13, 155 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13256-019-2103-y>

MIRANDA RA, XAVIER FB, MENEZES RC. 1998. Parasitismo intestinal em uma aldeia indígena Parakanã, sudeste do Estado do Pará, Brasil. *Cad Saude Publica*. 14(3):507-11.

MONTEIRO KJL, CALEGAR DA, SANTOS JP, BACELAR PAA, CORONATO-NUNES B, REIS ERC, BOIA MN, CARVALHO-COSTA FA, JAEGER LH. 2019. Genetic diversity of *Ascaris* spp. infecting humans and pigs in distinct Brazilian regions, as revealed by mitochondrial DNA. *PLoS ONE* 14(6): e0218867. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218867>

MOURA FT, FALAVIGNA DLM, MOTA LT, TOLEDO MJO. 2010. Enteroparasite contamination in peridomiciliar soils of two indigenous territories, State of Paraná, southern Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 27(6): 414–22.

NEJSUM P, ROEPSTORFF A, JØRGENSEN CB, FREDHOLM M, GÖRING HH, ANDERSON TJ, THAMSBORG SM. High heritability for *Ascaris* and *Trichuris* infection levels in pigs. *Heredity* (Edinb). 2009 Apr;102(4):357-64. doi: 10.1038/hdy.2008.131. Epub 2009 Jan 14. PMID: 19142203.

NEVES, DP. 2022. *Parasitologia Humana*. 14ª edição. São Paulo; Atheneu.

NISSEN S, POULSEN IH, NEJSUM P, OLSEN A, ROEPSTORFF A, RUBAIRE-AKIKI C, THAMSBORG SM. Prevalence of gastrointestinal nematodes in growing pigs in Kabale District in Uganda. *Trop Anim Health Prod*. 2011 Mar;43(3):567-72. doi: 10.1007/s11250-010-9732-x. Epub 2010 Nov 19. PMID: 21088893.

OISHI CY, KLISIEWICZ DR, SEGUÍ R, KÖSTER PC, CARMENA D, TOLEDO R, ESTEBAN JG, MUÑOZ-ANTOLI C. 2019. Reduced prevalence of soil-transmitted helminths and high frequency of protozoan infections in the surrounding urban area of Curitiba, Paraná, Brazil. *Paras Epid and Control*, Volume 7, e00115.

O'LORCAIN, P., & HOLLAND, C. 2000. The public health importance of *Ascaris lumbricoides*. *Parasitology*,121(S1), S51-S71. doi:10.1017/S0031182000006442

OKOYO C, CAMPBELL SJ, WILLIAMS K, SIMIYU E, OWAGA C, MWANDAWIRO C. Prevalence, intensity and associated risk factors of soil-transmitted helminth and schistosome infections in Kenya: Impact assessment after five rounds of mass drug administration in Kenya. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(10): e0008604.

PALMA A, ORTIZ B, MENDOZA L, MATAMOROS G, GABRIE JA, SÁNCHEZ AL, FONTECHA G. Molecular analysis of human- and pig-derived *Ascaris* in Honduras. *J Helminthol*. 2019 Mar;93(2):154-158. doi: 10.1017/S0022149X18000160. Epub 2018 Mar 5. PMID: 29502555.

PENG W, YUAN K, ZHOU X, HU M, EL-OSTA YG, GASSER RB. 2003. Molecular epidemiological investigation of *Ascaris* genotypes in China based on single-strand conformation polymorphism analysis of ribosomal DNA. *Electrophoresis*. 24:2308–15.

PENG W, YUAN K, HU M, GASSER RB. 2007. Recent insights into the epidemiology and genetics of *Ascaris* in China using molecular tools. *Parasitol*. Mar; 134 (3):325-330.

PLAYFORD MC, SMITH AN, LOVE S, BESIÉR RB, KLUVER P, BAILEY JN. Prevalence and severity of anthelmintic resistance in ovine gastrointestinal nematodes in Australia (2009-2012). *Aust Vet J*. 2014 Dec;92(12):464-71. doi: 10.1111/avj.12271. PMID: 25424758.

PULLAN RL, SMITH JL, JASRASARIA R, BROOKER, SJ. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasit Vectors*. 2014; 7:37.

RITCHIE, LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bulletin of the United States Army Medical Department*. 1948;(8):326

ROEPSTORFF A, MEJER H, NEJSUM P, THAMSBORG SM. Helminth parasites in pigs: new challenges in pig production and current research highlights. *Vet Parasitol*. 2011 Aug 4;180(1-2):72-81. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.05.029. Epub 2011 May 27. PMID: 21684689.

SADAOWL, SANPOOL O, PHOSUK I. 2018. Molecular identification of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* recovered from humans and pigs in Thailand, Lao PDR, and Myanmar. *Parasitol Res* 117, 2427–2436.

SANTAMARÍA, FT. *Urbanorum* spp. 2013. Santander: Catedra Libre UIS. <http://www.buenastareas.com/ensayos/Urbanorum-Spp/70918639.html>

SANTOS, R V. 1994. Saúde e povos indígenas. Organizado por Ricardo V. Santos, Carlos E. A. Coimbra Jr. — Rio de Janeiro: Fiocruz.

SANTOS, T R. Padronização e aplicação de uma reação em cadeia da polimerase espécie-específica para diferenciação entre as espécies *Ascaris lumbricoides* e *Ascaris suum*. 2021. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

SAVIOLI L.; SMITH H; THOMPSON A. 2006. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the “Neglected diseases initiative. *Trends Parasitol*. 22:203-8.

SCOLARI C. 2000. Prevalence and distribution of soil transmitted helminth (STH) infections in urban and indigenous schoolchildren in Ortigueira, State of Parana, Brazil: implications for control. *Trop Med Intern Health*. 5(4); 302-307.

SILVA JB, PIVA C, FALAVIGNA-GUILHERME AL, ROSSONI, DF, TOLEDO MJO. 2016. Spatial distribution and enteroparasite contamination in peridomiciliar soil and water in the Apucarantina Indigenous Land, southern Brazil. *Environ Monit Assess*. Apr; 188(4):217.

SILVA TED, BARBOSA FS, MAGALHÃES LMD, GAZZINELLI-GUIMARÃES PH, DOS SANTOS AC, NOGUEIRA DS, RESENDE NM, AMORIM CC, GAZZINELLI-GUIMARÃES AC,

VIANA AG, GEIGER SM, BARTHOLOMEU DC, FUJIWARA RT, BUENO LL. Unraveling *Ascaris suum* experimental infection in humans. *Microbes Infect.* 2021 Sep-Oct;23(8):104836. doi: 10.1016/j.micinf.2021.104836. Epub 2021 May 19. PMID: 34020024.

SILVA NR, BROOKER S, HOTEZ PJ. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends Parasitol.* 2003; 19:547–551.

SIMÕES BS, MACHADO-COELHO GLL, PENA JL, FREITAS SN. Condições ambientais e prevalência de infecção parasitária em indígenas Xukuru-Kariri, Caldas, Brasil. *Rev Panam Salud Publica.* 2015;38(1):42–8.

SPARKS AM, BETSON M, OVIEDO G, SANDOVAL C, COOPER PJ, STOTHARD JR. Characterization of *Ascaris* from ecuador and zanzibar. *J Helminthol.* 2015 Jul;89(4):512-5. doi: 10.1017/S0022149X14000431. PMID: 26017334; PMCID: PMC4657061.

TAKATA I. Experimental infection of man with *Ascaris* of man and the pig. *Kitasato Arch Exp Med.* 1951;23(4):151-59.

TEIXEIRA, PA. Conhecimentos sobre parasitoses intestinais como estratégia para subsidiar ferramentas de educação em saúde. 2016. 81 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2016.

THAMSBORG SM, NEJSUM P, MEJER H. Impact of *Ascaris suum* in livestock. In: Holland C, ed. *Ascaris the neglected parasite.* London: Academic Press, 2013.

TOLEDO MJO, PALUDETTO AW, MOURA FT, NASCIMENTO ES, CHAVES M, ARAÚJOSM, MOTA LT. 2009. Avaliação de atividades de controle para enteroparasitos em uma aldeia Kaingáng do Paraná. *Rev Saúde Pública.* 43(6):981-90.

VILLAFUERTE RIM, COLLADO LAZ, VELARDE CN. 2016. *Urbanorum* spp. in Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 33: 593–95.

VIEIRA GO, SANTOS RV, COIMBRA JR CEA. 2005. Parasitismo intestinal em populações indígenas no Brasil: uma revisão sistemática da literatura científica. Porto Velho: Centro de Estudos em Saúde do Índio de Rondônia.

UDA-SHIMODA C, COLLI C M, PAVANELLI M, FALAVIGNA-GUILHERME A L, GOMES M. 2013. Simplified protocol for DNA extraction and amplification of 2 molecular markers to detect and type *Giardia duodenalis*. *Diagnostic microbiology and infectious disease.* Jan;78(1):53-8.

UMETSU S, SOGO T, IWASAWA K, KONDO T, TSUNODA T, OIKAWA-KAWAMOTO M, KOMATSU H, INUI A, FUJISAWA T. Intestinal ascariasis at pediatric emergency room in a developed country. *World J Gastroenterol.* 2014 Oct 14;20(38):14058-62. doi: 10.3748/wjg.v20.i38.14058. PMID: 25320546; PMCID: PMC4194592.

ZHAO J, WILLIAMS AR, HANSEN TVA, THAMSBORG SM, CAI J, SONG S, CHEN G, KANG M, ZHANG Z, LIU Q, HAN Q. An in vitro larval migration assay for assessing anthelmintic activity of different drug classes against *Ascaris suum*. *Vet Parasitol.* 2017 Apr 30; 238:43-48. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.03.014.

ZHU X, CHILTON NB., JACOBS DE. Characterisation of *Ascaris* from human and pig hosts by nuclear ribosomal DNA sequences. *Int. J. Parasitol.* 1999;29, 469–478.

ZHU X, GASSER RB, JACOBS DE, HUNG GC, CHILTOIN NB. Relationships among some ascaridoid nematodes based on ribosomal DNA sequence data. *Parasitol Res.* 2000; 86(9):738-44.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. WHO. 2010.

## CAPÍTULO II

ARTIGO:

**Epidemiologia molecular de *Ascaris* sp em humanos, suínos e solo de uma aldeia Guarani no sul do Brasil**

*Este artigo será submetido ao periódico PLOS Neglected Tropical Diseases*

**Epidemiologia molecular de *Ascaris* sp em humanos, suínos e solo de uma  
aldeia Guarani no sul do Brasil**

*Veridiana Lenartovicz Boeira*<sup>1,2</sup>, *Marina Silva de Carvalho*<sup>2</sup>, *Rinaldo Ferreira Gandra*<sup>2</sup>, *Ana Paula de Abreu*<sup>3</sup>, *Renata Coltro Bezagio*<sup>3</sup>, *Cristiane Maria Colli*<sup>1</sup>, *Max Jean de Ornelas Toledo*<sup>1,3\*</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.
2. Curso de Farmácia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, Paraná, Brasil.
3. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde –Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.

\* Autor de correspondência

[mjotoledo@uem.br](mailto:mjotoledo@uem.br)

Av. Colombo, 5790 - Zona 7 Departamento de Ciências Básicas da Saúde

Laboratório de Parasitologia

87020-900, Maringá – Paraná – Brasil.

**Epidemiologia molecular de *Ascaris* sp em humanos, suínos e solo de uma  
aldeia Guarani no sul do Brasil**

Veridiana Lenartovicz Boeira	a,b,c,d,e,f,h,k,m	0000-0001-5192-1625
Marina Silva de Carvalho	b	0000-0001-6440-9057
Rinaldo Ferreira Gandra	b,c	0000-0001-9586-7253
Ana Paula de Abreu	b	0000-0002-9497-8020
Renata Coltro Bezagio	b,f	0000-0001-9935-0972
Cristiane Maria Colli	a,b,e,f,j,k,m,n	0000-0002-6899-7519
Max Jean de Ornelas Toledo	a,d,e,g,i,j,n	0000-0001-6314-8668

- a. Conceituação
- b. Curadoria de dados
- c. Análise formal
- d. Aquisição de financiamento
- e. Investigação
- f. Metodologia
- g. Administração de projetos
- h. Recursos
- i. Programas
- j. Supervisão
- k. Validação
- l. Visualização
- m. Redação - Preparação do rascunho original
- n. Redação – Revisão e edição

## **Epidemiologia molecular de *Ascaris* spp em humanos, suínos e solo de uma aldeia Guarani no sul do Brasil**

*Veridiana Lenartovicz Boeira*<sup>1,2</sup>, *Marina Silva de Carvalho*<sup>2</sup>, *Rinaldo Ferreira Gandra*<sup>2</sup>, *Ana Paula de Abreu*<sup>3</sup>, *Renata Coltro Bezagio*<sup>3</sup>, *Cristiane Maria Colli*<sup>1</sup>, *Max Jean de Ornelas Toledo*<sup>1,3</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.
2. Curso de Farmácia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, Paraná, Brasil.
3. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde –Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.

### **Resumo**

Como é sabido na literatura, *Ascaris lumbricoides* é um parasito humano que infecta bilhões de pessoas em todo o mundo e *Ascaris suum* é um parasito de suínos que afeta milhões de animais. A investigação epidemiológica molecular do gênero *Ascaris* tem estimulado pesquisas desde que a infecção cruzada entre os hospedeiros foi reportada. Estudou-se a dinâmica da transmissão de *Ascaris* em população indígena Guarani de uma aldeia do Paraná, Sul do Brasil. Realizaram-se análises de amostras fecais humanas, de suínos e de solo da aldeia por métodos parasitológicos e moleculares para determinar possíveis fatores de risco para infecção. Nas análises parasitológicas das amostras fecais humanas a positividade para *Ascaris* foi de 7,0% (6/86), em amostras fecais de suínos 44,4% (10/18) foram positivas para *Ascaris*. No solo, em 11,8% (8/68) amostras havia ovos de *Ascaris* sp. Na análise molecular por PCR do gene ITS1 com amostras positivas no parasitológico, os resultados obtidos mostraram infecção cruzada pelas duas espécies de nematóides, *A. lumbricoides* e *A. suum*, nos hospedeiros humanos e suínos da aldeia indígena Guarani no Sul do Brasil. Além dos hospedeiros, o solo apresentou contaminação por fezes humanas e suínas, com positividade para as duas espécies de *Ascaris*, com amostras puras e mistas geneticamente, confirmando ser fonte de infecção para ambos os hospedeiros, como demonstrado pelos resultados das PCR. Medidas de controle mais eficazes e direcionadas ao descarte correto de fezes animais e humanas podem ser implementadas, resultando em melhorias nas condições de vida dessa população.

**Palavras-chave:** *Ascaris* sp, biologia molecular, ITS1, populações indígenas.

## **Molecular epidemiology of *Ascaris* sp. in humans, swine and soil from a Guarani indigenous village in southern Brazil**

Veridiana Lenartovicz Boeira<sup>1,2</sup>, Marina Silva de Carvalho<sup>2</sup>, Rinaldo Ferreira Gandra<sup>2</sup>, Ana Paula de Abreu<sup>3</sup>, Renata Coltro Bezagio<sup>3</sup>, Cristiane Maria Colli<sup>1</sup>, Max Jean de Ornelas Toledo<sup>1,3</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.
2. Curso de Farmácia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, Paraná, Brasil.
3. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde –Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná, Brasil.

### **Abstract**

As is known from the literature, *Ascaris lumbricoides* is a human parasite that infects billions of people worldwide and *Ascaris suum* is a swine parasite that affects millions of animals. Molecular epidemiological investigation of the genus *Ascaris* has stimulated research since cross-infection between hosts was reported. We studied the dynamics of *Ascaris* transmission in a Guarani indigenous population from a village in Paraná, Southern Brazil. Parasitological and molecular analyses of human, pig and village soil fecal samples were performed to determine possible risk factors for infection. In the parasitological analyses of human fecal samples the positivity for *Ascaris* was 7.0% (6/86), in swine fecal samples 44.4% (10/18) were positive for *Ascaris*. In the soil, 11.8% (8/68) samples contained eggs of *Ascaris* sp. In the molecular analysis by PCR of the ITS1 gene with positive parasitological samples, the results showed cross infection by both species of nematodes, *A. lumbricoides* and *A. suum*, in the human and swine hosts of the Guarani Indian village in southern Brazil. In addition to the hosts, the soil showed contamination by human and swine feces, with positivity for both *Ascaris* species, with genetically pure and mixed samples, confirming it to be a source of infection for both hosts, as shown by PCR results. More effective control measures directed to the correct disposal of animal and human feces can be implemented, resulting in improvements in the living conditions of this population.

**Key words:** *Ascaris* sp, molecular biology, ITS1, indigenous populations.

## Introdução

*Ascaris lumbricoides* é o geo-helminto mais prevalente em regiões endêmicas para geohelmintos, cosmopolita de ampla distribuição geográfica, infectando cerca de 447 milhões de indivíduos, com taxas de infecção acima de 20%, em regiões da Ásia, África Sub-Sahariana e América Latina (Pullan et al., 2014; GBD 2017, 2018; Okoyo et al., 2020). Nestas regiões, a alta prevalência de helmintíases está intimamente relacionada às condições de saneamento básico e práticas de higiene precárias, condições estas diretamente associadas à pobreza, além dos fatores climáticos que favorecem o ciclo biológico do parasito (Lai et al., 2019). Apesar dos casos de ascaridíase majoritariamente não evoluírem para o óbito, essa doença acarreta cerca de 604 mil anos de vida vividos com deficiência (YLDs), consistindo em um sério problema econômico e de saúde nos países afetados (WHO, 2010; GBD 2017, 2018).

Há estimativas de um elevado percentual de infecção por parasitos intestinais nos rebanhos suínos em todo o mundo, principalmente entre suínos criados em sistemas de produção animal extensivos e orgânicos quando comparados aos sistemas de produção animal industrializados. Nestes rebanhos, uma das espécies de parasito mais reportadas é o helminto *Ascaris suum*, descrito por Goeze (1782) (Roepstorff et al., 2011; Nissen et al., 2011; Thamsborg et al., 2013; Katakam et al., 2016).

