



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Fernanda Bittencourt de Oliveira Neves

**Inquérito parasitológico em humanos e caracterização genética de
Echinococcus vogeli em pacas (*Cuniculus paca*) de reservas florestais do
Acre. Brasil**

Rio de Janeiro

2021

Fernanda Bittencourt de Oliveira Neves

**Inquérito parasitológico em humanos e caracterização genética de
Echinococcus vogeli em pacas (*Cuniculus paca*) de reservas florestais do
Acre. Brasil**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva
Coorientadora: Dra. Rosângela Rodrigues e Silva

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

N518 Neves, Fernanda Bittencourt de Oliveira.
Inquérito parasitológico em humanos e caracterização genética de *Echinococcus vogeli* em pacas (*Cuniculus paca*) de reservas florestais do Acre. Brasil. / Fernanda Bittencourt de Oliveira Neves – 2021.
111 f.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva
Coorientadora: Dra. Rosângela Rodrigues e Silva

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Microbiologia.

1. *Echinococcus vogeli* – Genética – Teses. 2. Equinococose – Epidemiologia - Teses. 3. Equinococose – Prevenção & controle – Teses. 4. Parasitologia de alimentos. 5. Cuniculidae. I. Silva, José Roberto Machado e. II. Silva, Rosângela Rodrigues e. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 576.89

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo
CRB7/7341

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Fernanda Bittencourt de Oliveira Neves

**Inquérito parasitológico em humanos e caracterização genética de
Echinococcus vogeli em pacas (*Cuniculus paca*) de reservas florestais do
Acre. Brasil**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Defesa em 30 de novembro de 2021.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Coorientadora: Dra. Rosângela Rodrigues e Silva

Fundação Oswaldo Cruz

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Renata Heisler Neves

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Eduardo José Lopes Torres

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Simone Chinicz Cohen

Fundação Oswaldo Cruz - RJ

Prof.^a Dra. Claudia Maria Antunes Uchôa Souto Maior

Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Fabiano Matos Vieira

Universidade Federal do Vale do São Francisco

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos moradores das reservas florestais do Acre, que contribuíram diretamente para o desenvolvimento desse estudo. Este trabalho não seria realizado sem o apoio, conhecimento e colaboração de cada um deles.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por mais uma etapa concluída na minha vida acadêmica, e pelos quatro anos de doutorado resumidos, aqui, em algumas linhas, onde reconheço a importância de cada pessoa citada nesses agradecimentos.

Ao meu pai Luiz Carlos e minha irmã Jaqueline Bittencourt, agradeço por permanecerem comigo, por me amarem e se orgulharem de mim. Toda minha família tem um espaço nesse agradecimento. Eles me alegram, me motivam e se orgulham de quem eu sou.

Sou grata aos meus orientadores Dr. José Roberto Machado e Silva e Dra. Rosângela Rodrigues e Silva pelo crescimento pessoal e profissionalmente junto à UERJ e sobretudo ao Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose do Laboratório de Helminthos Parasitos de Vertebrados (LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz-RJ) por acumular ricas experiências diárias e nas inúmeras expedições ao Acre, desde a minha Iniciação Científica.

Ao meu marido, Leandro Neves, agradeço o apoio essencial desde o processo seletivo para o ingresso no mestrado, até aqui na finalização do doutorado. Juntos dividimos a rotina do dia a dia no laboratório, as atividades de campo no Acre, o apoio pessoal e os momentos difíceis do desenvolvimento deste projeto. Essa difícil mistura de atividades é um desafio diário para nós. Por isso e muito mais, sempre serei grata.

Agradeço também ao meu amigo e padrinho Tuan Pedro pela amizade e auxílio nas atividades de campo, experimentos e discussão dos resultados desta tese. Juntos, Tuan Pedro, Leandro Neves e eu formamos um time que se confunde entre a vida profissional e pessoal.

Reconheço o apoio e agradeço a contribuição de toda equipe do LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz-RJ. Simone Mendes complementa a gratificante equipe diária do laboratório e Fernanda Almeida, que me acompanha desde a Iniciação Científica e conhece todo meu desenvolvimento, agradeço a paciência e incentivo diários.

Aos profissionais Dr. Paulo Teixeira (IFMS-MS), Professor Junior Moreira (IFAC-AC), sua família e amigos e ao Me. Leandro Souza e sua família, agradeço a contribuição prática do trabalho no estado do Acre.

Agradeço à Universidade do Estado do Rio de Janeiro, pelo excelente Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e a Coordenação de Vigilância em Saúde e Laboratórios de Referência/CVSLR da Fiocruz-RJ, pelo financiamento do projeto de pesquisa e expedições.

Todas as pessoas, amigos e familiares que me apoiaram durante esses quatro anos de doutorado, agradeço especialmente.

A verdadeira educação não desconhece o valor dos conhecimentos científicos ou aquisições literárias; mas acima da instrução aprecia a capacidade, acima da capacidade, a bondade, e acima das aquisições intelectuais, o carácter.

Ellen G. White

RESUMO

NEVES, Fernanda Bittencourt de Oliveira. **Inquérito parasitológico em humanos e caracterização genética de *Echinococcus vogeli* em pacas (*Cuniculus paca*) de reservas florestais do Acre. Brasil. 2021. 111 f.** Tese (Doutorado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Na Amazônia, é comum caçar animais silvestres para alimentação. Os moradores estão longe dos centros urbanos, onde o acesso à educação, serviços de saúde, saneamento básico e água tratada é baixo ou inexistente, favorecendo a transmissão de zoonoses e enteroparasitoses. Existem poucas abordagens que envolvam coleta, caracterização molecular, análise e levantamento de dados genéticos sobre as populações das espécies causadoras das equinococoses neotropicais (*Echinococcus vogeli* e *Echinococcus oligarthra*), principalmente obtidas de pacas da região amazônica do Brasil. A existência de variabilidade genética intraespecífica já foi comprovada para *E. granulosus sensu lato*, porém, pouco se sabe sobre este conhecimento em *E. vogeli*. Estes dados podem contribuir para programas de controle, prevenção e diagnóstico da equinococose neotropical policística (ENP). Um hábito específico local é a ingestão dos fígados malcozidos desses animais, contribuindo para a transmissão de *Calodium hepaticum*, agente etiológico da capilariose hepática. Ovos não embrionados desse helminto, quando ingeridos, favorecem a infecção espúria, em que esses ovos passam pelo trato intestinal e saem nas fezes sem causar doença hepática. Porém, humanos nessa condição, atuam como dispersores, podendo contribuir para a infecção de outros hospedeiros. Neste trabalho buscamos realizar a caracterização molecular (PCR e sequenciamento) de amostras de *E. vogeli* isoladas de pacas oriundas do estado do Acre, bem como realizar levantamento parasitológico (sedimentação espontânea, centrífugo-sedimentação e Kato-Katz) e sociodemográfico (aplicação de questionário) em moradores de reservas florestais de municípios acreanos (Xapuri e Sena Madureira). As localidades foram baseadas nos relatos de casos humanos de ENP, segundo dados prévios do Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose do IOC/Fiocruz-RJ (LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz). Todos os 13 isolados de *E. vogeli* (cistos extraídos dos fígados) foram identificados como *E. vogeli* com base nos genes parciais *cox1* e P-29. Para *cox1*, nossas amostras demonstraram similaridade genética com todas as sequências de *E. vogeli* disponíveis no GenBank-NCBI relacionadas à Amazônia brasileira, sobretudo com as do próprio Acre. Nossa análise revelou três sítios de segregação e quatro haplótipos, sendo um central e dois compartilhados entre as duas localidades do estudo. Não houve diversidade genética para sequências de *E. vogeli* geradas para P-29. Nas 276 amostras de fezes examinadas, foram observados ovos de ancilostomídeos (19.2%), ovos de *C. hepaticum* (1.1%) e cistos de *Blastocystis* sp. (6.9%). Conclui-se que: este é o terceiro estudo sobre a estrutura e variabilidade genética das populações de *E. vogeli*, sendo um dos poucos a trabalhar com o gene nuclear P-29. Dentro do perfil negligenciado da ENP, todos os esforços que busquem elucidar a diversidade e estrutura genética do *E. vogeli* podem contribuir para estudos taxonômicos, evolutivos, diagnóstico, epidemiológicos, bem como prevenção e controle da doença. O hábito de comer carne crua de paca é um fator de risco para a infecção espúria por *C. hepaticum* em Sena Madureira e Xapuri. O estudo representa o primeiro relato de *Blastocystis* sp. no Acre. Com base em nossos dados sociodemográficos, a infecção por geohelmintos e protozoários intestinais relaciona-se às precárias condições sanitárias dos habitantes da área de estudo.

Palavras-chave: *Echinococcus vogeli*. Paca. *Calodium hepaticum*. Enteroparasitoses. Acre.

ABSTRACT

NEVES, Fernanda Bittencourt de Oliveira. **Parasitological survey in humans and genetic characterization of *Echinococcus vogeli* in pacas (*Cuniculus paca*) from forest reserves in Acre, Brazil.** 2021. 111 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

In the Amazon Rainforest, it is common to hunt wild animals as a food resource. The forest dwellers live far from urban centers with a lack of access to education, health services, basic sanitation, and clean water, increasing zoonoses and intestinal parasites. There are few approaches involving collection, molecular characterization, analysis, and data survey about the population genetics of species that cause neotropical echinococcosis (*Echinococcus vogeli* and *Echinococcus oligarthra*), especially obtained from lowland pacas in the Brazilian Amazon Rainforest. The genetic variability of *E. granulosus sensu lato* has already been proven and the knowledge of the *E. vogeli* genetics can contribute to the control, prevention, and diagnosis programs for polycystic neotropical echinococcosis (PNE). A specific local habit is the ingestion of these animals' livers undercooked, contributing to the transmission of *Calodium hepaticum*, the etiologic agent of hepatic capillariasis. The ingestion of unembryonated eggs of this helminth causes the spurious infection, characterized by the passing of these eggs through the intestinal tract and then the release with the feces, all this without causing liver disease. However, humans in this condition act as dispersers of the eggs in the environment, which may contribute to the other hosts' infection. The objectives of this work were the molecular characterization (PCR and sequencing) of lowland pacas' *E. vogeli* isolates from the state of Acre and the parasitological survey (spontaneous sedimentation, centrifugal-sedimentation, and Kato-Katz) and sociodemographic (questionnaire application) of the forest reserves dwellers from two municipalities of Acre, Brazil: Xapuri and Sena Madureira. The collect locations were based on reports of human cases of PNE, according to the data of the National Reference Laboratory on Hydatidosis at IOC/Fiocruz-RJ (LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz). All the 13 *E. vogeli* isolates (cysts extracted from livers) were PCR positive for the *cox1* and P-29. For the *cox1* gene, our samples showed genetic similarity with all *E. vogeli* sequences available in GenBank-NCBI related to the Brazilian Amazon Rainforest, especially with those from Acre itself. Our analysis revealed three segregation sites and four haplotypes, one central and two shared between the two study locations. There was no genetic diversity for *E. vogeli* in the P-29 sequences obtained. In the 276 stool samples examined, hookworm eggs (19.2%), *C. hepaticum* eggs (1.1%) and *Blastocystis* sp. (6.9%). It is concluded that: This is the third study on the structure and genetic variability of *E. vogeli* populations, being one of the few to work with the nuclear gene P-29. Concerning the neglected context of PNE, all efforts that seek to elucidate the diversity and genetic structure of *E. vogeli* will contribute to studies regarding taxonomic, evolutionary, diagnosis, epidemiology, disease prevention and control. The habit of eating raw paca meat is a risk factor for spurious *C. hepaticum* infection in Sena Madureira and Xapuri. The study represents the first report of *Blastocystis* sp. in Acre. Infection by geohelminths and intestinal protozoa is related to the precarious sanitary conditions of the inhabitants of the study area.

Keywords: *Echinococcus vogeli*. Paca. *Calodium hepaticum*. Enteroparasitosis. Acre.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Representação esquemática do ciclo biológico do <i>Calodium hepaticum</i>	22
Figura 2 –	Representação esquemática do ovo de <i>Echinococcus</i> sp.	23
Figura 3 –	Representação esquemática do helminto adulto de <i>Echinococcus vogeli</i>	26
Figura 4 –	Representação esquemática do ciclo biológico do <i>Echinococcus vogeli</i>	27
Figura 5 –	Registro fotográfico do cachorro-vinagre (<i>Speothos venaticus</i>)	27
Figura 6 –	Registro fotográfico da paca (<i>Cuniculus paca</i>)	28
Figura 7 –	Representação esquemática do metacestóide de <i>Echinococcus</i> sp.	29
Figura 8 –	Características dos ganchos rostelares (pequeno e grande) de <i>Echinococcus vogeli</i>	30
Figura 9 –	Mapa evidenciando os municípios de estudo no estado do Acre	36
Figura 10 –	Imagem representativa da interação da equipe com moradores e colaboradores de Xapuri, Acre	39
Figura 11 –	Imagem de local utilizado como laboratório de campo em Xapuri, Acre.	39
Figura 12 –	Registro do manejo laboratorial das amostras no Instituto Federal do Acre (IFAC)	41
Figura 13 –	Imagens representativas de laboratórios de campo desenvolvidos no Acre	41
Figura 14 –	Imagens representativas de cistos (ou camadas) de <i>Echinococcus</i> sp. coletados	42
Figura 15 –	Mapa do Brasil mostrando o estado do Acre evidenciando os locais da realização do inquérito parasitológico	46
Figura 16 –	Imagens do trabalho de campo nas expedições ao Acre entre 2017 e 2019 com relação a execução dos exames parasitológicos de fezes	49
Figura 17 –	Imagens representativas do trabalho de campo no Acre entre 2017 e 2019 com a aplicação de TCLE e questionários	51
Figura 18 –	Figure 1 – Eggs of <i>Calodium hepaticum</i> in fecal sediment obtained through the centrifugation-sedimentation method	58
Figura 19 –	Imagens representativas do trabalho de campo nas expedições ao Acre entre 2017 e 2019 com relação ao desenvolvimento de palestras com profissionais da educação sobre a prevenção da equinococose e de outras helmintoses	66

Figura 20 –	Imagens de fígados de pacas do Acre com cistos de <i>Echinococcus</i> sp. ..	67
Figura 21 –	Alinhamento das sequências <i>cox1</i> parciais de <i>Echinococcus vogeli</i> geradas com outras sequências de <i>Echinococcus</i> sp. disponíveis no <i>GenBank</i>	69
Figura 22 –	Alinhamento das sequências P-29 parciais de <i>E. vogeli</i> geradas com outras sequências de <i>Echinococcus</i> sp. disponíveis no <i>GenBank</i>	71
Figura 23 –	Árvore filogenética gerada através do algoritmo Neighbor-Joining associado ao modelo de substituição de 2 parâmetros de Kimura baseada nas sequências de 431 pb de <i>cox1</i> para amostras de <i>Echinococcus</i> obtidas no presente estudo e disponíveis no <i>Genbank</i>	73
Figura 24 –	Rede de haplótipos de parcimônia para <i>Echinococcus vogeli</i> com base na análise de sequências <i>cox1</i> (401 bp)	74
Figura 25 –	Árvore filogenética gerada através do algoritmo Neighbor-Joining associado ao modelo de substituição de 2 parâmetros de Kimura baseada nas sequências de 219 pb de P-29 para amostras de <i>Echinococcus</i> obtidas no presente estudo e disponíveis no <i>Genbank</i>	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Localidade, quantitativo e análise macroscópica dos fígados de pacas oriundas do Acre, Brasil	38
Tabela 2 –	Table 1 – <i>Calodium hepaticum</i> spurious infection according to the number of cases, state and year reported in Brazil	54
Tabela 3 –	Table 2 – Prevalence of intestinal parasites according to age groups and gender in forest reserve dwellers from Acre State, Brazil	57
Tabela 4 –	Índices de diversidade molecular baseados no cox1 para as amostras de <i>Echinococcus vogeli</i> coletados em duas localidades do estado do Acre, Brasil	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

mtDNA	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
CVSRL	Coordenação de Vigilância em Saúde e Laboratórios de Referência
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
HD	Diversidade haplotípica
DALY	<i>Disability Adjusted Life Years</i>
DIEs	Doenças Infecciosas Emergentes
EA	Equinococose alveolar
EC	Equinococose cística
ENP	Equinococose neotropical policística
FEA	Floresta Estadual do Antimary
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
P-29	Gene codificador da proteína P-29
Cox1	Gene codificador da subunidade I do citocromo c oxidase
Nad1	Gene codificador da subunidade I do complexo NADH desidrogenase
GDB	<i>Global Burden of Disease</i>
IBAM	Instituto Brasileiro de Administração Municipal
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IFAC	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
LHPV	Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados
LRNH	Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NH	Número de haplótipos
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
s.l.	<i>Sensu lato</i>
s.s.	<i>Sensu stricto</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetro
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
π	Diversidade nucleotídica
ha	Hectares
μm	Micrômetro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
H ₂ O	Molécula da água
ng	Nanograma
pb	Pares de base
pmol	Picomol
%	Porcentagem
CO1F	Primer direto do gene cox1
CO1R	Primer reverso do gene cox1
P29F	Primer direto do gene P-29
P29R	Primer reverso do gene P-29
U	Unidade

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
	JUSTIFICATIVA	34
1	OBJETIVOS	35
1.2	Geral	35
1.2	Específicos	35
2	MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1	Áreas de estudo	36
2.1.1	<u>Aspectos éticos</u>	37
2.1.2	<u>Obtenção de <i>Echinococcus vogeli</i></u>	37
2.1.3	<u>Análises dos fígados (macroscópicas) e dos líquidos extraídos (microscópicas) ..</u>	40
2.1.4	<u>Processamento dos cistos para extração de DNA</u>	42
2.1.5	<u>Caracterização molecular e agrupamento de <i>E. vogeli</i></u>	42
2.1.5.1	Extração de DNA e <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	42
2.1.5.2	Gene da subunidade I do citocromo c oxidase (cox1)	42
2.1.5.3	Gene do antígeno P-29	43
2.1.5.4	Sequenciamento de DNA	43
2.1.5.5	Análises filogenéticas	44
2.1.5.6	Diversidade molecular	44
2.2	Inquérito parasitológico	45
2.2.1	<u>Aspectos éticos II</u>	45
2.2.2	<u>Áreas de estudo II</u>	45
2.2.3	<u>Coleta e processamento das amostras de fezes humanas</u>	48
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.1	Capítulo I	52
3.1.1	<u>Visitas domiciliares e orientações</u>	65
3.2	Capítulo II	66
	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)	94

APÊNDICE B – Questionário Ficha epidemiológica para “Hidatidose”	97
ANEXO A – Licença permanente para coleta de material zoológico SISBIO – IBAMA	98
ANEXO B – Licença para atividades com finalidade científica SISBIO – ICMBio – MMA	100
ANEXO C – Certificado de Apresentação de Apreciação Ética – CEP Fiocruz/IOC	104
ANEXO D – Comprovante de aceite do artigo científico pela Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	110
ANEXO E – Comprovações dos aceites pelo <i>GenBank</i> dos depósitos das sequencias geradas no estudo	111

INTRODUÇÃO

Na Região Norte do Brasil, é comum moradores viverem em contato direto com a Floresta Amazônica praticando o agroextrativismo como uma das principais atividades econômicas. Além disso, aglomerações, falta de saneamento e deficiências educacionais também são importantes componentes do cenário epidemiológico que contribuem para a ocorrência de enteroparasitoses nestas regiões rurais florestais (Okyay et al., 2004; Wang et al., 2014), além de impactarem na epidemiologia de zoonoses, realidade comum das populações residentes no estado do Acre (Souza et al., 2007; Souza et al., 2021).

Grupos economicamente desfavorecidos são os mais propensos a possuírem tais características sociais e apresentam os maiores índices de doenças, incluindo as enteroparasitoses sempre associadas às condições insalubres de vida, além de propiciarem a contaminação de corpos d'água e plantações com o acúmulo de resíduos, seja de origem fecal humana ou animais infectados (Ludwing et al., 1999; Puleston et al., 2014).

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, parasitoses intestinais são uma importante fonte de problemas de saúde, onde as condições socioeconômicas, culturais e ambientais contribuem para a manutenção dos ciclos biológicos dos parasitos e facilitam sua disseminação (Okyay et al., 2004). Além disso, a escalada de práticas predatórias contra o meio ambiente, agravada por aspectos prejudiciais de marcos políticos e econômicos, colabora para aumentar a ocorrência de doenças parasitárias, além de outros prejuízos, que envolvem seres humanos, o meio ambiente e animais, sejam eles silvestres ou domésticos (Santos et al., 2010).

As infecções por helmintos transmitidos pelo solo (HTS) estão entre as doenças tropicais negligenciadas (DTN) mais prevalentes, com uma estimativa de 1,45 bilhão de pessoas infectadas com pelo menos uma espécie em todo o mundo (Hotez e Alibek, 2011; Pullan et al., 2014; Silver et al., 2018). Este número, entretanto, permanece provavelmente subestimado devido à falta de dados epidemiológicos de alta qualidade da maioria das regiões geográficas. As infecções pelos ancilostomídeos humanos (*Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*), *Trichuris trichiura* e *Ascaris lumbricoides* geralmente não resultam em mortalidade, mas levam a infecções crônicas e prolongada morbidade (Silver et al., 2018). Foi demonstrado que crianças cronicamente infectadas, por exemplo, apresentam desnutrição, atrofia e déficits cognitivos (Awasthi et al., 2000; Stoltzfus et al., 2001), enquanto mulheres grávidas desenvolvem anemia induzida por HTS (Brooker et al., 2008; Gyorkos e Gilbert, 2014). A morbidade “oculta” das infecções por HTS tem grande impacto na saúde dos indivíduos, mas também afeta o desenvolvimento econômico (Redekop et al., 2017).

Uma revisão sobre a carga global de infecções por HTS revelou que quase 70% delas ocorrem na Ásia (Pullan et al., 2014). O mesmo estudo demonstrou que um quarto (26,4%) da população do estudo asiático hospedava pelo menos uma espécie de HTS e essa alta carga de HTS na Ásia foi associada às condições climáticas tropicais e úmidas, escassez de água potável, saneamento inadequado e práticas de higiene inadequadas, fatores que facilitam a sobrevivência e transmissão desses helmintos (Strunz et al., 2014).

Em 2012, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou um roteiro abrangente para combater as DTN até 2020 e, para os HTS, estabeleceu a meta de atingir 75% de cobertura de administração em massa de medicamentos (MDA) em todos os países endêmicos (WHO, 2012). Esta iniciativa da OMS foi ainda mais fortalecida pela declaração de Londres com o compromisso de empresas farmacêuticas e outras organizações de apoiar os esforços globais para controlar ou eliminar 10 DTNs específicas, incluindo HTS até 2020, ainda que a erradicação das que estavam propostas, não tenha acontecido (Silver et al., 2018).

Taylor et al. (2001) estimaram que três quartos dos patógenos humanos emergentes são zoonóticos, ou seja, são transmitidos de outros animais vertebrados para os humanos. As zoonoses, portanto, têm um impacto ecológico e socioeconômico considerável, além de ser um fardo para as economias globais (Cascio et al., 2011). Por sua vez, as doenças infecciosas emergentes (DIEs) são doenças recém-reconhecidas ou que reaparecem detectadas em uma população pela primeira vez. Essas doenças estão aumentando rapidamente em prevalência ou alcance geográfico. Quase dois terços das DIEs são representadas por zoonoses e a maioria delas se originam em animais silvestres (Jones et al., 2008; White e Razgour, 2020).

O avanço das doenças foi descrito como “efeito colateral do crescimento da civilização” (Dobson e Carper, 1996) e as zoonoses não são exceção. Taxas recentes sem precedentes de mudança antropogênica do uso da terra, incluindo urbanização, conversão ou intensificação agrícola, desmatamento e fragmentação de habitat, levaram à perda total de ambientes naturais para o desenvolvimento humano. As mudanças antropogênicas do uso da terra que alteram o meio ambiente local e as interações homem-vida selvagem podem ser uma fonte importante de doenças zoonóticas porque removem ou reduzem os habitats naturais e áreas de vida de muitas espécies, forçando-as a viver mais próximas dos humanos. Isso se torna um problema se a espécie hospeda uma doença zoonótica (Jones et al., 2013). A transmissão de patógenos tende a aumentar em resposta à mudança antropogênica, mas esse efeito não é universal (Gottdenker et al., 2014; White e Razgour, 2020).

Principalmente na Amazônia, a caça de peixes e animais silvestres representam importantes fontes proteicas para as populações indígenas e rurais (Peres, 2000; Peres e

Nascimento, 2006; Constantino et al., 2008; Shepard et al., 2012; Botelho, 2013; Souza et al., 2021). Populações que vivem em reservas florestais, possuem hábitos alimentares tradicionais e alimentam-se de animais silvestres, sua principal fonte proteica. Para isso, essas pessoas praticam a caça de subsistência e relatam o consumo também do fígado desses animais cru ou cozido de forma ineficiente (Carvalho-Costa et al., 2009; Soares et al., 2011; Gonçalves et al., 2012).

A paca é uma das espécies mais suscetíveis à caça e favorita dos moradores locais (Valsecchi e Amaral, 2009), atrás apenas do caititu (*Pecari tajacu* L, 1758). Bodmer e Lozano (2001) mostraram que a paca é a principal espécie caçada na área rural do Peru, com uma taxa de abate estimada em 17.000 indivíduos por ano, reforçando sua importância como fonte proteica de subsistência. No entanto, a espécie é a quinta em importância econômica, precedida por queixada (*Tayassu pecari* Link, 1795), anta (*Tapirus terrestris* Linnaeus, 1758) e diversos primatas. Além da região amazônica brasileira, a paca é altamente consumida também em outras regiões, como demonstrado por Altrichter e Almeida (2002) ao relatarem que é a principal espécie consumida em 15 comunidades da Península de Osa na Costa Rica, com uma frequência de caça 11 vezes maior que a dos queixadas e com consumo equivalente ao dos animais de produção.

A caça da paca para subsistência, sua evisceração e descarte inadequado expõe o ambiente a riscos de contaminação por formas evolutivas de agentes patológicos que nela estejam estabelecidos. Além do *E. vogeli*, o fígado da paca pode ser alvo, por exemplo, do helminto *Calodium hepaticum* (Bancroft, 1983) Moravec, 1982, responsável pela capilariose hepática, com potenciais riscos diretos ou indiretos para a saúde humana.

Fora do campo da saúde pública, poucas pessoas avaliam plenamente o impacto das doenças gastrointestinais na saúde humana. Estimar um número preciso de casos globalmente é um desafio porque os sintomas associados a essas infecções são diversos, muitas vezes inespecíficos e, por isso, pode ser difícil diagnosticar tais infecções. A gama de sintomas associados a infecções gastrointestinais vai além de diarreia e gastroenterite. Apesar disso, a alta prevalência de doenças gastrointestinais em países desenvolvidos e em desenvolvimento recebe pouca atenção (GBD, 2017).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) relata que enteroparasitoses são consideradas indicadores do grau de desenvolvimento socioeconômico de um país, além de inferir informações a respeito dos hábitos, costumes e da qualidade de vida de uma população. Neste caso, a maioria das doenças negligenciadas é endêmica de áreas rurais e podem ser a causa de

morbidades no hospedeiro, principalmente em crianças, por constituir um fator agravante da subnutrição (WHO, 2006; 2010).

Parasitos intestinais são um importante fator debilitante, frequentemente associado à diarreia crônica e desnutrição, que podem, trazer prejuízos, particularmente à grupos de idades mais jovens (Nahrevanian et al., 2015).

Como já mencionado anteriormente, populações que vivem em reservas florestais, possuem hábitos de vida tradicionais e alimentam-se de animais silvestres, sua principal fonte proteica. Tais hábitos inclui o consumo do fígado desses animais, cozido de forma ineficiente. Esse costume compõe as características epidemiológicas comuns aos locais de ocorrência da ENP e da infecção espúria por *C. hepaticum* (Carvalho-Costa et al., 2009; Soares et al., 2011; Gonçalves et al., 2012).

Crianças, principalmente em idade escolar, são mais suscetíveis a infecções intestinais por possuírem o sistema imunológico ainda pouco estimulado e baixa preocupação com hábitos de higiene, comprometendo o desenvolvimento físico, gerando déficits nutricionais e queda no rendimento escolar (Kabatende et al., 2020; Marques et al., 2020).

