



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ADELINO TCHILANDA TCHIVANGO

ENTEROPARASITOS EM CRIANÇAS DE ESCOLAS DOS MUNICÍPIOS DE BOCAIÚVA
DO SUL E COLOMBO, PARANÁ

CURITIBA

2020

ADELINO TCHILANDA TCHIVANGO

ENTEROPARASITOS EM CRIANÇAS DE ESCOLAS DOS MUNICÍPIOS DE BOCAIÚVA
DO SUL E COLOMBO, PARANÁ

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Andrey José de Andrade.
Coorientadora: Profª. Dra. Débora do Rocio Klisiowicz.

CURITIBA

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Tchivango, Adelino Tchilanda

Enteroparasitos em crianças de escolas dos municípios de Bocaiúva do Sul e Colombo, Paraná. / Adelino Tchilanda Tchivango. – Curitiba, 2020.
123 p.: il.

Orientador: Andrey José de Andrade
Coorientadora: Débora do Rocio Klisiowicz

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia..

1. Doenças parasitárias - Paraná. 2. Fezes – Exame. 3. Giardia. 4. Blastocystis. 4. Metabolismo. I. Título. II. Andrade, Andrey José de, 1978-. III. Klisiowicz, Débora do Rocio. IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

CDD (22. ed.) 614.5596

TERMO DE APROVAÇÃO

ADELINO TCHILANDA TCHIVANGO

ENTEROPARASITOS EM EM CRIANÇAS DE ESCOLAS DOS MUNICÍPIOS DE BOCAIÚVA DO SUL E COLOMBO, PARANÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

Assinatura Eletrônica
17/04/2020 12:46:19.0

ANDREY JOSE DE ANDRADE
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
17/04/2020 12:09:06.0

WESLEY MAURICIO DE SOUZA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
27/04/2020 16:41:19.0

ELISA NEVES VIANNA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)

Assinatura Eletrônica
22/04/2020 12:55:22.0

DIEGO AVERALDO GUIGUET LEAL
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-1695 - E-mail: posmpp@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 39975

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 39975

DEDICATÓRIA

À

Deus pai todo-poderoso, pelo dom da vida!

Aos

Meus familiares pelo incansável apoio, carinho e coragem, especialmente ao meu pai **António Tchivango e a minha mãe Teresa Ngueve**, que são a minha fonte de inspiração e exemplo para a minha vida!

Ao meu filho António de Araújo Tchivango.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço ao Onipotente e Onipresente Deus todo-poderoso, pela graça da vida, saúde e infinita bondade e misericórdia.

Agradeço ao meu pai António Tchivango e a minha mãe Teresa Ngueve, a minha mãe Balbina Albano, as minhas irmãs Lena, Yaya, Ngota, Mimí, Beny, os meus irmãos Inho e Sérgio que ficaram privados do meu acompanhamento direto, para que este amor profissional se tornasse uma realidade e outros que não citei pelo apoio incondicional.

Agradeço de coração a minha esposa Zenilda Solange Chivinda de Araújo e ao meu filho António de Araújo Tchivango pela paciência, carinho e muito amor que me proporcionaram durante o tempo de formação.

A minha eterna e enorme gratidão ao professor Prof. Dr. Andrey José de Andrade meu orientador e a professora Profa. Dra. Débora do Rocio Klisiowicz minha coorientadora, que com muito amor, paciência e compreensão, despertaram em mim a mais nobre missão como pesquisador e docente e sobre tudo a arte do bem fazer, que no segundo ano de formação assumi o cargo de supervisor de estágios PVA e como coorientador de TCC da graduação.

A Universidade Federal do Paraná pela oportunidade oferecida e por contribuírem no processo de formação dos estudantes africanos.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia da Universidade Federal do Paraná, representado pela coordenado Profa. Dra. Juliana Ferreira de Moura. Agradeço ao secretário Alexandre, que com muita atenção e paciência ajudou-me sempre que o solicitasse. Ao corpo de Docentes do programa pelos ensinamentos teórico-prático e metodológicos, e pelo apoio na concretização deste trabalho.

À Profa. Dra. Giseli Klassen (UFPR) e a Profa. Dra. Edneia Amâncio S. R. Cavaliere (UFPR), pela oportunidade e abertura para a colaboração na formação.

Aos membros da banca Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal (UFPR), Prof. Dr. Wesley Maurício de Souza (UFPR) e Dra. Elisa Neves Vianna (Ministério da Saúde), pela disponibilidade em contribuírem com a dissertação.

Aproveito o ensejo para congratular a todos os meus colegas do projeto de pesquisa e grandes companheiros pela excelente dedicação durante todo processo, a Andressa Francielli Razoto Taborda, ao Bruno Paulo Rodrigues Lustosa, ao Luiz Eduardo Oliveira Lisboa, a Marielly

Ospedal Batista. Igualmente aos colegas do Programa de Pós-Graduação em especial a Roberta, De Lima, Salvador P. Chaves-Júnior, Léticia Cristina Morelli, Amanda Rodrigues, Patrícia Ribeiro, Amani Abraheem Alsadiq Alyaseer, por compartilharem momentos tão nobres comigo ao longo destes anos.

Agradeço profundamente a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento do projeto, pois só foi possível graças a este, que continue com o incentivo a pesquisa. Agradeço de igual modo ao Instituto de Gestão de Bolsa de Estudos (INAGBE) pela concepção da bolsa augurando a continuidade desta especial missão para a formação de quadros angolanos.

A Universidade de Valência-Espanha, especialmente à Profa. Dra. Carla Muñoz Antoli-Candela e ao Raimundo Seguí López-peñalver pela colaboração incansável, que mais trabalhos conjuntos possam surgir doravante.

Agradeço enormemente as direções das Escolas: Centro Municipal de Educação Infantil (CMEI), Escola Pedro Alberto Costa, Escola Antônio Cavassin, por aceitaram e colaborarem para a concretização do projeto.

Ao Prof. Dr. Euclides Manuel Nenga Sacomboio que desde a graduação tem me acompanhado neste processo de formação contínua e por conceder a oportunidade de estudar no país dos meus sonhos em termos de formação pelas referências que tenho à nível de pesquisa.

UBUNTU: Eu sou porque nós somos (Provérbio africano)

RESUMO

Um dos grandes problemas de saúde pública consiste nas doenças causadas por enteroparasitos, tendo como principais manifestações clínicas dor de barriga e diarreia. Dentre os mais susceptíveis à aquisição, ligada à presença dos parasitos entéricos, destacam-se as crianças em idade escolar. A microscopia óptica é o padrão de referência para o diagnóstico parasitológico de fezes na rotina laboratorial e atualmente métodos moleculares têm sido utilizados como ferramenta para auxiliar no diagnóstico de algumas espécies e traçar diferentes perfis epidemiológicos dos parasitos intestinais. O presente estudo teve como objetivo diagnosticar enteroparasitos em crianças de escolas do município de Bocaíuva do Sul e Colombo, estado do Paraná, Brasil. Para os exames parasitológicos de fezes foi utilizado o método de Ritchie. As amostras positivas para *Giardia duodenalis* e *Blastocystis* spp. foram submetidas à extração do DNA, PCR, purificação, sequenciamento e genotipagem. Das 414 amostras analisadas, 32,4% (134/414) tiveram resultado positivo, totalizando 11 espécies parasitárias. As crianças provenientes de áreas rurais apresentaram maior risco de infecção o que possivelmente estaria associado ao baixo saneamento básico; 32,6% (59/181) foram do sexo masculino. *Blastocystis* spp. foi detectado em 61,2% (90/134), *Endolimax nana* 17,2% (23/134), *Entamoeba coli* 17,2% (23/134), *G. duodenalis* 11,2% (15/134), *Entamoeba hartmanni* 8,2% (11/134), *Iodamoeba bütschilii* 4,5% (6/134), *Trichuris trichiura* 3,7% (5/134), *Ascaris lumbricoides* 3% (4/134), complexo *Entamoeba histolytica* 2,2% (3/134) e *Cryptosporidium* spp. 0,7% (1/134) e *Enterobius vermicularis* 0,7% (1/134). Nos resultados de biologia molecular para *G. duodenalis*, foram caracterizadas as subassembleias BIII e BIV e para *Blastocystis* spp., os subtipos ST1, ST2, ST3, ST4 e ST7. A prevalência geral, somados os dois municípios, foi alta, sendo que, *Blastocystis* spp. foi a espécie parasitária mais frequente e prevalente em crianças das escola de ambos os municípios e o ST7 de *Blastocystis* spp. foi registrado pela primeira vez no estado do Paraná. Portanto o diagnóstico e genotipagem de enteroparasitos (*Blastocystis* spp. e *G. duodenalis*) é importante para avaliar a patogenicidade da infecção bem como a sua rastreabilidade.

Palavras-chave: Exame Parasitológico de Fezes, *Giardia duodenalis*, *Blastocystis*, genotipagem, Paraná, Brasil.