As espécies *A. lumbricoides* e *A. suum* já foram consideradas crípticas por possuírem grande semelhança biológica e morfológica, sendo possível diferenciá-las, apenas por diferenças nos dentículos labiais dos helmintos adultos observados somente através do uso de microscopia eletrônica de

varredura. A identificação espécie-específica, através da visualização dos ovos por microscopia óptica é impossível, uma vez que estes são morfologicamente idênticos (Ansel e Thibaut, 1973; Leles et al., 2012; Barbosa, 2015a).

O real cenário da ascaridíase humana e suína, em regiões endêmicas e não-endêmicas, permanece uma incógnita e uma pergunta difícil de ser respondida pelos métodos coproparasitológicos convencionais. No âmbito da ascaridíase, análises comparativas do DNA ribossomal (rDNA) compreendendo a região ITS-1 (*Internal Transcribed Spacer – 1*), mostrou que ela possui deleções em determinadas posições na sequência de *A. lumbricoides* e polimorfismos em certas posições no alinhamento entre as duas espécies, totalizando seis posições nucleotídicas divergentes. A soma desses fatores resulta em uma divergência genética de 1,3% entre as sequências nucleotídicas de ITS-1 de *A. lumbricoides* e *A. suum*, com uma variação de até 0,2% dentro do táxon, permitindo diferenciá-las (Zhu et al., 1999; Sadaow et al., 2018; Palma et al., 2019).

A prevalência de enteroparasitoses na população indígena brasileira continua sendo de moderada a alta, mesmo após a implantação de atividades de controle como: melhorias habitacionais, canalização e tratamento da água, e tratamento antiparasitário da população (Faustino et al., 2008; Ministério da Saúde, 2018; Köster et al., 2021). Portanto, a redução da morbi-mortalidade devida aos enteroparasitos nesta população ainda continua sendo um desafio para as autoridades sanitárias.

Buscou-se analisar a dinâmica da transmissão de *Ascaris* sp. na população de uma aldeia indígena Guarani do Paraná, Sul do Brasil, através da

identificação e genotipagem dos isolados obtidos de amostras de fezes humanas, de suínos e de solo da aldeia por meio de técnicas parasitológicas e de biologia molecular.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Aspectos éticos**

Este estudo foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP através do Parecer 1.756.060/2016 (Anexo 1), sendo a participação na pesquisa condicionada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Anexo 2) pelos pais ou responsáveis. A pesquisa foi autorizada por lideranças indígenas locais e pelo Distrito Sanitário Especial Indígena (DSEI) Litoral Sul (Anexo 3).

### **Área de estudo**

No Estado do Paraná, localizado na região Sul do Brasil, vivem cerca de 13.000 indígenas, distribuídos em 23 terras indígenas/aldeias correspondendo a uma área de 85.264,30 hectares de terra, e pertencentes a três etnias: Guarani, Kaingang e alguns remanescentes Xetá (Secretaria da Educação do Paraná, 2022). A Terra Indígena Ocoy, nominada Aldeia de Santa Rosa do Ocoy, é habitada por indígenas da etnia Guarani e está situada no Município de São Miguel do Iguçu, oeste do Paraná (25° 20' 50" S; 54° 14' 6" W).

A referida aldeia encontra-se situada no distrito de Santa Rosa do Ocoy, a 14 quilômetros de distância do núcleo urbano de São Miguel do Iguçu,

denominada por Aldeia Indígena Tekoha Ocoy, a qual abrange um território com cerca de 250 hectares (Figura 1). O aldeamento recebe assistência da Fundação Nacional do Índio (FUNAI), da Fundação Nacional da Saúde (FUNASA), da Hidroelétrica Binacional de Itaipu e da Prefeitura de São Miguel do Iguçu. Utilizam como forma de comunicação a língua portuguesa e o guarani. A comunidade indígena está situada a beira do lago de Itaipu, as residências circundam o lago, divididas em núcleos, conforme parentesco entre as famílias, sendo as moradias de alvenaria, de madeira e de sapê com telhado em palha. Conta com espaços comunitários, dentre eles a casa de reza, campos de futebol, galpão para encontros e reuniões, uma Escola Municipal, uma Escola Estadual e uma Unidade Básica de Saúde (Maldaner, 2018).

### **População**

A Aldeia de Santa Rosa do Ocoy é habitada por cerca de 500 pessoas da etnia Guarani, distribuídas em 106 domicílios com uma concentração da população nas idades mais jovens. A população de estudo foi a de crianças em idade escolar, considerando a faixa etária entre 5 e 19 anos (TOLEDO et al., 2009). Cerca de 50% da população, tem idade inferior a 14 anos, o que é uma característica comum aos povos indígenas do Brasil (IBGE, 2012).

Na escola indígena local, Colégio Indígena Teko Nemoingo, há cerca de 270 alunos matriculados, sendo atendidos crianças e adolescentes, desde o berçário até o ensino médio. Todos os alunos matriculados na escola foram convidados a participar da pesquisa.

## **Coleta das amostras**

A coleta de amostras fecais foi realizada pelos pais, responsáveis ou pelas próprias crianças e adolescentes quando estes já tinham idade suficiente para entender e proceder corretamente a coleta sozinhos. Frascos coletores devidamente identificados com o nome dos participantes foram entregues juntamente com instruções verbais e por escrito de como proceder a coleta, a todas as crianças da escola, com a ajuda de agentes indígenas de saúde (AIS) da comunidade. Os frascos com amostras foram recolhidos e acondicionados em caixas térmicas com gelo artificial reutilizável (gelox) e, em até 24 horas, encaminhados ao Laboratório de Parasitologia Clínica da Universidade do Oeste do Paraná (UNIOESTE), localizado no Laboratório de Ensino, Pesquisa e Extensão (LACEPE) situado no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), em Cascavel.

As amostras de fezes dos animais foram coletadas de forma aleatória, a partir de evacuações frescas no peridomicílio e próximas a locais de circulação de pessoas, colocadas em frascos coletores devidamente identificados, acondicionados em caixas térmicas com gelo artificial e encaminhadas para análise ao mesmo laboratório.

Foram coletados de cada ponto aproximadamente 50 g de solo, a 5 cm de profundidade. Com o intuito da amostragem ter maior significância, levou-se em consideração as diferentes condições climáticas e de umidade que poderiam influenciar os resultados. Sendo assim, dos mesmos pontos, a coleta foi repetida nas quatro estações do ano. Os locais de coleta foram determinados respeitando-se um perímetro de 10 metros em volta de cada local de coleta,

sendo escolhidos locais próximos a escola, residências com animais criados no peridomicílio, residências de diferentes locais dentro da área da aldeia.

As amostras foram acondicionadas em frasco de coleta universal, com a devida identificação de data e dos locais de coleta, transportadas e encaminhadas para análise da mesma forma que as amostras de fezes. Não foi utilizado conservante para nenhum tipo de amostra coletada.

### **Análise parasitológicas**

As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Parasitologia Clínica da UNIOESTE. Quando não era possível a análise imediata, as amostras foram conservadas sob refrigeração por, no máximo, dois dias.

Amostras fecais de humanos (n=86) e de suínos (n=18) foram coletadas apenas uma vez. Todos os participantes receberam um frasco de polipropileno com tampa de parafuso, limpo, rotulado e sem conservantes, e as instruções sobre como coletar e identificar o material fecal. As amostras foram processadas por sedimentação espontânea em água e 3 mL do sedimento fecal foi submetido ao método de Ritchie adaptado por Bezagio e colaboradores (2021). O sedimento obtido foi examinado por microscopia óptica.

As amostras de solo (n=68) foram subdivididas em duas partes, uma delas foi processada pelo mesmo método parasitológico usado nas amostras de fezes e a outra parte foi armazenada para um eventual reprocessamento em caso de resultado duvidoso, perda da amostra ou necessidade de reavaliação do método.

As lâminas foram confeccionadas e coradas com lugol, a leitura foi realizada em microscópio OLYMPUS CX31® com objetiva de 10x e confirmação das estruturas em aumento de 400x. A existência de ovos, larvas ou cistos de parasitos foi considerada como resultado positivo, independentemente da quantidade presente.

### **Tratamento de amostras solo para análises moleculares**

O solo da aldeia indígena pesquisada é classificado como argiloso, sendo de difícil concentração (Brant de Carvalho, 2004). Para diminuir sujidades e reduzir interferentes, foi realizado o protocolo de concentração e purificação do Ministério da Saúde (2020), onde 10 gramas de amostra é misturado a glicina 1 M até 40 mL, homogeneizado por 30 min a 20 rpm, completado até 50 mL com glicina 1 M e deixado repousar por 5 minutos. O sobrenadante era repassado para outro tubo, centrifugado a 2.100 x g por 10 minutos, e o sedimento acondicionado em microtubos sob refrigeração (4 °C), antes da extração de DNA.

### **Análises moleculares**

A pesquisa de material genético de *Ascaris* foi realizada em todas as amostras, com resultados positivos e negativos na microscopia, além de um controle positivo e um controle negativo.

O mesmo procedimento foi adotado para análises de amostras de fezes humanas, fezes de suínos e de solo.

*Extração do DNA e amplificação dos fragmento ITS1:*

O DNA foi extraído de todas as amostras de solo e de fezes animais com resultados positivos ou negativos em microscopia, de todas as amostras humanas positivas (4/78) e do triplo de amostras humanas negativas selecionadas aleatoriamente (12/78). *ITS1* foi amplificado a partir dessas amostras. Do sedimento obtido no método de Ritchie adaptado por Bezagio et al (2021), 1,5 mL foram tratados por ultrassom a 50 Hz por 30" a 4 °C, repetidos por 4 vezes, com intervalo de 1 min entre os ciclos, para rompimento da membrana do ovo de *Ascaris*, favorecendo assim a extração.

Em seguida, o DNA foi extraído com o kit comercial PureLink PCR Purification Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. Este kit foi testado pela primeira vez para a extração de DNA de *Ascaris* e comparado com o kit mais utilizado para a extração, o QIAmp® DNA fezes mini kit (Qiagen, Hilden, Alemanha).

O fragmento de aproximadamente 580 pb do *ITS1* foi amplificado com os iniciadores F2662 5'-GGCAAAGTCGTAACAAGGT-3' e R3214 5'-CTGCAATTCGCACTATTTATCG-3' de acordo com Ishiwata e colaboradores (2004). Cada reação de amplificação foi realizada em um volume final de 10 µL, contendo tampão de reação 1 X (200 mmol/L Tris-HCl pH 8,4, 500 mmol/L KCL), 2,5 mmol/L de MgCl<sub>2</sub>, 1 U de Platinum® *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen), 200 µmol/L de desoxiribonucleotídeos fosfato (DNTP), 2 pmol de cada *primer*, água Milli-Q estéril e 2 µL de DNA. As condições de amplificação foram usadas conforme Sadaow e colaboradores (2018): Pré-incubação a 95 °C por 5 min, seguida de 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 30 s, e extensão final a 72 °C por 10 min.

Genotipagem: três primers foram utilizados em uma mesma reação, sendo dois primers *forward* específicos (F.AI específico para *A. lumbricoides* e F.As específico para *A. suum*) e o primer *reverse* R.both, que se anela a uma região comum a ambas. A amplificação de material genético de *A. lumbricoides* resulta em um fragmento de 384 pb, com a combinação dos primers F.AI + R.both enquanto, para *A. suum*, a combinação F.As + R.both resulta em um fragmento de 176 pb. Essa técnica permitiu que em uma mesma reação, ambas as espécies possam ser detectadas. Foram realizadas PCRs convencionais, em volume final de 10 µl, contendo tampão de reação 1 X (200 mmol/L Tris-HCl pH 8,4, 500 mmol/L KCL), 2,5 mmol/L de MgCl<sub>2</sub>, 1 U de Platinum® Taq DNA polymerase (Invitrogen), 200 µmol/L de desoxiribonucleotídeos fosfato (DNTP), 2 pmol de cada *primer*, água Milli-Q estéril e 5 µL do DNA da primeira reação. As amplificações foram realizadas seguindo o seguinte programa: 95 °C por 5 min para desnaturação inicial da dupla fita de DNA, 30 ciclos a 95 °C por 30 s, 60 °C por 45 s, seguido de 72 °C por 45 s e um passo final de extensão a 72 °C por 8 min (SANTOS, 2021).

Em todas as reações foram utilizados como controle positivo DNA de *A. lumbricoides* extraído e fornecido gentilmente pelo Dr. Cristiano Lara Massara do Laboratório de Helminologia do Instituto René Rachou, FIOCRUZ-MG, como controle negativo ANA de *Ascaris suum* extraído de amostras de vermes adultos de suínos, e como controle negativo foi utilizada água Milli-Q no lugar de DNA.

Os produtos dessas reações foram visualizados em gel de poliacrilamida a 5%, corados com prata e fotografados digitalmente.

## RESULTADOS

Participaram da pesquisa escolares com idades entre 5 e 19 anos, matriculados na escola indígena da aldeia. Todos os alunos foram convidados a participar da pesquisa, mas 86 frascos de amostra fecal dos escolares Guarani retornaram, correspondendo a 30,5% dos escolares. Três amostras foram excluídas do estudo por apresentarem quantidade insuficiente de material para a realização das análises. Apenas uma amostra de cada criança foi coletada devido a pandemia de SARS – COVID 19, que impossibilitou o acesso á aldeia indígena por um longo período de tempo. A prevalência total de parasitos intestinais foi 81,9% (68/83) e de poliparasitismo 47,0% (39/83) e 7% das amostras positivas eram de *Ascaris* sp. (Tabela 1).

As amostras de solo foram coletadas em 68 locais e destes, 52 (76,5%) apresentaram positividade para pelo menos uma espécie de parasito intestinal com potencial zoonótico de infecção para humanos, sendo 16,2% positivas para *Ascaris* sp, conforme a Tabela 2.

As amostras fecais de suínos foram coletadas em dois momentos. Em março de 2020, início da pandemia da Covid-19, e posteriormente em julho de 2022, totalizando 18 amostras. Esses animais se encontravam no peridomicílio das residências, sendo mantidos em chiqueiros fechados com acesso restrito às áreas próximas das casas. A prevalência e as espécies de parasitos nas amostras fecais dos animais é mostrada na Tabela 3, sendo que 55,6% foram positivas para *Ascaris* sp.

Na extração de DNA de *Ascaris* a partir das amostras positivas para este parasito, para ser utilizado na genotipagem, foram testados protocolos seguindo as instruções dos fabricantes, com e sem rompimento da membrana do ovo.

Amoah e colaboradores (2020) mostram que o rompimento da membrana dos ovos de *Ascaris* sp melhora a extração de DNA devido a exposição do seu conteúdo (Figura 2).

Através de um experimento piloto, fez-se a comparação da eficiência na extração de DNA de *Ascaris* do kit PureLink PCR Purification® (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), com e sem sonicação prévia, com o kit QIAmp® DNA mini kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), que é o mais utilizado para extração de DNA de amostras fecais. A comparação dos métodos de extração utilizando os três protocolos, com e sem a sonicação prévia, foi realizada após eletroforese e visualização dos produtos da PCR em gel de poliacrilamida a 5% (Figura 3). Os resultados mostraram que os três métodos de extração/purificação de DNA são eficientes, com diferenças na intensidade das bandas no gel e o kit PureLink sem sonicação apresentando banda de menor intensidade.

A partir dos produtos de PCR que foram obtidos de amostras fecais de humanos e de animais e de amostras de solo, foi realizada a genotipagem de modo a verificar a presença de DNA de *A. lumbricoides* e *A. suum* nos diferentes materiais biológicos analisados, que correspondem aos elos de transmissão desses parasitos (Figura 4).

As análises moleculares por PCR da região ITS1 das amostras positivas no exame parasitológico, mostraram que as três amostras de fezes humanas analisadas apresentaram banda de aproximadamente 396 pb característica da espécie *A. lumbricoides*. Entre as amostras de suínos analisadas três apresentaram a banda de aproximadamente 176 pb característica da espécie *A. suum* e uma amostra apresentou, ao mesmo tempo, uma banda de aproximadamente 384 pb característica da espécie *A. lumbricoides* e uma banda

de aproximadamente 176 pb característica da espécie *A. suum*, sugerindo infecção mista. Duas amostras de solo apresentaram banda de aproximadamente 384 pb específica de *A. lumbricoides*, duas amostras apresentaram banda de aproximadamente 176 pb como a de *A. suum* e duas amostras apresentaram ambas as bandas. Sugerindo que estas duas últimas amostras de solo apresentavam DNA de ambas as espécies. Algumas amostras representativas desses resultados são apresentadas na Figura 5.

Todas as amostras que positivas no exame parasitológico também apresentaram resultado positivo na PCR ITS1 (Tabela 4). Pode-se observar ainda, que do total de amostras positivas, 23,3% (3/7) das amostras de fezes de humanos, 12,5% (1/8) das amostras de fezes de suínos e 40% (2/5) amostras de solo, apresentaram os dois genótipos ao mesmo tempo, *Al* e *As*.

## **DISCUSSÃO**

Este é o primeiro estudo que busca fornecer informações que ajudem a conhecer as espécies de *Ascaris* sp em aldeia Guarani no Sul do Brasil e aumentar o conhecimento sobre a circulação desse patógeno entre humanos e suínos nesse ambiente.

A ascaridíase humana trata-se de um sério problema de saúde pública nos países em desenvolvimento (Ministério da Saúde, 2018). O ciclo biológico do parasito é favorecido pela deficiência de saneamento básico, práticas de higiene precárias e população vivendo na pobreza, que junto a condições climáticas, contribuem para elevados níveis de prevalência, sobretudo em crianças em idade escolar (Anuar et al., 2014; Pullan et al., 2014; Lai et al., 2019; Okoyo et al., 2020).