Como método de controle, prevenção e eliminação das helmintíases, a OMS preconiza a desparasitação preventiva de crianças em idade escolar e grupos de risco por meio da administração em massa de quimioterápicos anti-helmínticos, o fornecimento de água tratada e a educação em saúde (Brasil, 2012; WHO, 2020).

É bem conhecido que más condições sanitárias estão associadas à infecção por enteroparasitos, e não só favorecem sua presença, mas também contribuem para a manutenção delas (Visser et al., 2011; Moreira, 2013; Braga et al., 2014). Para interromper a ocorrência dessas doenças, programas para o controle de enteroparasitoses tendem a se concentrar no uso de medicamentos. Porém, em áreas endêmicas, Uchôa et al. (2004) destacaram a importância do ensino de medidas profiláticas à população por meio de professores da educação básica, que desempenham importante papel na comunidade, por atuarem diretamente na formação da população mais afetada que, em seu ambiente domiciliar, são os principais difusores do conhecimento.

De acordo com o Global Burden of Diseases (2017), as parasitoses intestinais continuam a aumentar em todo o mundo. Este estudo indica que, até 2016, 800 milhões de indivíduos provavelmente se infectaram em todo o mundo com *A. lumbricoides*, 451 milhões com ancilostomídeos, 435 milhões com *T. trichiura* e 190 milhões estavam com esquistossomose. Esses números sugerem que as infecções por helmintos podem continuar a induzir morbidade significativa nas populações mais pobres do mundo.

Desde a década de 1990, o estudo Global Burden of Diseases (GBD) tem como objetivo alinhar as prioridades dos sistemas de saúde com as necessidades da população. Para isso, é realizada uma tentativa abrangente de quantificar a ocorrência de quase 300 doenças, lesões e fatores de risco, incluindo doenças tropicais negligenciadas em mais de 200 países (Bezinger et al., 2016; GBD, 2019). Uma das ferramentas de análise utilizada no estudo é o “*disability-adjusted life year*” (DALY ou “anos de vida produtiva perdidos devido à alguma deficiência”), uma métrica de saúde primária do GBD, que avalia o impacto de uma série de doenças, a nível local e global, na vida dos indivíduos (Bezinger et al., 2016). O DALY representa uma das poucas métricas disponíveis que poderiam compreender os reais efeitos crônicos dessas doenças, uma vez que a maioria das doenças tropicais negligenciadas listadas pela OMS são consideradas incapacitantes ao invés de letais (Hotez et al., 2014).

A OMS destaca que, em 2020, mais de 24% da população mundial apresentou infecção por helmintos transmitidos pelo solo, como ancilostomídeos, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*. Além disso, mais de 267 milhões de crianças em idade pré-escolar e mais de 568 milhões de crianças em idade escolar vivem em áreas onde esses parasitos são transmitidos de forma intensa e precisam de tratamento e intervenções preventivas. Essas infecções são resultantes de fatores socioeconômicos, práticas culturais e falta de saneamento. Elas são transmitidas pela ingestão de ovos, através da contaminação do solo, má higienização das mãos, ingestão de frutas não lavadas, carne cozida infectada e vegetais mal lavados (Katz N, 2018).

A OMS também afirma que a saúde da população é responsabilidade dos governos (WHO, 2020). No entanto, sem dados de saúde precisos, sem uma avaliação abrangente das doenças, as lideranças tendem a identificar as ameaças à saúde da população tarde demais e deixam de direcionar recursos adequados à população. Sem esse levantamento preciso, doenças que carecem de uma defesa forte podem ser subestimadas e negligenciadas (Bezinger et al., 2016).

Em 2010, algumas das maiores variações nas estimativas de sobrecarga de doenças foram observadas entre as três principais infecções por nematoides intestinais no mundo, sendo elas, a ascaridíase, a ancilostomíase e a tricuriase. Uma das principais razões para essa grande variação é o fato de que essas infecções estão entre as infecções mais comuns da humanidade (Steinmann et al., 2006; Hotez et al., 2008; Pullan e Brooker, 2012). Outra razão é devido à forma como o GBD 2010 classificou certas doenças, como a equinococose cística, sendo agrupada junto da equinococose alveolar, ou seja, ambas foram classificadas como “equinococose”. Essa decisão, uniu dois parasitos com ciclos de vida diferentes, além de

distribuições geográficas e manifestações clínicas distintas. Por exemplo, o número de casos de equinococose global estimado foi de 1,1 milhão entre os anos de 1990 e 2010. Embora revele um número outrora desconhecido, a junção dessas duas doenças distintas mascara a realidade da ocorrência nos indivíduos afetados e dificulta as ações de controle. As futuras estimativas do GDB precisarão, portanto, considerar o relato dessas doenças separadamente, dando ênfase aos atributos únicos de cada parasito (Hotez et al., 2014), além de procurar abordar às equinococoses neotropicais, negligenciadas nos relatórios.

Com o objetivo de conhecer a população, alguns inquéritos parasitológicos foram realizados na região amazônica do Brasil (Gonçalves et al., 2016; Cardoso et al., 2017). Em 2018, 25,5% da população do Acre de 0 a 17 anos possuía um sistema deficiente de eliminação de dejetos, o que pode interferir diretamente na qualidade da água para consumo. Esses indicadores podem trazer consequências diretas para a sobrevivência de crianças, que podem morrer em consequência de enteroparasitoses (UNICEF, 2018).

Outros inquéritos parasitológicos também demonstraram alta taxa de positividade de enteroparasitos em residentes ribeirinhos do Estado do Pará, também com maior prevalência em crianças e adolescentes (Silva et al., 2014).

A água de consumo não tratada é um fator de destaque, uma vez que torna moradores de reservas florestais mais suscetíveis a doenças de veiculação hídrica, condição agravada pela ausência de outras fontes de abastecimento de água, além dos rios, para onde correm esgoto e outros resíduos domiciliares. Essas condições perpetuam os ciclos de transmissão de enteroparasitos de veiculação hídrica (Salazar e Flores, 2012).

De acordo com o Plano Integrado de Ações Estratégicas do Ministério da Saúde, a maioria dos municípios menos qualificados no índice total de distribuição de água estão na Região Norte do Brasil são: Rio Branco (AC), Santarém (PA), Macapá (AP), Porto Velho (RO) e Ananindeua (PA) (Trata Brasil, 2021).

A distância dos centros urbanos e a falta de transporte, além de ser comum em inúmeras reservas florestais, isolam essas comunidades da sociedade e dificultam o acesso aos serviços de saúde. As condições socioeconômicas desfavoráveis, a falta de saneamento (abastecimento de água potável; coleta, destino e tratamento de esgoto e resíduos sólidos; tipo de moradia) e deficiências educacionais são fatores característicos da alta prevalência de enteroparasitos nessa população (Wang et al., 2014; Trata Brasil, 2021). Tais características tornam os residentes mais suscetíveis à enteroparasitoses, causando prejuízos à saúde dessas comunidades (Souza et al., 2007; Marques et al., 2020).

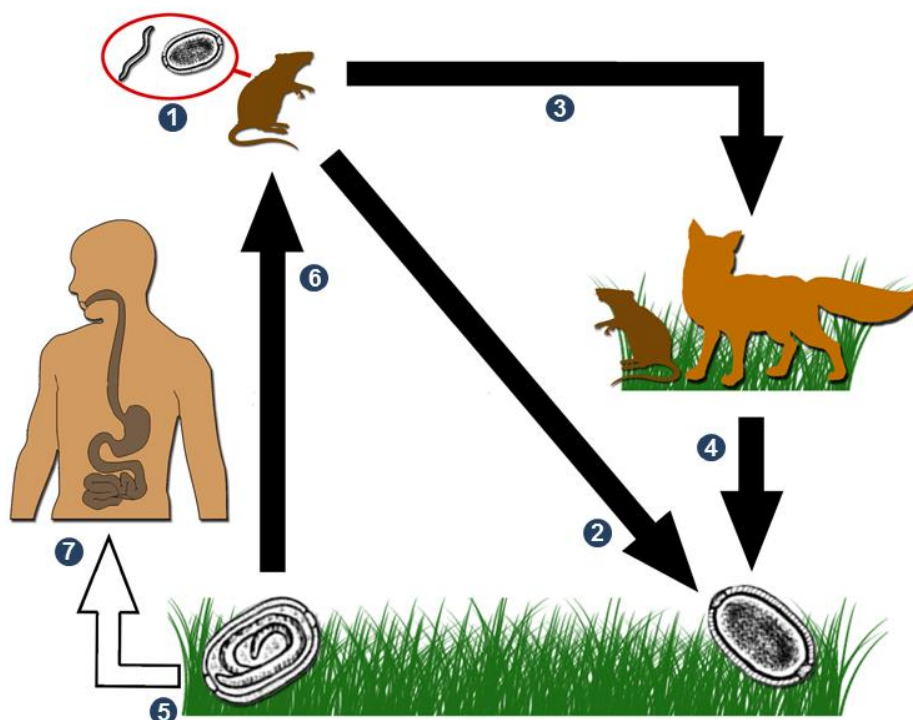
Um hábito comum em moradores de reservas florestais, é a ingestão do fígado de animais silvestres, cozidos de forma ineficiente (Pastore et al., 2003; Carvalho-Costa et al., 2009; Gonçalves et al., 2012). Este hábito pode contribuir para a transmissão de ovos não embrionados do nematoide *C. hepaticum*. Esse helminto tem distribuição mundial e apresenta baixa especificidade de hospedeiro, apresentando elevada afinidade pelo fígado de muitas espécies de mamíferos silvestres, como *Cuniculus paca* (Linnaeus, 1766), *Tayassu pecari* (Link, 1795), *Cavia* spp. Pallas, 1766, *Mus musculus* Linnaeus, 1758, *Sciurus (Guerlinguetus) aestuans* Linnaeus, 1766, *Apodemus sylvaticus* (Linnaeus, 1758) e *Cricetomys gambianus* Waterhouse, 1840 (Soares et al., 2011; Almeida et al., 2013; Davoust et al., 2014; Fuehrer, 2014; Millán et al., 2014).

No ciclo biológico de *C. hepaticum*, os ovos embrionados liberam as larvas no ceco dos hospedeiros naturais. Essas larvas migram para o fígado e ali se desenvolvem em helmintos adultos. As fêmeas depositam seus ovos (não embrionados) e em seguida morrem, ainda no fígado (Rocha et al., 2015). Os ovos são dispersos no ambiente, após morte do hospedeiro, desintegração da carcaça ou pela predação/canibalismo através das fezes do predador, e em condições adequadas de umidade e temperatura, tornam-se infectantes (Galán-Puchades et al., 2018) (Figura 8).

Ocasionalmente, o homem participa do ciclo de vida de *C. hepaticum* de duas formas: como predador, através do consumo de fígados infectados de roedores silvestres cozidos de forma ineficiente (infecção espúria); e através da ingestão de ovos embrionados presentes no solo (alimentos ou água), desenvolvendo a capilariose hepática, uma doença hepática grave, rara e frequentemente fatal (Ochi et al., 2017). Na literatura há o registro de 218 casos de infecção espúria humana por *C. hepaticum*. Desses, 171 casos foram provenientes do Brasil (Coimbra e Mello, 1981; Santos et al., 1985; Machado et al., 2008; Carvalho-Costa et al., 2009; Palhano-Silva et al., 2009; Camargo et al., 2010; Soares et al., 2011; Gonçalves et al., 2012; Cabada et al., 2013; Klisiowicz et al., 2014).

A ingestão do fígado (malcozido) de roedores silvestres, uma vez contendo ovos não embrionados de *C. hepaticum*, cria condições favoráveis para a ocorrência da infecção espúria, ou infecção falsa, na qual os ovos do helminto passam pelo trato intestinal e saem com as fezes sem causar doença hepática. Uma vez infectado, o ser humano pode depositar suas fezes no ambiente, contribuindo para a dispersão dos ovos não embrionados de *C. hepaticum*. Esses ovos, encontrando condições adequadas de umidade e temperatura no ambiente, tornam-se infectantes para outros hospedeiros competentes (Gonçalves et al., 2012).

Figura 1 – Representação esquemática do ciclo biológico do *Calodium hepaticum*

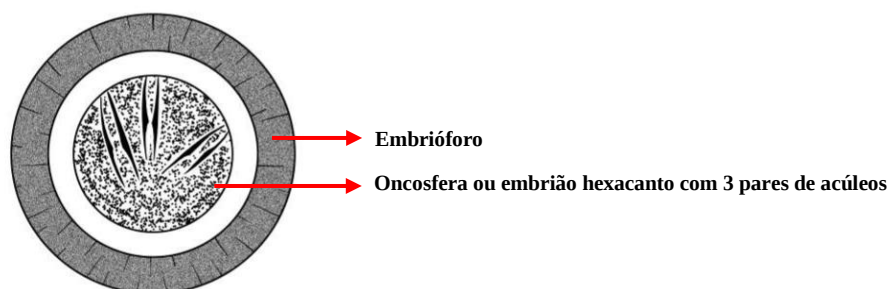


Legenda: (1) ovos e vermes adultos no fígado; (2) ovos não embrionados no ambiente após morte e decomposição do hospedeiro; (3) hospedeiro morre por canibalismo ou predação; (4) ovos embrionados liberados nas fezes após canibalismo ou predação; (5) ovos embrionados no ambiente; (6) ovos embrionados ingeridos pelo hospedeiro definitivo; (7) ovos embrionados ingeridos pelo homem.

Fonte: Ilustração de Ricardo Schmidt do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

Os helmintos do gênero *Echinococcus* Rudolphi, 1801 são, em geral, transmitidos de carnívoros a herbívoros, sendo geralmente canídeos silvestres e domésticos os hospedeiros definitivos mais envolvidos. Ovinos, bovinos, cervídeos e roedores, são os hospedeiros intermediários mais importantes. Os canídeos albergam helmintos adultos no intestino delgado e os diferentes hospedeiros intermediários admitidos, desenvolvem os estágios larvais (metacestoides) do parasito em órgãos internos como fígado e pulmões (Eckert e Deplazes, 2004; Otero-Abad e Torgerson, 2013). São, portanto, canídeos, sobretudo os domésticos, os que desempenham um papel fundamental na transmissão desses parasitos aos seres humanos (Eckert e Deplazes, 2004), uma vez que eliminam os ovos desses helmintos junto de suas fezes. Em geral, os ovos (Figura 1) podem ser de esféricos a elipsoides, medindo de 30 x 50 µm ou de 22 x 44 µm em seus dois diâmetros, sendo caracterizados pela presença de uma membrana espessa quitinosa ou “casca” (embrióforo) envolvendo a oncosfera ou embrião hexacanto em seu interior. A oncosfera, por sua vez, mede cerca de 25 x 30 µm (Vuitton et al., 2020).

Figura 2 – Representação esquemática do ovo de *Echinococcus* sp.



Fonte: Ilustração de Bruno Eschenazi do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

As espécies de *Echinococcus* spp. são frequentemente agrupadas com base em semelhanças morfológicas de seus estágios larvais (metacestoides ou cistos hidáticos), bem como por análises moleculares (Alvarez et al., 2014; Romig et al., 2015). A descrição inicial de algumas espécies do gênero *Echinococcus* foram baseadas principalmente em características morfológicas e da relação parasito-hospedeiro. Sendo assim, apenas quatro espécies foram admitidas inicialmente: *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786), *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863, *Echinococcus oligarthra* (Diesing, 1863) e *Echinococcus vogeli* Rausch & Bernstein, 1972.

Essa distinção permaneceu dessa forma por muitos anos, mas com o advento da caracterização molecular de materiais genéticos, as espécies se mostraram mais distintas (Thompson e McManus, 2001). Diante do surgimento de novas ferramentas de pesquisa, a validade das espécies do gênero *Echinococcus* foi sendo, conseqüentemente, atualizada. As diferenças genética e morfológica das linhagens foram reveladas por meio de técnicas baseadas na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando locus gênicos e sequenciamentos de DNA nuclear e DNA mitocondrial (mtDNA), além de estudos epidemiológicos. Essas ferramentas revelaram relações filogenéticas interespecíficas que suportam a taxonomia previamente documentada (Thompson, 2017) e uma das abordagens mais utilizadas nessas revisões têm sido as árvores filogenéticas, baseadas tanto em sequências de DNA mitocondrial (mtDNA) quanto nas de DNA nuclear (Bowles et al., 1995; Moks et al., 2008; Knapp et al., 2011; Sharma et al., 2013; Daipert-Garcia et al., 2019).

Bowles et al. (1992) e Bowles e McManus (1993), através da análise de sequências parciais de genes mitocondriais, sendo eles, as subunidades 1 do citocromo oxidase (*cox1*) e a da NADH desidrogenase (*nad1*), definiram genótipos para *E. granulosus*, porém ainda mantiveram a nomenclatura das quatro espécies originalmente descritas para o gênero. Os genótipos de *E. granulosus* foram relacionados aos seus respectivos hospedeiros intermediários

principais, definindo as linhagens biológicas da seguinte maneira: G1 (linhagem de ovelha), G3 (linhagem de búfalo), G4 (linhagem de cavalo), G5 (linhagem de gado), G6 (linhagem de camelo), G7 (linhagem de porco) e G8 (linhagem de cervídeos). O genótipo G10 (outra linhagem de cervídeos) foi sugerido posteriormente (Lymbery, 2017; Vuitton et al., 2020). Os genótipos G2 e G9, outrora já aceitos, foram recentemente suprimidos por serem considerados microvariantes, respectivamente, de G3 e G7 (Vuitton et al., 2020).

Além dessas classificações e corroborando com a constante revisão das espécies do gênero *Echinococcus*, a revisão mais recente, proposta em um consenso internacional (Vuitton et al., 2020) propõe a existência de 9 espécies dentro do gênero, sendo elas: *E. vogeli*, *E. oligarthra*, *E. multilocularis*, *E. granulosus* Batsch, 1786 *sensu stricto* (s.s.), *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937, *Echinococcus shiquicus* Xiao, 2005, *Echinococcus equinus* Schneider et al., 2010, *Echinococcus orteppi* Schneider et al., 2010 e *Echinococcus canadensis* Schneider et al., 2010.

No gênero, seis espécies são consideradas de importância para a saúde humana, sendo elas: *E. oligarthra* e *E. vogeli*, causadoras da equinococose neotropical (EN); *E. multilocularis*, agente da equinococose alveolar (EA); e *E. granulosus* s.s., *E. canadensis* e *E. orteppi*, capazes de causar a equinococose cística (EC) (Eckert e Thompson, 2017). Até o momento, reportados no Brasil: *E. granulosus* s.l. (s.s. G1, s.s. G3, *E. orteppi* G5 e *E. canadensis* G7), relacionados a algumas regiões do Sul do país; *E. oligarthra*, relacionada ao bioma amazônico; e *E. vogeli*, relacionada aos biomas amazônico e cerrado (De la Rue et al., 2011; Soares et al., 2013; Monteiro et al., 2015; Neves et al., 2017; Bittencourt-Oliveira et al., 2018; Daipert-Garcia et al., 2019).

Taxonomia do *E. vogeli*:

FILO: Platyhelminthes

CLASSE: Cestoda

SUBCLASSE: Eucestoda

ORDEM: Cyclophyllidea

FAMÍLIA: Taeniidae

GÊNERO: *Echinococcus* Rudolphi, 1801

ESPÉCIE: *Echinococcus vogeli* Rausch & Bernstein, 1972

A distribuição global da equinococose neotropical policística (ENP), denominação atual da doença causada por *E. vogeli*, em termos de endemicidade e prevalência é desconhecida. No Brasil, indivíduos de vários estados já apresentaram casos de ENP (Machado & Rangel, 1964; Chapadeiro et al., 1964; Timmerman et al., 1986; Ferreira et al., 1987, 1995; Rodrigues-Silva

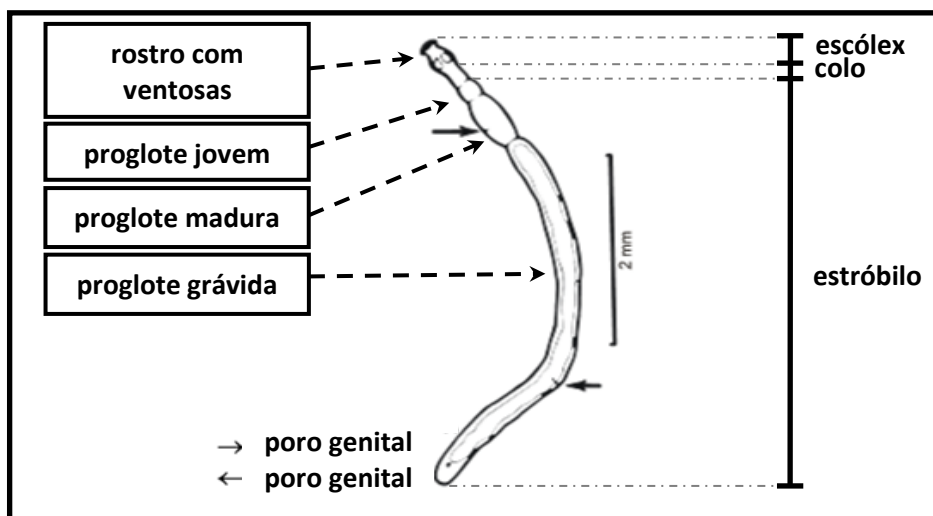
et al., 2002), porém, a maioria dos casos é proveniente da região amazônica (Kern et al., 2017), principalmente dos estados Acre (Meneghelli et al., 1998; Siqueira et al., 2010) e Pará (Soares et al., 1999; Soares et al., 2004).

Quando presentes, os principais sintomas e sinais clínicos são dor abdominal, icterícia, hepatomegalia, perda de peso, febre e surgimento de massa abdominal em consequência do desenvolvimento e crescimento dos cistos hidáticos no fígado (D'Alessandro e Rausch, 2008, Siqueira et al., 2013). É comum a infecção ser assintomática por longos períodos, sendo diagnosticada em adultos, com apenas 10 a 20% dos casos vistos em pacientes com menos de 16 anos (Moro e Schantz, 2009). O fígado é a localização mais comum dos cistos, representando cerca de 70% dos casos, seguido dos pulmões, porém outros órgãos como coração e cavidade abdominal também podem ser afetados (D'Alessandro e Rausch, 2008; Siqueira et al., 2013).

O cisto hidático cresce cerca de 1 a 5 centímetros por ano e é a partir da camada germinativa que se desenvolvem as vesículas prolíferas onde brotam desde poucos até numerosos protoescólices (Zhang et al., 2012). Na ENP os metacestoides desenvolvem-se como policistos. Eles crescem como um ou vários cistos localizados mais frequentemente no fígado e nos pulmões dos hospedeiros intermediários (Thompson, 2017).

Assim como outros cestoides, *E. vogeli* apresenta, na sua forma adulta, corpo segmentado (Figura 2), dividido em escólex, onde estão presentes ventosas com um rostro armado com duas fileiras de ganchos ou rostelos, colo e estróbilo (Eckert e Deplazes, 2004). O estróbilo do helminto adulto mede de 3,9 a 5,6 mm e se origina a partir do colo, onde há intensa proliferação celular. As proglotes grávidas, responsáveis pela formação do estróbilo, são longas e cilíndricas, representando quase metade do tamanho total do helminto, podendo reter cerca de 90 ovos no útero (D'Alessandro e Rausch, 2008).

Figura 3 – Representação esquemática do verme adulto de *Echinococcus vogeli*

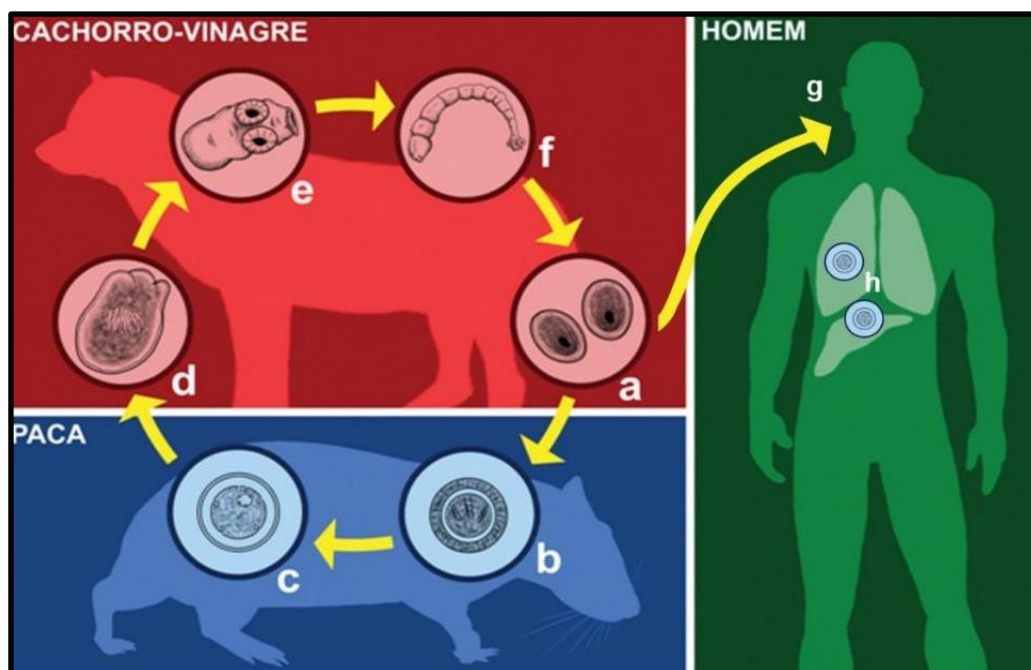


Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

O ciclo de vida de *E. vogeli* (Figura 3) possui, como hospedeiro definitivo, o cão selvagem (*Speothos venaticus* Lund, 1842) (Figura 4), conhecido popularmente como cachorro-vinagre, e o cão doméstico. *Speothos venaticus* é um canídeo sul-americano encontrado desde o Panamá até o nordeste argentino, com exceção do Chile e Uruguai. É uma espécie rara, adaptada à vida em florestas, sendo considerada semiaquática por conseguir nadar e mergulhar com facilidade (Rodrigues-Silva et al., 2002; Romig et al., 2017). No Brasil, o cachorro-vinagre já foi reportado em todas as regiões do país (GBIF, 2021).

Cabrera et al. (1960), primeiros autores que descreveram o ciclo biológico de *E. vogeli*, observaram que o cachorro-vinagre caçava, em bandos, a paca (*Cuniculus paca* Linnaeus, 1766) (Figura 5), hospedeira intermediária do *E. vogeli*. O cachorro-vinagre e a paca possuem tamanhos semelhantes, e um único cachorro pode, às vezes, ser capaz de superar esse roedor (D'Alessandro e Rausch, 2008).

Figura 4 – Representação esquemática do ciclo biológico do *Echinococcus vogeli*



Legenda: (a) ovo; (b) ovo ingerido pela paca, hospedeiro intermediário; (c) metacestoide; (d) ingestão de metacestoide pelo cachorro vinagre, hospedeiro intermediário; (e) escólex desenvaginado; (f) helminto adulto; (g) ingestão de ovo pelo homem, hospedeiro acidental; (h) metacestoides.

Fonte: Ilustração de Bruno Eschenazi do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

Figura 5 – Registro fotográfico do cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*)



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Figura 6 – Registro fotográfico da paca (*Cuniculus paca*)



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

A presença da paca é relatada do Sul do México ao leste do Paraguai, além do nordeste da Argentina (Eisenberg e Redford, 1989) e distribuição marginal no Uruguai (Mones et al., 2003). É nativa na Argentina, Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname, Trinidad e Tobago, Uruguai, Venezuela e introduzida em Cuba. *Cuniculus paca* também é encontrada em Cuba, país em que foi introduzida (Varona, 1974; Emmons, 2016).

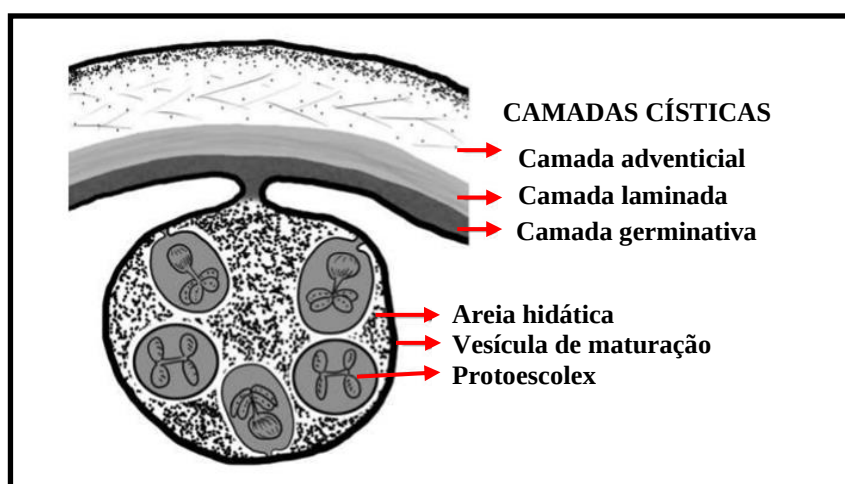
Pacas são típicas de florestas tropicais apresentando hábitos noturnos e podem ser encontradas em ambientes modificados ou íntegros. Apesar de viverem em diferentes ambientes, as suas atividades têm mais proximidade com coleções d'água (Michalski et al., 2015), construindo suas tocas em torno de zonas ribeirinhas (Michalski e Norris, 2011; Huanca-Hurachi et al., 2011) onde encontram vias de refúgio contra predadores ou caçadores (Emmons e Feer, 1999).