ABSTRACT

One of the major public health problems consists of diseases caused by enteroparasites, the main clinical manifestations of which are belly pain and diarrhea. Among those most susceptible to acquisition, linked to the presence of enteric parasites, school children stand out. Optical microscopy is the reference standard for the parasitological diagnosis of feces in the laboratory routine and currently molecular methods have been used as a tool to assist in the diagnosis of some species and to draw different epidemiological profiles of intestinal parasites. The present study aimed to diagnose enteroparasites in children from schools in the municipality of Bocaúva do Sul and Colombo, state of Paraná, Brazil. For parasitological examinations of feces, the Ritchie method was used. Positive samples for *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* spp. were submitted to DNA extraction, PCR, purification, sequencing and genotyping. Of the 414 samples analyzed, 32.4% (134/414) had a positive result, totaling 11 parasitic species. Children from rural areas had a higher risk of infection, which could possibly be associated with low basic sanitation; 32.6% (59/181) were male. *Blastocystis* spp. was detected in 61.2% (90/134), *Endolimax nana* 17.2% (23/134), *Entamoeba coli* 17.2% (23/134), *G. duodenalis* 11.2% (15/134), *Entamoeba hartmanni* 8.2% (11/134), *Iodamoeba bütschilii* 4.5% (6/134), *Trichuris trichiura* 3.7% (5/134), *Ascaris lumbricoides* 3% (4/134), *Entamoeba hystolytica* 2 complex, 2% (3/134) and *Cryptosporidium* spp. 0.7% (1/134) and *Enterobius vermicularis* 0.7% (1/134). In the molecular biology results for *G. duodenalis*, the subassemblies BIII and BIV and for *Blastocystis* spp., The subtypes ST1, ST2, ST3, ST4 and ST7 were characterized. The overall prevalence, added to the two municipalities, was high, with *Blastocystis* spp. was the most frequent and prevalent parasitic species in children from schools in both municipalities and the ST7 of *Blastocystis* spp. was first registered in the state of Paraná. Therefore, the diagnosis and genotyping of enteroparasites (*Blastocystis* spp. And *G. duodenalis*) is important to assess the pathogenicity of the infection as well as its traceability.

Keywords: Parasitological examination of feces, *Giardia duodenalis*, *Blastocystis* spp., genotyping, Parana, Brazil.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) no mundo.....	23
FIGURA 2 – Municípios prioritários para o “Plano integrado 2011-2015.....	25
FIGURA 3 – Mapa do Brasil ilustrando a localização do estado do Paraná e dos municípios de Bocaiúva do Sul e Colombo.....	40
FIGURA 4 – Atividades educativas (teatros, observação de ovos de helmintos e jogos), realizadas nas escoladas de ambos os municípios.....	43
FIGURA 5 – Atividades educativas (teatros, observação de ovos de helmintos e jogos), realizadas nas escoladas de ambos os municípios.....	44
FIGURA 6 –A: ovos de <i>Ascaris lumbricoides</i> ; B) ovo de <i>Trichuris trichiura</i> ; C) cistos de <i>Entamoeba coli</i> ; D) cisto de <i>Iodamoeba butchili</i> ; E) cisto de <i>Blastocystis</i> spp.; F) cisto de <i>Giardia duodenalis</i>	53
FIGURA 7 – Consistência das fezes analisadas das crianças de escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	55
FIGURA 8 – Mapeamento das espécies parasitárias de acordo a proveniência das crianças de escolas do município de Bocaiúva do Sul.....	56
FIGURA 9 – Mapeamento das espécies parasitárias de acordo a proveniência das crianças de escolas do município de Colombo.....	62
FIGURA 10 – Porcentagens dos genótipos de <i>Blastocystis</i> spp. obtidas de amostras fecais das crianças de escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná.....	67
FIGURA 11 – Eletroforese da amplificação do fragmento de rRNA de SSU de <i>Giardia duodenalis</i>	67
FIGURA 12 – Porcentagens dos genótipos de <i>Giardia duodenalis</i> obtidas de amostras fecais das crianças de escolas dos municípios de Bocaiúva do Sul, Paraná.....	68

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Exame parasitológico de fezes (EPF). Adaptado (HOFFMAN, PONS e JANER, 1934; RITCHIE, 1948; KATZ, COELHO e PELLEGRINO, 1970; PEREIRA e PEREIRA, 1991 e CARVALHO, CARVALHO e MASCARINI, 2006).....	36
TABELA 2 – Procedência das amostras fecais obtidas de crianças vindos de áreas urbanas e rurais das diferentes escolas municipais de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná.....	46
TABELA 3 – Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	52
TABELA 4 – Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças procedentes de áreas rurais e urbanas somados os municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	54
TABELA 5 – Monoparasitismo e multiparasitismo detectados em amostras fecais de crianças procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	58
TABELA 6 – Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças de escolas, de acordo com o sexo, procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	60
TABELA 7 – Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças das escolas, de acordo com a idade, procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	61
TABELA 8 – Características das amostras fecais e frequências de espécies parasitárias de crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	62
TABELA 9 – Dados gerais das crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	63
TABELA 10 – Fatores socioeconômicos de crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).....	65

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AIDS - Acquired Immune Deficiency Syndrome
BS - Bocaiúva do Sul
BG - β -giardina
CAAE - Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Paraná
CAPS - Centro de Atenção Psicossocial
CPQRR – Centro de Pesquisas René Rachou
CDC - Centers for Disease Control
Ct - Cycle Threshold
CEP/SD - Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
CMEI – Centro Municipal de Educação Infantil
CEI – Centro de Educação Infantil
DTNs - Doenças Tropicais Negligenciadas
DNA - Deoxyribonucleic Acid
dNTP - Desoxirribonucleotídeos trifosfatados
ddNTP - Didesoxirribonucleotídeos trifosfatados
EDTA - Ethylenediamine Tetraacetic Acid
EPF - Exame Parasitológico de Fezes
GDH - glutamato deshidrogenase
HIV - Human Immunodeficiency Virus
HPJ - Hoffman, Pons e Janer
HIV - Human Immunodeficiency Virus
IL – Interleucinas
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LV - Leishmaniose Visceral
NCBI - Nacional Center for Biotechnology Information
OMS –Organização Mundial de Saúde
ONU - Organização das Nações Unidas
OPAS – Organização Panamericana de Saúde
PCR - Polymerase chain reaction
Pb – Pares de bases
PR – Paraná
qPCR - Quantitative Polymerase Chain Reaction
RMC – Região Metropolitana de Curitiba
rRNA - Ribosomal ribonucleic acid
SSU - Small Subunit
SUS - Sistema Único de Saúde
ST – Sub Tipo
TCLE-Termo De Consentimento Livre e Esclarecido
TAE - Tris-Acetato-EDTA
Th - T helper
UBS - Unidade Básica de Saúde
UFPR, - Universidade Federal do Paraná
UV – Ultra Violeta

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	15
2- OBJETIVO GERAL.....	20
2.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1 DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS (DTNS)	22
3.2 COEVOLUÇÃO E INTERAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO.....	26
3.3 HELMINTOS GASTROINTESTINAIS DE HUMANOS.....	28
3.4. PROTOZOÁRIOS GASTROINTESTINAIS DE HUMANOS	32
3.5 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE FEZES.....	35
3.6 DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE ENTEROPARASITOS	36
3.7 SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE COMO POLÍTICA PÚBLICA.....	37
4- MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1- ÁREAS DE ESTUDO	39
4.1.1 BOCAIÚVA DO SUL.....	39
4.1.2 COLOMBO	39
4.2 APROVAÇÃO DOS ÓRGÃOS COMPETENTES.....	41
4.3- MÉTODOS DE COLETA DOS DADOS SOCIOECONÔMICOS.....	41
4.3.1- ELABORAÇÃO DO QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO	41
4.3.2- APLICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO	42
4.3.3- ANÁLISE DO QUESTIONÁRIO.....	42
4.4- MÉTODOS DE COLETA DAS AMOSTRAS FECAIS.....	42
4.4.1- CLASSIFICAÇÃO E ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS.....	45
4.4.2- MÉTODO DE RITCHIE.....	45
4.4.3- MÉTODO DE ZIEL NEELSEN MODIFICADO	46
4.5- ANÁLISES MOLECULARES	47
4.5.1- EXTRAÇÃO DO DNA.....	47
4.5.2- REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR).....	48
4.5.3. ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE	49
4.5.4- SEQUENCIAMENTO DE NUCLEOTÍDEOS.....	49
4.6- ANÁLISES DOS DADOS.....	50

5- RESULTADOS	51
5.1. ANÁLISE DAS FREQUÊNCIAS DE ENTEROPARASITOS.....	51
5.2. ANÁLISE GERAL DAS AMOSTRAS E DOS DADOS SOCIOECONÔMICOS.....	59
5.3. GENOTIPAGEM DAS AMOSTRAS POSITIVAS PARA <i>GIARDIA DUODENALIS</i> E <i>BLASTOCYSTIS</i> SPP.	66
6- DISCUSSÃO.....	66
6- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
7. PERSPETIVAS.....	77
9.- REFERÊNCIAS.....	79
APÊNDICE I.....	114
APÊNDICE II.....	117
APÊNDICE III	118
APÊNDICE IV	119
APÊNDICE V.....	120
ANEXO I.....	121
ANEXO II	122
ANEXO III.....	123

1- INTRODUÇÃO

As infecções causadas por protozoários e helmintos intestinais (enteroparasitoses) estão entre as doenças parasitárias mais prevalentes nos países tropicais e subtropicais, constituindo um importante problema de Saúde Pública e configurando-se como uma preocupação socioeconômica mundial (OMS, 2017a). Estima-se que 3,5 bilhões de pessoas estejam acometidas por enteroparasitos e, dessas, 450 milhões apresentam manifestações clínicas (OMS, 2013a). Aproximadamente, 16 milhões de mortes anuais são causadas por infecção atribuídas a parasitos intestinais, onde entre helmintos de importância em saúde pública destacam-se *Ascaris lumbricoides* (lombriga), *Trichuris trichiura* (verme-chicote), *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale* (ancilóstomos); entre os protozoários, *Giardia duodenalis*, *Blastocystis* spp. e *Entamoeba histolytica* são tidos como causadores de óbitos (CROMPTON, 1988; LOZANO, et al. 2012; OMS, 2013a). Segundo Ferreira, Chieffi e Araújo (2012), estes protozoários e/ou helmintos necessitam permanecer no trato digestório, de humanos ou outros animais, ao menos parte de seu ciclo evolutivo. Para que esta interação seja efetiva, da forma como a entende-se na atualidade, houve um longo processo de coevolução e adaptação ao parasitismo (GIESBRECHT, LAMBRIS e RICKLIN, 2008)