Em virtude de dados crescentes de ascaridíase humana nos países desenvolvidos, onde os casos de infecção em humanos eram baixos ou inexistentes, o quadro epidemiológico desta parasitose no mundo tem mostrado algumas mudanças consideráveis (Arizono et al., 2010; Avery et al., 2018). Quando descartada a infecção de humanos durante viagens ou por residência em áreas endêmicas, a contaminação com o material fecal de suínos tem sido apontada como a principal fonte de infecção. Esses relatos apontam fortemente para o potencial zoonótico de *A. suum* (Roepstorff et al., 2011; Miller et al., 2015; Taus et al., 2019) e já foi demonstrada a capacidade de *A. suum* desenvolver infecção em humanos experimentalmente infectados (Silva et al., 2021).

Os métodos rotineiramente empregados para o diagnóstico não permitem uma identificação em nível de espécie devido à morfologia indistinguível dos ovos de *Ascaris*, sendo o resultado inferido com base na espécie hospedeira em análise e pela epidemiologia da região (Chaves et al., 2015; Korzeniewski, 2016; Inocencio da Luz et al., 2017).

Com isso, há pesquisas que buscam a aplicação de uma técnica molecular que possibilite a identificação das espécies de *Ascaris* a partir de DNA de um único ovo, com adaptação na técnica, a qual consiste no uso de três *primers* em uma mesma reação, sendo, geralmente, dois *primers* específicos (um para cada alelo) e um *primer* em comum (Avanus & Altinel, 2017; Lefever et al., 2019; Santos et al., 2021).

Os resultados mostraram que os três métodos de extração/purificação de DNA são eficientes, com diferenças na intensidade das bandas no gel e o kit PureLink, sem sonicação, apresentando banda de menor intensidade. A sonicação anteriormente a extração favorece o processo, visto que os ovos de

*Ascaris* sp, possuem três membranas que favorecem a manutenção do parasito intacto frente às alterações do ambiente, dando grande resistência a essas formas (Neves, 2022).

Pesquisas mostram que regiões não endêmicas, usualmente apresentam níveis elevados de infecção cruzada, sendo os humanos, infectados por *Ascaris* derivados de suínos e uma porcentagem elevada de híbridos também tem sido relatada, sendo a ascaridíase nessas regiões caracterizada como uma zoonose (Anderson, 1995; Nejsun et al., 2009; Arizono et al., 2010; Betson et al., 2014).

Os resultados encontrados neste estudo mostram que 42,8% das amostras de fezes de humanos positivas apresentaram ambas as espécies (*Al* e *As*) sugerindo a ocorrência da transmissão suíno-humano de *Ascaris* em elevada proporção dos indivíduos. Diferentes de outros estudos os quais demonstram que, em regiões endêmicas, os casos de infecção humana são resultantes da transmissão humano-humano (Anderson, 1993; Sadaow et al., 2018).

Todavia, há descrições de 54 haplótipos e genótipos dominantes em *Ascaris* advindos de um dado hospedeiro, revelando uma afiliação hospedeira em populações simpátricas de regiões endêmicas (Peng et al., 2003; Peng et al., 2005; Betson et al., 2014; Monteiro et al., 2019).

Foi possível, neste estudo, identificar e diferenciar as espécies *Ascaris* sp de através de ITS1 em amostras de fezes humanas e de suínos, como também no solo, possibilitando a verificar o acontecimento de infecção cruzada na aldeia. O uso de diferentes marcadores moleculares em estudos epidemiológicos pode gerar resultados e conclusões divergentes, mesmo tendo sido aplicados nas mesmas amostras, como bem evidenciado por Sparks et al. (2015). Estes autores, ao realizar a genotipagem de helmintos adultos oriundos do Zanzibar,

na África, tendo como alvo a região ITS-1, detectaram um caso de infecção cruzada por *A. suum*. Por outro lado, Betson et al. (2014), tendo como alvo loci de microsatélites, não detectaram casos de infecção cruzada por *A. suum* ao analisar as mesmas amostras. Este conceito é especialmente importante em trabalhos que visam compreender a distribuição de haplótipos e a frequência de híbridos na população de *Ascaris* em uma dada região, pois análises com diferentes marcadores e metodologias têm gerado diferentes resultados (Criscione et al., 2007; Betson et al., 2011; Monteiro et al., 2019).

O status taxonômico de *A. lumbricoides* e *A. suum* permanece incerto em virtude da considerável similaridade entre os caracteres utilizados para diferenciação entre as espécies, apesar dos avanços nas análises moleculares, trazendo à tona a longa discussão se estas não seriam uma mesma espécie (Zhu et al., 2000; Leles et al., 2012; Betson et al., 2016).

A região ITS-1 foi utilizada como alvo molecular de escolha nesta pesquisa por ser uma região de múltiplas cópias no genoma do parasito e por possuir polimorfismos de base única (SNPs) bem caracterizados entre as duas espécies, sendo que na posição nucleotídica 133 há uma guanina na sequência de *A. lumbricoides* e uma citosina na sequência de *A. suum*; na posição 246 há uma timina na sequência de *A. lumbricoides* e uma adenina na sequência de *A. suum*; enquanto na posição 323 há uma adenina em *A. lumbricoides* e uma guanina em *A. suum* (Blouin, 2002; Arizono et al., 2010; Sadaow et al., 2018).

Os resultados das análises moleculares confirmaram os resultados das análises microscópicas e mostraram que as amostras analisadas neste estudo demonstraram um padrão de transmissão entre as espécies hospedeiras. Corroborando com os resultados das análises realizadas por outros grupos de

pesquisadores que utilizando marcadores de DNAMt e microssatélites, analisaram o compartilhamento de haplótipos e genótipos de *Ascaris* entre populações humanas e de suínos brasileiras, indicando que a infecção cruzada está ocorrendo em algumas regiões (Leles et al., 2009; Iñiguez et al., 2012; Monteiro et al., 2019).

No nosso estudo, a PCR da região ITS1 não detectou DNA de *Ascaris* em nenhuma amostra microscopicamente negativa. Ou seja, as duas técnicas utilizadas nos materiais biológicos examinados, microscopia de luz e PCR, apresentaram alta sensibilidade, isto é, a capacidade de detecção do parasito. Entretanto, a técnica molecular apresenta uma vantagem em relação as técnicas parasitológicas, permitindo a identificação da espécie/genótipo do parasito presente na amostra.

Em outras Terras Indígenas do Paraná habitadas por outras etnias, como os Kaingang, onde os porcos são criados soltos, em sistema extensivo, o solo constitui uma importante fonte de contaminação parasitária uma vez que, como já demonstrado, as mesmas espécies de parasitos intestinais são encontradas nas fezes de humanos e no solo (Toledo et al. 2009, Moura et al. 2010, Silva et al. 2016). Diferentemente, na aldeia indígena Guarani estudada, os suínos são criados em regime não extensivo, confinados. Entretanto, como pode ser observado in loco pelos pesquisadores, eventualmente alguns escapam dos chiqueiros, podendo defecar e contaminar o solo com espécies de parasitos com potencial zoonótico.

## **CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos mostraram infecção cruzada pelas duas espécies

de nematóides, *A. lumbricoides* e *A. suum*, nos hospedeiros humanos e suínos da aldeia indígena Guarani no Sul do Brasil, ou a retenção de polimorfismo ancestral desse parasito. Além dos hospedeiros, o solo está contaminado por fezes humanas e suínas, com positividade para as duas espécies de *Ascaris*, com amostras puras e mistas geneticamente, confirmando ser ele fonte de infecção para ambos os hospedeiros, como demonstrado pelos resultados das PCR.

Uma vez que a infecção cruzada foi registrada na aldeia confirmando o caráter zoonótico da ascaridíase na população, medidas de controle mais eficazes e direcionadas, como um maior cuidado na criação de suínos evitando que os mesmos tenham acesso às fezes humanas, dentre outras classicamente adotadas no controle de parasitos intestinais, devem ser implementadas de forma a reduzir a infecção por *Ascaris* sp, resultando em melhorias nas condições de vida dessa população.

A análise genômica de *Ascaris* de humanos e de suínos pode contribuir neste controle, devendo ser ampliada pela realização de estudos futuros nesta e em outras áreas simpátricas de modo a estabelecer, sem dúvidas, se estas representam uma ou duas espécies e aumentando ainda mais nosso conhecimento sobre a dinâmica de transmissão desse parasito.

## REFERÊNCIAS

Anderson TJ. *Ascaris* infections in humans from North America: molecular evidence for cross-infection. *Parasitology*. 1995;110 (Pt 2):215-219.

Ansel M, Thibaut M. Value of the specific distinction between *Ascaris lumbricoïdes* Linnè 1758 and *Ascaris suum* Goeze 1782. *Int J Parasitol*. 1973 May;3(3):317-9. doi: 10.1016/0020-7519(73)90109-4. PMID: 4732028.

Anuar T, Salleh F, Moktar N. Soil-Transmitted Helminth Infections and Associated Risk Factors in Three Orang Asli Tribes in Peninsular Malaysia. *Scientific Reports* 2014;4, 4101.

Arizono N, Yoshimura Y, Tohzaka N, Yamada M, Tegoshi T, Onishi K, Uchikawa R. Ascariasis in Japan: is pig-derived *Ascaris* infecting humans? *Jpn J Infect Dis*. 2010 Nov;63(6):447-8. PMID: 21099099.

Avanus K, Altinel A. Comparison of allele-specific PCR, created restriction-site PCR, and PCR with primer-introduced restriction analysis methods used for screening complex vertebral malformation carriers in Holstein cattle. *J Vet Sci*. 2017;18(4):465-470

Avery RH, Wall LA, Verhoeve VI, Gipson KS, Malone JB. Molecular Confirmation of *Ascaris suum*: Further Investigation into the Zoonotic Origin of Infection in an 8-Year-Old Boy with Loeffler Syndrome. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2018 Nov;18(11):638-640. doi: 10.1089/vbz.2018.2306. Epub 2018 Aug 7. PMID: 30085905.

Barbosa, FS. Potencial zoonótico da ascaridiose humana e suína: aspectos moleculares, morfológicos e filogenéticos das espécies *Ascaris lumbricoides* e *Ascaris suum*. Tese (Doutorado em Parasitologia – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2015.

Betson M, Nejsum P, Bendall RP, Deb RM, Stothard JR. Molecular epidemiology of ascariasis: a global perspective on the transmission dynamics of *Ascaris* in people and pigs. *J Infect Dis*. 2014 Sep 15;210(6):932-41. doi: 10.1093/infdis/jiu193. Epub 2014 Mar 31. PMID: 24688073; PMCID: PMC4136802.

Bezagio RC, Colli CM, Romera LIL, de Almeida CR, Ferreira ÉC, Gomes ML. Comparative analysis of routine parasitological methods for recovery of cysts, molecular detection, and genotyping of *Giardia duodenalis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021 Dec;40(12):2633-2638. doi: 10.1007/s10096-021-04280-9. Epub 2021 May 31. PMID: 34059933.

Blouin, MS. Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. *Int. J. Parasitol*. 2002;32, 527–531.

Brant de Carvalho M L. Relatório antropológico: população indígena Ava Guarani

(nhandéva). Terra indígena de Oco'y. Município de São Miguel do Iguaçu. Paraná. Brasil. Laudo antropológico solicitado pelo Ministério Público Federal e Justiça Federal de Foz do Iguaçu. FUNAI. 2004.

Brasil. Ministério da Saúde. Protocolos para investigação de *Toxoplasma gondii* em amostras ambientais e alimentares [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Universidade Estadual de Londrina. – Brasília: Ministério da Saúde, 2020.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia Prático para o Controle das Geohelmintíases [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

Chaves LA, Gonçalves AL, Paula FM, Silva NM, Silva CV, Costa-Cruz JM, Freitas MA. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for evaluation of fecal samples of immunosuppressed rats experimentally infected with *Strongyloides venezuelensis*. *Parasitology*. 2015 Dec;142(14):1715-21. doi: 10.1017/S0031182015001298. Epub 2015 Oct 7. PMID: 26442899.

Criscione CD, Anderson JD, Sudimack D, Peng W, Jha B, Williams-Blangero S, Anderson TJ. Disentangling hybridization and host colonization in parasitic roundworms of humans and pigs. *Proc Biol Sci*. 2007 Nov 7;274(1626):2669-77. doi: 10.1098/rspb.2007.0877. PMID: 17725977; PMCID: PMC2279219.

Doenças tropicais negligenciadas. 2021. Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde Ministério da Saúde Número Especial Mar. ISSN 9352-7864.

Faust EC, Sawitz W, Tobie J. 1939. Comparative efficiency of various techniques for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. *J Parasitol*. 25(3):241-62.

Faustino RC, Chaves M, Toledo MJO, Mota LT, Angelis-Neto G, Nanni MR. 2008. Intervenções pedagógicas em educação para a saúde realizadas junto aos grupos indígenas Kaingang de Ivai e Faxinal no Paraná. *Cienc Cuid Saude*. 7; 6 (Suplem. 2): 433-441.

Global Burden of Disease 2018, 2019 Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME Seattle, WA: IHME, University of Washington, 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Jovens indígenas*. Disponível em <https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/populacao/20506-indigenas.html>

Inocencio da Luz R, Linsuke S, Lutumba P, Hasker E, Boelaert M. Assessment of schistosomiasis and soil-transmitted helminths prevalence in school-aged children and opportunities for integration of control in local health services in Kwilu Province, the Democratic Republic of the Congo. *Trop Med Int Health*. 2017 Nov;22(11):1442-1450. doi: 10.1111/tmi.12965. Epub 2017 Sep 14. PMID: 28853206.

Ishiwata K, Shinohara A, Yagi K, Horii Y, Tsuchiya K, Nawa Y. Identification of tissue-embedded ascarid larvae by ribosomal DNA sequencing. *Parasitol Res*. 2004 Jan;92(1):50-2. doi: 10.1007/s00436-003-1010-7. Epub 2003 Nov 4. PMID: 14598166.

Katakam Kk, Thamsborg Sm, Dalsgaard A, Kyvsgaard NC, Mejer H. Environmental contamination and transmission of *Ascaris suum* in Danish organic pig farms. *Parasit Vectors*. 2016; 9:80.

Korzeniewski K. Prevalence of intestinal parasitic infections in the population of Central Asia on the example of inhabitants of Eastern Afghanistan. *Przegl Epidemiol*. 2016;70(4):563-573.

Köster, Pamela Carolina, Antonio F. Malheiros, Jeffrey J. Shaw, Sooria Balasegaram, Alexander Prendergast, Héloïse Lucaccioni, Luciana Melhorança Moreira, Larissa M. S. Lemos, Alejandro Dashti, Begoña Bailo, Arlei Marcili, Herbert Sousa Soares, Solange Maria Gennari, Rafael Calero-Bernal, David González-Barrio and David Carmena. 2021. Multilocus Genotyping of *Giardia duodenalis* in Mostly Asymptomatic Indigenous People from the Tapirapé Tribe, Brazilian Amazon *Pathogens* 10, no. 2: 206. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020206>

Lai Ys, Biedermann P, Shrestha A, Mistry NF, Utzinger J and Vounatsou P. Risk profiling of soil-transmitted helminth infection and estimated number of infected people in South Asia: A systematic review and Bayesian geostatistical Analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(8):e0007580.

Lefever S, Rihani A, Van Der Meulen J, Pattyn F, Van Maerken T, Van Dorpe, J, Hellemans J and Vandesompele J. Cost-effective and robust genotyping using double-mismatch allele-specific quantitative PCR. *Sci Rep*. 2019;9(1):2150.

Leles, D, Gardner, S L, Reinhard, K et al. 2012. Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* a single species? Parasites Vectors. 5: 42. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-42>

Lutz A. 1919. O *Schistosomum mansoni* e a schistosomose segundo observações feitas no Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 11(1):121-55.

Maldaner, MP. Educação e cultura indígena guarani: práticas educacionais no colégio estadual indígena Teko Ñemoingo, Tekoha Ocoy [dissertação]. Foz do Iguaçu: Integração Contemporânea da América Latina [Internet]. 2017 [citado em 24 out 2019]. Disponível em: <http://dspace.unila.edu.br/123456789/691>

Miller LA, Colby K, Manning SE, Hoenig D, McEvoy E, Montgomery S, Mathison B, de Almeida M, Bishop H, Dasilva A, Sears S. Ascariasis in humans and pigs on small-scale farms, Maine, USA, 2010-2013. Emerg Infect Dis. 2015 Feb;21(2):332-4. doi: 10.3201/eid2102.140048. PMID: 25626125; PMCID: PMC4313629.

Monteiro KJL, Calegar DA, Santos JP, Bacelar PAA, Coronato-Nunes B, Reis ERC, Boia MN, Carvalho-Costa F E Jaeger LH. Genetic diversity of *Ascaris* spp. infecting humans and pigs in distinct brazilian regions, as revealed by mitochondrial DNA. Plos One. 2019;14(6):E0218867.

Nejsum P, Roepstorff A, Jørgensen CB, Fredholm M, Göring HH, Anderson TJ, Thamsborg SM. High heritability for *Ascaris* and *Trichuris* infection levels in pigs. Heredity (Edinb). 2009 Apr;102(4):357-64. doi: 10.1038/hdy.2008.131. Epub 2009 Jan 14. PMID: 19142203.

Nissen S, Poulsen IH, Nejsum P, Olsen A, Roepstorff A, Rubaire-Akiiki C, Thamsborg SM. Prevalence of gastrointestinal nematodes in growing pigs in Kabale District in Uganda. Trop Anim Health Prod. 2011 Mar;43(3):567-72. doi: 10.1007/s11250-010-9732-x. Epub 2010 Nov 19. PMID: 21088893.

Okoyo C, Campbell Sj, Williams K, Simiyu E, Owaga C, Mwandawiro C. Prevalence, intensity and associated risk factors of soil-transmitted helminth and schistosome infections in Kenya: Impact assessment after five rounds of mass drug administration in Kenya. PLoS Negl Trop Dis. 2020;14(10):e0008604.