Na Região Norte do Brasil, a ENP é a principal doença descrita em pacas, que se infectam ao ingerirem alimentos ou água contaminados por ovos de *E. vogeli* eliminados juntamente com as fezes do cachorro-vinagre, único hospedeiro definitivo natural conhecido do *E. vogeli* (D'Alessandro e Rausch, 2008; Soares et al., 2014). As camadas externas dos ovos são digeridas no duodeno desses roedores, local onde são liberados os embriões ou oncosferas. Estes atravessarem a parede intestinal, ganham a circulação porta e finalmente alojam-se no fígado (Moraes e Arnaud, 1997; D'Alessandro e Rausch, 2008). Eventualmente, as oncosferas alcançam a circulação sistêmica e atingem outros órgãos, frequentemente os pulmões. O fígado

da paca, uma vez infectado, acaba, juntamente com o restante de suas vísceras, servindo de fonte de infecção para cães domésticos, quando caçadores as ofertam como alimento. Os cães, por sua vez, são os responsáveis pela contaminação do ambiente peridomicliar ao eliminarem ovos do helminto em suas fezes (Neves et al., 2017), criando condições para a infecção humana. É importante destacar que o contato direto, de humanos e roedores silvestres, com as fezes dos cães também exerce um papel importante na infecção (Acha e Szyfres, 1989; Meneghelli et al., 1990; Meneghelli et al., 1992; D'Alessandro e Rausch, 2008). Além disso, no ciclo silvestre de *E. vogeli*, os ovos expelidos pelo cachorro-vinagre no ambiente natural têm pouca importância para a saúde pública, uma vez que o ciclo acontece naturalmente no ambiente silvestre, sem a presença humana (Soares et al., 2004, Paramasvaran et al., 2009).

A ENP se caracteriza pelos desdobramentos clínicos do desenvolvimento de cistos hidáticos (metacestoides) (Figura 6) de *E. vogeli* no fígado. Esses cistos são caracterizados como vesículas esféricas contínuas ou esporadicamente isoladas, de aspecto esbranquiçado e, por vezes translúcido, cada uma sendo capaz de albergar até 500 protoescoleces do helminto. Situam-se no parênquima, sendo que a maioria se localiza próximo à superfície, contrastando com a coloração escura do fígado, quando estabelecidos neste órgão nos hospedeiros intermediários, incluindo o homem (D'Alessandro et al., 1981; D'Alessandro e Rausch, 2008; Almeida, 2012).

Figura 7 – Representação esquemática do metacestóide de *Echinococcus* sp.

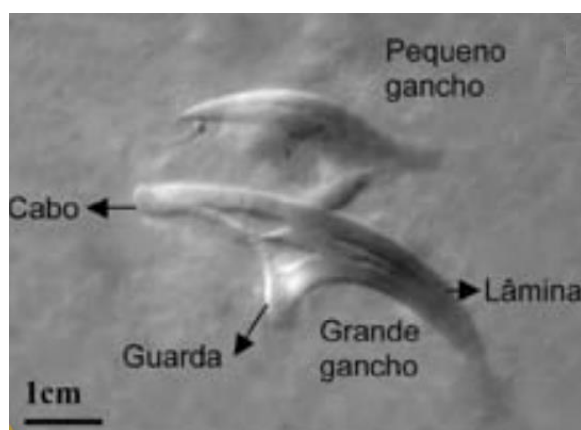


Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Os protoescoleces, presentes no interior do cisto hidático, medem entre 150 e 203 µm, e apresentam seus órgãos (ventosas e ganchos rostelares) invaginados, que, no futuro, após a desinvaginação, constituirão a extremidade anterior do helminto adulto no intestino do canídeo

(Bourée, 2001; D'Alessandro e Rausch, 2008). No protoescolex há dois tipos de ganchos (Figura 7): os da fileira superior, que são maiores (grandes ganchos) e possuem uma guarda arredondada e robusta; e os da fileira inferior, que são menores (pequenos ganchos) e possuem uma guarda achatada (Hobbs et al., 1990; Antoniou e Tselentis, 1993). Antoniou e Tselentis (1993) relataram que as diferenças encontradas na morfologia dos ganchos correspondem às diferentes funções que exercem. Os grandes ganchos possuem movimentos mais livres responsáveis pela locomoção, enquanto os pequenos ganchos são responsáveis pela fixação do helminto. Os ganchos variam em número, tamanho e forma, e normalmente são encontrados livres no interior dos cistos (Almeida et al., 2007; Almeida et al., 2015).

Figura 8 – Características dos ganchos rostelares (pequeno e grande) de *Echinococcus vogeli*



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Nota: ganchos analisados por Contraste Interferencial de Normaski – DIC em microscopia de campo claro.

A identificação parasitológica do *Echinococcus* spp. é realizada através das medidas dos ganchos rostelares (Tappe et al., 2008) que possuem comprimento de 33 a 41 μm . Outro aspecto de importância refere-se à forma do gancho, pois *E. vogeli* tem a lâmina curva e mais longa que o cabo (2/3 do total) (Rausch et al., 1978; Moraes e Arnaud, 1997). Esse aspecto refere-se à plasticidade fenotípica entre isolados de *Echinococcus* sp., que ocorre quando determinado genótipo tem a capacidade de produzir diferentes fenótipos, em resposta, por exemplo, a modificações no ambiente (Watson e Pike, 1993; Neves et al., 2003).

Durante o desenvolvimento da ENP humana, a doença pode não apresentar sintomas. Além disso, quando presente, a sintomatologia é inespecífica, dificultando o diagnóstico. Por esse motivo, o diagnóstico é dependente de dados epidemiológicos, como a localização geográfica dos pacientes, prática da caça de subsistência, contato com cães alimentados frequentemente com vísceras de animais caçados e exame físico apresentando massas palpáveis

no hipocôndrio direito (Zhang e McManus, 2006). A soma dessas características auxilia no diagnóstico da doença.

Em muitos países onde há casos da ENP, a notificação não é obrigatória, uma realidade que favorece a subnotificação dos casos. Esta subnotificação dificulta o real conhecimento da ocorrência da doença, que tem significativo impacto na morbidade e mortalidade das pessoas afetadas. Dos fatores que contribuem para essa subnotificação, é possível destacar o difícil acesso aos locais endêmicos, a desinformação, os sintomas inespecíficos, a cronicidade da doença e a dificuldade do estabelecimento do diagnóstico. Esses fatores também contribuem para que a doença seja detectada tardiamente (Romig et al., 2017; Kern et al., 2017).

Estudos sorológicos desenvolvidos em regiões endêmicas relatam altas frequências da ENP. Esta informação corrobora a hipótese da subnotificação da doença no país (Pastore et al., 2003a,b). No Brasil, a ENP (192 casos) tem sido reportada nas Regiões Norte, Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste, porém o Acre tem sido o estado que comporta a maioria dos casos (123) (Siqueira, 2021). Indivíduos do sexo masculino com idade entre 40 e 60 anos representam a parcela da população testada com maior positividade para ENP (Kern et al., 2017).

A identificação do agente etiológico envolvido nas equinococoses ainda é um desafio para todos os métodos diagnósticos. Para definir um diagnóstico preciso é necessário a utilização de métodos moleculares em busca da identificação do DNA ou exame parasitológico em espécimes de tecido humano e animal, contendo a forma larvar, uma vez que, as formas larvares se diferenciam entre as espécies do gênero *Echinococcus*. No exame parasitológico, a espécie é definida pela análise morfológica e morfométrica dos ganchos rostelares (Rausch e D'Alessandro, 1999; Thompson, 2017). No entanto, os métodos de diagnóstico disponíveis ainda apresentam alguns resultados inconclusivos quanto à especificidade do agente etiológico.

A identificação específica do agente etiológico de uma parasitose é importante em estudos epidemiológicos, além de ser fundamental nas estratégias de controle (Falavigna et al., 2005; Yong et al., 2007). E nesse sentido, a diferenciação e detecção de parasitos e o diagnóstico de infecções parasitárias tem sido realizados por técnicas morfológicas, biológicas e ensaios moleculares.

Os testes baseados em DNA candidatos à testes diagnósticos precisam atender à algumas demandas, como apresentarem alta sensibilidade e especificidade, serem adequados para triagem em massa, permitir a quantificação de DNA, serem seguros para o laboratório e serem eficazes em termos de custos. Nos últimos 30 anos, com o advento de abordagens moleculares e bioquímicas para a detecção de parasitos, diferentes métodos foram desenvolvidos a fim de identificar variantes de *Echinococcus* de hospedeiros animais e

humanos. Esses estudos, baseados principalmente na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), foram usados para a identificação de espécies, genótipos e haplótipos observados em *E. granulosus* s.s e para o diagnóstico diferencial de *E. granulosus* s.l. e *E. multilocularis*. Metodologias baseadas na PCR têm encontrado ampla aplicabilidade para detecção, realização de estudos populacionais e investigações epidemiológicas do gênero *Echinococcus*, principalmente porque permite a análise de regiões gênicas nucleares e mitocondriais de material parasitário fresco, congelado, fixado em etanol ou em parafina. Essas técnicas também foram utilizadas em diferentes formas larvares, como ovos, protoescoleces ou camada germinativa de metacestoides, helmintos adultos e de amostras de solo, vegetais, mucosa intestinal e fezes do hospedeiro (Siles-Lucas et al., 2017).

A PCR tem sido o método molecular mais utilizado (Lymbery, 2017), onde o DNA utilizado é geralmente extraído de helmintos adultos, larvas ou de formas evolutivas presentes em fezes, que, quando provenientes de animais silvestres, a obtenção desse material pode ser difícil ou demorada (Bundy et al., 1985). Ensaio moleculares, em muitos casos, melhoraram a sensibilidade e especificidade do processo de detecção e reduziram a possível subjetividade inerente a interpretação dos dados morfológicos e biológicos. A importância do uso da PCR, a partir do desenvolvimento de primers espécie-específicos, está relacionada também à análise do DNA independentemente do estágio de desenvolvimento do parasito (Zarlenga e Higgins, 2001).

As mitocôndrias, organelas que possuem seu próprio DNA (mtDNA), têm uma velocidade evolutiva relativamente rápida e herança exclusivamente materna, por isso não sofre recombinação (McManus e Thompson, 2003). Por ser de origem mitocondrial, o gene mitocondrial que codifica a subunidade I do citocromo c oxidase (cox1) é útil para discriminação de organismos intimamente relacionados, porém de espécies diferentes (Hajibabael et al., 2007). Sendo assim, o gene tem sido utilizado para a análise molecular, a fim de identificar variações existentes nas espécies de *Echinococcus* (Bowles et al., 1992).

Apesar da importância já conhecida dos marcadores mitocondriais, é possível avaliar a estrutura das populações de parasitos utilizando marcadores nucleares, como, por exemplo, o gene codificador do antígeno P-29 encontrado no fluido do cisto hidático de *Echinococcus granulosus* s.l., que é um promissor candidato à produção de vacinas de prevenção à equinococose (Santos et al., 2012).

Arrabal et al. (2017) descreveram o surgimento de duas populações distintas ao analisar isolados de *E. oligarthra* de hospedeiros definitivos na Argentina. Os autores defendem que compreender a variação genética dos organismos pode ter grande significado médico e que a

implementação de análises de marcadores moleculares pode ajudar a determinar melhores estratégias na prevenção, diagnóstico e conhecimento da gravidade da manifestação clínica da doença. Essa variabilidade já foi comprovada e está bem estabelecida para a espécie *Echinococcus granulosus s.l.*, porém, o aumento do conhecimento de possíveis variantes no gênero *Echinococcus*, sobretudo para a espécie *E. vogeli*, pode contribuir diretamente nos programas de controle, prevenção e diagnóstico da ENP.

JUSTIFICATIVA

Nas últimas duas décadas, o Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose do Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados do Instituto Oswaldo Cruz / Fiocruz-RJ (LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz) vem estudando a ENP humana, em pacas e canídeos domésticos em municípios do estado do Acre. Na Região Norte do Brasil o hábito de fornecer fígado cru de pacas é a forma de transmissão de *Echinococcus vogeli* para os cães domésticos. No Amazonas, este mesmo hábito é uma fonte de infecção espúria humana por *C. hepaticum*.

Por mais que estudos moleculares integrem atualmente estudos com taxonomia integrativa, ecologia de parasitos com ciclos silvestres e epidemiologia molecular de muitas zoonoses, poucas são as abordagens que envolvem a coleta e caracterização molecular das espécies neotropicais do gênero *Echinococcus*. A diversidade e variabilidade genética já foram comprovadas e estão bem estabelecidas para a espécie *E. granulosus* s.l., porém, o aumento do conhecimento de possíveis variantes para a espécie *E. vogeli*, pode contribuir diretamente nos programas de prevenção, diagnóstico e controle da ENP humana.

A maioria das comunidades amazônicas está longe dos centros urbanos, onde o acesso à educação, serviços de saúde, instalações de saneamento básico e água tratada é baixo ou inexistente, propiciando o desenvolvimento de enteroparasitoses. Entretanto, não se conhece a sua ocorrência em moradores de reservas florestais dos municípios de Xapuri e Sena Madureira, áreas de transmissão da ENP no Estado do Acre.

Face a limitação nos conhecimentos destes aspectos, este trabalho foi desenvolvido para avaliar se há diversidade genética de *E. vogeli* de pacas provenientes Xapuri e Sena Madureira, bem como realizar um levantamento parasitológico e sociodemográfico em moradores destas áreas.

1 OBJETIVOS

1.1 Geral

Realizar caracterização molecular de *Echinococcus vogeli* de pacas e levantamento parasitológico e sociodemográfico em moradores de reservas florestais do Acre, Brasil.

1.2 Específicos

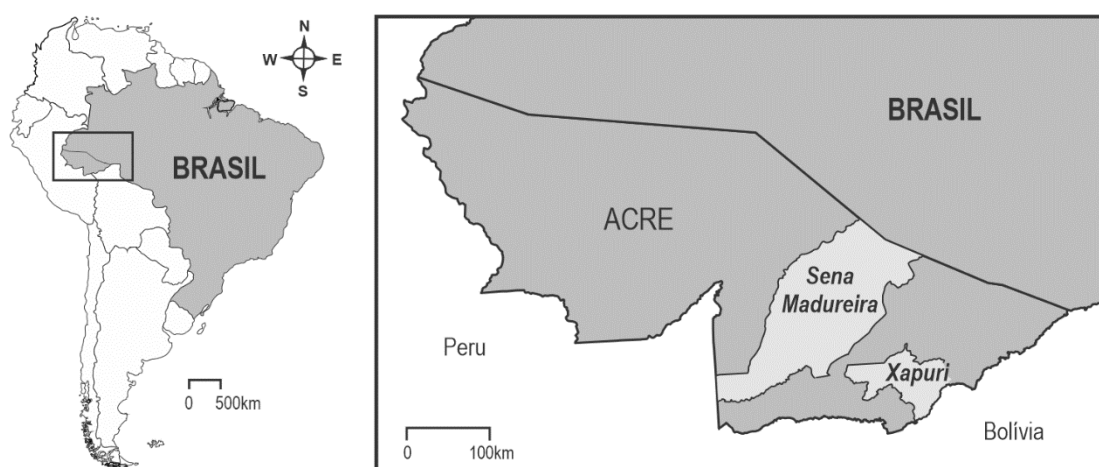
- 1- Avaliar a variabilidade genética das sequências de *E. vogeli* geradas;
- 2- Comparar as sequências de *E. vogeli* do estudo com outras sequências de *Echinococcus* sp. disponíveis no *GenBank*;
- 3- Realizar análises filogenéticas nas amostras que farão parte do estudo;
- 4- Realizar o levantamento epidemiológico da prevalência de enteroparasitos em moradores de reservas florestais do Acre, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Áreas de estudo

Todas as amostras de fígados de pacas que integraram este estudo foram provenientes do estado do Acre e coletadas por meio de expedições às áreas florestais dos municípios de Sena Madureira e Xapuri (Figura 9) entre os anos de 2017 e 2019.

Figura 9 – Mapa evidenciando os municípios de estudo no estado do Acre



Fonte: Ilustração de Heloisa Diniz do Serviço de Produção e Tratamento de Imagem – IOC/Fiocruz-RJ.

O estado do Acre foi incorporado ao Brasil em 1903 e possui 88% de cobertura florestal. Ele é o 15º em extensão territorial, com uma superfície de 164.221,36 km², correspondente a 4,26% da Região Norte e a 1,92% do território nacional. O Estado está situado num planalto com altitude média de 200 metros, localizado no sudoeste da Região Norte, entre as latitudes de -7°06'56" N, longitude de -73°48'05" N e latitude de -11°08'41" S, longitude -68°42'59" S. Os limites do estado são formados por fronteiras internacionais com Peru e Bolívia e por divisas estaduais com os estados do Amazonas e Rondônia. As cidades mais populosas são: Rio Branco, Cruzeiro do Sul, Feijó, Tarauacá e Sena Madureira (Bittencourt-Oliveira, 2016).

Sena Madureira, atualmente, é o terceiro município mais populoso do estado do Acre e o segundo em extensão territorial. Ele representa o polo econômico da regional Alto Purus e possui uma conexão muito intensa com Rio Branco, situada a uma distância de 136 km. Apresentando 34.230 habitantes, o município abrange uma área de 23.732 km². Limita-se ao norte com o estado do Amazonas; ao sul, com o município de Assis Brasil; a leste, com os

municípios de Bujari, Rio Branco, Xapuri e Brasiléia; a oeste com o município de Manoel Urbano e a sudoeste, com a República do Peru (Cenamo et al., 2011).

Xapuri, localiza-se ao sul do estado do Acre a 106 km da capital Rio Branco. Fundada oficialmente em março de 1904, teve seu surgimento diretamente relacionado à expansão do extrativismo da borracha no final do século XIX, que resultou na fundação dos seringais amazônicos. O município ocupa o nono lugar em população no Estado e a décima segunda posição em área. É o município mais visitado do estado devido, principalmente, aos monumentos históricos da época da Revolução Acreana e da casa onde residia Chico Mendes. Xapuri limita-se ao norte com Rio Branco; ao sul, com o município de Epitaciolândia; a leste, com o município de Capixaba; a oeste, com o município de Sena Madureira e a sudoeste, com o município de Brasiléia. Apresentando 14.314 habitantes, o município abrange uma área de 5.347 km² (Bittencourt-Oliveira, 2016).

2.1.1 Aspectos éticos

Parte deste trabalho foi realizado com a aprovação do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) do Ministério do Meio Ambiente (MMA) de acordo com a Instrução Normativa Ibama 154/07, sob a numeração 13373-1 da licença permanente emitida em 19/11/2007 para a coleta e transporte de material zoológico do(s) táxon(s) Rodentia e Didelphimorphia (Anexo A) e a outra sob a autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) mediante outra licença, de numeração 68985-1 e válida até 04/2022, para atividades com finalidades científicas: coleta, processamento e transporte de material biológico de animais silvestres do(s) táxon(s) Carnívora, Aves, Rodentia e Xenarthra (Anexo B).

2.1.2 Obtenção de *Echinococcus vogeli*

A coleta de vísceras de pacas, sobretudo os fígados, foram essenciais para o desenvolvimento deste estudo, para ter a chance de obter os cistos de *E. vogeli* ou até mesmo conseguir caracterizar outra espécie neotropical, o *E. oligarthra*.

Conseguir amostras de *E. vogeli* é extremamente difícil, dado seu caráter majoritariamente silvestre, por isso, o planejamento para coleta de vísceras de pacas, leva em consideração a melhor época do ano, dando preferência para períodos com maior probabilidade

de estarem livres de chuvas constantes. Chuvas mínimas já provocam muitos alagamentos e/ou encharcamento dos ramais a serem percorridos que, na maioria das vezes, são de difícil acesso.

Outro fator importante é a experiência dos colaboradores no relato do avistamento das pacas. A rotina local da caça de pacas para subsistência é sempre levada em consideração, além da sincronia de agenda dos nossos colaboradores locais, para que participem do nosso estudo em termos de apoio logístico. Para isso, conhecendo a biologia da paca e a rotina dos agroextrativistas na caça da paca para subsistência, nosso planejamento anual sempre esteve voltado para os meses de abril a junho, porém já conseguimos realizar coletas nos meses de agosto e setembro. Fora desse período, de outubro a março, as chuvas tornam esse tipo de trabalho praticamente inviável, em termos de deslocamento local. Isso não quer dizer que dentro dos períodos das expedições já planejadas, deixamos de ter intercorrências.

Desde o ano de 2011, o LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz-RJ realiza expedições anuais ao Acre para coleta desse tipo de material biológico, dentre outras atividades relacionadas à ENP. Além disso o LRNH conta com colaboradores no estado, que disponibilizam estrutura básica para deslocamento local, coleta, recebimento, processamento inicial e envio do material biológico para o laboratório no Rio de Janeiro.

Vinte e oito amostras de fígado de pacas foram obtidas para busca por lesões macroscópicas compatíveis com *Echinococcus* sp. A quantidade de amostras, apresentando lesões ou não, e suas respectivas regiões de coleta estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Localidade, quantitativo e análise macroscópica dos fígados de pacas oriundas do Acre, Brasil

Localidade	Fígados com lesões (n=16)	Fígados sem lesões (n=12)	Total (n=28)
Xapuri	13	10	23
Sena Madureira	03	02	05

Em cada moradia visitada, após a explicação dos objetivos e da importância do trabalho, foi solicitado que, quando ocorresse o abate de pacas para consumo próprio, os fígados não fossem descartados, como de costume. Após obtermos informações da existência de vísceras de pacas disponíveis, houve deslocamento de nossa equipe até o local para contato com a população local (Figura 10) e recolhimento do material. Como os abates aconteciam no período

da noite ou madrugada, essas coletas eram realizadas tão logo o contato dos moradores e as amostras eram processadas em laboratórios de campo (Figura 11).

Figura 10 – Imagem representativa da interação da equipe com moradores e colaboradores de Xapuri, Acre



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Figura 11 – Imagem de local utilizado como laboratório de campo em Xapuri, Acre



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Nota: registro da residência local ainda não adaptada às condições do laboratório de campo.

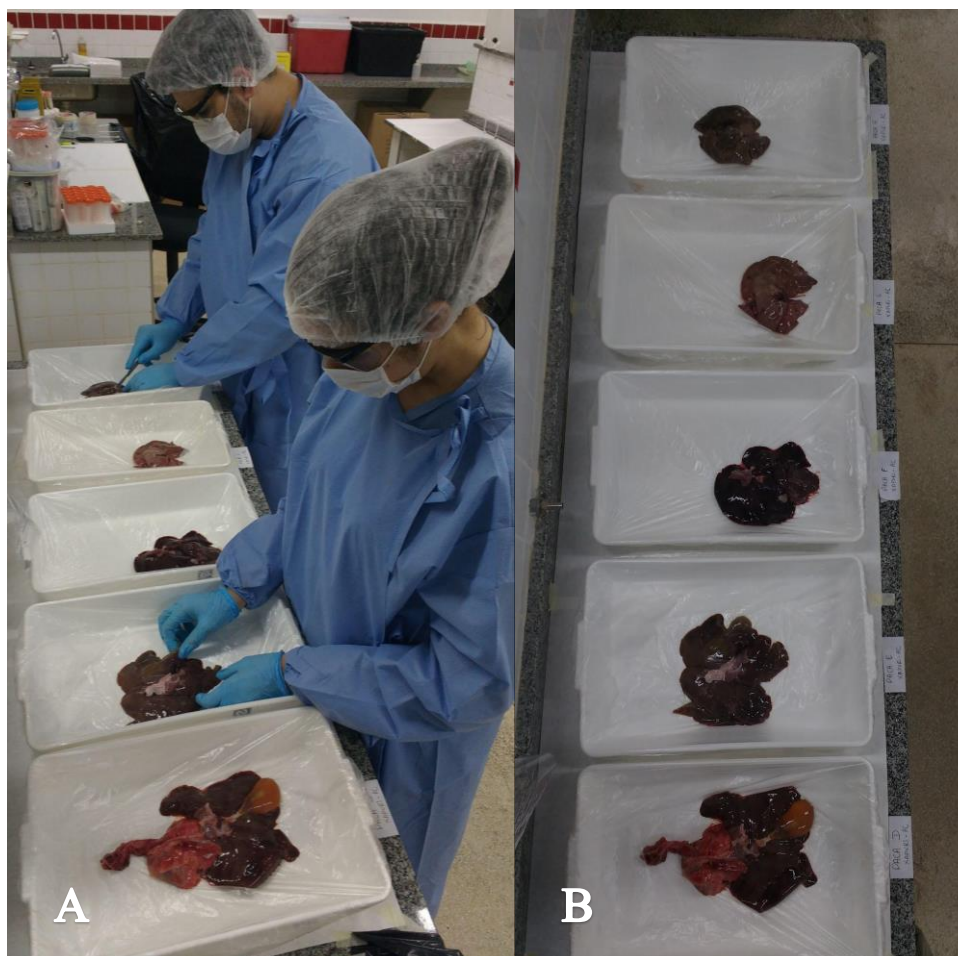
2.1.3 Análises dos fígados (macroscópica) e dos líquidos extraídos (microscópicas)

O processamento de algumas amostras de fígados foi realizado no laboratório do Instituto Federal do Acre (IFAC) do município de Xapuri (Figura 12). Já a manipulação de outros fígados foi realizada nas reservas florestais, próximo ao horário do abate das pacas mediante a rotina de subsistência familiar. Nesses locais, organizamos uma área restrita e isolada em domicílios vazios cedidos ou peridomicílios das moradias (Figura 13) que nos recebiam, para que o processamento dos fígados fosse feito afastados da rotina domiciliar.

Algumas residências possuíam energia elétrica temporária a base de motor à óleo diesel, o que nos possibilitou utilizar o microscópio de campo para análise do líquido extraído dos cistos encontrados (Figura 13). Em contrapartida, outras moradias não possuíam a mesma estrutura, o que impossibilitou essa análise no momento das extrações, sendo essas análises realizadas somente no LRNH-IOC/Fiocruz. Da mesma forma, no processamento realizado no IFAC, conseguimos analisar os líquidos dos cistos hepáticos em microscópio, logo após a extração.

Os fígados foram lavados com solução fisiológica (0,9%) e analisados macroscopicamente a fim de identificar áreas com possíveis cistos hidáticos. Os fígados que apresentaram lesões compatíveis com a infecção por *E. vogeli* (perfil de lesões em alto-relevo caracterizadas por serem esféricas, semelhantes a bolhas translúcidas), foram submetidos à extração do conteúdo interno das lesões com auxílio de seringa de 1mL para possível visualização de ganchos rostelares e/ou protoescoleces do parasito. Uma parte desse conteúdo foi colocada entre lâmina e lamínula para análise em microscópio de campo claro a fim de visualizarmos formas evolutivas de *Echinococcus* sp. O restante do líquido extraído foi armazenado em etanol 70%.

Figura 12 – Registro do manejo laboratorial das amostras no Instituto Federal do Acre (IFAC)



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).
 Legenda: (A) inspeção macroscópica dos fígados de pacas; e (B) fígados para inspeção e registro fotográfico.
 Nota: Laboratório de Biologia do IFAC, Campus Xapuri, Acre.

Figura 13 – Imagens representativas de laboratórios de campo desenvolvidos no Acre



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).
 Legenda: (A) rotina noturna de inspeção macroscópica dos fígados de pacas recebidos em Sena Madureira, Acre;
 e (B) materiais iluminados a base de luz de lanterna em Xapuri, Acre.
 Nota: Laboratórios de campo em regiões florestais de difícil acesso no Acre.