As doenças causadas por esses parasitos são muitas vezes denominadas de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), as quais correspondem a um grupo de enfermidades infecciosas que acomete, predominantemente, as populações mais pobres, muitas vezes vivendo em áreas rurais remotas, favelas urbanas ou em zonas de conflito, com pouca voz política e visibilidade social (OMS, 2017b; HOTEZ et al., 2020). As DTNs têm baixas prioridades em saúde pública, por falta de investimentos sólidos e contínuos em pesquisa e desenvolvimento que possam levar a prevenção ou cura, não representando um mercado comercial atraente para que a indústria privada priorize nelas os seus investimentos (OMS, 2009a; WERNECK, HASSELMANN e GOUVÊA, 2011). As mesmas estariam relacionadas diretamente às condições sanitárias extremamente precárias, as quais simbolizam um grande problema de saúde global em países do terceiro mundo. Dentre os acometidos pelas parasitoses, crianças constituem uma parcela da população biologicamente vulneráveis por possuírem um sistema imunológico menos apto a reconhecer e combater estes agentes patogênicos, hábitos de higiene deficiente, ocasionando quadros de diarreia crônica, desnutrição dentre outros agravos (CUERVO, AERTS e HALPERN, 2005; OMS, 2013b; BIANCHINI et al., 2018).

Entre os principais fatores de risco associados às infecções parasitárias estão a falta de saneamento básico, deficientes características sócio-econômico-educacionais, aglomeração de pessoas, o consumo de água não tratada e a contaminação dos alimentos (PAES e SILVA, 1999; LOPES et al., 2006), desigualdades socioeconômicas e desordenado processo de urbanização (FONSECA et al. 2010).

Décadas anteriores à implementação do Sistema Único de Saúde (SUS), a prioridade era resolver os problemas ligados, principalmente, aos ambientes físicos e sociais em que a crianças se encontravam inseridas. Nesta mesma época as taxas de mortalidade e morbidade eram altas e, sobretudo por doenças evitáveis como as infecções parasitárias e bacterianas (YUNES, 1983; PEREIRA e ALBUQUERQUE, 1983; DOS SANTOS, 2010). Acredita-se que a diminuição da mortalidade e morbidade por doenças parasitárias teve grande influência com a adoção de políticas públicas de saúde como o SUS, instituído em 1988. Nesse período pela Constituição Federal (Seção II, da Saúde do Capítulo II, do título VIII da Ordem Social, artigo 196), foi definida a saúde como um direito de todos e dever do estado, garantindo assim mediante políticas sociais e econômicas, a redução de riscos de doenças e de outros agravos, bem como acesso universal e igualitário das ações e serviços para a sua promoção proteção e recuperação (BRASIL, 1988).

O SUS é o principal gestor das infecções por parasitoses intestinais (IPIs), apesar da relação destas com outros setores, como o de saneamento (BRASIL, 2011; OMS, 2020). Segundo a OMS, (2005) o combate às IPIs poderia aumentar a renda per capita em torno de 45% do salário, já que melhoraria a produtividade da população, e interferiria também no melhor rendimento escolar.

Assim, em 2005, 20 anos após a criação do SUS, o Brasil elaborou o “Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses”, que visava reduzir suas morbimortalidade cujas prevalências, em conjunto, estimavam-se, que variavam entre 15 a 80% para os diferentes estados, sendo que estas estavam diretamente ligadas à ocupação social e população alvo (BRASIL, 2005). Uma dessas pesquisas foi realizada por meio de um “Inquérito Nacional de Prevalência de Esquistossomose Mansonii e Geo-helminthoses”, pelo Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz de Minas Gerais, cujo intuito foi realizar 225 mil exames parasitológicos de fezes em crianças das escolas de 7 a 14 anos, de 541 municípios nas 27 unidades da federação, onde observaram uma prevalência que variou de 2 a 17% (CPQRR-FIOCRUZ, 2018).

Devido ao fato de no Brasil os Exames Parasitológicos de Fezes (EPFs) não serem frequentemente realizados na rotina laboratorial e a maioria das espécies parasitárias não serem classificadas como de registro compulsório as estimativas de infecções no país podem ser dúbias, mesmo sendo preconizada a vigilância das mesmas (BRASIL, 2005). Exemplificando, na Região Sul do Brasil, no Estado de Santa Catarina, alguns trabalhos demonstraram que, a prevalência de enteroparasitos em crianças pode variar de 20,5 a 70,5% sendo, que as formas parasitárias (cistos e ovos) comumente encontradas neste estudo, independente dos EPFs, foram de *Giardia duodenalis* e *Ascaris lumbricoides* (QUADROS et al., 2004; BATISTA, TREVISOL e TREVISOL, 2009; BUSNELLO e TEIXEIRA-LETTIERI, 2009). Para o Rio Grande do Sul essa mesma prevalência variou de 10% a 58% (BASSO et al. 2008; CAVAGNOLLI et al. 2015; ANTUNES e LIBARDONI, 2017) onde destaca-se, além daqueles acima citados, *Endolimax nana* que apesar de ser considerada ameba comensal no presente trabalho está descrito como parasito. No Paraná a prevalência foi similar ao encontrado nos outros estados, variando de 11 a 75% (FERREIRA et al., 2004; BUSCHINI et al., 2007). Assim, embora essas estimativas preditem a ocorrência de espécies parasitárias, as mesmas são pontuais e podem variar de acordo com os objetivos do estudo, EPF utilizado, população alvo, entre outros.

Para alguns enteroparasitos, principalmente protozoários, a biologia molecular tem sido utilizada para determinar as diversidades genéticas destes (OISHI et al., 2019; QI et al., 2020). Técnicas moleculares, como a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), vêm se mostrando como ferramentas auxiliares no estudo da patogenicidade e propagação desses parasitos dado ao fato de poderem ser encontrados em distintos hospedeiros e, em alguns casos, sendo espécie-específicos (GHOSH et al., 2000; NOËL et al., 2003). Por exemplo, a assembleia B de *G. duodenalis* tem sido associada a humanos, gatos e cachorros (COELHO et al., 2017; CACCIÒ, LALLE e SVÄRD, 2018) e sobretudo a subassembleia BIV, tem sido descrita como a mais prevalente entre as 8 (oito) conhecidas (COLLI et al., 2015; MATSUCHITA et al., 2017; QI et al., 2020), tendo como principais sintomas a diarreia, perda de apetite e dor abdominal (KOHLI et al., 2008; CODREAN et al., 2019). Quanto aos subtipos de *Blastocystis* spp., a maior prevalência tem sido associada aos subtipos ST1, ST3 e ST4 (SEYER et al. 2017; BARBOSA et al. 2018; OISHI et al. 2019) e, apesar da controvérsia sobre as ações patogênicas, estudos comprovaram a associação entre de *Blastocystis* spp. com diarreia, dor abdominal e síndrome do intestino irritável (DOGRUMAN et al., 2009; STENSVOLD et al., 2011; SEGUÍ et al., 2017; AHMED e

KARANIS, 2018) e os mesmos têm sido relatados em distintos hospedeiros, como humanos, cachorros e ruminantes (BARBOSA et al., 2018).

Na Região Metropolitana de Curitiba (RMC) há poucos estudos sobre a prevalência de enteroparasitos (ALMEIDA et al., 1955; COELHO et al., 1975; OGLIARI e PASSOS, 2002; OISHI et al., 2019) que de forma geral relatam que as mesmas podem variar de de 24,8 a 89,7%, com destaque para a detecção de formas parasitárias de *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, *E. coli* e *Blastocystis* spp. A ampliação de estudos para esta região poderá fornecer dados para comporem estratégias de vigilância epidemiológica das enteroparasitoses.

Dentre os municípios que compõem a RMC encontram-se Bocaiúva do Sul e Colombo. O primeiro dista 40 km de Curitiba. No local existem três unidades básicas de saúde, uma clínica especializada, um consultório, um Hospital Geral e uma unidade móvel pré-hospitalar, onde as internações devido a diarreias são de 0,2 para cada 1.000 habitantes (IBGE, 2017). O município de Colombo dista 21,3km da capital. Quanto ao sistema de saúde, o município conta com 35 estabelecimentos de saúde do SUS. As taxas de internação, devido a diarreias, são de 0,4 para cada 1.000 habitantes (IBGE, 2017).

Como mencionado anteriormente os quadros de diarreia podem estar associados à presença de protozoários e helmintos, porém até o momento não há estudos realizados nesses municípios. Para fornecer os primeiros dados sobre enteroparasitoses na região, essa pesquisa foi realizada de 2017 a 2019 avaliando fatores socioeconômicos (BARBOSA et al., 2017) para determinar possíveis fatores de risco. Cabe destacar que a região e fatores socioeconômicos já foram apontados como influentes na prevalência desses enteroparasitos (COLE et al., 2009; DAMÁZIO, SOARES e SOUZA, 2016). Como forma de investigação de espécies parasitárias foi utilizado o EPF. Embora o padronizado na rotina clínica e comumente utilizado em pesquisas, sejam os métodos de Hoffman, Pons & Janer (HPJ), Faust e Kato-Katz (SCOLARI et al., 2000; BOSQUI et al., 2015; BARBOSA et al., 2018; MENEZES et al., 2018), optou-se pelo método de Ritchie por apresentar maior sensibilidade e especificidade em relação àqueles outros (AZEVEDO et al., 2017) que, segundo Alarcón et al. (2007), sofrem interferência do uso de água podendo levar a um subdiagnóstico. Somado a isso foi utilizada a técnica de Ziehl-Neelsen por ter maior sensibilidade para detecção de oocistos que não é possível observar pelos métodos convencionais, que utilizam o Lugol (DE CARVALHO, CARVALHO e MASCARINI, 2006).