Palma A, Ortiz B, Mendoza L, Matamoros G, Gabrie JA, Sánchez AL, Fontecha G. Molecular analysis of human- and pig-derived *Ascaris* in Honduras. J Helminthol. 2019 Mar;93(2):154-158. doi: 10.1017/S0022149X18000160. Epub 2018 Mar 5. PMID: 29502555.

Pullan RL, Smith JL, Jasrasaria R and Brooker SJ. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. Parasit Vectors. 2014; 7:37.

Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bulletin of the United States Army Medical Department. 1948;(8):326

Roepstorff A, Mejer H, Nejsum P, Thamsborg SM. Helminth parasites in pigs: new challenges in pig production and current research highlights. Vet Parasitol. 2011 Aug 4;180(1-2):72-81. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.05.029. Epub 2011 May 27. PMID: 21684689.

Rugai E, Mattos T, Brisola AP. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes – modificação do método Baermann. Rev Inst Adolfo Lutz. 1954 Jun; 14:5-8.

Sadaow L, Sanpool O, Phosuk I. 2018. Molecular identification of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* recovered from humans and pigs in Thailand, Lao PDR, and Myanmar. Parasitol Res 117, 2427–2436.

Sadaow L, Sanpool O, Phosuk I. 2018. Molecular identification of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* recovered from humans and pigs in Thailand, Lao PDR, and Myanmar. Parasitol Res 117, 2427–2436.

Santos T R. Padronização e aplicação de uma reação em cadeia da polimerase espécie-específica para diferenciação entre as espécies *Ascaris lumbricoides* e *Ascaris suum*. 2021. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

Silva TED, Barbosa FS, Magalhães LMD, Gazzinelli-Guimarães PH, Dos Santos AC, Nogueira DS, Resende NM, Amorim CC, Gazzinelli-Guimarães AC, Viana AG, Geiger SM, Bartholomeu DC, Fujiwara RT, Bueno LL. Unraveling *Ascaris suum* experimental infection in humans. Microbes Infect. 2021 Sep-Oct;23(8):104836. doi: 10.1016/j.micinf.2021.104836. Epub 2021 May 19. PMID: 34020024.

Sparks AM, Betson M, Oviedo G, Sandoval C, Cooper PJ, Stothard JR. Characterization of *Ascaris* from Ecuador and Zanzibar. *J Helminthol*. 2015 Jul;89(4):512-5. doi: 10.1017/S0022149X14000431. PMID: 26017334; PMCID: PMC4657061.

Taus K, Schmoll F, El-Khatib Z, Auer H, Holzmann H, Aberle S, Pekard-Amenitsch S, Monschein S, Sattler T, Steinparzer R, Allerberger F, Schmid D. Occupational swine exposure and Hepatitis E virus, *Leptospira*, *Ascaris suum* seropositivity and MRSA colonization in Austrian veterinarians, 2017-2018-A cross-sectional study. *Zoonoses Public Health*. 2019 Nov;66(7):842-851. doi: 10.1111/zph.12633. Epub 2019 Aug 16. PMID: 31419070; PMCID: PMC6851874.

Thamsborg Sm, Nejsum P, Mejer H. Impact of *Ascaris suum* in livestock. In: Holland C, ed. *Ascaris the neglected parasite*. London: Academic Press, 2013.

Toledo MJO, Paludetto AW, Moura FT, Nascimento ES, Chaves M, Araújo SM, Mota LT. 2009. Avaliação de atividades de controle para enteroparasitos em uma aldeia Kaingáng do Paraná. *Rev Saúde Pública*. 43(6):981-90.

WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. WHO. 2010.

Zhu X, Gasser RB, Jacobs DE, Hung GC, Chilton NB. Relationships among some ascaridoid nematodes based on ribosomal DNA sequence data. *Parasitol Res*. 2000 Sep;86(9):738-44. doi: 10.1007/pl00008561. PMID: 11002982.

ZHU, X., CHILTON, N.B., JACOBS, D.E. Characterisation of *Ascaris* from human and pig hosts by nuclear ribosomal DNA sequences. *Int. J. Parasitol*. 1999;29, 469–478.

## TABELAS E FIGURAS

**Tabela 1.** Prevalência de enteroparasitos em escolares indígenas Guarani da aldeia de Santa Rosa do Ocoy, Município de São Miguel do Iguaçu no Estado do Paraná, Sul do Brasil, entre novembro de 2019 e agosto de 2022.

	n	n = 83	%
<b>Enteroparasitos</b>	68		81,9
<b>Poliparasitismo</b>	39		47,0
<b>Protozoários</b>	62		86,1
<i>Entamoeba coli</i>	34		40,9
<i>Endolimax nana</i>	30		36,1
<i>Giardia duodenalis</i>	26		36,1
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	21		25,3
<i>Blastocystis hominis</i>	8		9,6
<i>Iodamoeba butschillii</i>	6		7,2
<b>Helmintos</b>	27		32,5
<i>Hymenolepis nana</i>	22		26,5
<i>Ascaris</i> sp	7		8,4
Ancilostomídeos	4		4,8
<i>Trichuris trichiura</i>	1		1,2

**Tabela 2.** Prevalência de formas parasitárias encontradas em amostras de solo peridomiciliar da aldeia indígena Guarani de Santa Rosa do Ocoy, Município São Miguel do Iguçu, Estado do Paraná, Sul do Brasil, 2022. (n=68)

<b>Formas Parasitárias</b>	<b>N° de amostras positivas</b>	<b>Prevalência (%)</b>
Larva de <i>Strongyloides stercoralis</i>	51	75,0
Larva de ancilostomídeos	15	22,1
Ovo de <i>Ascaris sp.</i>	11	16,2
Trofozoíto de <i>Balantidium coli</i>	2	2,9
Cisto <i>Balantidium coli</i>	2	2,9

**Tabela 3.** Prevalência de parasitos intestinais com potencial zoonótico identificados em fezes de suínos da aldeia indígena Guarani de Santa Rosa do Ocoy, 2022. (n=18)

<b>Parasitos</b>	<b>N° amostras positivas</b>	<b>Prevalência (%)</b>
<i>Ascaris sp</i>	10	55,6
<i>Balantidium coli</i>	2	11,1
<i>Entamoeba sp.</i>	1	5,6
<i>Trichuris trichiura</i>	1	5,6
Ancilostomídeos (larva)	1	5,6

**Tabela 4.** Detecção parasitológica e molecular de *Ascaris* sp em amostras de fezes humanas, de suínos e de solo, usando microscopia optica e PCR na genotipagem da região ITS1 em aldeia indígena Guarani, no Sul do Brasil.

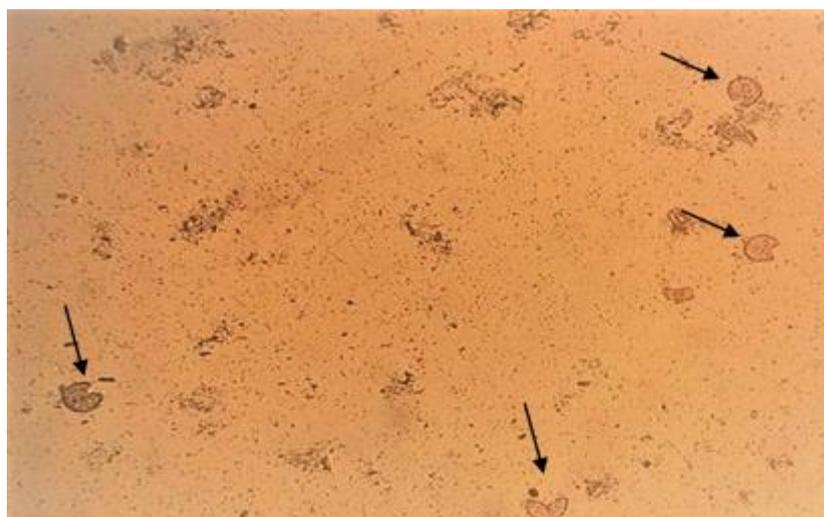
Amostra	Origem	Microscopia	PCR ITS1	Espécie
H05	Humanos	-	-	
H06	Humanos	-	-	
H07	Humanos	+	+	AI
H09	Humanos	-	-	
H23	Humanos	+	+	AI
H27	Humanos	-	-	
H31	Humanos	-	-	
H32	Humanos	+	+	AI
H36	Humanos	-	-	
H41	Humanos	-	-	
H50	Humanos	-	-	
H61	Humanos	-	-	
H66	Humanos	-	-	
H70	Humanos	-	-	
H71	Humanos	-	-	
H78	Humanos	-	-	
H79	Humanos	+	+	AI/As
H80	Humanos	+	+	AI
H81	Humanos	-	-	
H82	Humanos	+	+	AI/As
H83	Humanos	+	+	AI/As
P01	Suíños	-	-	
P02	Suíños	-	-	
P03	Suíños	-	-	
P04	Suíños	-	-	
P05	Suíños	+	+	As
P06	Suíños	+	+	As
P07	Suíños	+	+	As
P08	Suíños	-	-	
P09	Suíños	+	+	As
P10	Suíños	-	-	
P11	Suíños	-	-	
P12	Suíños	-	-	
P13	Suíños	+	+	As
P14	Suíños	+	+	As
P15	Suíños	-	-	
P16	Suíños	+	+	As
P17	Suíños	-	-	
P18	Suíños	+	+	AI/As
S1I	Solo	+	+	As
S2I	Solo	-	-	
S3I	Solo	-	-	
S5I	Solo	-	-	
S10I	Solo	-	-	
S12I	Solo	-	-	
S15I	Solo	+	+	AI/As
S16I	Solo	-	-	
S01P	Solo	-	-	
S02P	Solo	+	+	AI
S03P	Solo	-	-	
S05P	Solo	-	-	
S07P	Solo	+	+	AI/As
S10P	Solo	-	-	
S11P	Solo	+	+	As

S12P	Solo	+	+	<i>Al</i>
S14P	Solo	-	-	

+ Amostra positiva; - Amostra negativa; *Al* - *Ascaris lumbricoides*; *As*- *Ascaris suum*

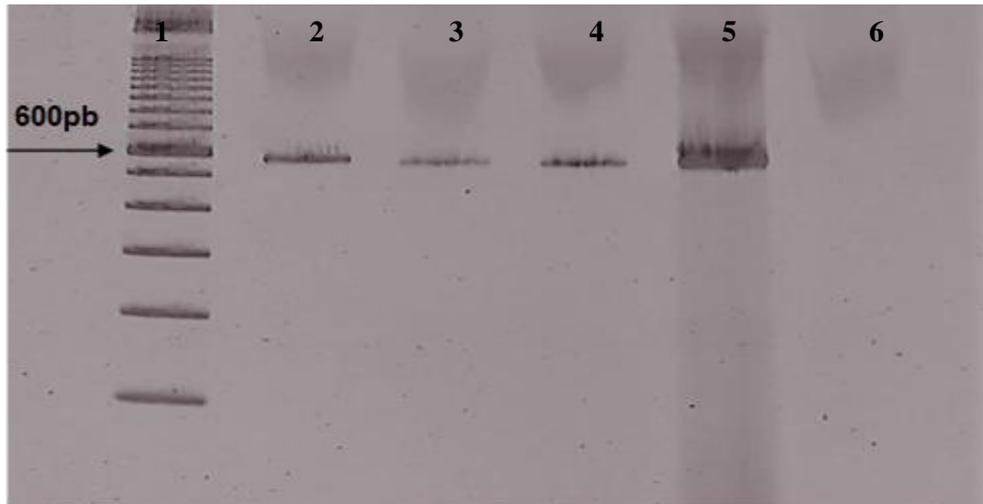


**Figura 1.** Mapa mostrando a localização geográfica e delimitação física da Aldeia de Santa Rosa do Ocoy, etnia Guarani, Município de São Miguel do Iguaçu, Paraná. Em destaque # o estado do Paraná. 2022. Adaptado da Agência Central de Inteligência (CIA – USA

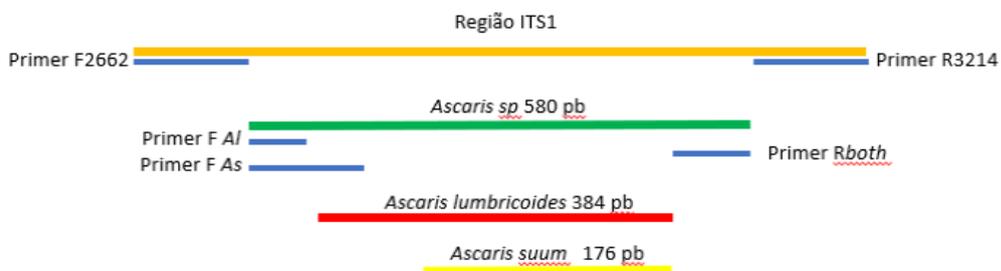


**Figura 2.** Microfotografia de amostra fecal mostrando ovos de *Ascaris* sp rompidos (setas) após ultrassom a 50 Hz por 30 min a 4 °C por quatro vezes, com intervalo de 1

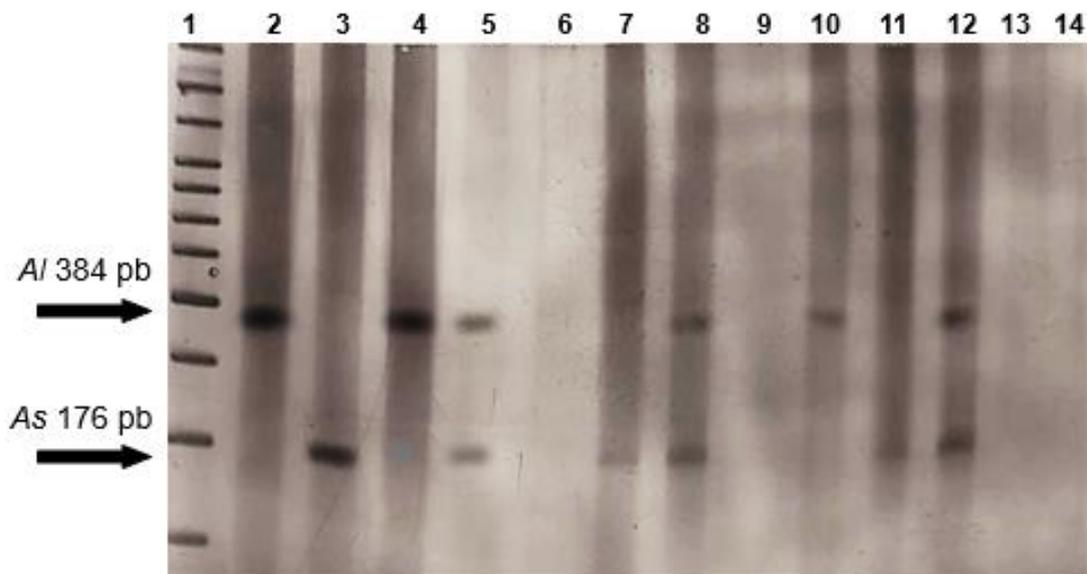
min entre os ciclos. Aumento de 100x.



**Figura 3.** Gel de poliacrilamida a 5% mostrando a banda de aproximadamente 580 pb característica de *A. lumbricoides*, utilizando o marcador ITS1. 1. Peso molecular de 100 pb DNA Leader; 2. Amostra positiva extraída com Purelink PCR Purification após sonicação; 3. Amostra positiva extraída com Purelink PCR Purification sem sonicação; 4. Amostra positiva extraída com QIAmp DNA fezes mini kit após sonicação; 5. controle positivo (DNA de *Ascaris lumbricoides*) e 6. controle negativo (Reagentes sem DNA).



**Figura 4.** Esquema de identificação molecular de espécies de *Ascaris* sp. a partir da região *ITS1*, utilizando DNA extraído da suspensão de ovos. A primeira PCR utilizando os primers F2662 e R3214 para a identificação de *Ascaris* sp (~ 580 pb) e a partir desse fragmento, a segunda PCR para a identificação de *Ascaris lumbricoides* (~ 384 pb) e *Ascaris suum* (~ 176 pb).



**Figura 5.** Gel de poliacrilamida a 5% mostrando fragmento do gene *ITS1* de *Ascaris lumbricoides* (~384 pb) e *Ascaris suum* (~176 pb) em amostras de solo da aldeia indígena Guarani no Paraná, utilizando DNA extraído a partir da suspensão de ovos. 1: Peso molecular de 100 bp DNA Ladder; 2: Controle positivo para *A. lumbricoides*; 3: Controle positivo para *A. suum*; 4 e 5: Amostras de fezes humana positivas no exame parasitológico; 6: Amostra de humano negativa no exame parasitológico; 7 e 8: Amostras de fezes de suíno positivas no exame parasitológico; 9: Amostra de suíno negativa no exame parasitológico; 10, 11 e 12: Amostras de solo positivas no exame parasitológico; 13: Amostra de solo negativa no exame parasitológico; 14: controle negativo (branco).

## CAPÍTULO III

ARTIGO:

**Urbanorum spp.: aspectos morfológicos e revisão da literatura**

*Este artigo será submetido ao Periódico Acta Tropica*

## Urbanorum spp.: aspectos morfológicos e revisão da literatura

Veridiana Lenartovicz Boeira<sup>1,2</sup>, Marina Silva de Carvalho<sup>2</sup>, Danielle Lazarin Bidóia<sup>1,3</sup>, Cristiane Maria Colli<sup>4</sup>, Max Jean de Ornelas Toledo<sup>1, 4\*</sup>

1. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil.
2. Curso de Farmácia, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, Brasil.
3. Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa – COMCAP, UEM, Paraná, Brasil.
4. Setor de Parasitologia, Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, UEM, Maringá, Paraná, Brasil

\* Autor de correspondência

[mjotoledo@uem.br](mailto:mjotoledo@uem.br)

Av. Colombo, 5790 - Zona 7 Departamento de Ciências Básicas da Saúde,  
Laboratório de Parasitologia, 87020-900, Maringá – Paraná – Brasil.