2.1.4 Processamento dos cistos para extração de DNA

Todos os cistos hepáticos foram removidos (Figura 14) e armazenados em tubos plásticos (15mL) com etanol 70% na proporção 3:1. As amostras foram enviadas via transporte aéreo para o LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz. O DNA total de cada cisto foi extraído utilizando o QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante.

Figura 14 – Imagens representativas de cistos (ou camadas) de *Echinococcus* sp. coletados



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Nota: cistos (ou camadas císticas) de *Echinococcus* sp. removidos com ou sem tecidos hepáticos circundados.

2.1.5 Caracterização molecular e agrupamento de isolados de *E. vogeli*

2.1.5.1 Extração de DNA e *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Os líquidos hidáticos e as camadas dos cistos de *E. vogeli* foram submetidos à extração do DNA total com o QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN).

2.1.5.2 Gene da subunidade I do citocromo c oxidase (cox1)

Uma região parcial (~450pb) do gene mitocondrial codificador da subunidade I do citocromo c oxidase (cox1) foi utilizada para análise molecular de *E. vogeli*, utilizando os iniciadores direto 5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3' (CO1f) e reverso 5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3' (CO1r) descritos por Bowles et al. (1992). As reações foram realizadas em um volume de 50 µL contendo 30-100 ng de DNA molde, 10 mM

de dNTP, 10 pmol de cada primer, 1,5 mM MgCl₂, 1 U da Taq DNA polimerase (Invitrogen, EUA) e tampão de PCR 1X sem MgCl₂ (Invitrogen, EUA) (Sanchez et al., 2010).

2.1.5.3 Gene do antígeno P-29

Também foi utilizada uma região parcial (~222 pb) do gene nuclear codificador do antígeno P-29, utilizando as condições da PCR e os iniciadores direto 5'-CATTGCATCTAAAGTCGTGG-3' (P-29f) e reverso 5'-ACATCAGAAGCTTCCGTCAG-3' (P-29r) descritos por Santos et al. (1992). As amplificações foram realizadas em um volume de 50 µL contendo 30-100 ng de DNA molde, 10 mM de dNTP, 10 pmol de cada primer, 1,5 mM MgCl₂, 1 U da Taq DNA polimerase (Invitrogen, EUA), e tampão de PCR 1X sem MgCl₂ (Invitrogen, EUA).

As condições da PCR para ambos os genes foram as mesmas adotadas por Santos et al. (2012), sendo elas: desnaturação a 94°C por 90 segundo; seguida de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto; e uma etapa final de extensão de 7 minutos a 72°C foi realizada antes do término da PCR.

Os produtos da PCR foram analisados após eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE 1X e coloração com GelRed. Os sinais de amplificação das amostras positivas para *cox1* estavam de acordo com a visualização dos *amplicons* na região entre 400 e 500 pb (450 pb), assim como para P-29, onde a visualização dos *amplicons* se localizou na região de 200 pb. Os amplicons foram purificados com o kit illustra™GFX™ PCR DNA (GE Healthcare) e sequenciados utilizando os mesmos iniciadores da PCR e o kit comercial ABI Prim™ Big Die Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems).

2.1.5.4 Sequenciamento de DNA

As sequências foram obtidas no sequenciador automático Analisador de DNA ABI 3730, da subunidade RPT01A de Sequenciamento Automático – IOC/RJ da Rede de Plataformas Tecnológicas Fiocruz. As sequências senso e antisense obtidas de cada fragmento amplificado foram comparadas para a produção de uma sequência consenso com o programa SeqMan e editadas com o programa EditSeq (DNASTAR Inc.). As sequências resultantes foram comparadas (ferramenta BLAST-NCBI) com as sequências relacionadas ao *E. vogeli* depositadas na base de dados do GenBank-NCBI.

2.1.5.5 Análises filogenéticas

As análises filogenéticas das sequências de *E. vogeli* foram desenvolvidas após alinhamento, análise da composição nucleotídica e o cálculo das médias das distâncias intra e interespecíficas entre as sequências com a utilização do algoritmo ClustalW (Thompson, 1994) do software MEGA X v11.0.8 (Tamura et al., 2021, p. 3022). As árvores foram construídas com a utilização do algoritmo de Neighbor-Joining (Saitou e Nei, 1987) e as distâncias calculadas utilizando a estimativa de Kimura 2-parâmetros (Kimura, 1980). Para cada construção, a veracidade de cada ramo foi conferida por análise de *bootstrap* (500 repetições). Para a construção da árvore baseada nas sequências de *cox1*, foram utilizadas as seguintes sequências disponíveis no *GenBank*: MK791154 a MK791184, AB208546, KX527916, NC009462, KX257618 e JX315616 (*E. vogeli*); *E. oligarthra* (NC009461); NC009460 (*E. shiquicus*); AB777904 e KX527915 (*E. granulosus* s.s. G1); NC020374 (*E. equinus*); NC011122 (*E. ortleppi*); AB688142 (*E. canadensis* G6); KX685895 (*E. canadensis* G7); AB777910 (*E. canadensis* G8); AB777914 (*E. canadensis* G10); NC021144 (*E. felidis*); e KY205689 (*E. multilocularis*).

Já para a árvore filogenética baseada nas sequências de P-29, foram utilizadas as seguintes sequências do *GenBank*: KF528664 (*E. granulosus* s.s. G1); KF528665 (*E. equinus*), KF528666 (*E. ortleppi*); KF528667 (*E. canadensis* G6); KF528668 (*E. canadensis* G7); *E. canadensis* G10 (KF528669); e KF528673 (*E. multilocularis*).

2.1.5.6 Diversidade molecular

Os índices de diversidade molecular do número de sítios de segregação, o número e a diversidade de haplótipos, bem como a diversidade de nucleotídeos (π) foram calculados com o software Dna SP v. 5 (Librado e Rozas, 2009) e o software Network v. 10.2 (Fluxus Technology Ltd. 2021) foi utilizado para a construção do fluxograma median-joining das relações entre os haplótipos.

2.2. Inquérito parasitológico

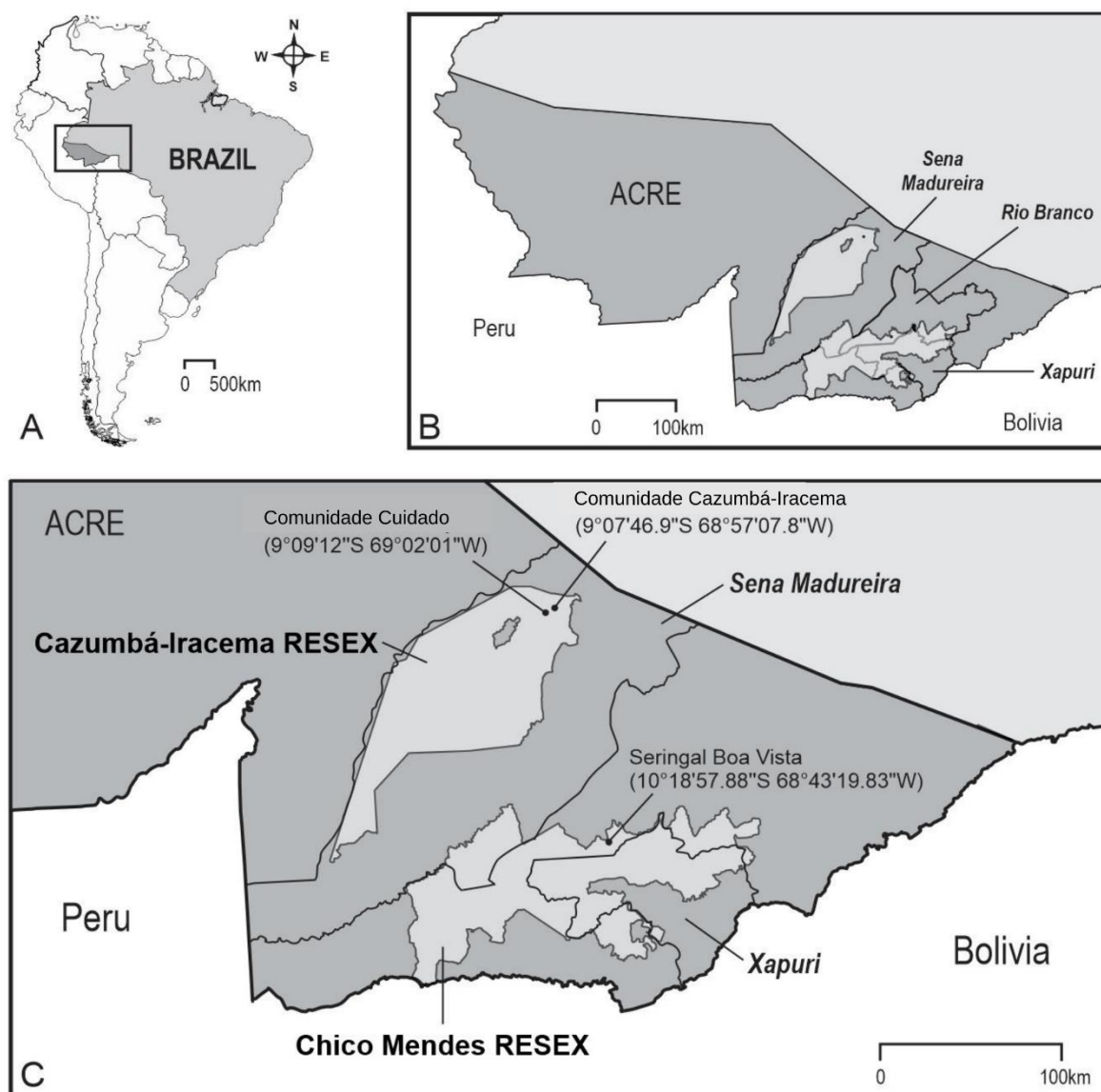
2.2.1 Aspectos éticos II

Este estudo foi realizado mediante as avaliações éticas do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEP Fiocruz/IOC, estando de acordo com o estabelecido nas licenças emitidas pelo comitê no referido período de trabalho sendo a mais vigente, sob tutela do Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) 38091514.6.0000.5248 (Anexo C). O consentimento informado por escrito foi obtido de todos os participantes adultos e pais ou tutores legais de menores, mediante leitura e assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

2.2.2 Áreas de estudo II

Esta investigação foi desenvolvida entre os anos de 2017 e 2019 nos municípios de Xapuri e Sena Madureira. As amostras de fezes foram provenientes de moradores da Reserva Extrativista Chico Mendes em Xapuri (Seringal Boa Vista, 10°18'57.88''S 68°43'19.83'' O) e da Reserva Extrativista Cazumbá-Iracema em Sena Madureira (Comunidade do Cuidado, 9°09'12"S 69°02'01"W e Comunidade do Cazumbá, 9°07'47"S 68°57'08"W) (Figura 15).

Figura 15 – Mapa do Brasil mostrando o estado do Acre evidenciando os locais da realização do inquérito parasitológico



Legenda: (A) mapa do Brasil evidenciando o estado do Acre; (B) mapa do Acre evidenciando a capital Rio Branco e os municípios do estudo, Sena Madureira e Xapuri; (C) mapa do Acre evidenciando as áreas de estudo: reservas extrativistas Cazumbá-Iracema e Chico Mendes localizadas nos municípios de Sena Madureira e Xapuri, respectivamente.

O Seringal Boa Vista está localizado na Reserva Extrativista Chico Mendes (RESEX Chico Mendes) nos municípios de Rio Branco e Xapuri. Existem cerca de 43 colocações, na qual residem aproximadamente 215 pessoas. Predominam no Seringal Boa Vista a Floresta Aberta com Bambu e a Floresta Aberta com Palmeiras (Sousa, 2012).

O acesso à RESEX Chico Mendes pode ser realizado por via terrestre pela Rodovia BR317, exceto no período chuvoso, quando o acesso se restringe somente até o extremo sudeste de Brasiléia. Essa rodovia, praticamente, contorna a área da reserva. Por via fluvial, é possível entrar na Reserva pelo Rio Xapuri e afluentes, exceto no período de seca, quando praticamente, não é possível a navegação devido ao baixo nível de água (Sousa, 2012).

O acesso ao Seringal Boa Vista pelo período da seca (maio a dezembro) é realizado pelo ramal denominado Samaúma e no período da chuva pelo igarapé Espalha. No entanto, no período de inverno os moradores realizam caminhadas de até oito horas de viagem para chegar à cidade de Xapuri. Essa comunidade vive basicamente do extrativismo da castanha, borracha e agricultura de subsistência (arroz, feijão e milho) (Sousa, 2012).

A Reserva Extrativista do Cazumbá-Iracema (RESEX do Cazumbá-Iracema) localiza-se na bacia do rio Purus, no município de Sena Madureira. É uma Unidade de Conservação Federal com uma área de 750.794,70 ha, entre as coordenadas 09°01'–10°12'S e 68°50'–70°11'W. A área da reserva é dividida em 10 Núcleos de Base, de acordo com a distribuição das famílias, ao longo dos rios e igarapés. Há 364 famílias na reserva, com média de quatro membros por família, que se distribuem em unidades produtivas denominadas colocações ou comunidades (áreas florestais de 300 a 500 ha localizadas dentro dos Núcleos de Base).

A cidade mais próxima da Reserva é Sena Madureira, acessada a partir de Rio Branco, pela BR 364. O acesso à Reserva, a partir de Sena, dá-se pelo rio Caeté, em média 8 horas de barco para o núcleo da reserva, já em seu interior, há diversos igarapés que dão acesso às moradias mais dispersas, como o Santo Antônio, Canamary, Esperai e Maloca. No verão amazônico (junho a setembro), os rios e igarapés possuem a navegabilidade muito reduzida ou interrompida e as principais vias de acesso são por meio do ramal 16 e o ramal 34, que liga a BR-364 às comunidades da reserva. A distância de Sena Madureira para o núcleo da reserva é de aproximadamente duas horas de carro.

2.2.3 Coleta e processamento das amostras de fezes humanas

As amostras de fezes do estudo foram coletadas nos laboratórios de campo, após recrutamento dos indivíduos. Esses laboratórios foram montados nas Escolas Hermínio Pessoa e Escola José Siqueira, em Sena Madureira. No caso de Xapuri, as amostras foram obtidas sob coleta domiciliar. Após explicação dos objetivos do estudo aos moradores, foi coletada uma única amostra de fezes em recipiente plástico estéril de 50mL vazio. Cada amostra de fezes teve uma parte fixada em formalina a 10% o mais rápido possível. As amostras frescas de fezes foram examinadas pela técnica de Kato-Katz (Katz et al., 1972), utilizando o Helm Test® comercial (BioManguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil), seguindo as especificações do fabricante, para a busca por ovos de helmintos (Figura 16A). As amostras de fezes fixadas foram examinadas microscopicamente para a busca por ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários, utilizando os métodos sedimentação espontânea (Hoffmann et al., 1934) (Figura 16B) e centrífugo-sedimentação (Blagg et al., 1955). No LRNH-LHPV/Fiocruz-RJ, cada sedimento fecal foi analisado entre lâmina e lamínula em microscópio óptico Eclipse E-200 (Nikon, Japão) equipado com uma câmera digital Nikon DS-Fi1 (Nikon, China) e as imagens foram processadas com o software NIS-Elements AR 3.0 (Nikon, EUA).

Figura 16 – Imagens do trabalho de campo nas expedições ao Acre entre 2017 e 2019 com relação a execução dos exames parasitológicos de fezes



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Legenda: (A) Leitura de lâminas (Método Kato-Katz) – 2017; (B) Método sedimentação espontânea – 2019.

Nota: Laboratórios de campo em: (A) Laboratório de Biologia do IFAC, Campus Xapuri, Acre; (B) Galpão adaptado em Sena Madureira, Acre.

Além da coleta de fezes, foi aplicado a cada participante do estudo um questionário estruturado (Figura 17) no contexto da ENP, contendo também perguntas sobre dados demográficos. São elas:

- Local de nascimento;
- Sexo;
- Idade;
- Escolaridade;
- Renda familiar;
- Estado civil;
- Número de filhos
- Presença de cães na residência;
- Atividade de caça para subsistência;
- Hábitos alimentares com carne de animais silvestres;
- Condições de saneamento básico;
- Fonte de água para ingestão.

Figura 17 – Imagens representativas do trabalho de campo no Acre entre 2017 e 2019 com a aplicação de TCLE e questionários



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Legenda: (A) Aplicação de TCLE e questionário epidemiológico em visitas no município de Xapuri, Acre – 2018; (B e C) Aplicação de TCLE e questionário epidemiológico em visitas no município de Sena Madureira, Acre - 2019; (D) Aplicação de TCLE e questionário epidemiológico e em base de trabalho do município de Sena Madureira, Acre - 2019.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Capítulo I

Artigo aceito para publicação em 22/06/2021 na Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Anexo D)

Este segundo capítulo refere-se ao inquérito parasitológico realizado em moradores de reservas florestais do Acre. Este resultado refere-se ao objetivo específico número 4.

Spurious infection by *Calodium hepaticum* (Bancroft, 1983) Moravec, 1982 and intestinal parasites in forest reserve dwellers from Acre State, Brazil.

Fernanda Bittencourt de Oliveira^{1,2}, Tuan Pedro Dias Correia², Leandro Batista das Neves², Paulo Eduardo Ferlini Teixeira³, Junior da Costa Moreira⁴, Leandro Siqueira de Souza⁵, Renata Heisler Neves¹, Fernanda Barbosa de Almeida², Rosângela Rodrigues e Silva², José Roberto Machado e Silva¹.

-
- 1- Laboratório de Helminologia Romero Lascasas Porto, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Centro Biomédico, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua Professor Manoel de Abreu 444/5º andar, Vila Isabel, 20511-070, Rio de Janeiro, Brasil.
 - 2- Laboratório de Helminhos Parasitos de Vertebrados, Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz-RJ), Av. Brasil 4.365, Manguinhos, 21045-900, Rio de Janeiro, Brasil.
 - 3- Instituto Federal do Mato Grosso do Sul (IFMS), Rua Treze de Maio, 3.439, 79002-352, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.
 - 4- Instituto Federal do Acre (IFAC), Avenida Coronel Brandão 1622, 69930-000, Xapuri, Acre, Brasil.
 - 5- Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz-RJ), Av. Brasil 4.365, Manguinhos, 21045-900, Rio de Janeiro, Brasil.
-

E-mail address: rosanrsilva@gmail.com / rsilva@ioc.fiocruz.br

(Corresponding author)

Spurious infection by *Calodium hepaticum* (Bancroft, 1983) Moravec, 1982 and intestinal parasites in forest reserve dwellers from Acre State, Brazil.

ABSTRACT

The prevalence of infections by soil-transmitted helminths (STHs) and intestinal protozoa is considered an indicator of the social vulnerability of a country, besides providing inferences about the habits, customs and quality of life of a given population. Intestinal parasites mostly affect poor rural communities with limited access to clean water and adequate sanitation. This study reports the results of a parasitological survey in 2017 and 2019 among forest reserve dwellers from two municipalities (Xapuri and Sena Madureira) in Acre State. Data on their socio-demographic characteristics were also obtained. Fresh stool samples were examined by the Kato-Katz technique, while samples fixed in 10% formalin were processed by the spontaneous sedimentation and centrifugal sedimentation techniques. Statistical analyses were performed using GraphPad InStat. The overall STH prevalence was 44.9%. Hookworm prevalence (19.2%) was higher than that of *Ascaris lumbricoides* (2.5%) and *Trichuris trichiura* (0.7%), an unexpected finding for the Brazilian Amazon. This is the first report of spurious infection by *Calodium hepaticum* among forest reserve dwellers, likely present because they consume undercooked liver of lowland pacas. Additionally, this is the first report of *Blastocystis* sp. in Acre.

KEYWORDS

Intestinal parasites, spurious infection, *Calodium hepaticum*, forest reserve, Acre, Brazil.

INTRODUCTION

Calodium hepaticum (Bancroft, 1983) Moravec, 1982, (syn. *Capillaria hepatica*) is a zoonotic nematode present in a wide range of mammal hosts (rodents, lagomorphs, canids, ruminants, non-human primates and humans), as well as birds and fish, but rodents are the main hosts¹. The parasite has a direct life cycle (monoxenous). Upon ingestion of embryonated eggs by natural hosts, L1 larvae hatch in the cecum, penetrate the intestinal wall and migrate to the liver migration, where they develop into mature worms. Within the hepatic tissue, fertilized

adult females release non-embryonated eggs and die². An obvious question is how *C. hepaticum* propagates in the life cycle. Evidence suggests two main mechanisms: disintegrated carcasses of dead hosts allow non-embryonated eggs to reach the external environment; and through a predator–prey relationship, non-embryonated eggs are excreted with host feces into the environment. Under favorable conditions (oxygen, moisture and temperature), the L1 larva develops within the egg to an infective stage to sustain its life cycle³.

Humans acquire infection by two mechanisms: by ingesting embryonated eggs from contaminated environments, whereby humans develop a rare and often fatal liver disease, also reported as true infection², and by eating raw or undercooked livers from wild hosts, where eggs pass along the gastrointestinal tract and are expelled in fecal material (spurious infection)⁴⁻⁶. To date, 138 cases of spurious infection have been reported in the literature⁷. Out of them, 93 occurred in Brazil (Table 1), suggesting that *C. hepaticum* is a foodborne parasite in this country.

Table 1 – *Calodium hepaticum* spurious infection according to the number of cases, state and year reported in Brazil

Authors (year)	N	State
Coimbra Jr. and Mello (1981) ⁸	02	Rondônia
Santos, Coimbra Jr. and Ott (1985) ⁹	01	Rondônia
Santos et al. (1995) ¹⁰	03	Mato Grosso do Sul
Machado, Santos and Costa-Cruz (2008) ¹¹	02	Minas Gerais
Carvalho-Costa et al. (2009) ⁴	01	Amazonas
Palhano-Silva et al. (2009) ¹²	27	Rondônia
Camargo et al. (2010) ¹³	02	Rondônia
Soares et al. (2011) ⁵	41	Mato Grosso
Gonçalves et al. (2012) ⁶	09	Amazonas
Klisiowicz et al. (2014) ¹⁴	05	Paraná

Nota: esta tabela está denominada como “Table 1” devido a manutenção das informações da versão final do artigo na Revista, porém, está sendo referenciada na lista de tabelas como Tabela 2.

In Acre State, forest reserve dwellers hunt game as a major subsistence strategy for protein consumption. The prey include red brocket deer (*Mazama americana* Erxleben, 1777), white-lipped peccary (*Tayassu pecari* Link, 1795) and lowland or spotted paca (*Cuniculus paca* Linnaeus, 1766)¹⁵. It is well-recognized that these animals are natural hosts of *C. hepaticum* in Brazilian biomes^{6,14}. Previously, we reported finding *C. hepaticum* eggs in liver tissue from a free-ranging paca trapped in the Bujari permanent preservation area in Acre¹⁶. However, it

remains to be determined if people eating undercooked or raw livers are subject to spurious infection in the state.

Soil-transmitted helminth (STH) infections are considered indicators of the social vulnerability of a country, besides providing information about habits, customs, and quality of life of a given population. STHs and pathogenic intestinal protozoa mostly affect poor rural communities with limited access to clean water and adequate sanitation¹⁷. In this epidemiological scenario, school-aged children and adolescents are especially vulnerable to STH infections, causing significant physical, nutritional and cognitive impairment¹⁷. Forest dwellers typically practice open defecation on the ground near their homes and have no access to clean water. These conditions give rise to their exposure to intestinal parasites (STHs and protozoa) acquired via the fecal-oral route or skin penetration.

Here we report a parasitological survey among forest reserve dwellers from two municipalities (Xapuri and Sena Madureira) in Acre State. In addition, the socio-demographic characteristics of participating households were evaluated. Our findings, for the first time, provide evidence of spurious infection by *C. hepaticum* in forest reserve dwellers in Acre. The occurrence of intestinal protozoa and STHs is also discussed.

MATERIAL AND METHODS

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the Oswaldo Cruz Foundation's Research Ethics Committee (CAAE, no. 38091514.6.0000.5248). Written informed consent was obtained from all adult participants and parents or legal guardians of minors.

Study area and population

For the past 15 years, we have carried out a research program designed to investigate human and animal polycystic echinococcosis in municipalities located in Acre (AC). This state (09°03'S; 68°39'W) is located in western Brazil, bordering the countries Peru (west) and Bolivia (south), the state of Amazonas (north) and the state of Rondônia (east).

The survey reported here was performed in 2017 and 2019 in rural communities located within two extractive reserves (RESEX): Seringal Boa Vista (10°18'57.88''S; 68°43'19.83''W) in the Chico Mendes Extractive Reserve, and Cuidado (9°09'12"S 69°02'01"W), in the

Cazumbá-Iracema Extractive Reserve. These communities are located in the municipalities of Xapuri and Sena Madureira, respectively. Xapuri and Sena Madureira are situated 188 km and 145 km from the state capital, Rio Branco.

The residents of extractive reserves live in the Amazon rainforest. Similar to other rural counties located in Acre^{18,19}, Xapuri and Sena Madureira have poor environmental indicators. The dwellings are exclusively wooden, lacking appropriate sanitation. Residents practice open defecation on the ground near their homes. In addition, residents have no access to clean water, which is supplied directly from a well, called “vertente”, located a few meters from their houses¹⁹.

Study participants and laboratory procedures

During home visits in Seringal Boa Vista and Cuidado, after explaining the aims of the study to residents, a single stool sample was obtained in an empty plastic container provided for this purpose. Upon receipt, each fecal sample was fixed with 10% formalin as soon as possible. Stool samples were examined microscopically for the presence of eggs, larvae and protozoan cysts, using spontaneous sedimentation²⁰ and centrifugal sedimentation²¹. Fresh unpreserved stool samples were examined by the Kato-Katz thick-smear technique²², using the commercial Helm Test® (Bio-Manguinhos/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil), according to the manufacturer's specifications. Each stool sample was used to prepare a microscope slide and examined with an Eclipse E-200 optical microscope (Nikon, Japan) equipped with a Nikon DS-Fi1 digital camera (Nikon, China) and processed with the NIS-Elements AR 3.0 image analysis software (Nikon, USA).

A structured questionnaire was administered in person to collect data from participants, with questions regarding demographics (place of birth, gender, age, educational status, monthly household income), social and family aspects (marital status, number of children, dog ownership, hunting activity, meat eating habits, household sanitation conditions and source of drinking water).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using GraphPad InStat (GraphPad Inc. Versão 3.01, USA). Associations between the positivity of each parasite and the variables age, gender,

monoparasitism and polyparasitism were investigated using Fisher's exact test. Statistical significance was set at $P < 0.05$. P value < 0.01 was considered highly significant.

RESULTS

As shown in Table 2, there was rough equality between the sexes (males 53.3% and females 46.7%). The prevalence of monoparasitism (71.77%) compared to polyparasitism (28.23%) was extremely significant ($P < 0.0001$), while no significant difference according to gender was found ($P = 0.2751$). When considering parasites transmitted via the fecal-oral route, *Endolimax nana* (13%) showed the highest positivity rate. The prevalence of *Blastocystis* sp. was 6.9% (19/276), with greater positivity in adults, but no statistical difference was found when compared to children ($P = 0.4270$). The prevalence of *G. duodenalis* cysts was only 1.1% (3/276).

Calodium hepaticum eggs were found in three of 276 (1.1%) stool samples (Table 2). Eggs were characteristically thick-shelled, oval-shaped, and non-protruding with bipolar plugs, yellowish-brown in color with striated shells (Figure 1). The size was $64.0 \pm 2.9 \mu\text{m}$ (length) and $37.5 \pm 1.8 \mu\text{m}$ (width).