A necessidade de genotipagem de algumas espécies (SCILUNA, TAWARI e CLARK, 2006; SHAKER et al., 2019) que são indistinguíveis microscopicamente (KOLTAS et al., 2017) é fundamental visto que podem infectar tanto humanos quanto outros animais (HERNÁNDEZ et al., 2019), cujas manifestações clínicas estariam associadas às variações na virulência do parasito (LALLE et al., 2005; SEGUÍ et al., 2017) além de permitir inferências sobre a distribuição geográfica das espécies (KOHLI et al., 2008). Para tal, métodos moleculares vêm sendo empregados, principalmente em pesquisas.

2- OBJETIVO GERAL

Diagnosticar enteroparasitos em crianças de escolas do município de Bocaíuva do Sul e Colombo.

2.1- Objetivos específicos

- A) Determinar e analisar a prevalência de espécies parasitárias nas populações alvo (crianças das escolas de ambos municípios);
- B) Identificar e descrever os possíveis fatores socioeconômicos que interferem na presença de enteroparasitos nas populações alvo;
- C) Caracterizar molecularmente *Blastocytis* spp. e *Giardia* spp., encontradas nas amostras dos crianças das escolas avaliadas.

3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, (OMS, 2002), as enteroparasitoses acometem, sobretudo, populações com hábitos de higiene deficitários, e com dificuldades de saneamento básico. Como consequências surgem problemas como desnutrição, diarreia e atraso no desenvolvimento físico e cognitivo. As crianças são as mais vulneráveis devido aos hábitos de levar objetos à boca, principalmente em contato direto com o solo ao brincar (ABERA e NIBRET, 2014).

Segundo Biasi et al. (2010), no Brasil, o clima tropical e subtropical, favorece a disseminação de parasitos, uma vez que temperaturas elevadas e umidade são condições ideais para que o ciclo de alguns helmintos se complete. A detecção das infecções parasitárias está relacionada com condições de saneamento básico deficiente, baixo nível socioeconômico, cultural e de higiene. Entre as espécies de protozoários intestinais patogênicas que geram preocupação com potencial de transmissão por contato direto (pessoa-a-pessoa) estão *E. histolytica*, *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. Nas espécies *Cystoisospora belli* e *Cyclospora cayetanensis*, os oocistos (eliminados nas fezes) necessitam de um período de maturação extrínseca para se tornarem infectantes quando liberados (HERWALDT, 2001) sendo que, no total, somente *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. são responsáveis por 1,7 bilhão de casos de diarreia por ano (EFSTRATIOU et al., 2017).

As geohelmintoses são causadas por helmintos (“vermes”) intestinais cujo ciclo biológico ocorre parcialmente no solo, com condições propícias de temperatura, umidade, pH, entre outros. *A. lumbricoides*, *T. trichiura* ocorrem, sobretudo em áreas periurbanas e urbanas; *A. duodenale*, *N. americanus* e *Strongyloides stercoralis* ocorrem com maior prevalência em áreas rurais (PULLAN e BROOKER, 2012; BRASIL, 2018). Segundo a Organização Pan Americana da Saúde, (2018), a OMS estima que a nível mundial cerca de 820 milhões de pessoas estejam infectadas por *A. lumbricoides*, 460 milhões por *T. trichiura*, 440 milhões por ancilostomídeos (BRASIL, 2018) e 100 milhões por *S. stercoralis* (BETHONY et al., 2006). Estas espécies parasitárias podem estar presentes em locais públicos como praias, parques e praças (DE SOUZA, MAMEDE-NASCIMENTO e SANTOS, 2007; NOORALDEEN, 2015; LEON et al., 2019) e a infecção pode ocorrer através da ingestão de ovos larvados ou penetração de larvas filarióides na pele (BETHONY et al., 2006).

3.1 DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS (DTNs)

As DTNs são causadas por um grupo de vários patógenos transmissíveis (vírus, bactérias, protozoários e helmintos e artrópodes), que incidem em cerca de 149 países de clima tropical e subtropical, entre eles o Brasil (OMS, 2013; 2016). Os continentes mais acometidos são: África, da América do Sul, América Central e Ásia. Atualmente, o registro de algumas dessas DTNs em países desenvolvidos está associado ao grande fluxo migratório internacional devido à crise econômica mundial e guerras nos últimos anos (DUJARDIN et al., 2010; ADAMS et al., 2012; OMS, 2013, BLOOD-SIEGFRIED et al., 2015).

Embora essas enfermidade variem de país para país, de 2009 à 2013, foi estabelecida uma lista de 17 DTNs consideradas como prioritárias: esquistossomose, dengue, doença de Chagas, leishmanioses, hanseníase, filariose linfática, oncocercose (cegueira dos rios), cisticercose, helmintíases transmitidas pelo solo (ascaridíase, tricuriase e ancilostomíase), tracoma, raiva, úlcera de Buruli (infecção por *Mycobacterium ulcerans*), dracunculíase (doença do verme-da-guiné), treponematose endêmicas, tripanossomíase africana (doença do sono), equinococose e trematódeos transmitidas por alimentos (OMS, 2009, 2013). Em 2017, a 10^a reunião do Grupo Consultivo Estratégico e Técnico para Doenças Tropicais Negligenciadas recebeu propostas para a adição das seguintes doenças: micetoma, cromoblastomicose e outras micoses profundas, envenenamento por acidentes com serpentes, boubá, escabiose e outras ectoparasitoses (OMS, 2017c, 2019) (**Figura 1**). De forma geral, essas doenças são vistas como negligenciadas, pois há falta de compromisso das empresas farmacêuticas no desenvolvimento de insumos e pouco investimento para combatê-las onde são endêmicas. Destaca-se ainda que os valores globais gastos pelos países desenvolvidos para “eliminação” das mesmas são insuficientes e não representam um mercado comercial atraente para que a indústria privada priorize nelas os seus investimentos (REMME et al., 2006; CONTEH, ENGELS e MOLYNEUX, 2010). As DTNs, acometem mais de 1 bilhão de pessoas vivendo com menos de US\$ 2 por dia que residem em áreas rurais, periurbanas e urbanas, além de regiões de conflitos. Estão associadas à falta de saneamento básico, com dificuldades de fornecimento de água potável e acesso aos serviços de saúde, estando a população em contato permanente com esses patógenos (HORTEZ et al., 2007; OMS, 2013, 2016). Outros autores elencam que as DTNs provocam muito mais incapacidades total ou parcial do que mortalidade, estigmatização social, caracterizada por longos períodos de

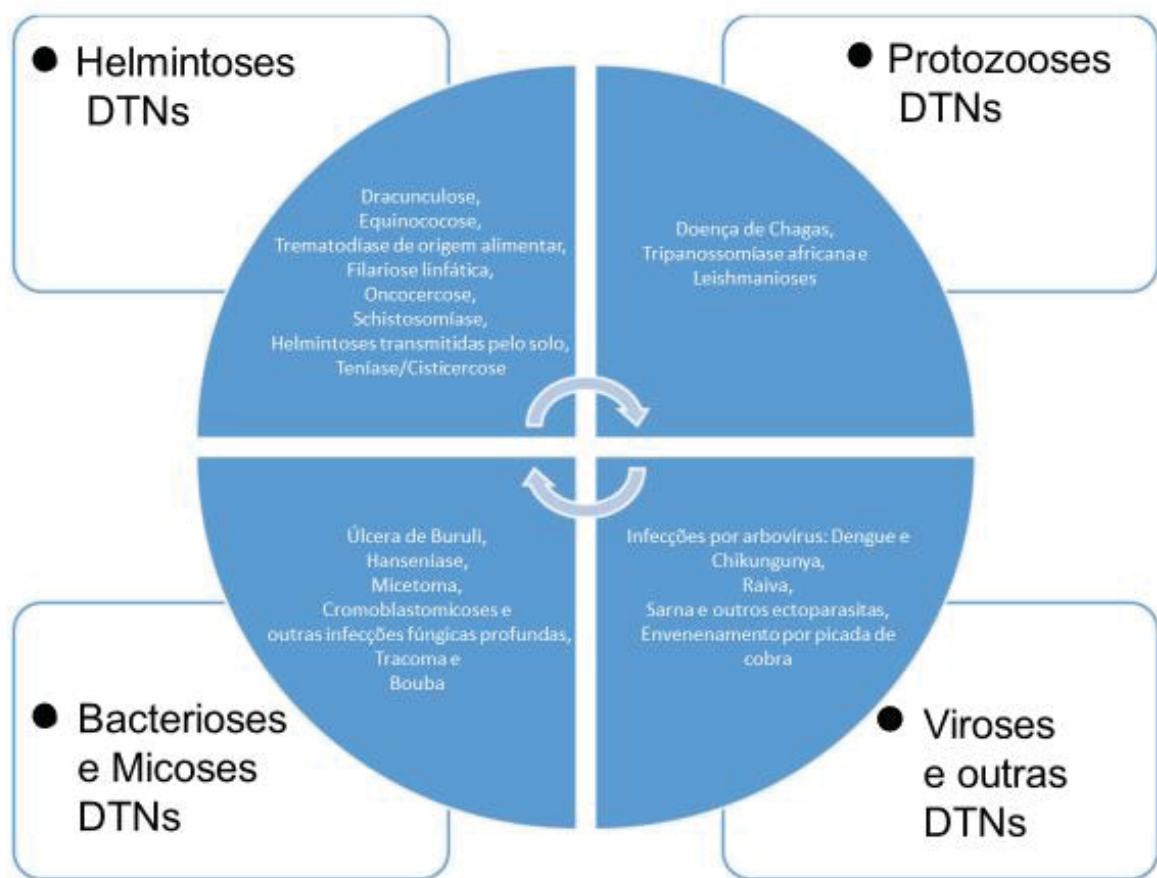


Figura 1: Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) no mundo (Fonte: adaptado da OMS, 2019).

sofrimento e muitas vezes a perda de vida útil, aumentando os níveis de pobreza (HORTEZ et al., 2006; CONTEH, ENGELS E MOLYNEUX, 2010; OMS, 2010).