## RESUMO

Aspectos morfológicos e epidemiológicos de protozoários intestinais e manifestações clínicas das infecções que eles causam são bastante conhecidos. Entretanto, pouco se sabe sobre o *Urbanorum* spp., um protozoário parasito do intestino humano recentemente descrito e emergente na América do Sul. Neste estudo são descritos os primeiros casos de infecção humana por *Urbanorum* spp. em uma população indígena no Brasil, aspectos morfológicos, além de uma revisão de literatura sobre os casos de infecção por este protozoário. Amostras fecais de escolares indígenas de uma aldeia Guarani do Paraná, sul do Brasil, foram analisadas por meio dos métodos de sedimentação espontânea em água e centrifugo-flutuação, utilizando microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), e um questionário foi aplicado aos sujeitos da pesquisa. A revisão de literatura contou com busca em diversas bases de dados de pesquisa utilizando os termos *Urbanorum* spp. e parasito(e). A prevalência total de enteroparasitos foi de 84% (63/75) e a presença de *Urbanorum* spp. foi verificada em 5,3% (4/75) dos escolares. As quatro crianças com amostras positivas para esse parasito pertenciam a mesma organização familiar, tinham contato frequente com o solo, brincavam e se alimentavam juntas. Três delas estavam poliparasitadas com *Giardia duodenalis* e *Hymenolepis nana*, e todas relataram diarreia como sintoma intestinal. A primeira descrição de *Urbanorum* spp. ocorreu a cerca de 30 anos, em 1993, e desde então 12 publicações de quatro países encontram-se nas bases de dados pesquisadas. A MO após sedimentação espontânea mostrou, após coloração com lugol, estruturas arredondadas de 50 a 80 um, com poros na superfície de onde partem projeções citoplasmáticas tubulares de aspecto hialino. As primeiras imagens obtidas por MEV revelaram uma estrutura esférica de cerca de 70 um cuja superfície parece constituída de placas com cinco lados justapostas com pequenas elevações nas junções, uma estrutura circular, além das “projeções” do citoplasma. Estas formas foram encontradas mesmo após o tratamento dos escolares com o antiparasitário albendazol em dose única de 400 mg e congelamento da amostra fecal a -20 °C por 60 dias. Além da elevada prevalência de enteroparasitos, o encontro de *Urbanorum* spp. em amostras fecais de escolares indígenas no Brasil e seus aspectos morfológicos obtidos por MEV foram relatados pela primeira vez. A importância deste achado para a saúde desta população pode despertar o interesse por mais buscas em relação a outras características biológicas, ultraestruturais e moleculares desse protozoário.

**Palavras-chave:** *Urbanorum* spp., parasitos, microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura, populações indígenas.

## ABSTRACT

Morphological and epidemiological aspects of intestinal protozoa and clinical manifestations of the infections they cause are well known. However, little is known about *Urbanorum* spp., a protozoan parasite of the human intestine recently described and emerging in South America. This study describes the first cases of human infection by *Urbanorum* spp. in an indigenous population in Brazil, morphological aspects, in addition to a literature review on cases of infection by this protozoan. Fecal samples from indigenous schoolchildren from a Guarani village in Paraná, southern Brazil, were analyzed using spontaneous sedimentation in water and centrifugal-flotation methods, using optical microscopy (OM) and scanning electron microscopy (SEM), and a questionnaire was applied to the research subjects. The literature review included a search in several research databases using the terms *Urbanorum* spp. and parasite(e). The total prevalence of intestinal parasites was 84% (63/75) and the presence of *Urbanorum* spp. was verified in 5.3% (4/75) of the students. The four children with positive samples for this parasite belonged to the same family organization, had frequent contact with the soil, played and ate together. Three of them had polyparasitism with *Giardia duodenalis* and *Hymenolepis nana*, and all reported diarrhea as an intestinal symptom. The first description of *Urbanorum* spp. took place about 30 years ago, in 1993, and since then 12 publications from four countries have been found in the searched databases. The OM after spontaneous sedimentation showed, after staining with Lugol, rounded structures of 50 to 80 µm, with pores on the surface from which tubular cytoplasmic projections with a hyaline appearance depart. The first images obtained by SEM revealed a spherical structure of about 70 µm whose surface seems to be made up of plates with five sides juxtaposed with small elevations at the junctions, a circular structure, in addition to the “projections” of the cytoplasm. These forms were found even after treating the students with the antiparasitic albendazole in a single 400 mg dose and freezing the fecal sample at -20 °C for 60 days. In addition to the high prevalence of enteroparasites, the occurrence of *Urbanorum* spp. in fecal samples from indigenous schoolchildren in Brazil and their morphological aspects obtained by SEM were reported for the first time. The importance of this finding for the health of this population may arouse interest in further searches regarding other biological, ultrastructural and molecular characteristics of this protozoan.

**Key words:** *Urbanorum* spp., parasites, optical microscopy, scanning electron microscopy, indigenous populations.

## 1. Introdução

Infecções parasitárias intestinais são consideradas doenças tropicais negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e estão entre os principais agravos que acometem as populações de países em desenvolvimento (WHO, 2016).

Embora os aspectos clínicos e epidemiológicos das parasitoses intestinais sejam bem conhecidos pela comunidade científica (Chammartin et al., 2013; WHO, 2016; Adl et al., 2018), a descoberta feita por Santamaría em 1993 de um suposto novo parasito intestinal, vem mudando esse quadro.

*Urbanorum* spp. é um microrganismo parasito intestinal que foi descrito em amostras fecais humanas pelo pesquisador Francisco Tirado Santamaría, professor de parasitologia da Universidad Industrial de Santander na Colômbia e, até o momento, o encontro deste gênero foi relatado apenas em indivíduos da América do Sul (Santamaría, 2013; Villafuerte et al., 2016; Díaz & Perlaza, 2017; De Aguiar & Alves, 2018).

Morfologicamente, o microrganismo foi comparado às amebas, apresentando uma estrutura arredondada com 40 a 100 µm de diâmetro e que, em coloração com lugol, apresenta um conteúdo de cor amarelo claro e uma dupla membrana externa que apresenta poros pelos quais emergem de seu interior estruturas hialinas, semelhantes a pseudópodes. Sua reprodução parece ser por divisão binária, o que o classificaria como um protozoário (Santamaría, 2013; Villafuerte et al., 2016).

A transmissão de *Urbanorum* spp. é fecal-oral e ocorre de forma semelhante a de outros parasitos intestinais, principalmente por falta de higiene pessoal e consumo de água e alimentos contaminados pelo protozoário. Embora sua patogenia ainda não tenha sido descrita, uma síndrome diarreica aguda, com cólicas e amostras fecais líquidas, pH ácido, sem muco, sangue ou leucócitos, caracteriza os sintomas clínicos (Díaz & Perlaza, 2017).

Situações específicas vêm sendo apontadas na literatura como possíveis fatores de risco para sua transmissão, dentre elas destacam-se o fato de viver em áreas com precárias condições de saneamento básico, dificuldade de acesso à água potável e também ser morador de área rural (Díaz & Perlaza, 2017; De Aguiar & Alves, 2018)

A prevalência de parasitoses intestinais em humanos de aldeias indígenas é sabidamente elevada e, mesmo com ações de prevenção, não conseguem controlar essas infecções de maneira satisfatória. Isto se deve às altas taxas de transmissão das parasitoses que são favorecidas pelas condições ambientais e socioculturais das populações indígenas, constituindo ainda um relevante problema de saúde pública (Toledo et al., 2009; Brandelli et al., 2012; Da Silva et al., 2016; Lopez et al., 2018; Lenartovicz-Boeira et al., 2021).

Embora o número de publicações sobre o encontro de *Urbanorum* spp. em seres humanos esteja aumentando, ainda há poucos relatos de infecção por este parasito na literatura. Há controvérsias se ele é de fato um protozoário parasito e sobre sua real posição taxonômica. Portanto, o objetivo deste estudo é realizar uma revisão sobre os casos de infecção humana por *Urbanorum* spp, relatar o primeiro encontro de infecções em escolares indígenas e aspectos morfológicos adicionais do protozoário.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1 Aspectos éticos, área e população de estudo**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, sob Parecer nº 1.756.060/2016 (Anexo1).

No período de março a novembro de 2019, 75 amostras fecais de escolares foram coletadas em frascos coletores universais, sem conservante, por livre demanda, em uma aldeia habitada por indígenas pertencentes à etnia Guarani no Estado do Paraná, Sul do Brasil (-25.24438532440521, -54.30650374577462). As amostras foram analisadas pelos métodos direto, centrífugo flutuação e sedimentação espontânea.

### **2.2 Questionários socioeconômicos**

Foram aplicados questionários socioeconômicos (Anexo 2) aos responsáveis pelas famílias e ainda obtidos relatos observacionais feitos pelos pesquisadores para se avaliar as condições de moradia e saneamento da aldeia.

As questões abordaram aspectos como tipo de moradia, condições do peridomicílio, consumo de água, destino das fezes humanas, presença de

animais e uso de antiparasitários.

### **2.3 Revisão da literatura**

A busca por publicações sobre o protozoário utilizou as bases de dados Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), englobando periódicos das bases de dados do Sistema Latino Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (Lilacs), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Scopus e Publisher Medline (PubMed).

As buscas foram realizadas até agosto de 2022, sem restrição de período inicial ou tipo de documento, nos idiomas inglês, português e espanhol. Foram empregados descritores e/ou palavras chave "*Urbanorum* spp." e "parasito", de acordo com a base de dados, suas derivações assim como combinações.

### **2.4 Análise das amostras**

As amostras foram analisadas em microscopia óptica comum por exame direto a fresco e após técnicas de concentração por centrífugo-flutuação em solução de sulfato de zinco (Faust et al., 1939) e de sedimentação espontânea em água (Lutz, 1919). Uma porção do sedimento das amostras positivas para *Urbanorum* spp. foi congelada a -20 °C e após 30 dias foram novamente analisadas para se confirmar o achado inicial.

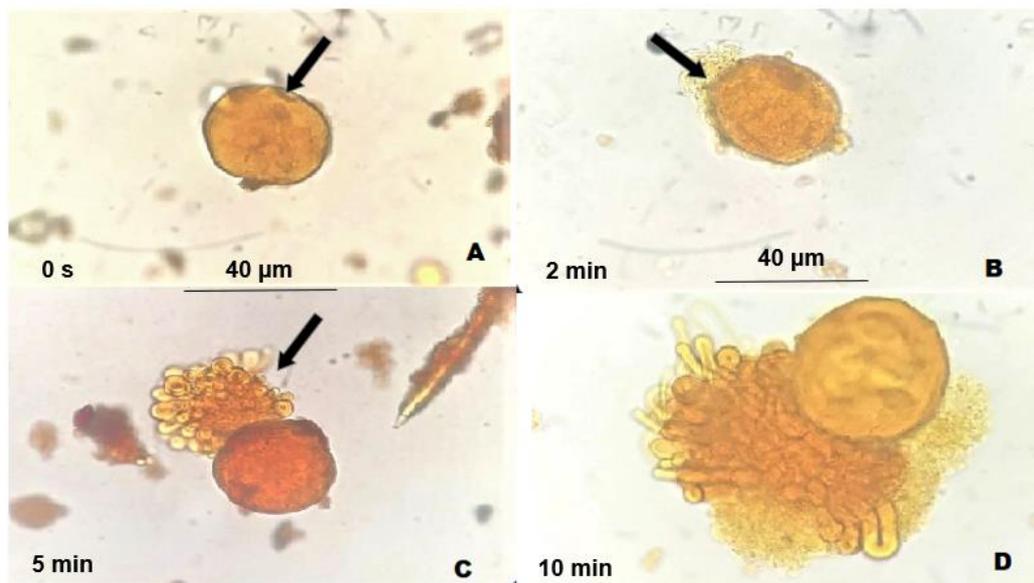
As amostras nas quais observou-se o microrganismo *Urbanorum* spp. foram armazenadas sem conservantes, sob refrigeração (entre 2 °C e 4 °C), até serem processadas para análise morfológica em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para isso, as amostras foram lavadas com PBS e realizada a fixação com glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M. Posteriormente foi realizada a desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico 30% - 100%. Em seguida, foi realizada a secagem em ponto crítico pela substituição do etanol por dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metalização com ouro e análise em microscópio eletrônico de duplo feixe FEI Scios (FEI, EUA).

## **3. Resultados**

### **3.1 Análises do material fecal**

Foram coletadas e analisadas amostras de fezes de 75 escolares. Destas, 63 (84%) foram positivas para algum helminto e/ou protozoário intestinal.

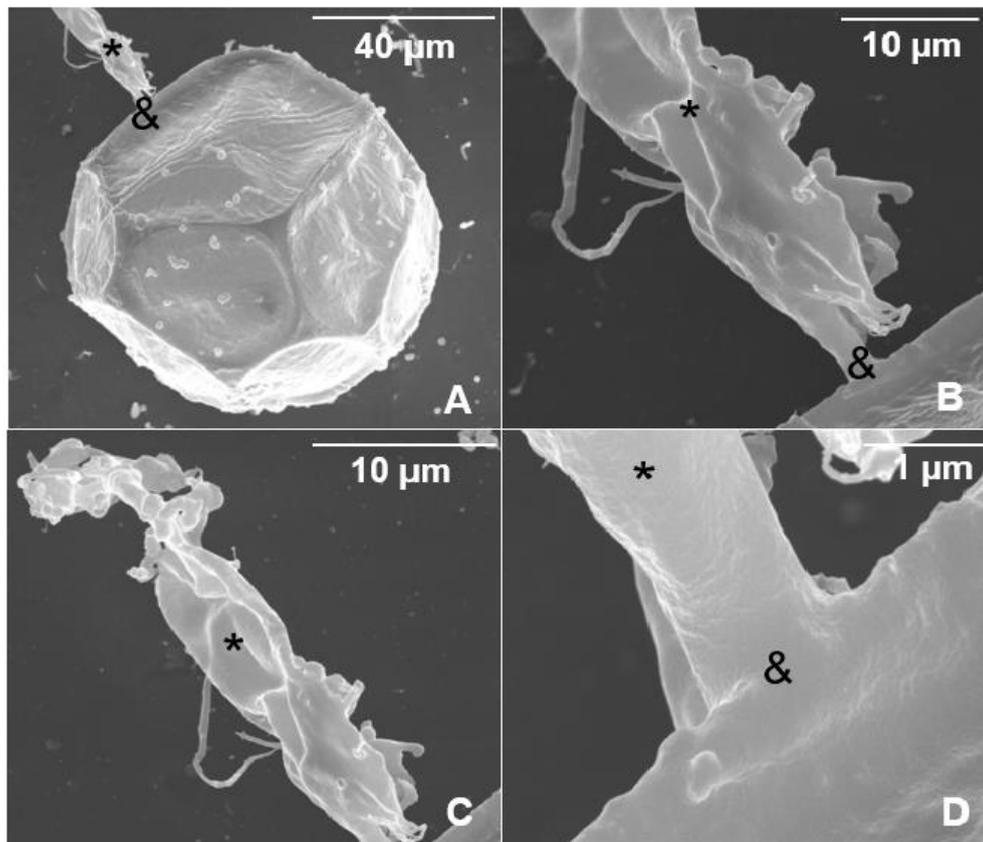
Pelos métodos direto a fresco e de sedimentação espontânea em água, foi observado que 5,3% (4/75) das amostras apresentavam estruturas de forma arredondada, com dimensões entre 40  $\mu\text{m}$  e 100  $\mu\text{m}$  e de cor amarelada quando coradas pelo lugol. Durante a leitura da lâmina observou-se que vários filamentos semelhantes a pseudópodes emergiam dessas estruturas e aumentavam em número e tamanho. Estas estruturas foram identificadas como *Urbanorum* spp. (Figura1). Este parasito não tem uma forma esférica ou oval como os cistos dos demais protozoários intestinais humanos. Na microscopia óptica comum, não foi observada nenhuma estrutura semelhante a núcleo ou outras inclusões citoplasmáticas como vacúolos e corpos cromatóides geralmente encontrados em outras espécies.



**Figura 1.** Microscopia óptica das formas do protozoário *Urbanorum* spp corado em lugol, encontradas em amostras fecais de crianças escolares indígenas Guarani do sul do Brasil: A. Forma arredondada com um poro (seta); B e C. Início de emissão de pseudópodes (setas); e D. Forma arredondada apresentando grande e volumosa emissão de pseudópodes e outros materiais. O canto inferior esquerdo de cada imagem mostra o tempo de visualização microscópica de cada etapa de emissão/expansão das estruturas internas do parasito. Aumento de 400x.

A figura 2 mostra uma estrutura arredondada com cerca de 70  $\mu\text{m}$ , obtida em MEV. É possível observar em detalhes a emissão de conteúdo

citoplasmático, chamado de “pseudópodes”, observados também pela microscopia óptica comum e relatados por outros autores (Santamaría, 2013; Villafuerte et al., 2016). Pode-se observar uma membrana externa com estrias, formada por estruturas em forma de placas poligonais com bordas em relevo em suas junções e ainda uma estrutura mais interna de forma circular.



**Figura 2.** Aspectos morfológicos de *Urbanorum* spp em microscopia eletrônica de varredura encontrado em amostra fecal de escolar indígena do sul do Brasil. A: estrutura arredondada com projeção citoplasmática semelhante a pseudópode. B, C e D detalhes da projeção citoplasmática. \* conteúdo citoplasmático / "pseudópode"; e & base da emissão do conteúdo citoplasmático.

As formas características de *Urbanorum* spp. continuaram a ser observadas mesmo após o descongelamento, processamento e análise da amostra pelos métodos direto e sedimentação espontânea.

### 3.2 Análise dos questionários

As amostras positivas para *Urbanorum* spp. pertenciam a quatro meninos moradores da aldeia, irmãos e primos, com idade entre 5 e 11 anos, que residiam em casas próximas e frequentavam a escola indígena local. Todos apresentavam fezes diarreicas, sem muco ou sangue e com pH entre 5,0 e 6,0. Nas análises parasitológicas, três deles apresentaram amostras positivas para outros parasitos, além de *Urbanorum* spp. (Tabela 1).