Table 2 – Prevalence of intestinal parasites according to age groups and gender in forest reserve dwellers from Acre State, Brazil

	Age group (years)				Gender		Total (%)
	1-5	6-14	15-55	> 55	Male	Female	
N (%)	24 (8.7)	54 (19.6)	176 (63.8)	22 (7.9)	147 (53.3)	129 (46.7)	276 (100.0)
Neg	18 (75.0)	31 (57.4)	90 (51.1)	13 (59.0)	76 (51.7)	76 (58.9)	152 (55.1)
Pos	6 (25.0)	23 (42.6)	86 (48.9)	9 (41.0)	71 (48.3)	53 (41.1)	124 (44.9)
En	1 (4.2)	8 (14.8)	26 (14.8)	1 (4.5)	18 (12.2)	18 (14.0)	36 (13.0)
Ec	2 (8.3)	4 (7.4)	22 (12.5)	2 (9.1)	13 (8.8)	17 (13.2)	30 (10.9)
Ib	1 (4.2)	2 (3.7)	15 (8.5)	2 (9.1)	9 (6.1)	11 (8.5)	20 (7.2)
Blast	2 (8.3)	2 (3.7)	14 (8.0)	1 (4.5)	9 (6.1)	10 (7.8)	19 (6.9)
Gd	0 (0.0)	2 (3.7)	1 (0.6)	0 (0.0)	2 (1.4)	1 (0.8)	3 (1.1)
Hook	2 (8.3)	5 (9.3)	40 (22.7)	6 (27.3)	40 (27.2)	13 (10.1)	53 (19.2)
Al	0 (0.0)	2 (3.7)	4 (2.3)	1 (4.5)	5 (3.4)	2 (1.6)	7 (2.5)
Ch	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.7)	0 (0.0)	1 (0.7)	2 (1.6)	3 (1.1)
Ss	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.1)	0 (0.0)	2 (1.4)	0 (0.0)	2 (0.7)
Tt	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.1)	0 (0.0)	1 (0.7)	1 (0.8)	2 (0.7)

Legend: Neg = negative samples; Pos = positive samples; En = *Endolimax nana*; Ec = *Entamoeba coli*; Ib =

Iodamoeba butschlii; Blast = *Blastocystis* sp.; Gd = *Giardia duodenalis*; Hook = hookworm; Al = *Ascaris lumbricoides*; Ch = *Calodium hepaticum*; Ss = *Strongyloides stercoralis*; Tt = *Trichuris trichiura*.

Nota: esta tabela está denominada como “Table 2” devido a manutenção das informações da versão final do artigo na Revista, porém, está sendo referenciada na lista de tabelas como Tabela 4.

Figure 1 – Eggs of *Calodium hepaticum* in fecal sediment obtained through the centrifugation–sedimentation method²¹



Nota: esta figura está denominada como “Figura 1” devido a manutenção das informações da versão final do artigo na Revista, porém, está sendo referenciada na lista de figuras como Figura 18.

The most common STH was hookworm (53/276, 19.2%). The age distribution showed low prevalence in children aged 1-14 years, an increase in the 15-55 year age group (40/276, 22.7%, $P=0.0096$), and reduction (6/276, 3.4%) in the oldest age group (>55 years).

As shown in Table 2, *A. lumbricoides* (7/276, 2.5%), *T. trichiura* (2/276, 0.7%) and *S. stercoralis* (2/276, 0.7%) were the least frequent STHs observed.

DISCUSSION

Consistent with previous studies in the Western Amazon^{5,19,27-29}, our parasitological findings revealed that the studied population is exposed to intestinal parasites (protozoa and STHs). This is not surprising given that forest reserve dwellers have no sanitary facilities and practice open defecation near their homes and have no access to clean water. Polyparasitism was observed less than monoparasitism. Similar findings were reported in other communities

in Acre, including Assis Brasil and Acrelândia^{18,19}, as well as riverside settlements in the Southern Pantanal (Midwest macro region)²³.

When considering protozoa transmitted via the fecal-oral route, *E. nana* showed higher positive rate, in accordance with previous studies^{18,19}. On the other hand, only three stool samples (1.1%) contained *G. duodenalis* cysts, in contrast to the high prevalence (19.6%) among residents from Acrelândia municipality (Acre)¹⁹. Given that *G. duodenalis* excretion can be sporadic in fecal samples, it can be missed if only one sample is examined. In order to overcome this limitation, examination of multiple fecal samples has been proposed, which reduces the number of false-negative results³⁰. However, this can cause logistical problems for sample collection during fieldwork in rural communities with difficult access, such as Seringal Boa Vista (Xapuri municipality) and Cuidado (Sena Madureira municipality).

Blastocystis sp. is one of the most common enteric protists, reported in both humans and a wide range of animals of several taxa worldwide^{31,32}. However, information regarding its distribution in the Brazilian Amazon is limited. There is substantial heterogeneity between data from Brazilian indigenous populations, ranging from 57.8% in Oriximiná (Pará State)³³ to 20.0% in Confresa (Mato Grosso State)³⁴. In Amazonas State, individuals living in rural areas such as Santa Isabel do Rio Negro show higher prevalence (10.2%)³⁵ compared to that (0.7%) of urban residents in the Amazonas capital, Manaus²⁷. To the best of our knowledge, this is the first report of *Blastocystis* sp. in Acre. Forest dwellers have three risk factors for acquiring *Blastocystis* sp. infection. First, they live in poor social and environmental conditions that facilitate the transmission of parasites via the fecal-oral route¹⁹. Second, *Blastocystis* sp. is capable of infecting a broad host range, including pets, synanthropic and wild animals³². Local residents have close contact with all these animals. Third, they feed on game meat, a known method of *Blastocystis* sp. transmission³⁴.

Out of 138 cases of spurious infection reported in the literature⁷, 93 were in Brazil, suggesting that *C. hepaticum* can be categorized as a foodborne parasite in the country. We found that *C. hepaticum* eggs were released by a 45-year-old woman from Xapuri and a 27-year-old woman and her 12-year-old son from Sena Madureira, all of them riverine residents (Caeté River). We next investigated a possible source of infection. Wild game meat is a major protein source of forest-dwelling populations¹⁵. During hunting activity, men stay in the forest for 1-2 days, where larger animals, such as red brocket deer (*Mazama americana* Erxleben, 1777), lowland tapir (*Tapirus terrestris* Linnaeus, 1758) and collared peccary (*Pecari tajacu* L., 1758) are eviscerated on the spot, while smaller animals are eviscerated only after returning home.

This eating behavior can pose a threat to the human population. Previous studies have reported that individuals develop *C. hepaticum* spurious infection by consuming raw or undercooked livers from wild hosts both in Amazonian and Southern Brazilian communities^{4-6,13,14}. In the present study, all the families reported eating white-lipped peccary, capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) and lowland paca. Although *C. hepaticum* infects white-lipped peccary in the Brazilian Amazon^{5,6,13}, this finding has never been reported in Acre. Although capybaras can serve as hosts of *Capillaria hydrochoeri* Travassos, 1916, adult worms are gastrointestinal parasites and eggs released with host feces show distinct morphometric traits in comparison with *C. hepaticum*²⁵. Although *C. hepaticum* eggs show morphometric differences according to different microenvironments (liver from different hosts or feces)^{4,5,14,24}, we confirmed this species identification based on the morphological and morphometric determination of 100 eggs^{5,7}. In Acre, it seems more likely that people get infected by eating paca meat, which is prized for its flavor²⁶. Moreover, a traditional local recipe is prepared from undercooked livers, suggesting that this cultural dietary habit can be the source of *C. hepaticum* infection of local residents. This result is consistent with our previous publication, which for the first time revealed *C. hepaticum* in liver tissue of a paca trapped in the municipality of Bujari (Acre)¹⁶.

Over the last decade, few studies have identified the prevalence of STHs in Brazil's North region. In this study, the most common STH was hookworm, confirming previous findings in Acrelândia¹⁹. Regarding their distribution according to age and gender, children aged 1-14 years showed lower prevalence than participants aged 15-55 years (40/276, 22.7%, $P=0.0096$). Given that hookworms are skin-invading nematodes, it is likely that children are predisposed to hookworm infection due to barefoot behavior³⁶. Our results for the 15-55 age group showed that males had a roughly three-fold higher risk (27.2%) than females (10.1%, $P=0.0013$) for hookworm infection. It is likely that men are more exposed to hookworm infection due to the traditional labor division, where they have agricultural, cattle raising and hunting activities, while women play mainly domestic roles³⁷. Obviously, barefoot behavior cannot be excluded among women.

Studies from various municipalities in Amazonas State have demonstrated high prevalence rates of *A. lumbricoides* and *T. trichiura*^{27,28}. As shown in Table 2, both STHs showed low prevalence: 2.5% of *A. lumbricoides* and 0.7% of *T. trichiura*. This finding is similar to data from Acrelândia¹³. On the hand, a recent nationwide population-based sample of school-aged children (7–17 years) showed higher prevalence (19.14%) of *A. lumbricoides*

than other geohelminths³⁸. Moreover, this went against the expectation that *A. lumbricoides* is the most prevalent STH in Acre³⁸.

There is little consensus about the prevalence rates of *S. stercoralis* in Latin America³⁹. In the Brazilian Amazon, it ranges between 5.6% (Santa Isabel do Rio Negro, Amazonas State)³⁵ and 2.6% (Acrelândia)¹⁸. In our survey, only 2 of 276 stool samples (0.7%) were positive for *S. stercoralis*. It is likely that both the spontaneous sedimentation and centrifugal sedimentation techniques are insensitive for detecting *S. stercoralis* in stool samples. There is also intermittent and scanty excretion of larvae in stool specimens⁴⁰. In order to overcome these limitations in fieldwork, the use of more appropriate methods, such as Baermann-Moraes and examination of consecutive samples, has been suggested^{34,40}.

Limitations and Perspectives

Our study had limitations. As previously noted, both *G. duodenalis* and *S. stercoralis* show day-to-day variability in excretion of cysts and larvae, which could have influenced our results. Examination of multiple fecal samples with or without preservative solution could overcome this limitation. However, this procedure has drawbacks in remote rural communities. For instance, many places lack rural electrification or even fuel-powered electric generators, preventing employment of refrigerators for preserving fecal samples. Moreover, many people live in dwellings located along unpaved roads within the forest, making travel to laboratories for parasitological examination difficult. Indeed, road access can be completely blocked during the rainy season (December to May). It is clear that further research will be necessary to gain insight into the possible role of humans, animals or both in *G. duodenalis* and *Blastocystis* sp. transmission in Acre.

CONCLUSION

Our findings, for the first time, provide evidence that *C. hepaticum* is a spurious parasite in Acre. The forest reserve dwellers surveyed probably become infected by consuming undercooked liver of pacas. Their precarious sanitary conditions likely explain the finding of soil-transmitted helminths and intestinal protozoa. Hookworm eggs were the most common finding in the stool samples. Finally, the presence of *Blastocystis* sp. in Acre is reported here for the first time.

REFERENCES

1. Fuehrer HP. An overview on the host spectrum and distribution of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*): part 1- Muroidea. Parasitol Res. 2014;113:619-40.
2. Ochi A, Hifumi T, Ueno T, Katayama Y. *Capillaria hepatica* (*Calodium hepaticum*) infection in a horse: a case report. BMC Vet Res. 2017;13:384.
3. Galán-Puchades MT, Sanxis-Furió J, Pascual J, Bueno-Marí R, Franco S, Peracho V, et al.. First survey on zoonotic helminthosis in urban brown rats (*Rattus norvegicus*) in Spain and associated public health considerations. Vet Parasitol. 2018;259:49-52.
4. Carvalho-Costa FA, Silva AG, Souza AH, Moreira CJ, Souza DL, Valverde JG, et al. Pseudoparasitism by *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*; *Hepaticola hepatica*) in the Negro River, Brazilian Amazon. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009;103:1071-3.
5. Soares MC, Nunes HM, Silveira FA, Alves MM, Souza AJ. *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) (Nematoda) entre populações indígenas e mamíferos silvestres no noroeste do Estado do Mato Grosso, Brasil, 2000. Rev Panamazonica Saude. 2011;2:35-40.
6. Gonçalves AQ, Ascaso C, Santos I, Serra PT, Julião GR, Orlandi PP. *Calodium hepaticum*: household clustering transmission and the finding of a source of human spurious infection in a community of the Amazon region. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6:1-6.
7. Fuehrer HP, Igel P, Auer H. *Capillaria hepatica* in man-an overview of hepatic capillariosis and spurious infections. Parasitol Res. 2011;109:969-79.
8. Coimbra Jr. CE, Mello DA. Enteroparasitas e *Capillaria* sp. entre o grupo Suruí, Parque Indígena de Aripuanã, Rondônia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1981;76:299-302.
9. Santos RV, Coimbra Jr CE, Ott AM. Estudos epidemiológicos entre grupos indígenas de Rondônia. III. Parasitoses intestinais nas populações dos vales dos rios Guaporé e Mamoré. Cad Saúde Pública. 1985;1:467-77.
10. Santos RV, Coimbra Jr CE, Flowers NM, Silva JP. Intestinal parasitism in the Xavante Indians, Central Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1995;37:145-8.
11. Machado ER, Santos DS, Costa-Cruz JM. Enteroparasites and commensals among children in four peripheral districts of Uberlândia, state of Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41:581-5.
12. Palhano-Silva CS, Araújo AJ, Lourenço AE, Bastos ON, Santos RV, Coimbra Jr CE. Intestinal parasitic infection in the Suruí Indians, Brazilian Amazon. Interciencia. 2009;34:259-264.
13. Camargo LM, Camargo JS, Vera LJ, Barreto PD, Tourinho EK, Souza MM. Capillariasis (Trichurida, Trichinellidae, *Capillaria hepatica*) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission. Parasit Vectors. 2010;3:1-6.

14. Klisiowicz DR, Reifur L, Shimada MK, Haidamak J, Cognialli RC, Ferreira T. High occurrence of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*) spurious infection in a village in the Atlantic Forest of southern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014;109:371-3.
15. Valsecchi J, El Bizri HR, Figueira, JE. Subsistence hunting of *Cuniculus paca* in the middle of the Solimões River, Amazonas, Brazil. Braz J Biol. 2014;74:560-8.
16. Almeida F, Caldas R, Corrêa C, Rodrigues-Silva R, Siqueira N, Machado-Silva JR. Co-infections of the cestode *Echinococcus vogeli* and the nematode *Calodium hepaticum* in the hystricomorphic rodent *Agouti paca* from a forest reserve in Acre, Brazil. J Helminthol. 2013;87:489-93.
17. World Health Organization. Soil-transmitted helminth infections. Geneva: WHO; 2020. [cited 2021 jan 15]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>
18. Muniz PT, Castro TG, Araújo TS, Nunes NB, Silva-Nunes MD, Hoffmann EH, et al. Child health and nutrition in the Western Brazilian Amazon: population-based surveys in two counties in Acre State. Cadernos de Saúde Pública. 2007;23:1283-93.
19. Souza EA, Silva-Nunes M, Malafronte RS, Muniz PT, Cardoso MA, Ferreira UM. Prevalence and spatial distribution of intestinal parasitic infections in a rural Amazonian settlement, Acre State, Brazil. Cad. Saúde Pública. 2007;23:427-34.
20. Hoffmann, W.A.; Pons, J.A.; Janer, J.L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis, Puerto Rico. J. Public Health. 1934;9:283-98.
21. Blagg W; Schloegel EL; Mansur NS; kholaf GL. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. Am J Trop Med Hyg. 1955;4:23-8.
22. Katz N; Chaves A; Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. Rev. Inst. Med. trop. 1972;14:397-400.
23. da Silva PV, Maciel LS, Castro LS, Murat PG, Higa Junior MG, Zerlotti PH, et al. Enteroparasites in Riverside Settlements in the Pantanal Wetlands Ecosystem. J Parasitol Res. 2018;2018:1-5.
24. Borba VH, Machado-Silva JR, Le Bailly M, Iñiguez AM. Worldwide paleodistribution of capillariid parasites: Paleoparasitology, current status of phylogeny and taxonomic perspectives. PLoS One 2019;14:1-19.
25. Sinkoc AL, Brum FA, Muller G, Brum JG. Helmintos parasitos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766) na região de Araçatuba, São Paulo, Brasil. Arq. Inst. Biol. 2004; 71:329-33.
26. Deutsch LA.; Puglia, LR. Os animais silvestres – Proteção, doenças e manejo. 2nd ed. Globo, 1990.

27. Visser S, Giatti LL, de Carvalho RA, Guerreiro JC. Study of the association between socio-environmental factors and the prevalence of intestinal parasitosis in the suburbs of the city of Manaus in the State of Amazonas, Brazil. *Cien Saude Colet*. 2011;16:3481-92.
28. Gonçalves AQ, Junqueira AC, Abellana R, Barrio PC, Terrazas WC, Sodré FC, et al. Prevalence of intestinal parasites and risk factors for specific and multiple helminth infections in a remote city of the Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;49:119-24.
29. Marques RC, Bernardi JV, Dorea CC, Dórea JG. Intestinal Parasites, Anemia and Nutritional Status in Young Children from Transitioning Western Amazon. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17:577.
30. Uchôa FF, Sudré AP, Campos SD, Almosny NR. Assessment of the diagnostic performance of four methods for the detection of *Giardia duodenalis* in fecal samples from human, canine and feline carriers. *J Microbiol Methods*. 2018;145:73-8.
31. Skotarczak B. Genetic diversity and pathogenicity of *Blastocystis*. *Ann Agric Environ Med*. 2018;25:411-16.
32. Zanetti AD, Malheiros AF, de Matos TA, Longhi FG, Moreira LM, Silva SL, et al. Prevalence of *Blastocystis* sp. infection in several hosts in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors*. 2020;13:1-15.
33. Borges JD, Alarcón RS, Amato NV, Gakiya E. Parasitoses intestinais de indígenas da comunidade Mapuera (Oriximiná, Estado do Pará, Brasil): elevada prevalência de *Blastocystis hominis* e encontro de *Cryptosporidium* sp e *Cyclospora cayetanensis*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42:348-50.
34. Malheiros AF, Stensvold CR, Clark CG, Braga GB, Shaw JJ. Short report: Molecular characterization of *Blastocystis* obtained from members of the indigenous Tapirapé ethnic group from the Brazilian Amazon region, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;85:1050-3.
35. Valverde JG, Gomes-Silva A, de Carvalho Moreira CJ, Leles de Souza D, Jaeger LH, Martins PP, et al. Prevalence and epidemiology of intestinal parasitism, as revealed by three distinct techniques in an endemic area in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;105:413-24.
36. Haldeman MS, Nolan MS, Ng'habi KR. Human hookworm infection: Is effective control possible? A review of hookworm control efforts and future directions. *Acta Trop*. 2020;201:105214.
37. Sardenberg C, Costa AA, Passos E. Rural development in Brazil: are we practising feminism or gender? *Gend Dev*. 1999;7:28-38.
38. Katz N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthoses. Belo Horizonte: CPqRR, 2018;76.
39. Buonfrate D, Mena MA, Angheben A, Requena-Mendez A, Muñoz J, Gobbi F, et al. Prevalence of strongyloidiasis in Latin America: a systematic review of the literature. *Epidemiol Infect*. 2015;143:452-60.

40. Nutman TB. Human infection with *Strongyloides stercoralis* and other related *Strongyloides* species. *Parasitol.* 2017;144:263-73.

3.1.1 Visitas domiciliares e orientação

Foram realizadas visitas domiciliares para entrega dos resultados e reforço na orientação dos participantes sobre as formas de transmissão e prevenção das enteroparasitoses. Essa orientação também incluiu professores da educação básica que residem e trabalham na floresta para que eles auxiliem a população na prevenção de helmintoses, uma vez que eles são propagadores de informação local. As orientações foram realizadas por meio da convocação dos profissionais na sede da Secretaria Municipal de Educação de Xapuri, no Instituto Federal do Acre e na Secretaria Municipal de Educação de Sena Madureira (Figura 19).

Os indivíduos com resultados negativos foram informados quanto a estes resultados. Já os participantes que tiveram exames positivos, receberam assistência médica. Conforme acordado com a gestão pública local, os medicamentos foram doados pela Secretaria de Saúde do Município de Sena Madureira.

Figura 19 – Imagens representativas do trabalho de campo nas expedições ao Acre entre 2017 e 2019 com relação ao desenvolvimento de palestras com profissionais da educação sobre a prevenção da equinococose e de outras helmintoses



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Legenda: (A e B) capacitação com professores e pedagogos de escolas rurais do Município de Xapuri, Acre – 2017 e 2018, respectivamente; (C) palestra aberta à comunidade escolar do Instituto Federal do Acre - Município de Xapuri, Acre - 2018; (D) capacitação com professores e pedagogos de escolas rurais da Secretaria Municipal de Sena Madureira, Acre – 2019.

3.2 Capítulo II

Esta segunda parte refere-se aos resultados e discussão atrelados aos objetivos específicos de caracterização molecular e análises filogenéticas realizadas em isolados de *E. vogeli* oriundos de pacas de reservas florestais do Estado do Acre. Sendo assim:

As populações residentes em reservas florestais do Estado do Acre praticam a caça para subsistência (Souza et al., 2021) e, nessa região, o animal terrestre de maior preferência é a paca (Valsecchi et al., 2014). Tais informações corroboram com nossos dados, uma vez que, além de os moradores se alimentarem da carne desse roedor, ainda ofertam suas vísceras para cães domésticos (Meneghelli et al., 1990).

Das 28 amostras analisadas, 16 amostras que apresentaram lesões. Destas, 13 eram provenientes de Xapuri-AC e 03 de Sena Madureira-AC, todas com um mesmo perfil de lesões

caracterizadas por serem esféricas, semelhantes a bolhas translúcidas, compatíveis com infecção por *Echinococcus* sp. (Figura 20). As demais amostras não apresentaram alterações macroscópicas. Lesões semelhantes foram observadas em 2018, quando Bittencourt-Oliveira et al. relataram as mesmas características para um fígado de paca com *E. vogeli* proveniente do Estado do Mato Grosso do Sul.

Figura 20 – Imagens de fígados de pacas do Acre com cistos de *Echinococcus* sp.



Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Legenda: Fígados de paca com cistos (setas) compatíveis com infecção por *Echinococcus* sp.

Das 16 amostras positivas incluídas no estudo, 04 não apresentaram formas evolutivas de *Echinococcus* sp. no líquido extraído dos cistos. Esta característica já foi observada por D'Alessandro e Rausch (2008) que, ao analisarem cistos de *Echinococcus* sp., se depararam com metacestoides que não apresentavam formas evolutivas do parasito, importantes para o diagnóstico parasitológico no estudo em questão. Apesar de não chegarem a uma conclusão concreta sobre o ocorrido, os autores consideraram o metacestóide como uma possível forma atípica de *E. granulosus*. Ainda que não se tenha diagnosticado a espécie, a ausência de formas evolutivas do parasito no interior dos cistos, pode estar relacionada com a infertilidade destes cistos, sendo, portanto, incapazes de viabilizar a infecção em hospedeiros definitivos (Vuitton et al., 2020), perfil sugerido para essas 04 amostras do nosso estudo.

Todos os isolados de *E. vogeli* foram positivos na PCR para *cox1* e P-29. As sequências de nucleotídeos obtidas para *cox1* foram comparadas com outras sequências correspondentes disponíveis no *GenBank*, através da ferramenta BLAST, e demonstraram cerca de 99% de homologia com amostras de *E. vogeli* já depositadas. Com relação as sequências de P-29, foi observada uma homologia que variou de 95% a 97% com outras espécies do gênero

Echinococcus, uma vez que não se encontram sequências de *E. vogeli* depositadas no *GenBank* para o gene em questão.

São escassos os dados genéticos publicados sobre o *E. vogeli* e o presente estudo se une aos dois únicos trabalhos anteriores, também brasileiros, de Santos et al. (2012) e Daipert-Garcia et al. (2019), com as raras informações sobre as estruturas genéticas populacionais deste helminto. Nossos resultados se assemelham aos de ambos, sobretudo no que diz respeito à demonstração da pouca migração do *E. vogeli* no Acre, ainda que a nossa estratégia de amostragem tenha incluído uma área geográfica mais restrita. Até essa nova constatação da presença de haplótipos compartilhados entre diferentes populações, parece refletir mais uma vez a ocorrência da retenção de polimorfismos ancestrais na dinâmica populacional de *E. vogeli* na Amazônia, não obstante a consciência para a necessidade de melhorias nas estratégias de amostragem que possam, cada vez mais, contribuir para inferências nesse sentido. Novas incursões que possibilitem aumentar o quantitativo de amostras e a amplitude geográfica de coletas, atreladas aos desafios do encontro do *E. vogeli* em animais silvestres, levando em consideração as dificuldades de acesso e condições sanitárias adversas dos locais de coleta, são necessárias para melhor compreensão do cenário populacional do helminto.

Os poucos estudos que avaliaram a variabilidade genética de *E. vogeli*, evidenciaram a necessidade de uma amostragem mais intensiva, que poderia revelar uma estrutura genética e/ou geográfica mais profunda, uma vez que nenhuma diferenciação genética tem sido encontrada entre isolados coletados de humanos e animais silvestres (Santos et al., 2012; Daipert-Garcia et al., 2019), assim como já reportado para *E. granulosus* (Lymbery, 2017). Essa necessidade é reforçada, uma vez que a variabilidade genética intraespecífica se relaciona com fatores como, especificidade de hospedeiro, tempo de desenvolvimento, dinâmica da transmissão, sensibilidade à quimioterapia e capacidade de desenvolver doença (Thompson, 2017).

Todas as novas sequências nucleotídicas *cox1* geradas a partir deste estudo foram submetidas ao *GenBank*-NCBI (Anexo E). Os alinhamentos das sequências *cox1* e P-29 de *E. vogeli* geradas com outras sequências de *Echinococcus* sp. disponíveis no *GenBank* estão disponibilizados para consulta nas Figuras 21 e 22.

Figura 21 – Alinhamento das sequências *cox1* parciais de *Echinococcus vogeli* geradas com outras sequências de *Echinococcus* sp. disponíveis no *GenBank*

OK157437 <i>E. vogeli</i> X	0	G	T	T	T	A	T	G	T	G	T	T	A	A	T	T	T	G	C	T	G	G	G	T	T	T	G	G	T	A	T	A	A	T	T	A	G	T	C	A	T	A	T	A	T	G	T	T	G	100		
OK157436 <i>E. vogeli</i> SM	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
OK157435 <i>E. vogeli</i> SM	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969825 <i>E. vogeli</i> SM	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969824 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969823 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969822 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969821 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969820 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969819 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969818 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969817 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969816 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969815 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969814 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969813 <i>E. vogeli</i> X	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100

OK157437 <i>E. vogeli</i> X	51	G	A	G	G	G	T	T	A	G	T	G	C	T	A	A	T	T	T	G	G	A	T	G	T	G	T	T	T	G	G	T	T	T	T	A	T	G	G	G	T	T	A	T	T	G	T	T	T	G	100	
OK157436 <i>E. vogeli</i> SM	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
OK157435 <i>E. vogeli</i> SM	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969825 <i>E. vogeli</i> SM	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969824 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969823 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969822 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969821 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969820 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969819 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969818 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969817 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	100
MZ969816 <i>E. vogeli</i> X	51	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.</		

Figura 22 – Alinhamento das sequências P-29 parciais de *Echinococcus vogeli* geradas com outras sequências de *Echinococcus* sp. disponíveis no *GenBank*

[illegible][illegible][illegible]

Seq1 07X LRNH E.vogeli	151	T	T	C	A	T	T	T	T	T	G	C	T	G	T	G	C	C	A	T	C	C	T	T	T	T	T	-	T	A	T	C	G	G	T	T	T	A	G	C	T	A	A	A	A	T	G	C	200
Seq2 08X LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200
Seq3 20X LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq4 A17 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq5 F17 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq6 G17 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq7 J17 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq8 L17 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq9 M17 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq10 A18 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq11 B19 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq12 C19 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq13 G19 LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq14 A19-SM LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq15 A19-X LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq16 B19-SM LRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	
Seq17 01 MS SRNH E.vogeli	151	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	200	

Seq1 07X LRNH E.vogeli	201	T	G	A	C	G	G	A	A	G	C	T	T	C	T	G	A	T	G	218
Seq2 08X LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq3 20X LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq4 A17 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq5 F17 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq6 G17 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq7 J17 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq8 L17 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq9 M17 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq10 A18 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq11 B19 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq12 C19 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq13 G19 LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq14 A19-SM LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq15 A19-X LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq16 B19-SM LRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218
Seq17 01 MS SRNH E.vogeli	201	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	218

Fonte: Laboratório de Referência Nacional em Hiatidose (LRNH-IOC/Fiocruz-RJ).

Nota: Todas as sequências P-29 do estudo estão representadas por LRNH *E. vogeli* variando entre “Seq 1-17”.

As sequências Seq13, Seq14 e Seq16 são referentes ao município de Sena Madureira e as demais, de Xapuri.

A árvore filogenética construída a partir das sequências de *cox1* corroborou a identificação da espécie *E. vogeli* (Figura 23). Todas as sequências geradas no presente estudo formaram um clado monofilético bem suportado com outras sequências de *E. vogeli* disponíveis no *Genbank* (MK791154 a MK791185; KX527916; JX315616; AB20854; NC009462), exceto com a KX257618, sequência proveniente do cerrado brasileiro, mais precisamente do município de Corguinho, Mato Grosso do Sul (Bittencourt-Oliveira et al., 2018).