Em média, de 2003 a 2007, foram doados de US\$ 8,73 a 14,38 bilhões como valor mundial de combate a todas as doenças. Desse total somente 0,6% foi investido nas DTNs (OMS, 2017), um valor muito inferior quando comparado aos programas de controle do HIV/AIDS (36,3%), da malária (3,6%) e da tuberculose (2,2%), que são as 3 (três) grandes doenças, mostrando pouca atenção por parte dos países que compõe o Comitê de Apoio ao Desenvolvimento e dos doadores multilaterais aos projetos de controle de DTNs (LIESE e SCHUBERT, 2009).

A OMS e os países-membro da Organização das Nações Unidas (ONU), em 2015 assinaram um pacto com objetivos de acabar com algumas epidemias como tuberculose, malária HIV e as demais DTNs até 2030 num relatório chamado “Accelerating progress on HIV, tuberculosis, malaria, hepatitis and neglected tropical diseases” (OMS, 2015). A eliminação dessas doenças como problema de Saúde Pública pode ser alcançada, desde que haja investimentos em pesquisas, aliada a educação em saúde e a ampliação de coleta e tratamento de esgoto sendo que o controle das DTNs poderá contribuir significativamente para redução da pobreza (CONTEH, ENGELS e MOLYNEUX, 2010; OMS, 2010).

No continente Americano as DTNs destacam-se como grandes problemas de saúde pública. No Brasil, as DTNs com maior prevalência são: leishmaniose visceral, leishmaniose tegumentar americana, malária, dengue, doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, sobretudo em algumas áreas rurais das regiões norte e nordeste (BROOKER, BETHONY e HOTEZ, 2004; LINDOSO e LINDOSO, 2009; MARTINS-MELO, RAMOS JÚNIOR, e HEUKELBACH, 2016). São causas de 5,67 óbitos/100.000 habitantes, com uma associação positiva com a falta de urbanização, migração, desemprego e saneamento básico (MARTINS-MELO, RAMOS JÚNIOR e HEUKELBACH, 2016).

O Sistema de Informação de Mortalidade, no período de 1996 à 2009, registrou cerca de 563 óbitos por geohelmintos, desses 52,4% era por *A. lumbricoides*, 10 por *Ancylostomatidae* e 1 por *T. trichiura* (BRASIL, 2011). O Ministério da Saúde traçou o “Plano integrado 2011-2015, de ações estratégicas de eliminação de hanseníase, filariose, esquistossomose, oncocercose, geohelmintoses e tracoma” utilizando como estratégias a localização dos casos ativos das doenças (**Figura 2**), e realização do tratamento oportuno e em massa, onde foi possível alcançar

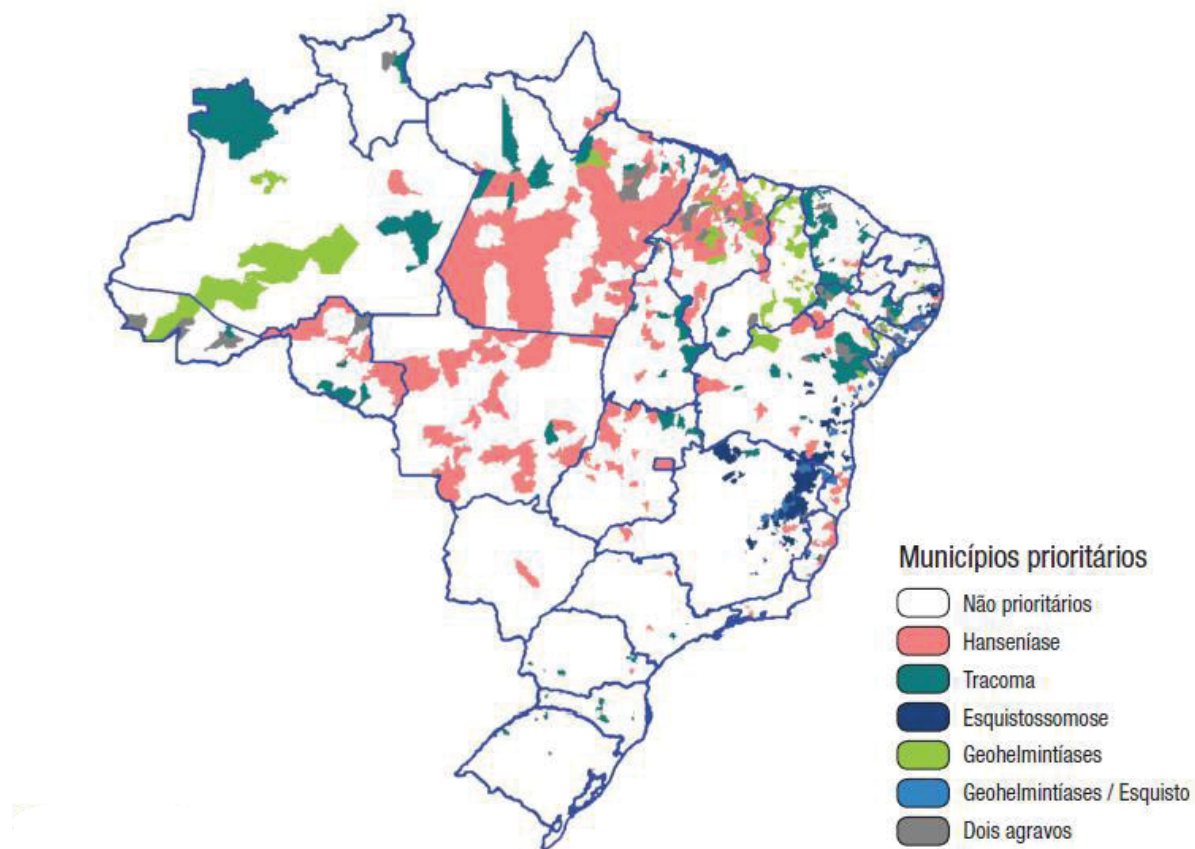


Figura 2: Municípios prioritários para o “Plano integrado 2011-2015, de ações estratégicas de eliminação de hanseníase, filariose, esquistossomose, oncocercose, geohelmintoses e tracoma” (Fonte: Sinan/SVS-MS, 2012).

os seguintes resultados: hanseníase com 34.894 casos detectados o que corresponde a 18,2/100.000 habitantes; microfilarêmicos, em algumas regiões como Recife, a prevalência foi de 1%; esquistossomose (8%) e quanto as geohelmintoses as prevalências variaram entre 2 à 36% (BRASIL, 2012). Após o plano integrado de ação, os dados de 2015, mostraram uma diminuição dos casos de esquistossomose para 4,5% (BRASIL, 2014), hanseníase para 25.218, e desde 2014 que não são registrados casos de filariose linfática na fase aguda. Quanto à geohelmintoses não houve alteração nas prevalências (BRASIL, 2017b, 2018).

Com o intuito de fortalecer e qualificar ações em temas de pesquisa considerados prioritários para o SUS, em 2010, o Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2010) publicou um compilado dos grandes editais temáticos na área da DTNs, onde de 2003 a 2009 foram aplicados R\$ 82.445.000 no combate às mesmas. Desse montante R\$ 39.000.000 (40%) foram destinados às DTNs (incluindo hanseníase, malária, tuberculose e dengue), que receberam, anteriormente, investimentos em editais específicos. Assim, embora esse valor pareça alto cabe ressaltar que esse investimento contempla, além das acima mencionadas, mais de 15 DTNs, e possivelmente, priorizando aquelas como elevadas mortalidades como a leishmaniose visceral, doença de Chagas e esquistossomose. Assim fica uma pergunta: o quanto foi investido na busca de alternativas de controle, diagnóstico e tratamento das geohelmintoses?

3.2 COEVOLUÇÃO E INTERAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO

A paleoparasitologia é um ramo da paleopatologia, que se encarrega da pesquisa de formas parasitárias em material arqueológico (RUFFER, 1921). Tem-se demonstrado a presença de espécies parasitárias em coprólitos e outros materiais orgânicos mumificados, sugerindo que essa relação ecológica (parasitismo) seja consequência de processos migratórios, surgimento de agricultura, domesticação de animais e contaminação ambiental (FERREIRA, REINHARD e ARAÚJO, 2011). A pesquisa era feita usando conteúdo de cólon, de coprólitos (fezes dessecadas) e de solos de latrinas (REINHARD et al., 1988). No início do século XX, em 1910, foi utilizada a técnica de reidratação de 6 (seis) tecidos de múmias da 20ª dinastia do Egito datadas de 3.200 anos, onde observou-se ovos calcificados de *Schistosoma haematobium* nos rins de 2 (duas) múmias com lesões renais (RUFFER, 1910).

Na América do Norte e do Sul, já foram encontrados ovos de *Necator*, *Ancylostoma* e *Trichuris* em múmias e coprólitos. Populações pré-colombianas na América do Sul, datadas de mais de 13 mil anos, comprovam que infecção humana por esses parasitos ocorreu antes da migração via Beringia, visto que os mesmos não suportariam o clima frio daquela região (GONÇALVES, ARAÚJO e FERREIRA, 2003; ARAÚJO et al., 2008).