As crianças positivas para *Urbanorum* spp. moravam em residências próximas, duas em uma casa e duas em outra. As casas foram consideradas mistas por terem uma parte construída em madeira e outra parte em alvenaria, com piso em chão batido. Em ambas as casas as crianças residiam com familiares, sendo estes o pai, a mãe e nas duas casas haviam outras crianças com idade entre 1 e 15 anos, duas em uma das casas e três em outra. Em todas as residências havia a presença de cães e gatos, mais de cinco animais por casa, tanto no domicílio quanto no peridomicílio. Fezes de animais foram observadas nos peridomicílios. Os moradores consumiam água tratada e encanada, havia presença de entulhos ao redor das moradias, as crianças tinham o hábito de andar e brincar descalças, próximas aos animais e à saída de esgoto.

**Tabela 1.** Resultados das análises pelos métodos de exame parasitológico de fezes (EPF) das amostras das quatro crianças escolares indígenas Guarani, antes e após congelamento a -20 °C por 30 dias, em 2022.

Idade	Antes do congelamento	Após congelamento
5	<i>Hymenolepis nana</i> , <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> , <i>Urbanorum</i> spp.	<i>H. nana</i> , <i>E. histolytica/dispar</i> , <i>Urbanorum</i> spp.
9	<i>Giardia duodenalis</i> , <i>E. histolytica/dispar</i> , <i>Urbanorum</i> spp.	<i>G. duodenalis</i> , <i>Urbanorum</i> spp.
8	<i>H. nana</i> , <i>G. duodenalis</i> , <i>Urbanorum</i> spp.	<i>H. nana</i> , <i>G. duodenalis</i> , <i>Urbanorum</i> spp.
11	<i>Urbanorum</i> spp.	<i>Urbanorum</i> spp.

\* em anos.

A distância entre as duas casas onde residiam as crianças positivas era cerca de 50 metros, sendo vizinhos na distribuição das habitações da aldeia. As crianças frequentavam a escola local mas, não a mesma sala de aula, pois estudavam em anos escolares diferentes. Porém, tinham contato no ambiente domiciliar e peridomiciliar, brincando e comendo juntas.

Antes dos exames parasitológicos das fezes, as crianças com resultados positivos para *Urbanorum* spp. haviam recebido dois esquemas de tratamento antiparasitário com albendazol 400 mg em dose única, com intervalo de 60 dias entre as doses, tendo sido a última dose administrada há mais de 30 dias antes da coleta das amostras. Tratamento antiparasitário em massa da população da aldeia é realizado periodicamente.

Os resultados dos exames parasitológicos das fezes das crianças foram encaminhados à equipe da Unidade Básica de Saúde da aldeia para que o tratamento pudesse ser realizado, com base nos achados pela equipe de pesquisa.

### **3.1 Revisão de literatura**

O encontro de 12 relatos de casos de infecção por *Urbanorum* spp em diferentes populações, tendo a primeira publicação em 2013 na Colômbia.

A Tabela 2 mostra de forma sintetizada os casos descritos nos diferentes países da América do Sul onde *Urbanorum* spp foi encontrado no Exame Parasitológico de fezes (EPF).

**Tabela 2.** Resumo das publicações dos casos de infecção por *Urbanorum* spp. de diferentes bases de dados de pesquisa realizadas até agosto de 2022.

País	Descrição do caso	Autor/Ano
Colômbia	Amostras fecais de adultos e escolares em diferentes períodos, entre 5 e 16% de prevalência de <i>Urbanorum</i> spp.	Santamaría, 2013
Peru	Mulher de 67 anos, com dor abdominal e dispepsia, fezes sem leucócitos e ou sangue. Poliparasitada por protozoários, incluindo o <i>Urbanorum</i> spp.	Villafuerte et al., 2016
Peru	Análise de material fecal de 96 crianças entre 3 e 14 ano, moradores da área urbana. Prevalência de 90,6% de parasitos intestinais no EPF sendo 20% <i>Urbanorum</i> spp.	Del Pino, 2016
Equador	Análise de material fecal de população de diferentes locais do país, sendo que a costa do País apresentou 1,16% de prevalência de <i>Urbanorum</i> spp.	Alvarez, 2017
Brasil	Mulher, 41 anos, moradora da área rural do Maranhão. Dor abdominal e diarreia, fezes sem leucócitos ou sangue. Tratamento com Metronidazol 500-750mg 3x dia por 5 a 10 dias.	De Aguiar e Alves, 2018
Brasil	Homem, 37 anos, morador da zona urbana do interior de São Paulo. Dor abdominal e diarreia, fezes sem leucócitos ou sangue.	Prado et al, 2018
Brasil	Menina, 1 ano e 5 meses, lactante, de área urbana de Santa Catarina. Diarreia e dor abdominal. Fezes sem leucócitos. Nitazoxanida 7,5mg/kg/dia 12/12h 3 dias, sem resultados, Albendazol suspensão 40mg/mL, 10mL/dia 5 dias, sem resultados. Metronidazol 80mg/Kg/dia 4X/dia 10 dias, melhora clínica e negatização do EPF em duas amostras.	Wiggers et al, 2018
Brasil	Análise de 5.786 amostras de fezes de pacientes do Centro-oeste e Sudeste do país, com idade entre 4 a 91 anos. 1,45% dos EPF positivos para <i>Urbanorum</i> spp. 50% dos casos assintomáticos, sendo a maioria deles crianças.	Leão et al, 2018
Brasil	Análise de 5428 amostras fecais de adultos entre 28 e 77 anos, moradores de zona urbana e rural do Maranhão. Prevalência de 0,55% de EPF positivos para <i>Urbanorum</i> spp, sendo 92% pacientes do sexo feminino.	Casarin et al, 2019
Brasil	Mulher, 72 anos, moradora do Rio Grande do Sul, dor abdominal e sem diarreia. Fezes sem sangue ou leucócitos. Metronidazol 250mg, 3X ao dia durante 8 dias. Após 7 dias houve remissão dos sintomas e negatização do EPF.	Lopez e Nunes, 2020
Brasil	Homem, 56 anos, diabético, morador de área urbana, dor abdominal, tenesmo, diarreia e febre. Fezes com sangue. Nitazoxanida 500mg 12/12h por 3 dias. Remissão dos sintomas e EPF negativo.	Kruger, 2020
Brasil	Menino, 2 anos, morador de periferia urbana, bem estar geral, sem sintomas, consulta de rotina em puericultura. Albendazol 400mg 10ml /dia/5 dias, sem retorno para avaliar a eficácia.	Simes e Platt, 2020

#### 4. Discussão

Este é o primeiro relato de infecção parasitária por *Urbanorum* spp. em crianças da etnia Guarani procedentes de uma aldeia indígena do Sul do Brasil. Até onde sabemos, também é a primeira vez em que a forma do parasito é demonstrada por microscopia eletrônica de varredura.

Desde o primeiro relato do achado de *Urbanorum* spp. (Santamaría, 2013), surgiram muitas discussões na comunidade científica a respeito de ser esta uma espécie válida. Há quem afirme que as estruturas hialinas identificadas correspondem a células adiposas que, quando rompidas, liberam filamentos móveis, embora não permitam um deslocamento efetivo (Rivero, 2016). Entretanto, as observações de pseudópodes feitas por microscopia óptica por outros autores, e também em nossas análises, foram agora confirmadas por MEV, na qual foi possível observar com detalhes a projeção citoplasmática semelhante a pseudópodes, confirmando as observações realizadas na microscopia de luz.

Neste inquérito as amostras foram processadas por três metodologias, exame direto à fresco, centrifugo-flutuação com sulfato de zinco (Faust, 1939) e sedimentação em água (Lutz, 1919). O parasito *Urbanorum* spp. não foi encontrado em nenhuma amostra processada pelo método de Faust, indicando que possivelmente seja sensível à utilização de sais, como sulfato de zinco, durante o processamento da amostra. O método de Faust é indicado para encontro de cistos de protozoários, como *Giardia duodenalis* e amebas, por exemplo. Os cistos apresentam membrana resistente aos efeitos do sulfato de zinco, o que não parece ser o caso de *Urbanorum* spp. Nos poucos relatos descritos na literatura, dois abordam os métodos parasitológicos utilizados, sendo citada a sedimentação espontânea com coloração por lugol (Aguiar e Alves, 2018; Casarin et al, 2019). Diferentemente de trofozoítos de amebas e *Giardia*, que são sensíveis e destruídos em poucos minutos após a observação destas formas evolutivas nas fezes, as formas evolutivas de *Urbanorum* spp. puderam ser visualizadas mesmo após 30 dias de congelamento.

O primeiro caso de infecção humana por *Urbanorum* spp. no Brasil foi relatado em uma paciente adulta do sexo feminino com histórico de diarreia (De Aguiar & Alves, 2018). Desde então, os relatos propagaram-se em curto espaço de tempo pelas regiões Sul e Centro-Oeste do país, com casos descritos em São

Paulo (Prado et al., 2018), Santa Catarina (Wiggers et al, 2018), Rio Grande do Sul (Lopez e Nunes, 2018) e Paraná (Kruger, 2020; Simes & Platt, 2020).

No Brasil, um relato de caso em pediatria mostrou a infecção por *Urbanorum* spp. em uma criança de dois anos, sem comorbidades, e com desenvolvimento físico e psicomotor de acordo com a idade, tendo sido atendida pelo serviço de saúde em um hospital pediátrico em São José dos Campos – SP, para exames de rotina. O exame parasitológico de fezes foi positivo, mas os demais exames de rotina não apresentaram alterações (Prado et al., 2018). As crianças da aldeia Guarani pesquisada apresentavam alterações no trânsito intestinal, com episódios de diarreia mas, sem outras queixas ou relatos de atraso no desenvolvimento.

Verificou-se que a faixa etária acometida por esse agente biológico é ampla, entre 10 meses e 91 anos de idade (Leão et al, 2018; Kruger, 2020; Simes & Platt, 2020).

A revisão dos casos relatados na literatura mostra que a maioria das pessoas acometidas moravam com algumas restrições em relação ao acesso a água tratada e demais ações de saneamento básico. Além desses fatores de risco, o uso prolongado de antibioticoterapia também já foi apontado como predisponente para a infecção e virulência do parasito (Perini et al., 2018; Evia, 2017; Abarca et al., 2016).

Para o tratamento de pacientes infectados, medicamentos como metronidazol e secnidazol, comumente usados em casos de amebíase, são recomendados (Wiggers et al, 2018; Prado et al., 2018; Simes & Platt, 2020; Evia, 2017). Cabe destacar que o tratamento empírico com albendazol, no esquema utilizado para controle periódico de enteroparasitos na aldeia, não demonstrou eficácia contra alguns deles (Lenartovicz-Boeira et al., 2021), entre eles o *Urbanorum* spp., uma vez que foram detectadas após o término do esquema de tratamento antiparasitário. Outros autores também relataram que o tratamento com albendazol não foi efetivo contra *Urbanorum* spp (Wiggers et al, 2018; Kruger, 2020).

A expansão geográfica dos casos diagnosticados, em pelo menos três estados e duas regiões diferentes do Brasil e de outros países da América do Sul, indicam a necessidade de aprofundamento da pesquisa sobre esta espécie emergente de parasito, para conhecer melhor sua fisiopatologia e tratamento

(Giovanella et al, 2021), uma vez que o *Urbanorum* tem apresentado grande potencial de disseminação e pode causar surtos em diferentes populações, como foram os casos pioneiros de infecção em população indígena no presente estudo.

Nos últimos anos, casos de infecção humana por *Urbanorum* spp. vêm sendo relatados em vários países da América do Sul, incluindo o Brasil, mostrando a amplitude de distribuição desse parasito emergente, que teve o seu encontro em população indígena relatado pela primeira vez neste estudo. A sensibilidade aos sais utilizados em EPF, a resistência ao congelamento das amostras, detalhes das projeções citoplasmáticas (pseudópodes) foram relatados nesta pesquisa. Entretanto, a classificação taxonômica do parasito necessita de maior rigor científico, reafirmando a necessidade de novas investigações, como cultura parasitológica *in vitro*, infecção experimental em animais, análises moleculares e microscopia eletrônica de transmissão a fim de confirmar se estamos mesmo diante de um novo protozoário.

Os profissionais de saúde que trabalham na rotina de análises clínicas devem estar capacitados e atentos para identificação de possíveis espécies novas e raras de parasitos que podem aparecer em amostras fecais de indivíduos de diferentes regiões e etnias da América do Sul, como é o caso do *Urbanorum* spp.

## Referências

Abarca C, Córdova D, Jaramillo J, Oyagata JTJ. 2016. *Urbanorum* spp de Parásito intestinal. *Santander: Cátedra Libre UIS*.

Adl SM, Bass D, Lane CE, Lukeš J, Schoch CL, Smirnov A, Agatha S, Berney C, Brown MW, Burki F, Cárdenas P, Čepička I, Chistyakova L, Del Campo J, Dunthorn M, Edvardsen B, Eglit Y, Guillou L, Hampl V, Heiss AA, Hoppenrath M, James TY, Karnkowska A, Karpov S, Kim E, Kolisko M, Kudryavtsev A, Lahr DJG, Lara E, Le Gall L, Lynn DH, Mann DG, Massana R, Mitchell EAD, Morrow C, Park JS, Pawlowski JW, Powell MJ, Richter DJ, Rueckert S, Shadwick L, Shimano S, Spiegel FW, Torruella G, Youssef N, Zlatogursky V, Zhang Q. 2019. Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. *J Eukaryot Microbiol.* Jan;66(1):4-119.

Alvarez ALR. 2017. Enteroparasitosis y diagnóstico parasitológico de *Fasciola hepatica* por el método de concentración formol-éter (Ritchie), em comparación com el método directo, em comunidades de la región andina, región costa y región amazónica,

Diciembre 2015-Junio 2016. Licenciatura em laboratorio Clínico e Histotecnológico. Universidade Central del Ecuador-Facultad de Ciencias medicas.

Bezagio RC, Colli CM, Romera LIL, de Almeida CR, Ferreira EC, Mattia S, Gomes ML. 2020. Melhoría na recuperação de cistos e detecção molecular de *Giardia duodenalis* em amostras de fezes. *Mol Biol Rep* 47: 1233–1239. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05224-5>

Brandelli CLC, Carli GA, Macedo AJ & Tasca T. 2012. Intestinal parasitosis and socio-environmental factors among Mbyá-Guarani Indians, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 54(3):119-122. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652012000300001>

Casarin JN, Duarte SMS, Sampaio JS. 2019. First reports from *Urbanorum* spp. meeting in SUS patient files in a Private Imperatriz Laboratory during 2018. *International Journal of Development Research*, v. 09, n. 10, p. 30676-30678.

Chammartin F, Scholte RG, Guimarães LH, Tanner M, Utzinger J, Vounatsou P. 2013. Soil-transmitted helminth infection in South America: a systematic review and geostatistical meta-analysis. *Lancet Infect Dis* Jun;13(6):507-18. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70071-9. Epub 2013 Apr 4. PMID: 23562238.

Da Silva BJ, Bossolani GDP, Piva C, Dias GDM, Ferreira JG, Rossoni DF, Mota LT e Toledo MJO. 2016. Spatial distribution of intestinal parasitic infections in a Kaingáng indigenous village from Southern Brazil. *International Journal of Environmental Health Research*, 26 (5–6): 578–588.

de Aguiar RPS, Alves LL. 2018. *Urbanorum* spp. First Report in Brazil. *Am J Case Rep*. Apr 25;19:486-490. PubMed PMID: 29693648; PubMed Central PMCID: PMC5937210

Del Pino JRM. Parasitosis intestinal em preescolares y escolares atendidos em el centro médico EsSalud de Celedín, Cajamarca. 2016. *Horiz Med*. Jul, 16(3):35-42.

Díaz Gi KL, Perlaza AKF. 2017. Epidemiology of acute diarrheal syndrome caused by the protozoan *Urbanorum* spp. Degree project prior to obtaining the Bachelor's Degree in Nursing. Ecuador; Milagro, Ecuador. Available from: URL: <http://repositorio.unemi.edu.ec/handle/123456789/3636>

Evia FDI. 2017. Atención primaria de salud en síndrome diarreico por *Urbanorum* spp. [dissertação]. Milagro: Universidad Estatal de Milagro – Facultad Ciencias de La Salud.

Faust EC, Sawitz W & Tobie J. 1939. Comparative efficiency of various techniques for diagnosis of protozoa and helminthes in feces. *J Parasit*, Jun 25:241-62.

Giovanella MH, Livramento A, Rensi Botelho, TK. 2021. URBANORUM SPP: UMA REVISÃO DE LITERATURA. *Acta Elit Salutis*, [S. l.], v. 5, n. 1,

Kruger EMM. 2020. *Urbanorum* spp.: novo parasita no Brasil. *Rev Bras Med Fam Comunidade* 15(42):2157. [https://doi.org/10.5712/rbmfc15\(42\)2157](https://doi.org/10.5712/rbmfc15(42)2157)

Leão FMD, Siniauskas A, Corbucci R, Kiffer CRV. 2018. *Urbanorum*: estamos diante de uma nova parasitose epidêmica? *Braz. J. Infect. Dis* 22:124-125.

Lenartovicz-Boeira V, Colli CM, Casagrande L, Rigon FP, Martelli EC, Peder LD, Toledo MJO. 2021. Tratamento em massa não reduz a prevalência de parasitas em escolares indígenas Guarani no Brasil. *Res, Soc and Develop. S.I., v. 10, n.11, pág. e187101119524.*

Lopez J, Souza Nunes L. 2018. *Urbanorum* spp: segundo relato de caso no Brasil. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*;10(1).

Lutz A. 1919 O *Schistosomum mansoni* e a schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*11(1):121-55.

Perini, L. 2018. *Urbanorum* spp, um novo parasita? Relato de caso. XVII Semana Brasileira do Aparelho Digestivo – SBAD; São Paulo (SP). São Paulo (SP): *Revista GED – Gastrenterologia Endoscopia Digestiva* 37: 322.