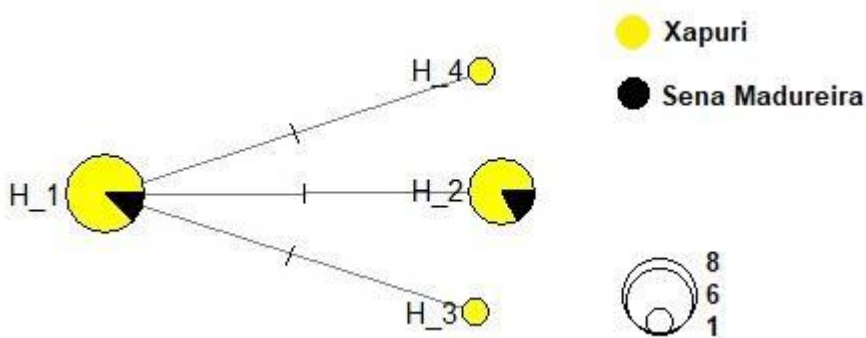
Santos et al. (2012) relacionaram a distância territorial das populações de *E. vogeli* oriundas das Amazônia Oriental (leste) e Ocidental (oeste), como o possível fator responsável pela diversidade genética encontrada entre elas. Levando em consideração que nossa área de estudo se distancia cerca de 1700 a 1900 km do município de Corguinho em Mato Grosso do Sul, local de origem da sequência KX257618, e que ela se trata de *E. vogeli* oriundo de outro bioma, essa separação é plausível, dentro do contexto de informações genéticas intraespecíficas disponíveis para este helminto.

Apesar de Santos et al. (2012) e Daipert-Garcia et al. (2019) fundamentarem seus dados genéticos de posse de um maior número e/ou de uma maior divergência populacional de *E. vogeli* oriunda, inclusive, de diferentes hospedeiros e de localidades amazônicas distintas, nossas amostras demonstraram similaridade genética com todas as sequências de *E. vogeli* disponíveis no *Genbank* relacionadas à Amazônia brasileira, sobretudo com as do próprio Acre anteriormente depositadas: a de um cão doméstico infectado do município de Sena Madureira (acesso: KX527916) (Neves et al., 2017) e as de 32 humanos pós-cirurgia (acessos: MK791154 a MK791185) oriundos de diferentes municípios do Acre (Bujari, Capixaba, Cruzeiro do Sul, Feijó, Manoel Urbano, Rio Branco, Sena Madureira e Xapuri) (Daipert-Garcia et al., 2019).

Embora regiões da Floresta Amazônica do Brasil sejam consideradas endêmicas para a ENP, poucos são os estudos realizados envolvendo o helminto *E. vogeli* em seus hospedeiros naturais, sejam definitivos ou intermediários (Meneghelli et al., 1990; Santos et al., 2012; Almeida et al., 2013). No estado do Acre, incluindo as nossas regiões de estudo, estão presentes os fatores epidemiológicos que caracterizam a endemicidade da doença, tais como: presença do cachorro vinagre (D'Alessandro e Rausch, 2008; Souza, 2021), cães domésticos infectados (Neves et al., 2017) e pacas infectadas (Meneghelli et al., 1990; Almeida et al., 2013; Bittencourt-Oliveira, 2016), indivíduos com histórico de caça para subsistência (Souza et al., 2021) e hábito da alimentação de cães domésticos com vísceras cruas de pacas (Meneghelli et al., 1986; Siqueira et al., 2007; Siqueira et al., 2013; Neves et al., 2017; Souza, 2021), além da ocorrência anterior de casos clínicos humanos confirmados de ENP (Daipert-Garcia et al., 2019; Souza, 2021) e/ou indivíduos com sorologia positiva residentes em áreas urbanas e rurais (Pastore et al., 2003a,b; Pereira, 2014; Souza, 2021).

A divergência molecular entre as sequências de *E. vogeli* variou entre zero e 0,55%, sendo considerada baixa, como o esperado para comparações intraespecíficas. Esses resultados corroboram com os de Daipert-Garcia et al. (2019), embora tenham encontrado variação entre zero e 0,80% para populações de *E. vogeli*, que abrangiam, inclusive, nossa área geográfica. A análise revelou três sítios de segregação contendo quatro haplótipos, sendo um central (H1) e dois (H1 e H2) compartilhados entre as duas localidades do estudo (Figura 24), evidenciando o fluxo gênico na região provavelmente decorrente da proximidade entre elas. Nossos índices totais de diversidade haplotípica (H_D) e diversidade nucleotídica (π) foram $H_D=0,64167$ e $\pi=0,00187$ (Tabela 4), mais baixos que os obtidos nos estudos anteriores de Santos et al. (2012) ($H_D=N/A$; $\pi=0,0044$) e Daipert-Garcia et al. (2019) ($H_D=0,796$; $\pi=0,0037$) para sequências *cox1* de populações de *E. vogeli*.

Figura 24 – Rede de haplótipos de parcimônia para *Echinococcus vogeli* com base na análise de sequências *cox1* (401 bp)



Nota: A frequência de cada haplótipo é indicada pelo tamanho dos círculos e os eventos mutacionais são indicados por linhas transversais.

Tabela 4 – Índices de diversidade molecular baseados no *cox1* para as amostras de *Echinococcus vogeli* coletados em duas localidades do estado do Acre, Brasil

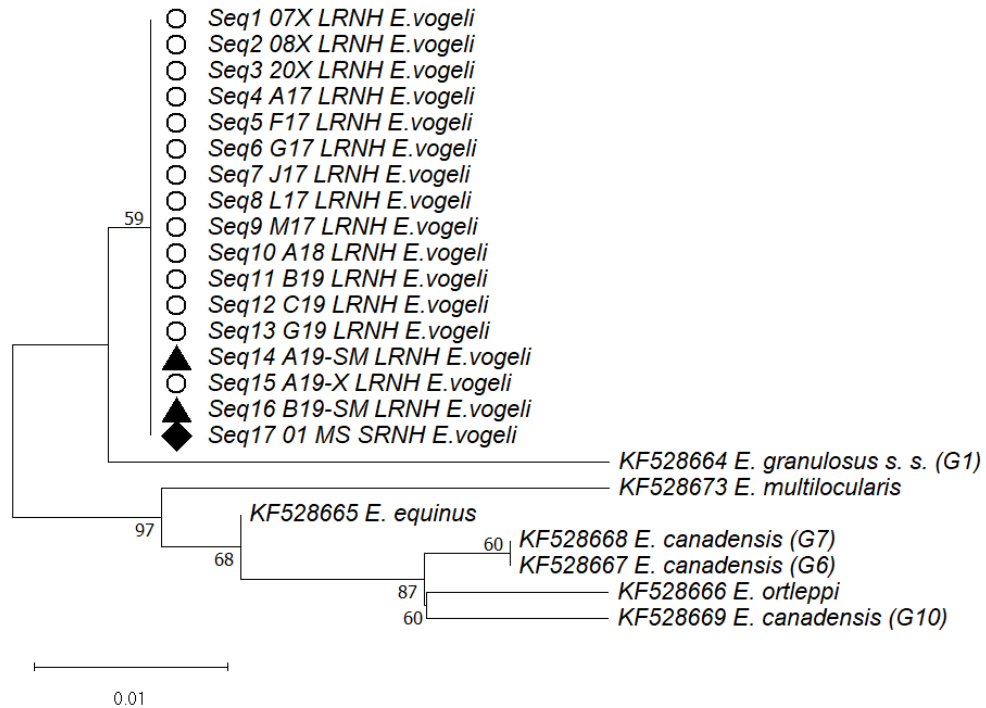
Localidade	N	S	NH	HD	π	Haplótipos
Sena Madureira	3	1	2	0,66667	0,00166	H1, H2
Xapuri	13	3	4	0,67949	0,00204	H1, H2, H3, H4
<i>E. vogeli</i> (total)	16	3	4	0,64167	0,64167	
Sequências H1	OK157437, OK157436* , OK157435* , MZ969823, MZ969818, MZ969817, MZ969814, MZ969813					
Sequências H2	MZ969825* , MZ969824, MZ969822, MZ969821, MZ969820, MZ969819					
Sequência H3	MZ969816					
Sequência H4	MZ969815					

Legenda: N: n° de sequências; S: n° de sítios de segregação; NH: n° de haplótipos; HD: diversidade haplotípica; π : diversidade nucleotídica; *Sequências de amostras provenientes de Sena Madureira.

As sequências parciais do gene P-29 geradas em todas as amostras do presente estudo não apresentaram diferenças nucleotídicas entre si, não havendo diversidade genética na região do gene analisada. A árvore filogenética construída a partir destas sequências de *E. vogeli* (Figura 25) demonstrou um clado monofilético bem suportado entre elas, dados genéticos escassos para este helminto, envolvendo este marcador, não disponibilizadas no *GenBank*, até o momento. Curiosamente, a sequência KF528664 de *E. granulosus* s.s. (G1) foi a espécie mais próxima no nosso clado monofilético, embora ela tenha se comportado mais divergente geneticamente das outras espécies do gênero que também compuseram a nossa árvore e a de Boubaker et al. (2014). Nossos resultados estão dentro do esperado no contexto de análises intraespecíficas de gene nucleares, uma vez que, ainda que não tivessem trabalhado com espécies neotropicais, baseando-se nos sequenciamentos completos do gene P-29 das espécies *E. granulosus* s.s. (G1), *E. equinus* (G4), *E. orteppi* (G5), *E. canadensis* (G6, G7 e G10) e *E. multilocularis*, Boubaker e colaboradores (2014) observaram escasso polimorfismo interespecíes, predominantemente no *E. granulosus* s.s. (G1). Oportunamente, nosso estudo também gerou a sequência nuclear para a amostra de *E. vogeli* (“Seq17-01.MS.SRNH-*E. vogeli*”) outrora publicada apenas com o sequenciamento de parte do gene mitocondrial *cox1* (KX257618), proveniente do cerrado (Bittencourt-Oliveira et al., 2018). Essa sequência nuclear também foi incluída na análise filogenética.

Echinococcus é um importante gênero de cestóides zoonóticos e, embora tenha sido revisado várias vezes, seu status taxonômico ainda é complexo. Os resultados derivados do DNA mitocondrial (mtDNA), a principal escolha para reconstrução filogenética do gênero, levaram a inconsistências significativas nas classificações anteriores das espécies com base nas análises fenotípicas (Saarma et al., 2009). Como fizemos no nosso estudo, Saarma et al. (2009) apontam que o mtDNA não deve ser usado como a única fonte de marcadores para inferir relações filogenéticas dentro do gênero *Echinococcus*, uma vez que os objetivos não devem ser restritos a uma reconstrução filogenética que reflita apenas linhagem materna, mas procurar descrever a história evolutiva em nível de espécie ou superior.

Figura 25 – Árvore filogenética gerada através do algoritmo Neighbor-Joining associado ao modelo de substituição de 2 parâmetros de Kimura baseada nas sequências de 219 pb de P-29 para amostras de *Echinococcus* obtidas no presente estudo e disponíveis no *Genbank*



Nota: A barra de escala representa uma distância de 0,01 substituições por sítio. Somente valores de *bootstrap* acima de 50 são mostrados. As amostras de Xapuri-AC estão marcadas com um círculo e as de Sena Madureira-AC, com um triângulo. A sequência gerada para amostra de Mato Grosso do Sul incluída no estudo, está marcada com losango.

CONCLUSÕES

- Este é apenas o terceiro estudo na literatura sobre a estrutura genética e a variabilidade das populações de *E. vogeli*, analisando, sobretudo, o marcador nuclear P-29;
- As sequências P-29 são conservadas para espécie *E. vogeli* podendo ser utilizada como alvo na identificação da espécie;
- Cox1 é um bom alvo para análise de similaridade genética em sequências de *E. vogeli*;
- A presença de geohelmintos e protozoários intestinais relaciona-se com as precárias condições sanitárias dos habitantes de Sena Madureira e Xapuri.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N., SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: Hidatidosis. 2. ed., *Org Pan Salud*: Washington, p. 734-754, 1989.
- ALMEIDA, F., CALDAS, R., CORRÊA, C., RODRIGUES-SILVA, R., SIQUEIRA, N., MACHADO-SILVA, J. R. Co-infections of the cestode *Echinococcus vogeli* and the nematode *Calodium hepaticum* in the hystricomorphic rodent *Agouti paca* from a forest reserve in Acre, Brazil. *J. Helminthol.*, v. 87, n. 4, p. 489-493, 2013.
- ALMEIDA, F., RODRIGUES-SILVA, R., NEVES, R. H., ROMANI, E. L., MACHADO-SILVA, J. R. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* in livestock from Peru. *Vet. Parasitol.*, v. 143, n. 1, p. 50-58, 2007.
- ALMEIDA, FERNANDA BARBOSA DE. *Hidatidose policística no norte do Brasil: abordagem parasitológica e histopatológica de pacas e casos humanos*. 2012. 135 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Curso de Pós-graduação em Microbiologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- ALMEIDA, F., OLIVEIRA, F., NEVES, R., SIQUEIRA, N., RODRIGUES-SILVA, R., DAIPERT-GARCIA, D., MACHADO-SILVA, J. R. Morphometric characteristics of the metacestode *Echinococcus vogeli* Rausch & Bernstein, 1972 in human infections from the northern region of Brazil. *J. Helminthol.*, v. 89, n. 4, p. 480-486, 2015.
- ALTRICHTER, M., ALMEIDA, R. Exploitation of white-lipped peccaries *Tayassu pecari* (Artiodactyla: Tayassuidae) on the Osa Peninsula, Costa Rica. *Oryx.*, v. 36, n. 2, p. 126-132, 2002.
- ALVAREZ-ROJAS, C. A., ROMIG, T., LIGHTOWLERS, M.W. *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans - review of current knowledge. *Int. J. Parasitol.*, v. 44, n. 1, p. 9-18, 2014.
- ANTONIOU, M., TSELENTIS, Y. Studies on *Echinococcus granulosus* using the scanning electron microscope. *Parasitol. Res.*, v. 79, n. 7, p. 537-542, 1993.
- ARRABAL, J. P., AVILA, H. G., RIVERO, M. R., CAMICIA, F., SALAS, M. M., COSTA, S. A., NOCERA, C. G., ROSENZVIT, M. C., KAMENETZKY, L. 2017. *Echinococcus oligarthrus* in the subtropical region of Argentina: first integration of morphological and molecular analyses determines two distinct populations. *Vet. Parasitol.*, v. 240, p. 60-67, 2017.
- AWASTHI, S., PANDE, V. K., FLETCHER, R. H. Effectiveness and cost-effectiveness of albendazole in improving nutritional status of pre-school children in urban slums. *Indian. Pediatr.*, v. 37, n. 1, p. 19-29, 2000.
- BENZIGER, C. P., ROTH, G. A., MORAN, A. E. The Global Burden of Disease Study and the Preventable Burden of NCD. *Glob Heart.*, v. 11, n. 4, p. 393-397, 2016.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, F., TEIXEIRA, P., ALENCAR, A., MENEZES, R., CORRÊA, C., NEVES, L. B., ALMEIDA, F. B., DAIPERT-GARCIA, D., MACHADO-SILVA, J. R., RODRIGUES-SILVA, R. First parasitological, histopathological and molecular

characterization of *Echinococcus vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 from *Cuniculus paca* Linnaeus, 1766 in the Cerrado biome (Mato Grosso do Sul, Brazil). *Vet. Parasitol.*, v. 250, p. 35-39, 2018.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, FERNANDA DE. *Alterações histopatológicas e identificação de helmintos por meio de análises parasitológicas e/ou moleculares em fígados de pacas (Cuniculus paca) oriundas do Acre e Mato Grosso do Sul, Brasil*. 2016. 101 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Saúde) – Curso de Pós-graduação em Biodiversidade e Saúde, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

BLAGG, W., SCHLOEGEL, E. L., MANSUR, N. S., KHOLAF, G. L. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 4, n. 1, p. 23-28, 1955.

BODMER, R. E., LOZANO, E. P. Rural development and sustainable wildlife use in Peru. *Conserv. Biol.* v. 15, n. 4, p. 1163–1170, 2001.

BOTELHO, ANDRE LUIS DE MOURA. *Caça de subsistência e os mamíferos da Resex do Alto Tarauacá, Acre*. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2013.

BOUBAKER, G., GOTTSTEIN, B., HEMPHILL, A., BABBA, H., SPILIOTIS, M. *Echinococcus* P-29 Antigen: Molecular Characterization and Implication on Post-Surgery Follow-Up of CE Patients Infected with Different Species of the *Echinococcus granulosus* Complex. *PLoS ONE.*, v. 9, n. 5, e98357, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098357>. Acesso em: 10 ago, 2021.

BOURÉE, P. Hydatidosis: dynamics of transmission. *World J. Surg.*, v. 25, n. 1, p. 4–9, 2001.

BOWLES, J., BLAIR, D., MCMANUS, D. P. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus*. *Parasitology*. v. 110, pt. 3, p. 317–328, 1995.

BOWLES, J., BLAIR D., MCMANUS, D. P. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial Sequencing. *Mol. Biochem. Parasitol.*, v. 54, n. 2, p. 165–173, 1992.

BOWLES, J., MCMANUS, D. P. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. *Mol. Biochem. Parasitol.*, v. 57, n. 2, p. 231–239, 1993.

BRAGA, C. B., DELFINO, B. M., MANTOVANI, S. A. S., CAMPOS, R. G., PINTO, W. J. Parasitoses intestinais e anemia em área de transmissão de malária: estudo de base populacional em Mâncio Lima, AC. In: *Anais da 66ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, Rio Branco. 2014.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelmintíases: Plano de Ação 2011-2015. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 100p.

BROOKER, S., HOTEZ, P. J., BUNDY, D. A. Hookworm-related anaemia among pregnant women: a systematic review. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, vol. 2, n. 9, e291, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000291>. Acesso em: 10 set 2021.

BUNDY, D. A. P., THOMPSON, D. E., COOPER, E. S., BLANCHARD, J. Rate of expulsion of *Trichuris trichiura* with multiple and single dose regimens of albendazole. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 79, n. 5, p. 641-644, 1985.

CABADA, M. M., LOPEZ, M., WHITE JR, A. C. *Capillaria hepatica* pseudoinfection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 89, p. 609, 2013.

CABRERA, A., YEPES, J., WIEDNER, C. C. *Mamíferos sudamericanos: Historia Natural* Ediar. Buenos Aires, Argentina: Compania Argentina de Editores, 1960, 377 p.

CAMARGO, L. M. A., CAMARGO, J. S. A. A., VERA, L. J. S., BARRETO, P. T. C., TOURINHO, E. K., SOUZA, M. M. Capillariais (Trichurida, Trichinellidae, *Capillaria hepatica*) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission. *Parasit. Vectors.*, v. 3, n. 11, 2010. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/3/1/11>. Acesso em: 12 set 2021.

CARDOSO, B. A., FONSECA, F. O., MORAES, A. H. A. NETO, MARTINS, A. C. G. S., OLIVEIRA, N. V. D. S., LIMA, L. N. G. C., DIAS, G. A. D. S., SAAD, M. H. F. Environmental aspects related to tuberculosis and intestinal parasites in a low-income community of the Brazilian Amazon. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.*, v. 7, n. 59, e57, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759057>. Acesso em: 25 set 2021.

CARVALHO-COSTA, F. A., SILVA, A. G., SOUZA, A. H., MOREIRA, C. J., SOUZA, D. L., VALVERDE, J. G. et al. Pseudoparasitism by *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*; *Hepaticola hepatica*) in the Negro River, Brazilian Amazon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 103, n. 10, p. 1071- 1073, 2009.

CASCIO, A., BOSILKOVSKI, M., RODRIGUEZ-MORALES, A. J., PAPPAS, G. The socio-ecology of zoonotic infections. *Clin. Microbiol. Infect.*, v. 17, n. 3, p. 336–342, 2011.

CENAMO, M. C., CARRERO, G. C., SOARES, P. G. Redução de Emissões do Desmatamento e Degradação Florestal (REDD+): Estudo de Oportunidades para o Sul do Amazonas. *IDESAM*. Manaus, v. 1, 2011. Disponível em: http://idesam.org.br/publicacao/REDD_Estudo_de_Oportunidades_Sul_Amazonas.pdf. Acesso em: 25 set 2021.

CHAPADEIRO, E., LOPES, E. R., DE MESQUITA, P. M. An Autochthonous Case of Human Echinococcosis in Minas Gerais, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.*, v. 6, n. 4, p. 171-173, 1964.

COIMBRA JR, C. E., MELLO, D. A. Enteroparasitas e *Capillaria* sp. entre o grupo Suruí, Parque Indígena de Aripuanã, Rondônia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, v. 76, n. 3, p. 299-302, 1981.

CONSTANTINO, P. A. L., FORTINI, L. B., SABINO, F. R., KAXINAWA, F. R. S. et al. Indigenous collaborative research for wildlife management in Amazonia: The case of the Kaxinawá, Acre, Brazil. *Biol. Cons.*, v. 141, n. 11, p. 2718-2729, 2008.

D'ALESSANDRO, A., RAUSCH, R. L. New aspects of neotropical polycystic (*E. vogeli*) and unicystic (*E. oligarthrus*). *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 21, n. 2, p. 380-401, 2008.

D'ALESSANDRO, A., RAUSCH, R. L., MORALES, G. A., COLLET, S., ANGEL, D. *Echinococcus* infections in Colombian animals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 30, n. 6, p. 1263–1276, 1981.

DAIPERT-GARCIA, D., PAVAN, M. G., NEVES, L. B., ALMEIDA, F. B., SIQUEIRA, N. G., SANTOS, G. B., DIAS-CORREIA, T. P., FERREIRA, H. B., RODRIGUES-SILVA, R. Genetic diversity of *Echinococcus vogeli* in the western Brazilian Amazon. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 114, e190149, 4p, 2019. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1590%2F0074-02760190149>. Acesso em: 05 nov 2019.

DAVOUST, B., BIASI, C., DEMONCHEAUX, J. P., DIATTA, G., PASQUALINI, C., PIARROUX, R. Capillariose hépatique (*Calodium hepaticum*) chez des rongeurs en Ituri (République démocratique du Congo) et à Dakar (Sénégal). *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 107, n. 1, p. 7-9, 2014.

DE LA RUE, M. L., TAKANO, K., BROCHADO, J. F., COSTA, C. V., SOARES, A. G., YAMANO, K., YAGI, K., KATO, Y., TAKAHASHI, K. Infection of humans and animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 strains) and *E. orteppi* in Southern Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 177, n. 1-2, p. 97–103, 2011.

DOBSON, A. P., CARPER, E. R. Infectious diseases and human population history. *Bioscience.*, v. 46, n. 2, p. 115–126, 1996.

ECKERT, J., DEPLAZES, P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 17, n. 1, p. 107–135. 2004.

ECKERT, J., THOMPSON, R. C. A. Historical aspects of echinococcosis. *Adv Parasitol.*, v. 95, p. 1-64. 2017.

EISENBERG, J. F., REDFORD, K. H. Order Rodentia. In: EISENBERG, J. F. *Mammals of the neotropics: the northern neotropics Panama, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana*. Chicago: University of Chicago; 1989. p. 395-7.

EMMONS, L. *Cuniculus paca*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T699A13068075.en>. Acesso em: 15 jul 2021.

EMMONS, L. H., FEER, F. *Mamíferos de los bosques húmedos de América Neotropical: Una guía de campo*. Santa Cruz de la Sierra: Editorial FAN. 1999.

FALAVIGNA, L. M., FREITAS, C. B. R., MELO, G. C., NISHI, L., ARAÚJO, S. M., FALAVIGNA-GUILHERME, A. L. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. *Parasitol. Latinoam.*, v. 60, n. 3-4, p. 144-149, 2005.

FERREIRA, M. S., NISHIOKA, S. A., ROCHA, A., D'ALESSANDRO, A. *Echinococcus vogeli* polycystic hydatid disease: report of two Brazilian cases outside the Amazon region. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 89, n. 3, p. 286-287, 1995.

FERREIRA, M. S., ROCHA, A., GONÇALVES, E. G., CARVALHO, A. M., NISHIOKA, A. S., ANDRADE, N. B. Um caso de hidatidose policística autóctone de Minas Gerais, Brasil: relato de caso. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 20, n. 3, p.181-186, 1987.

FUEHRER, H. P. An overview on the host spectrum and distribution of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*): part 1- Muroidea. *Parasitol. Res.*, v. 113, n. 2, p. 619-640. 2014.

GALÁN-PUCHADES, M. T., SANXIS-FURIÓ, J., PASCUAL, J., BUENO-MARÍ, R., FRANCO, S., PERACHO, V. et al. First survey on zoonotic helminthosis in urban brown rats (*Rattus norvegicus*) in Spain and associated public health considerations. *Vet. Parasitol.* v. 259, p. 49-52, 2018.

GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY (GBIF). *Speothos venaticus* (Lund, 1842). Disponível em: <https://www.gbif.org/species/2434444>. Acesso em: 08 out 2021.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE (GBD). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet.*, v. 390, n. 10100, p. 1211–59, 2017. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32154-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32154-2). Acesso em: 20 set 2021.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE (GBD). Risk Factors Collaborators. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet.*, v. 396, n. 10258, p. 1223-1249, 2019. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30752-2). Acesso em: 25 set 2021.

GONÇALVES, A. Q., ASCASO, C., SANTOS, I., SERRA, P. T., JULIAO, G. R., ORLANDI, P. P. *Calodium hepaticum*: household clustering transmission and the finding of a source of human spurious infection in a community of the Amazon Region. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, v. 6, p. 1-6, 2012.

GONÇALVES, A. Q., JUNQUEIRA, A. C., ABELLANA, R., BARRIO, P. C., TERRAZAS, W. C., SODRÉ, F. C., BÓIA, M. N., ASCASO, C. Prevalence of intestinal parasites and risk factors for specific and multiple helminth infections in a remote city of the Brazilian Amazon. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 49, n. 1, p. 119-24, 2016.

GOTTDENKER, N. L., STREICKER, D. G., FAUST, C. L., CARROLL, C. R. Anthropogenic land-use change and infectious diseases: a review of the evidence. *EcoHealth.*, v. 11, p. 619–632, 2014.

GYORKOS, T. W., GILBERT, N. L. Blood drain: soil-transmitted helminths and anemia in pregnant women. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, v. 8, n. 7, e2912, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002912>. Acesso em: 08 ago 2021.

HAJIBABAEI, M., SINGER, G. A., HEBERT, P. D., HICKEY, D. A. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends Genet.* v. 23, n. 4, p. 67-72, 2007.

HOBBS, R. P., LYMBERY, A. J., THOMPSON, R. C. Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts, and its implications for strain recognition. *Parasitology.*, v. 101, pt. 2, p. 273–81, 1990.

HOFFMANN, W. A., PONS, J. A., JANER, J. L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis, Puerto Rico. *J. Public Health.*, v. 9, p. 283-298, 1934.

HOTEZ, P. J., ALIBEK, K. Central Asia's hidden burden of neglected tropical diseases. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, vol. 5, n. 9, e1224, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002912>. Acesso em: 15 ago 2021.

HOTEZ, P. J., ALVARADO, M., BASÁÑEZ, M-G., BOLLIGER, I., BOURNE, R., ET AL. The Global Burden of Disease Study 2010: Interpretation and Implications for the Neglected Tropical Diseases. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, vol. 8, n. 7, e2865, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002865>. Acesso em: 08 ago 2021.

HOTEZ, P. J., BRINDLEY, P. J., BETHONY, J. M., KING, C. H., PEARCE, E. J. et al. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J. Clin. Invest.*, v. 118, n. 4, p. 1311–1321., 2008.

HUANCA-HURACHI, G., HERRERA, J., NOSS, A. Population density and habitat use of the paca (*Cuniculus paca*) in the north of the Amboro-Carrasco conservation complex. *Ecología en Bolivia.*, v. 46, n. 1, p. 4-13, 2011.

JONES, B. A., GRACE, D., KOCK, R., ALONSO, S., RUSHTON, J., SAID, M. Y. et al. Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 110, n. 21, p. 8399–8404, 2013.

JONES, K. E., PATEL, N. G., LEVY, M. A., STOREYGARD, A., BALK, D., GITTLEMAN, J. L., DASZAK, P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature.* v. 451, p. 990–993, 2008.

KABATENDE, J., MUGISHA, M., NTIRENGANYA, L., BARRY, A., RUBERANZIZA, E., MBONIGABA, J. B., BERGMAN, U., BIENVENU, E., AKLILLU, E. Prevalence, Intensity, and Correlates of Soil-Transmitted Helminth Infections among School Children after a Decade of Preventive Chemotherapy in Western Rwanda. *Pathogens*, v. 9, n. 12, p.1076, 2020.