O estudo de vestígios de parasitos em humanos na paleoparasitologia pode ser desenvolvido como nova ferramenta para trazer informações sobre origem (hospedeiro, local, parasitos), histórico da relação parasito-hospedeiro, sua distribuição ao longo do tempo e sobre migrações pré-históricas (ARAÚJO e FERREIRA, 2000; GONÇALVES, ARAÚJO e FERREIRA, 2002). A forma clássica de diagnóstico consiste no exame microscópico de um fragmento do coprólito, de forma simples e pouco dispendiosa, avaliando os aspectos morfológicos, e a presença de restos alimentares, procurando-se identificar a origem zoológica. Retira-se um fragmento do coprólito, caso esteja preservado por dessecação e reidrata com solução aquosa de fosfato trissódico (Na_3PO_4) a 0,5% por 72 horas (GONÇALVES, ARAÚJO e FERREIRA, 2002). Em caso de coprólito mineralizado utiliza-se ácido clorídrico à 10% que dissolve o carbonato de cálcio, liberando alguns ovos e aplica-se o método de sedimentação espontânea. Os ovos encontrados são tabelados para comparações morfométricas no sentido de identificar a espécie de parasito e confirmar sua origem (REINHARD et al., 1988). Os cistos de protozoários raramente são observados em coprólitos mineralizados (FERREIRA et al., 1992) e ocasionalmente, dado ao processo de calcificação, sua detecção se torna inviável, dificultando a observação de cisto e o conseqüente registro de um patógeno/doença (WILLIAMS, 1985).

A biologia molecular e as técnicas de imunoensaios foram aplicadas em paleoparasitologia para permitir a recuperação de espécies parasitárias, bem como o diagnóstico de infecções passadas em humanos e outros hospedeiros (SANTORO, VINTON e REINHARD, 2003). O estudo de sequências de DNA de parasitos encontrados em tecidos mumificados e coprólitos datada de 1.000 anos atrás, recuperadas de material arqueológico, pode ser uma importante fonte de informação para coevolução parasito-hospedeiro e filogenética. A análise de ácidos nucléicos de parasitos em paleoparasitologia molecular permite estudar a relação parasito-hospedeiro, ao longo do tempo, onde pôde ser feito o rastreamento da dispersão de ambos nos continentes abrindo novas perspectivas para estudos sobre evolução a nível molecular (ARAÚJO e FERREIRA, 2000; GONÇALVES, ARAÚJO e FERREIRA, 2002). Recentemente foram

identificadas sequência de DNA de *Leishmania tarentolae* na medula óssea e intestino de múmia, datada a mais de 300 anos, procedente do período colonial em Minas Gerais (NOVO et al., 2015). Algumas espécies de parasitos que infectam humanos (*Homo sapiens*) foram herdadas por contatos com os pré-hominídeos já, outras foram por contaminação ambiental (ARAÚJO et al., 2013). Essa interação é um fator fundamental para a modelação, transmissão e manutenção de formas parasitárias, que pode ser mediada pelo sistema imunológico do hospedeiro (PEDERSEN e FENTON, 2007; ULRICH e SCHIMID-HEMPEL, 2012).

Outro fator de interação é a coinfeção (presença de mais de uma espécie de parasito-multi ou poliparasitismo) que poderá determinar a aptidão do hospedeiro, favorecendo o grau de virulência, e a consequentemente contaminação ambiental e a epidemiologia da doença (LELLO et al., 2004). A frequência dos parasitos depende da interação da tríade epidemiológica: hospedeiro, parasito e meio ambiente (CHIEFFI e NETO, 2003). Ao longo desse processo de interação o parasito desenvolveu mecanismos de resistência ao sistema imunológico do hospedeiro e os mecanismos de escape vinculados a transformações moleculares, bioquímicas e imunológicas ao longo do ciclo de vida, visando regular a resposta imunológica o que pode levar ao aumento da virulência (FEREI, 2008; SCHMID-HEMPEL, 2009). Entretanto, nem sempre essa evasão leva ao aumento; no caso dos helmintos a evasão leva à regulação da reação inflamatória (SCHIERACK et al., 2003). A coevolução levou ao parasito desenvolver mecanismos de evasão, para evitar múltiplos ataques do hospedeiro que é determinante para sua sobrevivência (GEISBRECHT, LAMBRIS e RICKLIN, 2008). De acordo com a literatura esta interação é mediada, sobretudo pelos eosinófilos, macrófagos e células Th2 que incluem células inatas que respondem ou secretam as citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 (ROTHENBERG e HOGAN, 2006; NUSSBAUM et al. 2013).

3.3 HELMINTOS GASTROINTESTINAIS DE HUMANOS.

A maioria dos helmintos apresentam ciclos de vida complexos, podendo requerer mais de um hospedeiro para completá-los. Para desenvolverem o potencial infectante, necessitam obrigatoriamente de um período no solo que podem durar dias ou semanas com condições adequadas, principalmente, de temperatura e umidade (GEISSLER et al., 1998). Mais de 1,5 bilhões de pessoas ou 24% da população mundial estão infectadas, com uma maior distribuição

entre as áreas tropicais e subtropicais. O crescimento desordenado das cidades, a desigualdade socioeconômica como o saneamento básico, e hábitos de higiene, favorecem a transmissão e agravos fazendo com que algumas regiões do Brasil tenham maior prevalência (FERREIRA e ANDRADE, 2005; BRASIL, 2016).

As manifestações clínicas variam conforme a carga parasitária, imunidade do hospedeiro e idade, podendo provocar diarreia, má absorção intestinal, obstrução intestinal, colite, anemia e desnutrição (OMS, 2016). Os nematóides mais comuns em humanos são *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, *A. duodenale*, *N. americanus* e *S. stercoralis*. Entre os cestóides destacam-se *Hymenolepis nana*, *Taenia saginata* e *T. solium* (BETHONY et al., 2006; AMOAH et al., 2017). São mundialmente considerados uma das causas mais importantes do retardo no desenvolvimento físico e mental, além de poderem levar a quadros de dor abdominal e fraqueza (BETHONY et al., 2006; STRUNZ et al., 2014; OMS, 2017a).

A ascaridíase é uma parasitose normalmente assintomática, causada por ingestão de ovos larvados (L3) de *A. lumbricoides*, entretanto pode causar problemas extra-intestinais levando a complicações biliares ou pancreáticas (SILVA, CHAN e BUNDY, 1997). Em casos crônicos pode causar desnutrição, dificuldades de absorção de gorduras, vitaminas e intolerância temporária à lactose. A alta carga parasitária está associada ao risco de obstrução intestinal e crianças de até 10 anos são as mais vulneráveis (HOLCOMBE, 1995; SILVA, CHAN e BUNDY, 1997; OMS, 2002). É considerado um dos principais geohelminhos nas DTNs pela OMS, altamente prevalente em áreas rurais e urbanas (HOLCOMBE, 1995; HOTEZ et al., 2008), de regiões tropicais e temperadas como África Subsaariana, Américas, China e Leste Asiático (OMS, 2006). Segundo Pullan et al. (2014), no mundo cerca de 819 milhões de pessoas estão infetadas por *A. lumbricoides*, na maioria no continente asiático. No Brasil, a prevalência varia de estado para estado, sendo que a média é de 13,7% (BRASIL, 2012).

Assim como para a ascaridíase, a tricuriíase é uma parasitose causada por ingestão de ovos larvados (L3) de *T. trichiura* popularmente conhecido por verme-chicote (OMS, 2013a). Associada a diversos fatores, inerentes ao hospedeiro, parasito e ambiente, pode provocar diarreia, síndrome disentérica, reduzindo a absorção de ferro, conseqüentemente, a anemia e baixa taxa de crescimento, (OMS, 2002, 2019a) e em alguns casos leva ao prolapso retal (COOPER e BUNDY, 1988; HERNÁNDEZ et al., 2014), onde este quadro pode agravar-se em pacientes imunocomprometidos (SOLOMONS, 1993). Faz parte do grupo das geohelminthoses

com distribuição semelhante à de *A. lumbricoides* (OMS, 2006). A prevalência global da doença é estimada em 465 milhões de casos (HOTEZ et al., 2014) e no Brasil a prevalência varia de 0,1 a 20,9% (BRASIL, 2012b).

No ser humano, a ancilostomíase é uma parasitose causada por um grupo de patógenos hematófagos (*A. duodenale* e *N. americanus*), transmitidas pelo contato com o solo (pés descalços) em presença da larva (L3), causando dermatite característica da infecção (OMS, 2002; BETHONY et al., 2006; BRASIL, 2010), em alguns casos por ingestão de larva (L3) de *A. dueodenale* (SANTOS, NHANTUMBO e ALHO, 2013). A morbidade depende da quantidade de parasito que o indivíduo alberga, sendo que normalmente tende a ser assintomática. Quando presentes os sintomas são comuns às outras helmintíases, como diarreia e dor abdominal. A principal característica da infecção é a perda de sangue intestinal resultando em anemia (ferropriva), hipoproteinemia e tem sido descrita como uma das causas da desnutrição e atraso no desenvolvimento físico e cognitivo, sobretudo em crianças, apesar de infectar também outras idades (BRASIL, 2010; LWANGA, KIRUNDA e ORACH, 2012; OMS, 2017c, 2019a). A prevalência global da doença é estimada em 439 milhões de casos, ocorrendo com maior frequência em áreas rurais (HORTEZ et al., 2014) da Ásia, América Latina e África subsaariana (BROOKER, BETHONY e HOTEZ, 2004). No Brasil os registros apontam uma variação de prevalência de 0,3 a 25,1% (BRASIL, 2012b).