Peron F, Lazarin-Bidóia D, Ud Din Z, et al. 2017. Effects of (1*E*,4*E*)-2-Methyl-1,5-bis(4-nitrophenyl) penta-1,4-dien-3-one on *Trypanosoma cruzi* and Its Combinational Effect with Benznidazole, Ketoconazole, or Fluconazole. *Biomed Res Int.* 17:7254193.

Prado ET, Faria CR, Lima CCS, Araújo CM, Nery LFA. 2018. Relato de caso: parasito *Urbanorum* spp. em fezes de paciente de um laboratório particular de São José dos Campos-SP. 45º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, 6º Núcleo de Gestão e Qualidade 4º Fórum de Proprietários de Laboratórios. Rio de Janeiro (RJ). Rio de Janeiro (RJ): *Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC* 50:12.

Rivero de Rodríguez Z. 2016. Is *Urbanorum* spp. a parasite? *Kasmera* 44(1). <http://produccioncientificaluz.org/index.php/kasmera/article/view/21294/21129>  
Santamaría FT: *Urbanorum* spp. 2013. Santander: Catedra Libre UIS.  
<http://www.buenastareas.com/ensayos/Urbanorum-Spp/70918639.html>

Simes AD & Platt VB. 2020. *Urbanorum* spp: primeiro relato de caso em pediatria no Brasil. *Resid Pediatr.* <https://doi.org/10.25060/residpediatr>

Toledo MJO, Paludetto AW, Moura FT, Nascimento ES, Chaves M, Araújo SM, Mota LT. 2009. Evaluation of enteroparasite control activities in a Kaingáng community of Southern Brazil. *Rev Saúde Pública.*43(6).

Villafuerte RIM, Collado LAZ, Velarde CN. 2016. *Urbanorum* spp. in Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 33: 593–95.

Wiggers K, Anunciação CFM, Santos CF, Darugna DCMO, Almeida DMR, Campos EM, Ramos KS, Gonçalves LG, Ziglia MGMW, Borges, RGF. 2018. Diarreia infecciosa por

*Urbanorum* spp. em lactente – relato de caso. XVI Congresso Catarinense de Pediatria, Sociedade Catarinense de Pediatria (SCP); Blumenau (SC). Anais trabalhos científicos; p-96.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2016. *Neglected tropical diseases*. Disponível em: [http://www.who.int/neglected\\_diseases/diseases/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/)>.

## ANEXOS

UNIOESTE - CENTRO DE  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Controle de parasitoses intestinais em crianças de aldeamento indígena do Município de São Miguel do Iguçu - Paraná

**Pesquisador:** VERIDIANA LENARTOVICZ

**Área Temática:** Estudos com populações indígenas;

**Versão:** 5

**CAAE:** 53124915.3.0000.0107

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual do Oeste do Paraná

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.042.582

#### Apresentação do Projeto:

##### INTRODUÇÃO

No Estado do Paraná existem aproximadamente 9015 indígenas, habitando 85.264,30 hectares de terra em três etnias indígenas: Guarani, Kaingang e Xetá . As escolas indígenas paranaenses estão situadas em 17 áreas indígenas, localizadas em 20 municípios, nas regiões norte, centro, oeste, sudoeste e leste do Paraná e contam com 150 professores, dos quais 67 são não-indígenas, 65 de etnia Kaingang e 18 de etnia Guarani . A reserva indígena Ocoy de etnia Guarani está situada no município de São Miguel do Iguçu e atende 172 alunos, cerca de metade da população aldeada. As parasitoses intestinais estão amplamente disseminadas entre os povos indígenas brasileiros, em função das condições socioeconômico-culturais a que estão expostos e mesmo com o estabelecimento de ações de saneamento, as infecções parasitárias, muitas vezes, encontram-se fora de controle dos serviços de saúde, pela grande transmissibilidade de patógenos, favorecida por fatores de ordem ambiental e sociocultural, sendo ainda um problema de saúde pública negligenciado . A transmissão das enteroparasitoses ocorre na maioria dos casos por via passiva oral, com a ingestão de água ou alimentos contaminados, sendo sua maior prevalência vinculada a áreas que se apresentam com condições higiênico sanitárias precárias associadas à falta de tratamento adequado de água e esgoto. Estes fatores

Endereço: UNIVERSITÁRIA

Bairro: UNIVERSITÁRIO

CEP: 85.819-110

UF: PR

Município: CASCAVEL

Telefone: (45)3220-3272

E-mail: cep.prppg@unioeste.br

Continuação do Parecer: 2.042.582

facilitam a disseminação de ovos, cistos, oocistos e larvas, sendo a transmissão também facilitada pelo aumento do contato pessoa a pessoa. Para combater e prevenir os agravos à saúde das populações indígenas, as ações de saneamento básico devem contemplar o perfil epidemiológico destas populações e as particularidades do modo de vida. Vários estudos realizados com populações indígenas, mostraram que não há redução na prevalência total de enteroparasitos após o tratamento em massa, revelando que apenas as melhorias sanitárias e o tratamento não são suficientes para reduzir satisfatoriamente as taxas de infecção da população, sendo necessária a implementação da educação em saúde. O ambiente escolar, depois da família, é a principal referência de crianças e adolescentes e é de onde elas obtêm grande parte das noções de relacionamento social, saúde e cidadania, por isso na escola a educação em saúde tem resultados eficazes. Sendo as doenças parasitárias um importante problema de saúde pública muitas vezes negligenciado, pouco se sabe sobre o perfil epidemiológico dos povos indígenas do estado do Paraná em relação as mesmas. Em geral, as crianças em ambiente escolar, mesmo as não aldeadas, apresentam uma alta frequência de parasitismo intestinal devido a pouca noção de higiene e ao contato muito próximo umas das outras. Ações de controle, como diagnóstico, tratamento e educação em saúde, envolvendo estudantes do Curso de Farmácia, podem ser implantadas de forma eficiente. O ambiente escolar é formador de cidadãos, referência de convívio e aprendizado, e a educação voltada a saúde nesse ambiente pode favorecer o desenvolvimento físico e intelectual das crianças. A universidade, professores, alunos e funcionários envolvidos são os elementos indicados para a divulgação dos conhecimentos básicos de educação comunitária e incentivo a mudança de hábitos. A informação e participação de agentes de saúde e professores que darão continuidade as ações de prevenção no ambiente escolar, busca a manutenção das atividades mesmo após o encerramento do projeto.

#### HIPÓTESE

A pesquisa de parasitoses intestinais nos estudantes do Colégio Estadual Indígena Tejo Nemoingo contribuirá para o perfil dessas doenças na população aldeada do Estado do Paraná. As ações de controle como tratamento e educação em saúde contribuirão para a redução de casos de enteroparasitoses na população estudada, contribuindo para sua qualidade de vida.

#### METODOLOGIA

A equipe executora do projeto, incluindo pesquisadores e acadêmicos, fará uma visita inicial ao Colégio indígena para conhecer as condições da escola e explicar aos estudantes e aos professores

Endereço: UNIVERSITARIA  
Bairro: UNIVERSITARIO  
UF: PR Município: CASCAVEL  
Telefone: (45)3230-3272 CEP: 85.819-110  
E-mail: cep.pppg@unioeste.br

Continuação do Projeto: 2.042.582

como serão as atividades desenvolvidas. Na próxima etapa serão distribuídos frascos de coleta com instruções verbais e escritas sobre como recolher o material adequadamente para o exame parasitológico de fezes, conforme anexo. Em dia e hora combinados a equipe fará o recolhimento das amostras e encaminhará, em condições adequadas, ao laboratório de Parasitologia Clínica no LACEPE - HUOP. As amostras serão processadas e analisadas pelos docentes e acadêmicos através dos métodos a fresco, Hoffmann, Pons e Janer (9) e Faust (10) e, se necessário Kato-Katz. Os resultados serão registrados e laudos dos exames serão emitidos por escrito para que os alunos e pais possam ser informados, além disso uma carta explicando sobre o resultado encontrado será anexada ao laudo. Baseando-se nos resultados encontrados, as atividades de educação em saúde serão desenvolvidas, buscando promover o conhecimento de higiene e cuidados com água e alimentos. Essas atividades terão o desenvolvimento através da discussão com a escola para determinar as melhores estratégias para atingir a população, tendo possibilidade de desenvolver material gráfico didático e lúdico. Os alunos com positividade nos resultados dos exames parasitológicos serão encaminhados ao serviço de saúde indígena na Unidade Básica de Saúde Ava Guarani para que a equipe médica e de enfermagem realize o tratamento adequado. Junto ao tratamento serão iniciadas as ações de educação em saúde pelos pesquisadores e acadêmicos. Novos exames serão realizados em todos os envolvidos para que possa ser avaliada a efetividade das ações de controle envolvendo o tratamento e a educação em saúde. Os casos ainda positivos serão reencaminhados ao tratamento e após a avaliação das parasitoses permanentes, novas discussões sobre as estratégias de ação serão realizadas e outras atividades com os envolvidos serão aplicadas. As direções da escola, juntamente com os professores, farão avaliações periódicas sobre as atividades realizadas, buscando um melhor entendimento entre as partes e conseqüentemente melhores resultados. A equipe da UBS Ava Guarani também será informada sobre os resultados obtidos e as metodologias de educação a serem adotadas. Todas essas ações de diagnóstico, tratamento e controle, serão desenvolvidas de forma dinâmica e aos poucos, para que seja um processo evolutivo e não todos os alunos de uma vez só, para que a escola esteja em permanente trabalho de mudança de hábitos e condições. Os materiais de comunicação desenvolvidos serão mantidos na escola de forma a possibilitar que as ações de prevenção de doenças parasitárias junto a essa população sejam uma atividade rotineira da escola e possam fazer parte de atividades envolvendo disciplinas do currículo básico.

#### CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Todos os alunos que fizerem parte do projeto deverão necessariamente estudar na escola indígena

Endereço: UNIVERSITARIA  
Bairro: UNIVERSITARIO CEP: 85.815-110  
UF: PR Município: CASCAVEL  
Telefone: (45)3220-3272 E-mail: csp.prppg@unioeste.br

Continuação do Formulário: 3.042.582

e ser de origem indígena. Indivíduos com até 20 anos de idade.

**CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

Crianças não indígenas que estejam estudando na escola em questão;- indivíduos maiores de 20 anos.

**Objetivo da Pesquisa:**

**OBJETIVO PRIMÁRIO**

Controle de parasitoses intestinais em alunos do Colégio Estadual Indígena Tejo Nemoingo, na Aldeia Tekoha Ocuy Município de São Miguel do Iguaçu - Paraná.

**OBJETIVOS SECUNDÁRIOS**

Diagnosticar as parasitoses intestinais em alunos do Colégio Estadual Indígena Tejo Nemoingo, através da realização do exame parasitológico de fezes;- Realizar o tratamento adequado dos casos positivos de parasitoses intestinais;- Proporcionar orientações que possam contribuir para melhorias higiênicas dessa população, através de palestras, atividades lúdicas, elaboração de cartilhas, folders, material virtual e material permanente para o colégio;- Envolver professores e agentes de saúde indígena na manutenção das atividades.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**RISCOS**

A coleta de material fecal pode oferecer riscos de contaminação de solo e mãos dos indivíduos, visto que a transmissão das parasitoses intestinais, em sua maioria, é fecal-oral, entretanto, com as instruções de forma correta de proceder a coleta que serão entregues por escrito e feitas verbalmente aos pais ou aos indivíduos participantes da pesquisa, esse risco é minimizado. Os resultados das análises, os dados coletados e as identidades dos pesquisados serão guardados em total sigilo pelos pesquisadores, além do que, os mesmos serão informados que poderão desistir da pesquisa a qualquer momento.

**BENEFÍCIOS**

A população estudada fará exames parasitológicos de fezes sem custo, receberá o tratamento adequado e ações de controle para melhorias das condições higiênico-sanitárias locais buscando a redução do número de casos de parasitoses intestinais. Conhecimento da prevalência de infecções

Endereço: UNIVERSITARIA  
Bairro: UNIVERSITARIO CEP: 85.819-110  
UF: PR Município: CASCAVEL  
Telefone: (45)3220-3272 E-mail: cex.pcpq@unioeste.br

Continuação do Parecer: 2.042.582

intestinais em um dos aldeamentos indígenas do Paraná.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Projeto apresenta relevância científica e social e encontra-se de acordo com as diretrizes da agenda de pesquisa do SUS.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Todos os termos obrigatórios foram apresentados.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

RESPOSTAS AO PARECER CONEP Nº 1.580.541:

1. Quanto ao "TCLE\_Teko.pdf".

1.1. Na página 1 de 2 lê-se: "Não haverá riscos relacionados com a participação[...]". Entretanto, a pesquisadora informa no arquivo PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_381529.pdf: "A coleta de material fecal pode oferecer riscos de contaminação de solo e mãos dos indivíduos, visto que a transmissão das parasitoses intestinais, em sua maioria, é fecal-oral, entretanto, com as instruções de forma correta de proceder a coleta que serão entregues por escrito e feitas verbalmente aos pais ou aos indivíduos participantes da pesquisa, esse risco é minimizado. Os resultados das análises, os dados coletados e as identidades dos pesquisados serão guardados em total sigilo pelos pesquisadores, além do que, os mesmos serão informados que poderão desistir da pesquisa a qualquer momento." Solicita-se a retirada da afirmação de que essa pesquisa não tem risco e a inclusão da informação sobre o risco envolvido nessa pesquisa.

RESPOSTA: Foi incluído o texto quanto aos riscos envolvendo a coleta do material para a pesquisa bem como a maneira de minimizá-lo: "Já que o experimento se baseia na coleta de material fecal após a defecação, não há dor ou mal-estar ao participante. A coleta de material pode oferecer riscos de contaminação de solo e mãos por isso devem ser seguidas as instruções de forma correta". ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.2. Na página 1 de 2 lê-se: "Não está prevista indenização por sua participação[...]". O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá conter explicitação da garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, não sendo aceitável que se exija, sob qualquer argumento, renúncia ao direito a indenização por dano, conforme itens IV.3.h, IV.4.c e V.7 da Resolução CNS nº 466 de 2012. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Foi incluído o texto em relação a indenização do participante da pesquisa caso esse

Endereço: UNIVERSITÁRIA  
Bairro: UNIVERSITARIO  
UF: PR Município: CASCAVEL  
Telefone: (45)3220-3272  
CEP: 85.819-110  
E-mail: cep.prgp@unioeste.br

Continuação do Parecer: 2.042.582

seja prejudicado ou sofra algum dano com a mesma: "A participação de seu filho ou filha, bem como, a de todas as partes envolvidas será voluntária, não havendo remuneração para tal, entretanto se em qualquer momento você sofrer algum dano, comprovadamente decorrente desta pesquisa, terá direito à indenização. Neste estudo não são previstos gastos por parte dos participantes no decorrer da realização do trabalho". ANÁLISE: PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA. Sobre o item INDENIZAÇÃO a pesquisadora afirma no TCLE e em ambos os Termos de Assentimento - para Ensino Fundamental e para Ensino Médio - postado em 22/06/16 que "entretanto se em qualquer momento você sofrer algum dano, comprovadamente decorrente desta pesquisa, terá direito à indenização.". A ressalva "COMPROVADAMENTE DECORRENTE DA PESQUISA" não esclarece plenamente o participante. Assim, solicita-se a substituição do trecho por: "Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.". Solicita-se adequação. ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.3. Além do telefone, solicita-se que seja incluída no TCLE uma breve descrição do que é o Comitê de Ética, qual sua função no estudo, seu endereço, horário de funcionamento e as suas formas de contato. (Resolução CNS 466/2012, IV.5).

RESPOSTA: Incluiu-se uma breve explicação sobre a função do Comitê de ética bem como as informações sobre local e horário de funcionamento do Comitê ao qual o Projeto foi encaminhado: "...Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Unioeste que tem função de defender a integridade física e emocional, além da dignidade e os interesses dos participantes envolvidos nas atividades de pesquisa. Suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação podem ser sanadas agora ou em qualquer momento". ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.4. De forma a garantir sua integridade, o documento deve apresentar a numeração das páginas. Solicita-se que esta seja inserida de forma a indicar, também, o número total de páginas, por exemplo: 1 de 2; 2 de 2 solicita-se adequação.

RESPOSTA: Incluiu-se a numeração de páginas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.5. O TCLE direcionado aos pais ou responsáveis pelas crianças deve estar em toda a sua construção se referindo ao processo de autorização da criança como participante da pesquisa. Na forma apresentada, em vários momentos, leva ao entendimento que os pais ou responsáveis são

Endereço: UNIVERSITARIA  
Bairro: UNIVERSITARIO CEP: 85.819-110  
UF: PR Município: CASCAVEL  
Telefone: (45)3220-3272 E-mail: cep.pppq@unioeste.br

Continuação do Parecer: 2.042.582

na realidade os participantes da pesquisa ao invés dos seus tutelados. Solicita-se adequação. RESPOSTA: Fez-se a reestruturação do texto do TCLE para que fique claro que o participante da pesquisa serão as crianças e não os pais ou responsáveis, sendo este Termo direcionado aos pais e responsáveis de alunos da Educação Infantil e Ensino fundamental até o 4º ano. ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.6. Solicita-se que a palavra "cópia" seja substituída por "via", conforme determina a Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.f e IV.5.d. RESPOSTA: Substituiu-se o termo cópia por via. ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.7. Solicita-se substituir o termo "sujeito de pesquisa" para "participante da pesquisa" conforme definição disposta no item II.10 da Resolução CNS nº 466 de 2012.

RESPOSTA: Substituiu-se o termo sujeito da pesquisa por participante da pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Quanto ao "Termo\_de\_assentimento.pdf"

2.1. Solicita-se inserir um campo de assinaturas para a pesquisadora ou pessoa responsável pela aplicação do termo.

RESPOSTA: Incluiu-se um campo de assinaturas para a pesquisadora ou pessoa responsável pela aplicação dos termos

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.2. De forma a garantir sua integridade, o documento deve apresentar a numeração das páginas. Solicita-se que esta seja inserida de forma a indicar também o número total de páginas, por exemplo: 1 de 2; 2 de 2.