Katz N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthoses. Belo Horizonte: CPqRR, 2018;76.

KATZ, N., CHAVES, A., PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 14, n. 6, p. 397-400, 1972.

KERN, P., SILVA, A. M., AKHAN, O., MÜLLHAUPT, B., VIZCAYCHIPI, K. A., BUDKE, C. et al. The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease. *Adv. Parasitol.*, v. 96, p. 259-369, 2017.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, v. 16, n. 2, p. 111–120, 1980.

KLISIEWICZ, D. R., REIFUR, L., SHIMADA, M. K., HAIDAMAK, J., COGNIALLI, R. C., FERREIRA, T. High occurrence of *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*) spurious infection in a village in the Atlantic Forest of southern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, v. 109, n. 3, p. 371-373, 2014.

KNAPP, J., NAKAO, M., YANAGIDA, T., OKAMOTO, M., SAARMA, U., LAVIKAINEN, A. et al. Phylogenetic relationships within Echinococcus and Taenia tapeworms (Cestoda: Taeniidae): An inference from nuclear protein-coding genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* v. 61, n. 3, p. 628–638, 2011.

LIBRADO, P., ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics.*, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009.

LUDWIG, K. M., FREI, F., FILHO, F. A., RIBEIRO-PAES, T. J. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 32, n. 5, p. 547–555, 1999.

LYMBERG, A. J. Phylogenetic pattern, evolutionary processes and species delimitation in the genus *Echinococcus*. *Adv. Parasitol.* v. 95, n. p.111-145, 2017.

MACHADO, A. V., RANGEL, N. M. Notas estatísticas de anatomia patológica veterinária em Minas Gerais, Brasil. *Arq. Esc. Vet. UREM.*, v. 16, p. 375-417, 1964.

MACHADO, E. R., SANTOS, D. S., COSTA-CRUZ, J. M. Enteroparasites and commensals among children in four peripheral districts of Uberlândia, state of Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v. 41, n. 6, p. 581-585, 2008.

MARQUES, R. C., BERNARDI, J. V., DOREA, C. C., DÓREA, J. G. Intestinal Parasites, Anemia and Nutritional Status in Young Children from Transitioning Western Amazon. *Int. J. Environ. Res. Public. Health.*, v. 17, n. 2, p. 577, 2020.

MCMANUS, D. P., THOMPSON, R. C. A. Molecular epidemiology of cystic echinococcosis. *Parasitology.*, v. 127, s. 37–51, 2003.

MENEGHELLI, U. G., BARBÓ, M. L. P., MAGRO, J. E., BELLUCCI, A. D., VELLUDO, M. A. S. L. Polycystic Hydatid Disease (*Echinococcus vogeli*): Clinical and Radiological Manifestations and Treatment whit Albendazole of a Patient from the Brazilian: Amazon Region. *Arq. Gastreenterol.*, v. 23, n. 3, p.177-183, 1986.

MENEGHELLI, U. G., MARTINELLI, A. L. C., VELLUDO, M. A. S. L. *Echinococcus vogeli* cysts in paca liver (*Cuniculus paca*) native from the Acre State, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 23, n. 3, p. 153-155, 1990.

MENEGHELLI, U. G., MARTINELLI, A. L. C., VELLUDO, M. A. S. L., BELLUCI, A. D., MAGRO, J. E., BARBO, M. L. P. Polycystic hydatid disease (*Echinococcus vogeli*) clinical, laboratory and morphological findings in nine Brazilian patients. *J. Hepatol.*, v. 14, n. 2-3, p. 203-210, 1992.

MENEGHELLI, U. G., MARTINELLI, A. L. C., VILLANOVA, M. G., MARTINEZ, R., VELLUDO, M. A. S. L., AFONSO, M. G. P. et al. Identificação de área de elevada ocorrência da doença hepática policística no Brasil: Estado do Acre. In: An XXXV Cong Bras Gastroenterol, XI Cong Bras de Endosc Digest, VIII Cong Nac Col Bras Cir Digest, Salvador – Bahia, ,1998, CD-Rom.

MICHALSKI, F., NORRIS, D. Activity pattern of *Cuniculus paca* (Rodentia: Cuniculidae) in relation to lunar illumination and other abiotic variables in the southern Brazilian Amazon. *Zoo.*, v. 28, n. 6, p. 701-708, 2011.

MICHALSKI, L. J., NORRIS, D., DE OLIVEIRA, T. G., MICHALSKI, F. Ecological relationships of meso-scale distribution in 25 neotropical vertebrate species. *PLoS One.*, v. 10, n. 5, e0126114, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126114>. Acesso em: 05 ago 2021.

MILLÁN, J., CHIRIFE, A. D., PROBOSTE, T., VELARDE, R. Factors associated with the prevalence and pathology of *Calodium hepaticum* and *C. splenaecum* in periurban micromammals. *Parasitol. Res.*, v. 113, p. 3001-3006, 2014.

MOKS, E., JOGISALU, I., VALDMANN, H., SAARMA, U. First report of *Echinococcus granulosus* G8 in Eurasia and a reappraisal of the phylogenetic relationships of 'genotypes' G5-G10. *Parasitology.*, v. 135, n. 5, p. 647-654, 2008.

MONES, A., GONZALES, J., PRADERI, R., CLARA, M. *Diversidad de la Biota Uruguay: Mammalia*. Anales: Museo Nacional de Historia Natural Y Antropologia., v. 10, n. 4, p. 1-28. 2003.

MONTEIRO, D. U., BOTTON, S. A., TONIN, A. A., HAAG, K. L., MUSSKOPF, G., AZEVEDO, M. I., WEIBLEN, C., RIBEIRO, T. C., DE LA RUE, M. L. *Echinococcus granulosus* sensu lato and *Taenia hydatigena* in pig in southern Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.*, v. 24, n. 2, p. 227-229, 2015.

MORAES, M. A. P., ARNAUD, M. V. C. Hidatidose - Equinococose neotropical. In: LEÃO, R. N., BICHARA, C. N., MIRANDA, E. C. B. et al (Eds). *Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque Amazônico*. 1ª Edição. Belém. CEJUP: UEPA: Instituto Evandro Chagas, 1997. p. 717-721.

MOREIRA, V. L. C. *Calodium hepaticum* (Nematoda: Capillariidae) in synanthropic rodents (*Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*) in Eastern Amazonia. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 22, n. 2, p. 265-269, 2013.

MORO, P. L., SCHANTZ, P. M. Echinococcosis: a review. *J. Glob. Infect. Dis.*, v. 13, n. 2, p. 125-133, 2009.

NAHREVANIAN, H., ASSMAR, M., ZAHRAEI, S. M., MAFI, M., ASL, H. M., GHASEMI, F. S. Sporozoan protozoa and enteroparasites in the gastroenteric patients referring to the healthcare centers of seven provinces of Iran. *Int. J. Enteric. Pathog.*, v. 3, n. 3, e27087, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.17795/ijep27087>. Acesso em: 20 ago 2021.

NEVES, L. B., TEIXEIRA, P. E. F., SILVA, S., BITTENCOURT-OLIVEIRA, F., DAIPERT-GARCIA, D., ALMEIDA, F. B., RODRIGUES-SILVA, R., MACHADO-SILVA, J. R. First molecular identification of *Echinococcus vogeli* and *Echinococcus granulosus* (sensu stricto) G1 revealed in feces of domestic dogs (*Canis familiaris*) from Acre, Brazil. *Parasit. Vectors.*, v. 10, n. 1, p. 28, 2017.

NEVES, R. H., COSTA-SILVA, M., MARTINEZ, E. M., BIOLCHINI, C. L., LENZI, H. L., GOMES, D. C., MACHADO-SILVA, J. R. Reproductive system abnormalities in *Schistosoma mansoni* adult worms isolated from *Nectomys squamipes* (Muridae: Sigmodontinae): brightfield and confocal laser scanning microscopy analysis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, v. 98, n. 3, p. 361-365, 2003.

OCHI, A., HIFUMI, T., UENO, T., KATAYAMA, Y. *Capillaria hepatica* (*Calodium hepaticum*) infection in a horse: a case report. *BMC Vet. Res.*, v. 13, p. 384, 2017.

OKYAY, P., ERTUG, S., GULTEKIN, B., ONEN, O., BESER, E. Intestinal parasites prevalence and related factors in school children, a western city sample-Turkey. *BMC Public Health.*, v. 4, n. 64, 2004. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1186%2F1471-2458-4-64>. Acesso em: 22 ago 2021.

OTERO-ABAD, B., TORGERSON, P. R. A systematic review of the epidemiology of echinococcosis in domestic and wild animals. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, v. 7, n. 6, e2249, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002249>. Acesso em: 10 set 2021.

PALHANO-SILVA, C. S., ARAÚJO, A. J., LOURENÇO, A. E., BASTOS, O. N., SANTOS, R. V., COIMBRA JR, C. E. Intestinal parasitic infection in the Suruí Indians, Brazilian Amazon. *Interciencia.*, v. 34, n. 4, p. 259-264, 2009.

PARAMASVARAN, S., SANI, R. A., HASSAN, L., HANJEET, K., KRISHNASAMY, M., JOHM, J. et al. Endo-parasite fauna of rodents caught in five wet markets in Kuala Lumpur and its potential zoonotic implications. *Trop. Biomed.*, v. 26, n. 1, p. 67-72, 2009.

PASTORE, R., VITALI, L. H., MACEDO, V. DE O., PRATA, A. A serological survey of the infection by *Echinococcus* sp. in the municipality of Sena Madureira, Acre. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 36, n. 4, p. 473-477, 2003a.

PASTORE, R., VITALI, L. H., WEIRICH, J., TOJAL, A. C., MACEDO, V. DE O., PRATA, A. Hidatidosis poliquística: relato de dois casos procedentes de Sena Madureira, Acre, na Amazônia brasileira. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 36, n. 1, p. 97-101, 2003b.

PEREIRA, THAIS MARTINS. *Soro-reatividade para hidatidose policística e análise socioepidemiológica em Sena Madureira, Acre – Brasil*. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Curso de Pós-graduação em Microbiologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

PERES, C. A. Effects of subsistence hunting on vertebrate community structure in Amazonian forests. *Conserv. Biol.*, v. 14, n. 1, p. 240–253, 2000.

PERES, C. A., NASCIMENTO, H. S. Impact of game hunting by the Kayapó of south-eastern Amazonia: implications for wildlife conservation in tropical forest indigenous reserves. *Biodiversity and Conservation*, v. 15, p. 2627–2653, 2006.

ORTAL DO GOVERNO DO ACRE. Xapuri. 2021. Disponível em: <https://www.xapuri.ac.gov.br/>

PULESTON, R. L., MALLAGHAN, C. M., MODHA, D. E. et al. The first recorded outbreak of cryptosporidiosis due to *Cryptosporidium cuniculus* (formerly rabbit genotype), following a water quality incidente. *J. Water. Health.*, v. 12, n. 1, p. 41–50, 2014.

PULLAN, R. L., BROOKER, S. J. The global limits and population at risk of soil-transmitted helminth infections in 2010. *Parasit Vectors.*, v. 5, n. 81, 2012. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/81>. Acesso em: 10 set 2021.

PULLAN, R. L., SMITH, J. L., JASRASARIA, R., BROOKER, S. J. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasit Vectors.*, v. 7, n. 37, 2014. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/37>. Acesso em: 01 jul 2021.

RAUSCH, R. L., D’ALESSANDRO, A. Histogenesis in the metacestode of *Echinococcus vogeli* and mechanism of pathogenesis in polycystic hydatid disease. *J. Parasitol.*, v. 85, n. 3, p. 410-418, 1999.

RAUSCH, R. L., RAUSCH, V. R., D’ALESSANDRO, A. Discrimination of the larval stages of *Echinococcus oligarthrus* (Diesing, 1863) and *E. vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 (Cestoda: Taeniidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 27, n. 6, p. 1195-1202, 1978.

REDEKOP, W. K., LENK, E. J., LUYENDIJK, M., FITZPATRICK, C., NIESSEN, L., STOLK, W. A. et al. The Socioeconomic Benefit to Individuals of Achieving the 2020 Targets for Five Preventive Chemotherapy Neglected Tropical Diseases. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, v. 11, n. 1, e0005289, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005289>. Acesso em: 20 ago 2021.

ROCHA, E. J. G., BASANO, S. DE A., SOUZA, M. M., HONDA, E. R., CASTRO, M. B., COLODEL, E. M., SILVA, J. C., BARROS, L. P., RODRIGUES, E. S., CAMARGO, L. M. Study of the prevalence of *Capillaria hepatica* in humans and rodents in an urban area of the city of Porto Velho, Rondônia, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.*, v. 57, n. 1. p. 39-46, 2015.

RODRIGUES-SILVA, R., PEIXOTO, J. R. V., DE OLIVEIRA, R. M. F., MAGALHÃES-PINTO, R., GOMES, D. C. An autochthonous case of *Echinococcus vogeli* Rausch & Bernstein, 83 1972 polycystic echinococcosis in the state of Rondônia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, v. 97, n. 1, p. 123–126, 2002.

- ROMIG, T., DEPLAZES, P., JENKINS, D., GIRAUDOUX, P., MASSOLO, A., CRAIG, P. S. et al. Ecology and Life Cycle Patterns of *Echinococcus* Species. *Adv. Parasitol.*, v. 95, p. 213–314, 2017.
- ROMIG, T., EBI, D., WASSERMANN, M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Vet. Parasitol.*, v. 213, n. 3-4, p. 76–84, 2015.
- SAARMA, U., JÖGISALU, I., MOKS, E., VARCASIA, A., LAVIKAINEN, A., OKSANEN, A., et al. A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence. *Parasitology.*, v. 136, n. 3, p. 317–328, 2009.
- SAITOU, N., NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*; v. 4, p. 406–25, 1987.
- SALAZAR, C. M., FLORES, G. S. Carga parasitaria en aguas de regadío de la zona agrícola Chacra cerro alto, Lima- Peru. *Biologist. (Lima)*, v. 10, n. 2, 2012.
- SANCHEZ, E., CACERES, O., NAQUIRA, C., GARCIA, D., PLATINO, G., SILVIA, H., VOLOTAO, A. C., FERNANDES, O. Molecular characterization of *E. granulosus* from Peru by sequencing of the mitochondrial cytochrome CO1 gene. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*, v. 105, n. 6, p. 806–810, 2010.
- SANTOS, F. S., GAMA, A. S., FERNANDES, A. B., REIS-JUNIOR, J. D., GUIMARAES, J. Prevalência de enteroparasitismo em crianças de comunidades ribeirinhas do Município de Coari, no médio Solimões, Amazonas, Brasil. *Rev. Pan-Amaz. Saude.*, v. 1, n. 4, p. 23–28, 2010.
- SANTOS, G. B., SOARES, M. C. P., BRITO, E. M. F., RODRIGUES, A. L., SIQUEIRA, N. G., GOMES-GOUVÊA, M. S., ALVES, M. M., CARNEIRO, L. A., MALHEIROS, A. P., PÓVOA, M. M., ZAHA, A., HAAG, K. L. Mitochondrial and nuclear sequence polymorphisms reveal geographic structuring in Amazonian populations of *Echinococcus vogeli* (Cestoda: Taeniidae). *Int. J. Parasitol.*, v. 42, n. 13-14, p. 1115–1118, 2012.
- SANTOS, R. V., COIMBRA JR, C. E., OTT, A. M. Estudos epidemiológicos entre grupos indígenas de Rondônia. III. Parasitoses intestinais nas populações dos vales dos rios Guaporé e Mamoré. *Cad Saude Publica.*, v. 1, n. 4, p. 467–77, 1985.
- SHARMA, M., FOMDA, B. A., MAZTA, S., SEHGAL, R., SINGH, B., MALLA, N. Genetic diversity and population genetic structure analysis of *Echinococcus granulosus sensu stricto* complex based on mitochondrial DNA signature. *Plos One.*, v. 8, n. 12, e82904, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082904>. Acesso em: 17 ago 2021.
- SHEPARD, G. H, LEVI, T., NEVES, E. G., PERES, C. A., YU, D. W. Hunting in ancient and modern Amazonia: rethinking sustainability. *Am Anthropol.*, v. 114, n. 4, p. 652–667, 2012.
- SILES-LUCAS, M., CASULLI, A., CONRATHS, F. J., MÜLLER, N. Laboratory diagnosis of *Echinococcus* spp. in human patients and infected animals. *Adv. Parasitol.*, v. 96, p. 159–257, 2017.
- SILVA, A. M., BOUTH, R. C., COSTA, K. S. et al. Ocorrência de enteroparasitoses em comunidades ribeirinhas do Município de Igarapé Miri, Estado do Pará, Brasil. *Rev. Pan-Amaz. Saude.*, v. 5, n. 4, p. 45–51, 2014.

SILVER, Z. A., KALIAPPAN, S. P., SAMUEL, P., VENUGOPAL, S., KANG, G., SARKAR R. et al. Geographical distribution of soil transmitted helminths and the effects of community type in South Asia and South East Asia – A systematic review. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, v. 12, n. 1, e000615, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006153>. Acesso em: 15 set 2021.

SIQUEIRA, N. G., ALMEIDA, F. B., CHALUB, S. R. S., MACHADO-SILVA, J. R., RODRIGUES-SILVA, R. Successful outcome of hepatic polycystic echinococcosis managed with surgery and chemotherapy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 101, p. 624–626, 2007.

SIQUEIRA, N. G., SIQUEIRA, C. M., RODRIGUES-SILVA, R., SOARES, M. C. P., PÓVOA, M. M. Polycystic echinococcosis in the state of Acre, Brazil: contribution to patient diagnosis, treatment and prognosis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 108, n. 5, p. 533–540, 2013.

SIQUEIRA, NILTON GHIOTTI. *Hidatidose policística no Estado do Acre: contribuição para o diagnóstico, tratamento e prognóstico dos pacientes*. 2010. 119 f. Tese (Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) - Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

SOARES, M. C. P., FONSECA JR, O. G., ALVES, M. M.; CARTÁGENES, P. R. B., AMARAL, I. A., FREITAS, A. F., SENA, C. E. B., CRESCENTE, A. B. Equinococose na Amazônia Oriental Brasileira. Atualização da casuística incluindo casos com revisão etiológica. In: I Congresso Norte de Infectologia, 1999, Belém, PA. *Rev Para Med*, 1999. v. 1. p. 45-45.

SOARES, M. C., MOREIRA-SILVA, C. A., ALVES, M. M., NUNES, H. M., AMARAL, I. A., MOIA, L. J. M. P. et al. Equinococose policística na Amazônia oriental brasileira: atualização da casuística. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 37, s. 2, p. 75–83, 2004.

SOARES, M. C. P., NUNES, H. M., SILVEIRA, F. A. A., ALVES, M. M., SOUZA, A. J. S. *Capillaria hepatica* (Bancroft, 1893) (Nematoda) entre populações indígenas e mamíferos silvestres no noroeste do Estado do Mato Grosso, Brasil, 2000. *Rev. Pan-Amaz. Saude.*, v. 2, n. 3, p. 35-40, 2011.

SOARES, M. C. P., RODRIGUES, A. L., MOREIRA-SILVA, C. A., BRITO, E. M., GOMES-GOUVÊA, M. S. et al. Anatomico-clinical and molecular description of liver neotropical echinococcosis caused by *Echinococcus oligarthrus* in human host. *Acta Trop.*, v. 125, n. 1, p. 110-114. 2013.

SOARES, M. DO C., SOUZA DE SOUZA, A. J., PINHEIRO MALHEIROS, A., NUNES, H. M., ALMEIDA CARNEIRO, L. et al. Neotropical echinococcosis: second report of *Echinococcus vogeli* natural infection in its main definitive host, the bush dog (*Speothos venaticus*). *Parasitol. Int.*, v. 63, n. 2, p. 485-487, 2014.

SOUZA, MÁGDA VANESSA MARTINS. *Sistemas socioecológicos em comunidades da Reserva Extrativista Chico mendes e Projeto de Assentamento, na Bacia Hidrográfica do Riozinho do Rôla, Acre, Brasil: diagnóstico participativo sobre usos e impactos diferenciados sobre os recursos naturais*. 2012. 103 f. Dissertação (Mestrado em Gestão de Áreas Protegidas

na Amazônia) – Programa de Pós-Graduação em Gestão de Áreas Protegidas da Amazônia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas, 2012.

SOUZA, E. A., SILVA-NUNES, M., MALAFRONTA, R. S., MUNIZ, P. T., CARDOSO, M. A., FERREIRA, U. M. Prevalence and spatial distribution of intestinal parasitic infections in a rural Amazonian settlement, Acre State, Brazil. *Cad. Saude Publica.*, v. 23, n. 2, p. 427-434, 2007.

SOUZA, L. S., PROGÊNIO, M., SOUZA, L. S., SANTOS, F. G. A. Consumption of wild animals in extractive communities in the State of Acre, Brazilian Amazon. *Biota Amazônia.*, v. 11, n. 2, p. 27-30, 2021.

SOUZA, LEANDRO SIQUEIRA DE. *Estudo sobre o ciclo de transmissão de Echinococcus vogeli em reservatórios silvestres e moradores de comunidades rurais da Amazônia brasileira*. 2021. 95 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021.

STEINMANN, P., KEISER, J., BOS, R., TANNER, M., UTZINGER, J. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infect. Dis.*, v. 6, n. 7, p. 411–425, 2006.

STOLTZFUS, R. J., KVALSVIG, J. D., CHWAYA, H. M., MONTRESOR, A., ALBONICO, M., TIELSCH, J. M. et al. Effects of iron supplementation and anthelmintic treatment on motor and language development of preschool children in Zanzibar: double blind, placebo controlled study. *BMJ (Clinical research ed.)*, v. 323, n. 7326, p. 1389– 1393, 2001.

STRUNZ, E. C., ADDISS, D. G., STOCKS, M. E., OGDEN, S., UTZINGER, J., FREEMAN M. C. Water, sanitation, hygiene, and soil-transmitted helminth infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.*, v. 11, n. 3, e1001620, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001620>. Acesso em: 06 jun 2021.

TAMURA, K., STECHER, G., KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 *Mol. Biol. Evol.*, v. 35, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

TAPPE, D., STICH, A., FROSCH, M. Emergence of Polycystic Neotropical Echinococcosis. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 14, n. 2, p. 292-297, 2008.

TAYLOR, L. H., LATHAM, S. M., WOOLHOUSE, M. E. J. Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, v. 356, n. 1411, p. 983–989, p. 2001.

THOMPSON, R. C. A. Biology and Systematics of *Echinococcus*. *Adv. Parasitol.*, v. 95, p. 65–109, 2017.

THOMPSON, R. C. A., MCMANUS, D. Aetiology: parasites and life-cycles. In: ECKERT, J., GEMMEL, M. A., MESLIN, F-X. AND PAWŁOWSKI, Z. S. (Eds.) *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Human and Animals: a Public Health Problem of Global Concern*. Paris: World Organization for Animal Health, 2001. p. 1-19.

THOMPSON, R. C. Workshop summary: parasitic zoonoses-new issues. *Vet. Parasitol.*, v. 54, n. 1-3, p. 291-294, 1994.

TIMMERMAN, A., ANDRADE, D. R., HUTZLER, R. U., MARINHO, I. S., ULIANA, S. R. B. Terapêutica da hidatidose hepática com albendazol: relato de 1 caso. In: *Abstracts of the IX Congresso Brasileiro de Hepatologia*, São Paulo, 1986, p. 85-85.

TRATA BRASIL. Ranking do saneamento Instituto Trata Brasil 2021 (SNIS 2019). Go Associados: São Paulo, 2021.

UCHÔA, C. M. A.; SERRA, C. M. B.; MAGALHÃES, C. M.; SILVA, R. M. M.; FIGLIUOLO, L. P.; LEAL, C. A.; MADEIRA, M. F. Educação em saúde: ensinando sobre a leishmaniose tegumentar Americana. *Cad. Saude Publica*, v. 20, n. 4, p. 935-941, 2004.

UNICEF. Pobreza na Infância e na Adolescência. Brasil. 2018. Disponível em: https://www.unicef.org/brazil/media/156/file/Pobreza_na_Infancia_e_na_Adolescencia.pdf. Acesso em: 05 jul 2021.

VALSECCHI, J., AMARAL, P. V. Perfil da caça e dos caçadores na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã Amazonas – Brasil. *Uakari*. v. 5, n. 2, p. 33-48, 2009.

VALSECCHI, J., BIZRI, H. R., FIGUEIRA, J. E. C. Subsistence hunting of *Cuniculus paca* in the middle of the Solimões River, Amazonas, Brazil. *Braz. J. Biol.*, v. 74, n. 3, p. 560-8, 2014.

VARONA, L. S. *Catálogo de los mamíferos vivientes y extinguidos de las Antillas*. Academia de Ciencias de Cuba, 1974.

VISSER, S., GIATTI, L. L., DE CARVALHO, R. A., GUERREIRO, J. C. Study of the association between socio-environmental factors and the prevalence of intestinal parasitosis in the suburbs of the city of Manaus in the State of Amazonas, Brazil. *Cien Saude Colet.*, v. 16, n. 8, p. 3481-3492, 2011.

VUITTON, D. A., MCMANUS, D. P., ROGAN, M. T., ROMIG, T., GOTTSTEIN, B., NAIDICH, A., TUXUN, T., WEN, H., MENEZES DA SILVA, A, WORLD ASSOCIATION OF ECHINOCOCCOSIS. International consensus on terminology to be used in the field of echinococcoses. *Parasite.*, v. 27, n. 41, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1051%2Fparasite%2F2020024>. Acesso em: 08 mar 2021.

WALKER, R., CARVALHO-PEREIRA, T., SERRANO, S., PEDRA, G., HACKER, K.; TAYLOR, J.; MINTER, A. et al. Factors affecting carriage and intensity of infection of *Calodium hepaticum* within Norway rats (*Rattus norvegicus*) from an urban slum environment in Salvador, Brazil. *Epidemiol. Infect.*, v. 145, n. 2, p. 334–338, 2017.

WANG, Y. B., XU, Y., KONG, X. L., ZHANG, B. G., XQ, B. U., ZHAO, C. L. et al. Survey of intestinal parasitic infections and related knowledge and behavior of residents in Jiaodong area of Shandong Province. *Zhongguo. Xue. Xi. Chong. Bing. Fang. Zhi. Za. Zhi.*, v. 26, n. 4, p. 376–381, 2014.

WATSON, J. J., PIKE, A. W. Variation in the morphology of adult *Apatemon gracilis* Rudolphi, 1819 (Digenea: Strigeidae) reared in different avian hosts. *Syst. Parasitol.*, v. 26, n. 1, p. 33-38, 1993.

WHITE, R. J., RAZGOUR, O. Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change. *Mammal Rev.*, v. 50, n. 4, p. 336-352, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases: a roadmap for implementation. 2012. Disponível em: https://www.who.int/neglected_diseases/NTD_RoadMap_2012_Fullversion.pdf. Acesso em: 02 ago 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Constitution Of WHO. 2006. Disponível em: https://www.who.int/governance/eb/who_constitution_en.pdf. Acesso em: 02 ago 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Soil-transmitted helminth infections. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>. Acesso em: 05 out 2021.

YONG, T., LEE, L., SIM, S., LEE., J., MIN, D., CHAI, J., EOM, K. S., SOHN, W., LEE, S., RIM, H. Differential diagnosis of *Trichostrongylus* and hookworm eggs via PCR using ITS-1 sequence. *Korean J. Parasitol.*, v. 45, n. 1, p. 69-74, 2007.

ZARLENGA, D. S., HIGGINS, J. PCR as a diagnostic and quantitative technique in veterinary parasitology. *Vet. Parasitol.*, v. 101, n. 3-4, p. 215-230, 2001.

ZHANG, W., MCMANUS, D. P. Recent advances in the immunology and diagnosis of echinococcosis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, v. 47, n. 1, p. 24-41, 2006.

ZHANG, W., WEN, H., LI, J., LIN, R., MCMANUS, D. P. Immunology and immunodiagnosis of cystic echinococcosis: an update. *Clin. Dev. Immunol.*, v. 2012, e101895, 2012. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1155%2F2012%2F101895>. Acesso em: 05 jul 2021.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Helminhos Parasitos de Vertebrados



Laboratório de
Referência Nacional
em Hidatidose
LRNH-LHPV-IOC-FIOCRUZ

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa “Caracterização molecular de isolados de *Echinococcus vogeli* e padronização de método imunodiagnóstico para a equinococose policística baseado em antígenos recombinantes” sob responsabilidade da pesquisadora Rosângela Rodrigues e Silva do Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose do Laboratório de Helminhos Parasitos de Vertebrados do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz/RJ (LRNH-LHPV-IOC/Fiocruz).