Estrongiloidíase também é transmitida por infecção ativa (penetração da Larva L3), também classificada como geo-helmintose e cujo agente etiológico, capaz de infectar o ser humano, é *S. stercoralis* (OLSEN et al., 2009; BRASIL, 2010). Destaca-se entre as helmintoses por causar hiperinfecção, autoinfecção interna ou externa através da migração das larvas, nos casos não tratados e em imunosuprimidos, resultando em importante problema de saúde dentro das DTNs (GOTUZZO et al., 1999; PAULA e COSTA-CRUZ, 2011; NAVES e COSTA-CRUZ, 2013). Apresenta uma ampla distribuição geográfica, por países da África, América do Sul, América Central, Ásia, Austrália, incluindo América do Norte e Europa (SCHÄR et al., 2013; WINNICKI et al., 2018). Geralmente em baixa taxa de infecção tende a ser assintomática ou pode apresentar os seguintes sintomas: dor abdominal, flatulência, náusea, vômitos e dor epigástrica (BRASIL, 2010). A doença acomete, sobretudo, idosos (agricultores) (TENZA et al., 2018). A nível mundial a parasitose acomete entre 10 a 40% sobretudo nas regiões tropicais e

subtropicais podendo chegar até a 60% (SCHÄR et al., 2013). No Brasil a prevalência varia de 21,7% a 29,2%, (PAULA e COSTA-CRUZ, 2011).

Embora não seja uma geohelmintose e, conseqüentemente, não classificada como uma DTN a enterobiose ou Oxiúriase é uma enteroparasitose muito comum em crianças em idade escolar (CHEN et al., 2018). É causada pelo helminto *Enterobius vermicularis*, exclusivo para humanos, sendo normalmente assintomática. Entretanto em alguns casos pode provocar prurido anal, sobretudo no período noturno devido a migração da fêmea grávida para a região perianal e posterior oviposição e movimentação das larvas, que o leva ao desconforto e perda de sono (ARAÚJO e FERREIA, 1995; ZOUARI et al., 2018; KANG e JEE, 2019). A transmissão pode ocorrer tanto por via oral – fecal quanto por inalação de ovos (GONÇALVES, ARAÚJO e FERREIRA, 2003). A sua prevalência a nível mundial é consideravelmente alta em crianças (HEIDARE e ROKNI, 2003) e ao contrário dos outros helmintos, não está confinada aos países tropicais e subtropicais, com maior incidência na Europa e América do Norte independentemente do saneamento básico (VLEESCHOUWERS et al., 2013). No Brasil não existem estudos atuais sobre a prevalência a nível nacional, contudo alguns trabalhos consultados em alguns estados demonstraram que a prevalência varia de 2, 0,7 e 7, 3%, Paraná, Rio de Janeiro e São Paulo, respectivamente (FONSECA, BARBOSA e FERREIRA, 2017; BARBOSA et al., 2018; MEIGA et al., 2018).

Outros helmintos de importância em Saúde Pública pertencem ao grupo dos Platyhelminthes. Entre estes, destacam-se as espécies *T. solium* e *T. saginata* que são patógenos que pode infectar humanos seja por ingestão de ovos ou de larvas (cisticercose de *T. solium*) especialmente verduras contaminadas e através de carne crua ou mal cozida, respectivamente. A ingestão dessas formas parasitárias pode levar a duas manifestações clínicas, conhecidas como cisticercose (larva em músculos ou sistema nervoso e globo ocular) (PRASAD et al., 2009; DERMAUW et al., 2019) ou teníases (helminto adulto intestinal) (BRASIL, 2012; OMS, 2019a). A infecção por formas adultas tende a ser assintomática na maioria dos casos. Os sintomas da cisticercose/neurocisticercose podem incluir dor de cabeça intensa, epilepsia e cegueira (OMS, 2019a). A cisticercose/neurocisticercose é endêmica a nível mundial, com principal destaque para América latina, Ásia, África subsaariana, Europa e Estados Unidos da América (GARCIA et al., 2003; FLISSER et al., 2003; OMS, 2019a), acometendo entre 2,56 a 8,30 milhões de pessoas (OMS, 2015), com uma prevalência de 29% segundo Ndimubanzi et al. (2010). No Brasil, devido

a ausência de estudo de coorte fica difícil estimar essa prevalência embora segundo Martins-Melo et al. (2017) a taxa de mortalidade, diminuiu significativamente, para - 4,7% anual de 2001-2011, com diminuição nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, embora haja tendência de aumento para o Norte e Nordeste.

No Brasil, apesar da maioria dos casos estarem associadas à populações que residem em áreas onde o saneamento básico é precário, e o Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é baixo (BRASIL, 2017), nota-se uma redução na prevalência de helmintoses (MARTINS; CARDOSO e COUTO, 2014; REBOLLA et al., 2016; SANTOS et al., 2017; SEGUÍ et al., 2018). Segundo o Plano de Ação estabelecido pela OPAS, os objetivos e as prioridades gerais para o combate das geohelmintoses podem ser alcançados por meio dos programas que visam a prevenção, o controle e a redução da carga destas infecções, ou seja, através da Educação em Saúde. Outrossim, tratando de forma preventiva as populações que residem em áreas de alta prevalência, sobretudo as crianças em idade escolar por se tratar de um importante grupo de risco (BRASIL, 2018).

3.4. PROTOZOÁRIOS GASTROINTESTINAIS DE HUMANOS

A infecção por protozoários ocorre, principalmente, pela rota fecal-oral, seja diretamente (por exemplo, contato pessoa a pessoa ou animal a pessoa) ou indiretamente através da ingestão de água ou alimentos contaminados com as formas císticas ou oocísticas (infectantes) viáveis dos parasitos que se desencistam durante a passagem pelo trato gastrointestinal. Os trofozoítos são as formas móveis e ativas (patogênicas) dos protozoários que colonizam a luz da mucosa intestinal (CORRALES, IZURIETA e MOE, 2006; XIMÉNEZ et al., 2009). Dentre estes se destacam as espécies pertencentes aos gêneros *Entamoeba*, *Giardia*, protozoários coccídios do Filo Apicomplexa e *Blastocystis* (FRIESEN et al., 2018; HEMPHILL, MÜLLER e MÜLLER, 2019). De forma geral a prevalência desses protozoários varia de país para país, e de acordo com o método de diagnóstico utilizado.

Em coproparasitologia, o termo ameba engloba espécies pertencentes ao gênero *Entamoeba*, *Endolimax* e *Iodamoeba*. O gênero *Entamoeba* agrupa diversas espécies, seis das quais (*E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. polecki*, *E. coli* e *E. hartmanni*) podem ser encontradas no lúmen do intestino grosso dos humanos. *Entamoeba histolytica* é a única espécie

associada à infecção/doença nos humanos, as outras espécies são consideradas como não-patogênicas (PETRI et al., 2000; SARD et al., 2011; KIKUCHI et al., 2013). De acordo com Poulsen e Stensvold (2016), *E. nana* em caso de desregulação da microbiota intestinal pode ocorrer um crescimento da mesma no qual ocasiona desconforto gastrointestinal. Lozano et al. (2012) em 2010 relataram 55.500 mortes foram causadas por amebíase em todo o mundo sendo a segunda principal causa de morte por protozooses (após criptosporidiose). A infecção por amebas inicia-se com a ingestão de cistos em água ou em alimentos contaminados. No intestino delgado, passa pela fase de encistamento e os trofozoítos emergem colonizando o intestino grosso e aderem à mucosa do cólon (LUNA-NÁCAR et al., 2016). A espécie *E. histolytica* pode secretar proteinases que dissolvem tecidos hospedeiros, matando células hospedeiras permitindo que os trofozoítos invadam a mucosa intestinal, causando colite amebiana, em alguns casos invadir a mucosa e submucosa intestinal, atingir circulação e causar abscesso hepático (STANLEY, 2003; ALI, 2015). No México a amebíase figura entre a quinta ou sexta das 20 principais causas de doenças todos os anos (XIMÉNEZ et al., 2009). Na Colômbia a prevalência de amebíase varia em torno de 18,8% (LÓPEZ et al., 2015), e no Equador a mesma é superior ao dobro, sendo de 41% (LEVECKE et al., 2011). No Brasil, segundo os resultados de Biolchi et al. (2015), no estado de Santa Catarina a prevalência foi de 25%, no Rio Grande do Sul a prevalência foi de 3,5,5% (RECH et al., 2016) e 7,1% no Rio de Janeiro (BARBOSA et al., 2018).

Giardíase é uma gastroenterite causada por *Giardia duodenalis* (= *G. lamblia* ou *G. intestinalis*), uma espécie de protozoário intestinal flagelado comum nos seres humanos. É reconhecido um complexo *G. duodenalis* com pelo menos oito grupos (assembleias) geneticamente caracterizados, mas semelhantes morfologicamente (ABE e TERAMOTO, 2012). Há relatos de associação de (subassembleia) com sintomas como diarreia (FLANAGAN, 1992). Até a presente data foram descritas as assembleias A, B, C, D, E, F, G e H e cada subtipo pode ter preferências por um hospedeiro ou por uma gama de hospedeiros (FENG e XIAO, 2011). A detecção de assembleias e subassembleias AII, BIII e BIV é indicador de transmissão de humano para humano (CORRÊA et al., 2020). A prevalência de *G. duodenalis* varia em função dos países, sendo que em países em desenvolvimento pode chegar até 43% e em países desenvolvidos 6% onde essa pouca porcentagem tem sido associada com doença do viajante ou surtos de veiculação hídrica (FLANAGAN, 1992). Nos Estados Unidos, por exemplo, segundo Zylberberg et al. (2017), a prevalência foi de 0,11%. A prevalência varia de 11,5% na Argentina (MOLINA

et al., 2011) a 48% na Colômbia (RODRÍGUEZ et al., 2014). No Brasil é frequentemente encontrado em crianças de idade pré-escolar (TEIXEIRA, HELLER e BARRETO, 2007) onde trabalhos realizados no Rio de Janeiro obteve 4,1% de prevalência (BARBOSA et al. 2018), 21,9% em São Paulo (OLIVEIRA-ARBEX et al., 2016) e 11,0% no Paraná (SEGUÍ et al., 2018).