RESPOSTA: Incluiu-se a numeração de páginas nos Termos.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.3. Não é informado qual a faixa etária alvo do referido documento. O Termo de Assentimento deve ser elaborado pelo pesquisador em linguagem acessível à compreensão dos participantes da pesquisa, em suas diferentes faixas etárias, não sendo adequado que seja elaborado somente um Termo para todos os participantes menores de 18 anos. Solicita-se que sejam apresentados os Termos de Assentimento, adequados para as diferentes faixas etárias, podendo ser utilizados argumentos gráficos como desenhos, personagens e histórias ilustrativas, para que a criança compreenda a importância, os procedimentos e os objetivos da pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.2 e II.24).

RESPOSTA: Foram elaborados dois Termos de Assentimento, um para os alunos do Ensino Fundamental do 5º ao 9º ano e outro para os alunos do Ensino Médio, sendo que a linguagem foi

Endereço: UNIVERSITARIA  
Bairro: UNIVERSITARIO CEP: 85.819-110  
UF: PR Município: CASCAVEL  
Telefone: (45)3220-3272 E-mail: cep.prgpg@unioeste.br

Continuação do Parecer: 2.042.042

adaptada de acordo com a idade dos participantes da pesquisa. O Termo de Assentimento para os alunos do Ensino Fundamental inclui figuras e linguagem mais simples para melhor compreensão do projeto e de como será a participação. Já o Termo de Assentimento para os alunos do Ensino Médio utiliza uma linguagem informal, porém informativa e adequada a idade dos participantes.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos - Cep UNIOESTE, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_381529.pdf	17/04/2017 10:49:14		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVR E_E_ESCLARECIDO_2017.pdf	17/04/2017 10:44:42	VERIDIANA LENARTOVICZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_Ensino_Funda mental_2017.pdf	17/04/2017 10:43:27	VERIDIANA LENARTOVICZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_ensino_medio _2017.pdf	17/04/2017 10:39:56	VERIDIANA LENARTOVICZ	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	RECURSO_DO_PESQUISADOR_A_C ONEP.docx	05/07/2018 11:52:29	VERIDIANA LENARTOVICZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_Ensino_medio .pdf	22/06/2018 10:41:19	VERIDIANA LENARTOVICZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_Ensino_Funda mental.pdf	22/06/2018 10:40:59	VERIDIANA LENARTOVICZ	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	06/04/2016	VERIDIANA	Aceito

Endereço: UNIVERSITÁRIA  
Bairro: UNIVERSITÁRIO CEP: 85.819-110  
UF: PR Município: CASCAVEL  
Telefone: (45)3230-3272 E-mail: cep.pppq@unioeste.br

**UNIOESTE - CENTRO DE  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE**



Continuação do Parecer: 2.042.582

Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	09:47:58	LENARTOWICZ	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Escola_Teko_Nemoingo.pdf	06/04/2016 09:19:06	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Teko.pdf	06/04/2016 09:09:36	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_FUNAI.pdf	05/04/2016 10:22:24	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_da_assentimento.pdf	05/04/2016 09:57:38	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	001.jpg	04/04/2016 16:08:29	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Outros	Instrucoes_pera_coleta.pdf	29/03/2016 16:00:40	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Comite.pdf	29/03/2016 13:49:11	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Outros	Lattes.pdf	30/11/2015 11:10:00	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	27/11/2015 10:42:44	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_autoridade_indigena.pdf	17/11/2015 10:43:39	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_escola.pdf	17/11/2015 10:41:01	VERIDIANA LENARTOWICZ	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CASCAVEL, 02 de Maio de 2017

**Assinado por:**

**Fausto José da Fonseca Zamboni  
(Coordenador)**

Endereço: UNIVERSITARIA	CEP: 85.819-110
Bairro: UNIVERSITARIO	
UF: PR	Município: CASCAVEL
Telefone: (45)3233-3272	E-mail: cep.progg@unioeste.br

Página 02 de 02



## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

### ESTUDANTES DA EDUCAÇÃO INFANTIL E ENSINO MÉDIO 1º AO 4º ANO

Seu filho ou filha está sendo convidado a participar de uma pesquisa intitulada: **"CONTROLE DE PARASITÓSES INTESTINAIS EM CRIANÇAS DE ALDEAMENTO INDÍGENA DO MUNICÍPIO DE SÃO MIGUEL DO IGUAÇU – PARANÁ"**, um projeto de pesquisa, coordenado pela Professora Veridiana Lenartovici Boeira que contará ainda com acadêmicos do curso de Farmácia da Unioeste.

A participação de seu filho ou filha não é obrigatória sendo que, a qualquer momento da pesquisa, ele/ela poderá desistir. Se não quiserem participar, não haverá nenhum prejuízo para sua relação com o pesquisador ou com a UNIOESTE.

O objetivo desta pesquisa é fazer o controle de parasitas intestinais nas crianças do Colégio Indígena Teko Nemoingo, no aldeamento indígena Ocoy em São Miguel do Iguaçu - PR, através de diagnóstico, tratamento e educação em saúde. Caso vocês decidam aceitar o convite, o seguinte procedimento será realizado: serão coletadas fezes de seu filho ou filha em frascos de coleta com o nome da criança. A coleta do material é feita pelos pais ou responsáveis, após a defecação, conforme instrução dada pela equipe de pesquisa e encaminhada a escola Teko ou a Posto de Saúde indígena.

Já que o experimento se baseia na coleta de material fecal após a defecação, não há dor ou mal estar ao participante. A coleta de material pode oferecer riscos de contaminação de solo e mãos por isso devem ser seguidas as instruções de forma correta. Caso sintam-se desconfortáveis, em qualquer momento da pesquisa, poderão desistir da participação do estudo, sem nenhum prejuízo. Os resultados das análises, os dados coletados e as identidades dos pesquisados serão guardados em total sigilo pelos pesquisadores. Por se tratar de uma pesquisa, poderão ter resultados positivos ou negativos, desta maneira "não" será divulgado o nome do participante, a fim de não causar constrangimento ou prejuízo a ele.

Os benefícios relacionados com a participação de seu filho/filha poderão trazer o conhecimento sobre a presença e prevalência de parasitas intestinais nas crianças da Escola Indígena Teko Nemoingo. Se houver positividade dos exames laboratoriais as crianças serão encaminhadas ao tratamento pela equipe de saúde da UBS da aldeia, sempre acompanhada pelos pais ou responsáveis. Será possível determinar medidas preventivas e de controle de possíveis infecções para desenvolvimento de ações de educação em saúde, etapa essa que será aplicada na escola, junto a equipe pedagógica. Além disso, o trabalho em questão pretende contribuir com novas pesquisas sobre o assunto.

Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em seminários, congressos e similares, entretanto, os dados/informações obtidos por meio da participação serão confidenciais e sigilosos, não possibilitando a identificação. A participação de seu filho ou filha, bem como, a de todas as partes envolvidas será voluntária, não havendo remuneração para tal. **Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.** Neste estudo não são previstos gastos por parte dos participantes no decorrer da realização do trabalho.

Os pais ou responsáveis receberão uma via deste termo onde constam o telefone e o endereço do pesquisador principal, e do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Unioeste que tem função de defender a integridade física e emocional, além da dignidade e os interesses dos participantes envolvidos nas atividades de pesquisa. Suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação podem ser sanadas agora ou em qualquer momento.

**Coordenadora do Projeto** VERIDIANA LENARTOVICZ BOEIRA

Endereço: Av. Tancredo Neves, 3224 - Bairro Santo Onofre, Cascavel -PR

Telefone: (45)3321-5413

**Comitê de Ética da Unioeste**

Rua Universitária, 1619 Jardim Universitário Cascavel – Paraná

(45) 3220-3092 ou cep.prppg@unioeste.br

Funcionamento : Segunda a sexta: 8:00 as 12:00 e 13:30 as 15:30

Declaro que entendi os objetivos, a forma da participação de meu filho ou filha, riscos e benefícios da mesma e aceito o convite para que ele/ela possa participar. Autorizo a publicação dos resultados da pesquisa, a qual garante o anonimato e o sigilo referente à participação de meu filho ou filha.

Nome do participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura do responsável pelo participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que forneci todas as informações do projeto ao participante e/ou responsável.

Assinatura do responsável pela aplicação do Termo: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.



Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Pré-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP



Aprovado na  
CONEP em 04/08/2008

## ANEXO II

### TERMO DE ASSENTIMENTO PARA ESTUDANTES DO ENSINO MÉDIO

Título do Projeto: Controle de parasitoses intestinais em crianças de aldeamento indígena do Município de São Miguel do Iguçu – Paraná

Pesquisador responsável: Veridiana Lenartovicz Boeira

TELEFONE: (45) 33215413

Convidamos você a participar de nossa pesquisa que tem como objetivo fazer o controle de parasitas intestinais nos estudantes do Colégio Indígena Teko Nemoingo, no aldeamento indígena Ocoy em São Miguel do Iguçu - PR, através de diagnóstico, tratamento e educação em saúde. Esperamos, com este estudo, poder trazer o conhecimento sobre a presença e prevalência de parasitas intestinais nos estudantes desta escola.

Se houver positividade dos exames os estudantes serão encaminhados ao tratamento pela equipe de saúde da UBS da aldeia. Será possível o desenvolvimento de medidas preventivas e de controle de possíveis infecções para desenvolvimento de ações de educação em saúde, etapa essa que será aplicada na escola, junto a equipe pedagógica. Além disso, o trabalho em questão pretende contribuir com novas pesquisas sobre o assunto.

Para tanto, se você aceitar participar, deverá coletar fezes em potes de coleta identificados com seu nome entregues pela equipe da pesquisa. A coleta do material é feita após a defecação, conforme instrução dada pela equipe de pesquisa, sem nenhum procedimento invasivo, não causando dor ou qualquer outro sintoma, sendo os riscos os mínimos possíveis. Por se tratar de uma pesquisa, poderão ter resultados positivos ou negativos, desta maneira "não" será divulgado o nome do participante, a fim de não causar constrangimento ou prejuízo ao mesmo. Os frascos de coleta serão enviados com uma pazinha dentro, portanto a coleta deve ser realizada somente com esse utensílio sem utilizar as mãos diretamente no material. Caso as mãos fiquem sujas após a coleta, lavar bem as mãos com água e sabão.

Sua identidade não será divulgada e seus dados serão tratados de maneira sigilosa, sendo utilizados apenas fins científicos. Você também não pagará nem receberá para participar do estudo. **Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.** Além disso, você poderá cancelar sua participação na pesquisa a qualquer momento.

---

No caso de dúvidas ou da necessidade de relatar algum acontecimento, você pode contatar os pesquisadores pelos telefones mencionados acima ou o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Unioeste que tem função de defender a integridade física e emocional, além da dignidade e os interesses dos participantes envolvidos nas atividades de pesquisa. Suas dúvidas sobre o projeto e 2 de 2 sobre sua participação podem ser sanadas agora ou em qualquer momento.

Comitê de Ética da Unioeste Rua Universitária, 1619 Jardim Universitário Cascavel – Paraná (45) 3220-3092 ou cep.prppg@unioeste.br Funcionamento: Segunda a sexta 8:00 as 12:00 e 13:30 as 15:30.

Este documento será assinado em duas vias, sendo uma delas entregue ao participante da pesquisa.

Declaro estar ciente do exposto e desejo participar do projeto.

Assinatura Nome do participante da pesquisa ou responsável:

\_\_\_\_\_

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que forneci todas as informações do projeto ao participante e/ou responsável.

Assinatura do responsável pela aplicação do Termo:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

## TERMO DE ANUÊNCIA

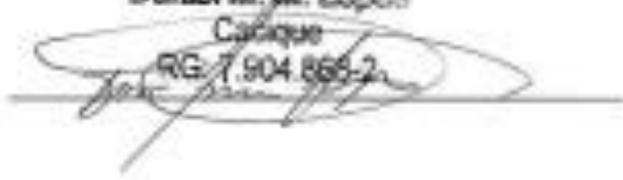
Declaro para os devidos fins que estamos de acordo com a execução do projeto de pesquisa intitulado "Controle de parasitoses intestinais em crianças de aldeamento indígena no Município de São Miguel do Iguçu - Paraná", sob a coordenação e a responsabilidade da Prof<sup>a</sup>. Veridiana Lenartovicz Boeira do Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, o qual tem acesso para entrar e permanecer nas terras da Reserva indígena de Ocoy para desenvolvimento das atividades.

São Miguel do Iguçu, 12 de novembro de 2015.

Daniel M. M. Lopes

Caçique

RG 7.904.866-2



NIECO V

**TERMO DE CIÊNCIA DO RESPONSÁVEL PELO CAMPO DE ESTUDO**

**Título do projeto:** Controle de parasitoses intestinais em crianças de atendimento indígena no Município de São Miguel do Iguaçu - Paraná

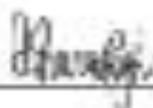
**Responsible(s):** Veridiana Lamas Horvitz Boeira  
Leydo Calano de Fátima

**Local da pesquisa:** Colégio Estadual Indígena Tereza Neco no

**Responsável pelo local de realização da pesquisa:** Cleonice Ricardo Nunes Frey

Os pesquisadores acima identificados estão autorizados a realizar a pesquisa e a coleta de dados, os quais serão utilizados exclusivamente para fins científicos, assegurando sua confidencialidade e o anonimato dos sujeitos participantes da pesquisa, de acordo com as normas da Resolução JBS/DT 12/2015/UNIOESTE e suas complementares.

São Miguel do Iguaçu, 12 de novembro de 2015.



Cleonice Ricardo Nunes Frey  
Diretora  
PR ADI/PRAD 1100-124/2016-01  
BOL 003-040/15-2

## TERMO DE ANUÊNCIA

Considerando-se a importância da pesquisa para o aprimoramento da política pública de saúde indígena declaro para os devidos fins que estamos de acordo com a execução do projeto pesquisa de Trabalho de Conclusão de Curso intitulada "Pesquisa de parasitas intestinais e correlação de sua patogenicidade em solo de aldeamento indígena" no município de São Miguel do Iguazu – Paraná, sob a coordenação da Prof<sup>a</sup> Veridiana Lenartovicz Boeira do Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, considerando-se a importância da pesquisa para o aprimoramento da política pública de saúde indígena autorizo a realização da pesquisa o qual tem acesso para entrar e permanecer nas terras da Reserva Indígena de Ocoy para desenvolvimento das atividades durante o período de Dezembro de 2018 à Dezembro de 2019.

São Miguel do Iguazu, 20 de Dezembro de 2018.



Veridiana Lenartovicz Boeira

## FICHA E QUESTIONÁRIO

### FICHA DE COLETA DE SOLO E POEIRA

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

1) Identificação da casa: \_\_\_\_\_

2) Temperatura: \_\_\_\_\_ Horário: \_\_\_\_\_ H \_\_\_\_\_ MIN

3) Há quanto tempo não chove? \_\_\_\_\_

4) Condições do solo: ( ) Seco ( ) Úmido

5) Possui animais? ( ) Sim ( ) Não

Se sim: Quantos? \_\_\_\_\_ Quais? \_\_\_\_\_

Preso: \_\_\_\_\_ Solto: \_\_\_\_\_

Eles entram em casa? ( ) Sim ( ) Não Dados adicionais:

6) Havia fezes ao redor da casa? ( ) Sim ( ) Não

### CONDIÇÕES DE MORADIA E HIGIENE

1) a- Utiliza o banheiro? ( ) Sim ( ) Não

b- Se utiliza, para que: ( ) Tomar banho ( ) Tomar banho e defecar ( ) Defecar ( ) Outros usos ( ) Não respondeu

c- Se não utiliza, por quê? ( ) Não possui ( ) Outros motivos: \_\_\_\_\_

2) a- O banheiro é dentro de casa? ( ) Sim ( ) Não ( ) Não respondeu

b- Se não, qual a localização? ( ) Em anexo próximo ( ) Em anexo distante da casa ( ) Outra

3) Toma a água tratada? ( ) Sim ( ) Não ( ) Não respondeu

4) Toma a água do rio ou mina? ( ) Sim ( ) Não ( ) Não respondeu

5) Quantas pessoas moram na casa? \_\_\_\_\_

6) Quantos cômodos possui a casa? \_\_\_\_\_

7) Números de quartos por casa: ( ) apenas 1 quarto ( ) 2 quartos ( ) > 2 quartos ( ) não respondeu

8) Residência

a- Tipo de moradia: ( ) Alvenaria ( ) Chapa pré-moldada ( ) Madeira/sapé ( ) Outro

b- Tipo de piso: ( ) Alvenaria ( ) Chão batido ( ) Madeira ( ) Outro

c- Possui forro? ( ) Sim ( ) Não ( ) Não se aplica ( ) Não respondeu

9) Fez exame de fezes anteriormente?

( ) Sim ( ) Não ( ) Não respondeu

10) Tomou algum medicamento para parasitoses?

( ) Sim ( ) Não ( ) Não respondeu

Qual medicamento?

( ) medicamento do homem branco ( ) medicamento indígena

**ALDEIA INDÍGENA SANTA ROSA DO COCOY (TEKOHA OCOY)**  
**Paraná – Brasil**  
**2016 a 2022**



Entrada da Aldeia Indígena Santa Rosa do Ocoy, Paraná.



Colégio estadual indígena Teko Nemoingo, na Aldeia Indígena Santa Rosa do Ocoy, Paraná.



Aldeia Indígena Santa Rosa do Ocoy está localizada as margens do Lago de Itaipu, Oeste do Paraná.



Apresentação de dança dos indígenas guarani na Semana Cultural Indígena na Aldeia Indígena Santa Rosa do Ocoy, Oeste do Paraná.



Crianças indígenas Guarani brincando durante período de férias escolares Aldeia Indígena Santa Rosa do Ocoy



Apresentação na Semana Cultural Indígena na Aldeia Indígena Santa Rosa do Ocoy Oeste do Paraná.

,