Este estudo destina-se a melhorar o diagnóstico da doença Hidatidose ou Equinococose policística, também conhecida como “Doença da paca”. Essa doença é causada por um verme que se aloja principalmente no fígado, provocando cistos de vários tamanhos, simulando neoplasias (câncer). A infecção é adquirida provavelmente através do contato com as fezes de cães que por sua vez se infectam após comerem fígados (“fatos” ou vísceras cruas) de pacas doentes. O diagnóstico humano quase sempre só pode ser realizado após o fígado estar muito “ruim”, apresentando “caroços na barriga”.

Caso você aceite participar dessa pesquisa, receberá este documento TCLE, as explicações sobre a pesquisa e será submetido ao procedimento de coleta de sangue a ser realizado por um profissional habilitado da equipe. Um volume de até 15 mililitros de sangue será obtido por punção da veia do antebraço. Também será convidado a entregar suas fezes para exame de “vermes” (helminths) intestinais após receber previamente recipiente para armazenamento e transporte do material, além das orientações para coleta. Você também será entrevistado, mediante a um questionário epidemiológico para equinococose policística, para o fornecimento de informações sobre hábitos e costumes, seu conhecimento sobre a doença, seu estado de saúde geral, além de dados para o seu cadastro. Você poderá ser solicitado para nova coleta voluntária do(s) material(is) em algum momento da pesquisa.

Os possíveis riscos ou desconfortos relacionados à coleta de sangue, se ocorrerem, serão os relacionados ao local da punção, como hematoma (rouxidão no local), que pode levar até 5 dias sumir. Com relação a coleta de fezes, sua integridade física e moral será mantida, sem causar desconforto.

Se você for menor de dezoito anos, poderá consentir em participar da pesquisa, mas seu(s) responsável(is) legais deverá(ão) autorizar sua participação.

Você poderá saber mais sobre sob qualquer aspecto da pesquisa quando desejar, sendo livre para recusar sua participação, retirar seu consentimento e interromper sua participação a qualquer momento. A sua recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios, além de também não acarretar em custos para você. A opção por não entregar as fezes para análise não invalidará sua participação.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar sua identidade com os padrões profissionais de sigilo e os resultados pertinentes ao seu material serão armazenados no laboratório e enviados para você com confidencialidade. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa ser resultado desse estudo e o seu nome ou material não será divulgado ou liberado sem a sua prévia permissão. Uma via deste consentimento será arquivada no LRNH-LHPVIOC/Fiocruz e outra ficará com você.

1/3

O sangue e/ou soro e as fezes serão armazenados primeiramente sob a conduta de Biorrepositório (depósito que se destina ao armazenamento do material pelo tempo de realização da pesquisa), cuja guarda ficará com a pesquisadora Dra Rosângela Rodrigues e Silva, na responsabilidade institucional do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz. Caso haja necessidade, o tempo de armazenamento poderá ser prolongado mediante justificativa e aprovação do CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) e o seu material poderá ser futuramente transferido para Biobanco institucional podendo assim ser utilizado em outras pesquisas. Um sistema seguro de identificação será mantido, garantindo sigilo e respeito à confidencialidade e à recuperação dos meus dados, seja para fornecimento de informações futuras de seu interesse ou para a obtenção de novo consentimento específico para utilização em outra pesquisa.

Você poderá escolher entre as opções abaixo condizentes com a participação nesse estudo:

- () Necessito assinar um novo consentimento a cada pesquisa (a cada nova pesquisa o pesquisador responsável entrará em contato para adquirir novo termo de consentimento livre e esclarecido);
- () Dispensio a necessidade de assinar novo consentimento a cada pesquisa (seu material biológico poderá ser utilizado para pesquisa futuras sem a necessidade de novo termo de consentimento livre e esclarecido).

Caso seja necessário, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa para esclarecimentos ou informações quanto a eticidade desta pesquisa: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - CEP Fiocruz/IOC - Instituto Oswaldo Cruz / Fundação Oswaldo Cruz - Avenida Brasil, 4.036 - sala 705 (Expansão) - Manguinhos - Rio de Janeiro-RJ - CEP: 21.040-360 - Telefone: (21) 3882-9011 - Tel/Fax: (21) 2561-4815 – e-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br.

Informamos que o Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma, o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto, de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

Rubrica do participante	Rubrica do pesquisador

DECLARAÇÃO DO (A) PARTICIPANTE (A) OU DO SEU RESPONSÁVEL:

Eu, _____,
fui informado(a) dos objetivos da pesquisa acima, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e reavaliar a minha decisão de continuar participando se assim o desejar. Estou satisfeito(a) com as explicações e concordo em ceder meus dados e material biológico (sangue e/ou soro) para esta pesquisa. Fui alertado(a) de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Em caso de dúvidas poderei entrar em contato com a pesquisadora Rosângela Rodrigues e Silva nos telefones (21) 99626-3215 / (21) 2562-1505 / (21) 2562-1485 e pelo e-mail: rsilva@ioc.fiocruz.br. Declaro, assinando abaixo (ou colocando a minha digital) que recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e que me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Nome (Assinatura do participante ou digital)

Data: ____ / ____ / ____.

Nome (Assinatura do responsável ou digital, no caso de participante menor de 18 anos).

Data: ____ / ____ / ____.

Nome (Assinatura do pesquisador).

Data: ____ / ____ / ____.

APÊNDICE B – Questionário estruturado: Ficha epidemiológica para “Hidatidose”



Ficha Epidemiológica para Hidatidose Policística



Laboratório de
Referência Nacional
em Hidatidose
LRNH-LHPV-IOC-Fiocruz

DADOS CADASTRAIS

Data: _____ Número do paciente: _____
 Nome: _____ Sexo: ()M ()F
 Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: ____
 Município onde nasceu: _____ UF: _____
 Filiação: _____
 Profissão ou atividade principal: _____
 Escolaridade: ()Nível fundamental completo ()Nível fundamental incompleto ()Nível médio completo ()Nível médio incompleto ()Graduação ()Sem escolaridade
 Renda: ()Até um salário mínimo ()Até dois salários mínimos ()Acima de dois salários mínimos
 Endereço: _____
 Telefone: _____ Município: _____ UF: _____
 Zona: () Urbana () Rural

DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Possui cães na casa: () sim () não Quantos: _____
 Pratica caça: () sim () não Quanto tempo de duração da caça? _____
 Quais animais são caçados: _____
 Qual o destino dado às vísceras da caça: () Oferece crua para os cães () Cozinha para os cães
 () Enterra () Alimento para suínos. Outros: _____
 Já viu ou conhece o *Speothos venaticus* (Cachorro vinagre/ cachorro da mata): () Sim () Não
 Possui tratamento de esgoto na residência? () Sim () Não
 A água de consumo é tratada? () Sim () Não Como? _____
 Onde sua família faz suas necessidades fisiológicas? () Banheiro () Privada () Ao ar livre
 Conhece a doença chamada Hidatidose ou doença da paca? () sim () não.
 Fonte da informação: () Palestras () Radio () Internet () outros meios de comunicação
 O que você sabe sobre a Hidatidose? _____

DADOS CLÍNICOS E SINTOMAS

Já fez exame para hidatidose (doença da paca)? () sim () não. Qual? _____
 Já tomou remédio para hidatidose (doença da paca)? () sim () não. Qual? _____
 Já fez cirurgia (operação) para hidatidose (doença da paca)? () sim () não
 Tem sentido alguma dor: () sim () não Onde? _____
 Já teve algum verme? () sim () não. Qual? _____
 Tem caso de hidatidose (doença da paca) na família: () sim () não
 Quem? _____ Qual a idade? _____
 Como a pessoa descobriu? _____
 Foi tratado? () Sim () Não. Como? _____

ANEXO A – Licença permanente para coleta de material zoológico SISBIO – IBAMA



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 13373-1		Data da Emissão: 19/11/2007 17:02
Dados do titular		
Registro no Ibama: 608054	Nome: PAULO SÉRGIO D ANDREA	CPF: 062.639.198-92
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		CNPJ: 33.781.055/0001-35

Observações, ressalvas e condicionantes

1	A participação do(a) pesquisador(a) estrangeiro(a) nas atividades previstas nesta autorização depende de autorização expedida pelo Ministério de Ciência e Tecnologia (CNPq/MCT);
2	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica às categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural, Área de Relevante Interesse Ecológico e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas;
3	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
4	Esta licença permanente não exime o seu titular da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade;
5	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos;
6	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres;
7	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso);
8	O órgão gestor de unidade de conservação estadual, distrital ou municipal poderá, a despeito da licença permanente e das autorizações concedidas pelo Ibama, estabelecer outras condições para a realização de pesquisa nessas unidades de conservação;
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ;
10	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente;
11	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo Ibama e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor;
12	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação;
13	Este documento não dispensa a obtenção de autorização de acesso ao componente do patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado nos termos da legislação vigente;
14	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação;

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	ORDEM	Rodentia, Didelphimorphia
2		

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Museu Nacional (UFRJ)	colecção

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91827146



Página 1/2



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 13373-1		Data da Emissão: 19/11/2007 17:02
Dados do titular		
Registro no Ibama: 606054	Nome: PAULO SÉRGIO D'ANDREA	CPF: 062.639.198-92
Nome da Instituição : FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		CNPJ: 33.781.055/0001-35

Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa Ibama nº154/2007. , a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta ser comunicada ao Ibama por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica, preferencialmente depositado em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Nível	Táxon*	Qtde.	Amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico mais específico possível.

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91827146

Página 2/2

Nota: Licença número 13373-1; página 2 de 2.

ANEXO B – Licença para atividades com finalidade científica SISBIO – ICMBio – MMA



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68985-1	Data da Emissão: 21/05/2019 13:31:23	Data da Revalidação*: 21/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Rosângela Rodrigues e Silva	CPF: 549.079.007-59
Nome da Instituição: Fundação Oswaldo Cruz	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta, processamento e transporte de material biológico de animais silvestres	04/2019	04/2022

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Leandro Batista das Neves	Coleta, processamento e transporte de material biológico	099.055.877-05	Brasileira
2	Fernanda Bittencourt de Oliveira	Coleta, processamento e transporte de material biológico	124.187.467-04	Brasileira
3	Fernanda Barbosa de Almeida da Cunha	Coleta, processamento e transporte de material biológico	074.763.677-07	Brasileira
4	Leandro Siqueira de Souza	Coleta, processamento e transporte de material biológico	020.104.522-24	Brasileira
5	Tuan Pedro Dias Correia	Coleta, processamento e transporte de material biológico	156.808.997-01	Brasileira
6	Márcio Neves Bóia	Coleta, processamento e transporte de material biológico	505.281.737-15	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0689850120190521

Página 1/4

Nota: Licença número 68985-1; página 1 de 4.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68985-1	Data da Emissão: 21/05/2019 13:31:23	Data da Revalidação*: 21/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Rosângela Rodrigues e Silva	CPF: 549.079.007-59
Nome da Instituição: Fundação Oswaldo Cruz	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, possessor ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condições in situ.
7	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cogen .

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Reserva Extrativista do Cazumbá-Iracema	AC	Amazônia	Não	Dentro de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0689850120190521

Página 2/4

Nota: Licença número 68985-1; página 2 de 4.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68985-1	Data da Emissão: 21/05/2019 13:31:23	Data da Revalidação*: 21/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Rosângela Rodrigues e Silva	CPF: 549.079.007-59
Nome da Instituição: Fundação Oswaldo Cruz	CNPJ: 33.781.055/0001-35

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Carnívora	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Carnívora	-
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Aves	-
4	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Aves	-
5	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Rodentia	-
6	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Rodentia	-
7	Observação e gravação de imagem ou som de táxon em UC federal	Xenarthra	-
8	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Xenarthra	-

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Aves)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça/osso/pele, Fezes)
2	Amostras biológicas (Carnívoros)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça/osso/pele, Fezes)
3	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça/osso/pele, Fezes)
4	Amostras biológicas (Xenarthra)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça/osso/pele, Fezes)
5	Método de captura/coleta (Aves)	Armadilha fotográfica

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Fundação Oswaldo Cruz	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0689850120190521

Página 3/4

Nota: Licença número 68985-1; página 3 de 4.



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68985-1	Data da Emissão: 21/05/2019 13:31:23	Data da Revalidação*: 21/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		
Dados do titular		
Nome: Rosângela Rodrigues e Silva		CPF: 549.079.007-59
Nome da Instituição: Fundação Oswaldo Cruz		CNPJ: 33.781.055/0001-35

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

[illegible]

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

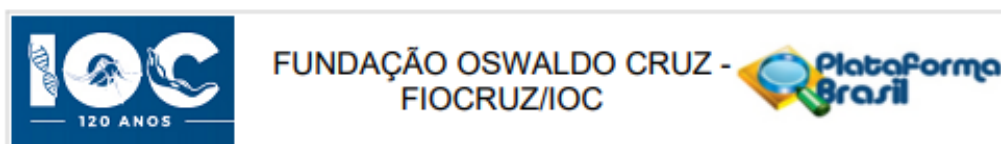
Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa n.º 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0689850120190521

Página 4/4

Nota: Licença número 68985-1; página 4 de 4.

ANEXO C – Certificado de Apresentação de Apreciação Ética - CEP Fiocruz/IOC

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DA EMENDA**

Título da Pesquisa: Caracterização molecular de isolados de *Echinococcus vogeli* e padronização e validação de método imunodiagnóstico para a equinococose policística humana baseado em antígenos recombinantes.

Pesquisador: Rosângela Rodrigues e Silva

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 38091514.6.0000.5248

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz
MINISTÉRIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

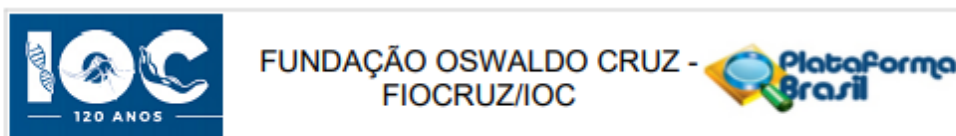
Número do Parecer: 3.827.431

Apresentação do Projeto:

Projeto original aprovado pelo CEP IOC/Fiocruz sob número 892.040, datado de 30 de novembro de 2014. A pesquisadora solicita emenda ao projeto para obtenção de amostras de fezes das populações do estudo, concomitantemente com o período da conduta de novas coletas de sangue e obtenção de soros, procedimentos já aprovados pelo CEP-IOC.

Como descrito no conteúdo científico do próprio projeto aprovado, é importante levar em consideração o perfil parasitológico das populações das quais os soros estão sendo utilizados para padronização de método de imunodiagnóstico, pois essa melhor caracterização dos perfis helmintológicos dos indivíduos (e/ou das populações-alvo) é de suma importância no momento da avaliação dos parâmetros de sensibilidade e principalmente de especificidade dos testes em desenvolvimento. Nesse sentido, a pesquisadora envia nova emenda ao CEP para que acrescentar o objetivo da obtenção também das fezes dos participantes, esclarecendo que fizeram pequenas modificações e as destacamos no conteúdo do projeto detalhado (mais precisamente no resumo, introdução, objetivos secundários, critérios de exclusão, riscos, inserção dessa etapa no cronograma, referências e modificação do TCLE), as quais não descaracterizam as ideias iniciais, e objetivo principal a essência do projeto propriamente dita. A pesquisadora reitera que levaram em

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



Continuação do Parecer: 3.827.431

consideração os novos riscos aos voluntários da pesquisa associados à inclusão desta coleta e do novo tipo de material biológico obtido, deixando claro aos participantes à livre participação com um ou dois tipos de material biológico (sangue/soro e fezes), onde a não contribuição com o fornecimento de um deles, não invalidará sua participação na pesquisa. Não houve mudança na equipe e na ficha epidemiológica.

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

- 1-É possível identificar variações intraespecíficas na espécie através da caracterização molecular de isolados de *E. vogeli* ?
- 2-Os antígenos recombinantes AgB8/1 e AgB8/2 são eficientes para utilização em ensaio imunoenzimático (ELISA) para o diagnóstico da equinococose policística?

Objetivo Primário:

Caracterização molecular de isolados de *Echinococcus vogeli* provenientes de cistos excisados cirurgicamente e confirmados por teste padrão ouro e padronização e avaliação de ensaio imunoenzimático baseado em antígenos recombinantes de *E. granulosus* para detecção de anticorpos contra *E. vogeli* em soros de pacientes humanos com equinococose policística.

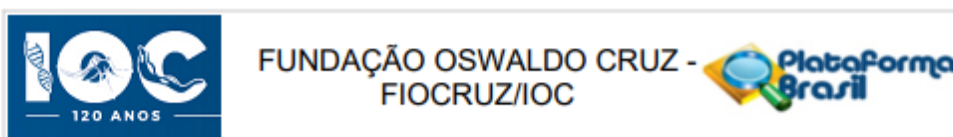
Objetivo Secundário:

1. Organização de banco de isolados de *E. vogeli*.
2. Padronização de métodos de extração de ácidos nucleicos e amplificação de marcadores genéticos.
3. Realização de genotipagem, incluindo PCR e sequenciamento dos fragmentos da região mitocondrial que codifica o gene citocromo C oxidase subunidade 1 (COX1).
4. Análise *in silico* dos resultados da genotipagem.
5. Organização de banco de soros de referência em equinococose policística para estudos imunológicos.
6. Padronização e validação de ensaio imunoenzimático (ELISA) com antígenos recombinantes de *E. granulosus* como reagentes para imunodiagnóstico da equinococose policística.
7. Realização de exame parasitológico de fezes com o emprego dos métodos Kato-Katz (Katz et al., 1972) e sedimentação espontânea (Hoffmann et al., 1934);
8. Avaliação do potencial diagnóstico dos antígenos recombinantes para a equinococose policística

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
 Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 02 de 06

Nota: CAAE número 38091514.6.0000.5248; página 2 de 6.



Continuação do Parecer: 3.827.431

humana a partir do teste sistemático frente a um painel amplo de soros de pacientes com equinococose policística, com outras parasitoses com potencial reatividade cruzada, e provenientes de área endêmica da doença.

10. Análise comparativa do teste imunoenzimático baseado em antígenos recombinantes com imunoblot baseado em preparações antigênicas brutas de líquido hidático, que é atualmente o teste utilizado pelo Laboratório de Referência Nacional em Hidatidose (LRNH), Fiocruz.

11. Implantação do teste padronizado na rotina de diagnóstico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

De acordo com a pesquisadora: os riscos para o sujeito da pesquisa são aqueles inerentes a uma cirurgia abdominal e o que pode ocorrer durante a coleta de sangue é um pequeno desconforto relacionados ao local da punção, como hematoma (rouxidão no local), o qual pode levar até 5 dias para desaparecer. Cabe esclarecer, entretanto, que tanto para a realização da cirurgia quanto para a coleta de sangue, os pacientes que aceitem participar da pesquisa ou seus representantes legais, manifestarão a sua anuência à realização dos processos. Com relação a coleta de fezes, integridade física e moral dos participantes serão mantidas, sem causar desconforto. Portanto, os riscos são considerados baixos, destacando também que podem estar relacionados ao momento da entrevista como constrangimento, cansaço, irritação e/ou aborrecimento durante o período da mesma e/ou da forma como a entrevista estiver sendo realizada. Mesmo atuando de forma objetiva no ato da entrevista, procuraremos deixar os participantes à vontade para responder da melhor maneira possível, respeitando o tempo de cada um, porém sem tornar o momento tão duradouro para não promover cansaço e/ou irritabilidade, agindo sempre com atenção, dedicação, respeito e ética. Ressaltaremos que os mesmos são livres para recusar sua participação, retirar seu consentimento e interromper sua participação a qualquer momento e que sua recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade, perda de benefícios ou custos.

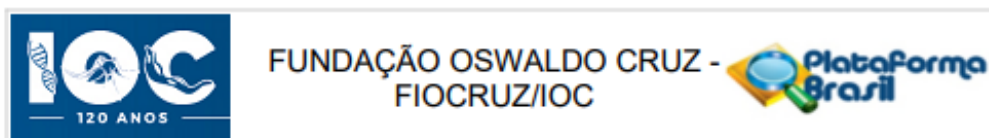
Benefícios:

Na equinococose policística ocorrem extensas lesões hepáticas e/ou peritoneais que, devido ao seu alto desconhecimento, conduz a diagnósticos prévios mal-definidos, e por vezes, é confundida com neoplasias. Em consequência, através da biotecnologia aplicada à saúde humana, o imunodiagnóstico tem provado ser efetivo e pode ser usado para diagnosticar a doença em populações sintomáticas e assintomáticas de alto risco. Porém, para isto, são necessários procedimentos com alto índice de sensibilidade e especificidade para a realização dos testes

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 03 de 06

Nota: CAAE número 38091514.6.0000.5248; página 3 de 6.



Continuação do Parecer: 3.827.431

sorológicos. O problema inicial é a padronização de um antígeno eficiente e reprodutível que possa ser utilizado no ensaio imunoenzimático para distribuição nacional. O uso de antígenos recombinantes pode apresentar uma alternativa viável e mais específica para o imunodiagnóstico da equinococose policística, com a vantagem de produção intra-laboratorial de grandes quantidades de antígeno, dispensando o uso de animais e apresentando menor variação lote a lote quando comparados com antígenos brutos ou purificados (Robles et al., 2005). Além do diagnóstico, a utilização com sucesso de antígenos recombinantes auxiliará no acompanhamento e tratamento de pacientes com equinococose policística, assim como possibilitará estudos epidemiológicos nas áreas de ocorrência da doença, possibilitando uma melhor compreensão de sua prevalência. De posse de tal metodologia de diagnóstico, os principais benefícios para o sujeito se referem a se dispor de um recurso laboratorial de alta sensibilidade e especificidade, que permite a distinção entre neoplasias ou agravos de outra ordem e a equinococose policística. Portanto, o desenvolvimento de um diagnóstico com alta especificidade e sensibilidade e de baixo custo, não só contribui para a melhoria de qualidade de vida dos indivíduos, mas também viabiliza seu uso pelos Serviços de Saúde Pública. Além disso, apesar de estudos morfológicos e biológicos permitirem a identificação de caracteres de forma segura para o diagnóstico da espécie do parasito, é importante considerar que alguns desses caracteres podem ser inconsistentes, pois podem ser determinados pelo hospedeiro que alberga o parasito ou podem sofrer influência de fatores ambientais, que dificultam a distinção a nível específico e mais ainda no nível de possíveis linhagens existentes dentro da espécie. As técnicas moleculares propostas irão nos permitir caracterizar os isolados a partir do genoma do parasito, fato este que pode nos auxiliar na identificação de possíveis variações associadas ao hospedeiro e/ou ao ambiente, e consequentemente também contribuindo para estudos epidemiológicos. Por fim, gostaríamos de ressaltar que o nosso laboratório é referência em diagnóstico para equinococose, a nível nacional do Ministério da Saúde. Temos firmado um Projeto Convênio Fiocruz/SVS - 2007/2008, onde realizamos exames laboratoriais parasitológicos e sorológicos, supervisões, assessorias e cursos de capacitação em técnicas diagnósticas parasitológicas e sorológicas para a equinococose.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto aprovado pelo CEP IOC/Fiocruz sob número 892.040, datada de 30 de novembro de 2014. A emenda apresenta justificativa, houve atualização do projeto e do TCLE. Os riscos foram também atualizados no projeto e no TCLE.

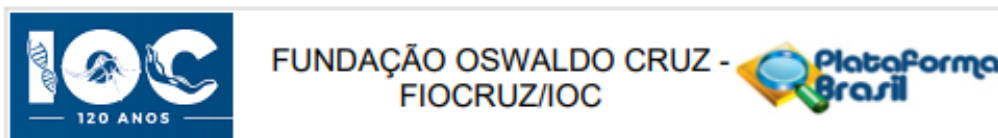
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1499137_E3.pdf

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 04 de 06

Nota: CAAE número 38091514.6.0000.5248; página 4 de 6.



Continuação do Parecer: 3.827.431

Projeto_detalhado_Emenda.pdf

Justificativa_Emenda.pdf

NovoCronogramaEmenda.pdf

TCLE_novo_soro_fezes.pdf

Recomendações:

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC) em sua 260ª reunião, realizada em 04.02.2020, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação da emenda ao projeto de pesquisa, e solicita relatório parcial do estudo até o momento.

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_1499137_E3.pdf	16/01/2020 21:40:11		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_Emenda.pdf	16/01/2020 21:36:05	Rosângela Rodrigues e Silva	Aceito

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
 Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 05 de 06

Nota: CAAE número 38091514.6.0000.5248; página 5 de 6.



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 3.827.431

Outros	Justificativa_Emenda.pdf	16/01/2020 21:35:32	Rosângela Rodrigues e Silva	Aceito
Cronograma	NovoCronogramaEmenda.pdf	16/01/2020 21:34:29	Rosângela Rodrigues e Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_novo_soro_fezes.pdf	16/01/2020 21:25:41	Rosângela Rodrigues e Silva	Aceito
Outros	EquipeAtualizada.pdf	13/05/2019 13:56:58	Rosângela Rodrigues e Silva	Aceito
Outros	Declaração de anuência UERJ.pdf	05/02/2015 12:12:46		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura <u>Investigador</u>	Projeto completo.docx	03/11/2014 12:01:24		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto.docx	03/11/2014 11:32:46		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 07 de Fevereiro de 2020

Assinado por:
José Henrique da Silva Pilotto
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Brasil 4036, sala 705 (Campus Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2581-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

Página 08 de 08

Nota: CAAE número 38091514.6.0000.5248; página 6 de 6.

ANEXO D – Comprovação de aceite do artigo científico pela Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

Decision Letter (RIMTSP-2021-0075.R1)

From: revimtsp@usp.br

To: rsilva@ioc.fiocruz.br

CC:

Subject: Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo - Decision on Manuscript ID RIMTSP-2021-0075.R1

Body: 22-Jun-2021

Dear Mrs. Rodrigues-Silva:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Spurious infection by *Calodium hepaticum* (Bancroft, 1983) Moravec, 1982 and intestinal parasites in forest reserve dwellers from Acre State, Brazil" in its current form for publication in the Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. The comments of the reviewers who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. We look forward to your continued contributions to the Journal.

Kindly,

Thelma Suely Okay, MD
Editor-in-Chief

Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

Nota: aceite informado, via e-mail, à minha coorientadora, Dra. Rosângela Rodrigues e Silva, em 22/06/2021.

ANEXO E – Comprovações dos aceites pelo *GenBank* dos depósitos das sequencias geradas no estudo

GenBank MZ969813-MZ969825

gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov <gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov>
Para: leobatistaneves@gmail.com

31 de agosto de 2021 16:25

Dear GenBank Submitter:

Thank you for your direct submission of sequence data to GenBank. We have provided GenBank accession number(s) for your nucleotide sequence(s):

SUB10295848 Seq1	MZ969813
SUB10295848 Seq2	MZ969814
SUB10295848 Seq3	MZ969815
SUB10295848 Seq4	MZ969816
SUB10295848 Seq5	MZ969817
SUB10295848 Seq6	MZ969818
SUB10295848 Seq7	MZ969819
SUB10295848 Seq8	MZ969820
SUB10295848 Seq9	MZ969821
SUB10295848 Seq10	MZ969822
SUB10295848 Seq11	MZ969823
SUB10295848 Seq12	MZ969824
SUB10295848 Seq13	MZ969825

GenBank accession numbers should appear in any publication that reports or discusses the data, as it gives the community a unique label with which they may retrieve your data from our online servers.

Based on the data submitted to us, the scheduled release date for your submission is:

Dec 31, 2022

GenBank OK157435-OK157437

gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov <gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov>
Para: leobatistaneves@gmail.com

16 de setembro de 2021 17:05

Dear GenBank Submitter:

Thank you for your direct submission of sequence data to GenBank. We have provided GenBank accession number(s) for your nucleotide sequence(s):

SUB10389697 Seq1	OK157435
SUB10389697 Seq2	OK157436
SUB10389697 Seq3	OK157437

GenBank accession numbers should appear in any publication that reports or discusses the data, as it gives the community a unique label with which they may retrieve your data from our online servers.

Based on the data submitted to us, the scheduled release date for your submission is:

Dec 31, 2022