O gênero *Blastocystis* foi considerado um protozoário intestinal comensal, porém, alguns estudos demonstraram que esse microrganismo pode estar relacionado com a síndrome do intestino irritável e urticária (TAN, 2008; PARIJA e JEREMIAH, 2013; AJJAMPUR e TAN, 2016). O comensalismo de *Blastocystis* ou a sua patogenicidade é altamente dependente do subtipo (ou seja, codificação de fatores de virulência e toxinas), ou ainda fatores relacionados ao hospedeiro, como a genética, estado imunológico, resposta/estresse do hospedeiro, infecções concomitantes, disbiose da microbiota intestinal (SCANLAN e STENSVOLD, 2013). Em relação ao potencial de patogenicidade de *Blastocystis*, argumenta-se que os sintomas podem estar ligados à carga parasitária. O seu papel como agente causador de diarreia e outros distúrbios intestinais ou extra-intestinais permanece controverso, porque essa espécie de protozoário pode ser encontrada em indivíduos sintomáticos e assintomáticos (STENSVOLD et al., 2009b). Assim sendo, somente análises de alto nível de especificidade de subtipo podem elucidar o potencial patogênico dos subtipos de *Blastocystis* (SEGUÍ et al., 2018; TITO et al., 2018). Atualmente, são conhecidos 17 subtipos deste protozoário que colonizam uma ampla gama de hospedeiros mamíferos incluindo humanos e podem parasitar pássaros, répteis e insetos entre outros animais (LEPCZYŃSKA et al., 2016; STENSVOLD e CLARK, 2016). De forma geral, os artigos apresentam uma prevalência acima de 10%. Na Espanha a prevalência foi de 13% (REH et al., 2019) e 18, 1% na França (EL SAFADI et al., 2016). El Safadi et al. (2014), em populações da bacia do rio Senegal, África, obtiveram 100% de prevalência. Na América do Sul, em países como Colômbia, segundo Ramírez et al. (2014), em um trabalho realizado em 7 (sete) regiões obtiveram 45% de prevalência. No Brasil a mesma variou de 57,8%, 86,6% e 38,9%, no Pará, São Paulo e Paraná, respectivamente (BORGES et al., 2009; REBOLLA et al., 2016; OISHI et al., 2019).

Dentre os coccídios, destacam-se as espécies do gênero *Cryptosporidium* spp. que segundo Korpe et al. (2019), é um dos principais contribuintes para a morbidade e mortalidade por diarreia em crianças com menos de 5 (cinco) anos em todo o mundo. Reconhecidos por serem causadores de gastroenterite tanto em indivíduos imunocompetentes como imunocomprometidos,

a infecção é adquirida através da ingestão de oocistos presentes em alimentos, água contaminada, suco de fruta não pasteurizado, por via aérea (aerossol) e em contato com águas recreativas, incluindo de piscinas, lagos e parques aquáticos (WEBER e RUTALA, 2001). Em 2010 causou 99.800 mortes (LOZANO et al., 2012) e estima-se que seja responsável pelo óbito de 30 a 50% de crianças (RYAN e HIJJAWI, 2015). Possui uma distribuição a nível dos seguintes continentes: Ásia, África, América do Sul, América do Norte, América Central, Austrália e Europa, cuja prevalência varia em função da espécie (*C. hominis* e *C. parvum*) (CHALMERS et al., 2009). Diferentemente dos helmintos, a prevalência de protozoários entéricos para diferentes estados no Brasil, continua a aumentar com o passar dos anos (CAVAGNOLLI et al., 2015; MEIGA et al., 2018; SILVA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020).

Outros fatores que podem influenciar nessa manutenção de infecção por protozoários podem estar ligados ao ciclo biológico de algumas espécies, cujas formas eliminadas nas fezes já são infectantes; o fato de protozoários não fazerem parte do programa do Ministério da Saúde de tratamento em massa; e/ou os fármacos utilizados para os helmintos não interromperem essa transmissibilidade, por não terem mecanismos de ação contra protozoários.

3.5 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE FEZES

A **Tabela 1** resume os principais métodos de diagnóstico parasitológico de fezes, destacando suas finalidades, bem como vantagens e desvantagens.

3.6 DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE ENTEROPARASITOS

Existem espécies parasitárias semelhantes em morfologia e morfometria, o que torna o diagnóstico impreciso (GORDON et al., 2011). Nos últimos 30 anos começou-se a utilizar técnicas de biologia molecular para detecção de patógeno parasitário, que podem ter importância na epidemiologia, prevenção e tratamento de enteroparasitoses (WEISS, 1995). Após o sequenciamento genômico humano a disponibilidade de dados aumentou o que permitiu desenvolver métodos baseados em Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) como ferramentas para o diagnóstico de espécies parasitárias (GORDON et al., 2011).

Tabela 1: Exame parasitológico de fezes (EPF). Adaptado (HOFFMAN, PONS e JANER, 1934; RITCHIE, 1948; KATZ, COELHO e PELLEGRINO, 1970; PEREIRA e PEREIRA, 1991 e CARVALHO, CARVALHO e MASCARINI, 2006).

MÉTODO	PRINCÍPIO DO MÉTODO	FINALIDADES	VANTAGENS	DESVANTAGENS
FAUST	Centrífugo-flutuação em sultao de zinco.	Cistos, ovos pouco densos e larvas de helmintos.	Menos artefatos fecais.	Pouca sensibilidade de ovos grandes.
HPJ	Sedimentação espontânea.	Cistos de <i>G. duodenalis</i> , larvas de <i>S. stercoralis</i> e ovos de <i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> e <i>S. mansoni</i> .	Barato, fácil de ser preparado.	Demorado, observação imediata e grande quantidades de detritos fecais.
LUTZ	Sedimentação espontânea.	Ovos de <i>S. mansoni</i> , larvas e alguns cistos.	Fácil execução e menos custos.	Baixa sensibilidade, grande quantidade de detritos fecais.
KATO KATZ	Tamização das fezes.	Ovos de <i>S. mansoni</i> .	Qualitativo, preservação	Baixa sensibilidade.
RITCHIE	Centrífugo-sedimentação pela formol-acetato de etila.	Ovos e larvas de helmintos, cistos e oocistos de protozoários.	Preservação, alta sensibilidade.	Elevados Custos.
WILLIS	flutuação em uma solução saturada de Cloreto de Sódio.	Ovos de baixa densidade (Ancilostomídeos).	Fácil execução e menos custos.	Baixa sensibilidade, não indicado para pesquisa de cistos.
GRAHAM	Fita adesiva.	Ovos de <i>E. vermicularis</i> e <i>Taenia</i> sp.	Rápido, fácil execução e menos custos.	Não indicado para cistos.

A detecção por sonda baseada em ácido nucléico de agentes parasitários consiste no uso de uma molécula de DNA repórter para detectar sequências de DNA ou RNA do parasito (WEISS, 1995), esta técnica tem sido cada vez mais utilizada para o diagnóstico de helmintos (BASUNI et al., 2011; GORDON et al., 2011; DACAL et al., 2018) e protozoários (GHOSH et al., 2000; SCULINA et al., 2006; STENSVOLD et al., 2010; MATEO et al., 2014) em amostras fecais.

A técnica utiliza basicamente dois “primers” que flanqueiam a sequência alvo e uma DNA polimerase, em ciclos sucessivos de desnaturação e hidrilação como iniciadores oligonucleotídeos, seguidos pela extensão dos primers por ação da polimerase gerando milhões ou bilhões de cópias idênticas. A sequência alvo amplificada é detectada por sondas, o produto de DNA gerado pode ser analisado por eletroforese em de poliacrilamida ou agarose (MULLIS et al., 1986; ARAÚJO et al., 1998; WEISS et al., 1995). Outra técnica utilizada em análises moleculares é o sequenciamento de Sanger, considerado “padrão ouro. Este método utiliza DNA polimerase, primer, desoxirribonucleosídeos trifosfatados (dNTP) e didesoxirribonucleosídeos trifosfatados (ddNTP) marcadas por ³³P (fósforo) (SANGER, NICKLEN e COULSON, 1977).

3.7 SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE COMO POLÍTICA PÚBLICA

O Sistema Único de Saúde (SUS) foi criado após a reforma da saúde nos anos 80, pela Constituição Federal de 1988, estabelecendo a saúde como direito de todos e dever do estado, pois, antes o sistema público prestava assistência apenas aos trabalhadores com vínculo à Previdência Social. Atualmente o SUS tem ampliado o acesso a assistência médica alinhados aos seus princípios que é a universalidade, equidade e atendimento integral (BRASIL, 1990, 2013). É um dos maiores e mais complexos sistemas de saúde pública do mundo, abrangendo desde o simples atendimento para avaliação da pressão arterial, por meio da Atenção Primária, até o transplante de órgãos, garantindo acesso integral, universal e gratuito para toda a população do país (BRASIL 2001, 2013; MACINKO e LIMA-COSTA, 2012).

Fazem parte do SUS as seguintes entidades: Ministério da Saúde, Secretaria Estadual de Saúde, Secretaria Municipal de Saúde, Conselhos de Saúde, Comissão Intergestores Tripartite e Conselho de Secretário da Saúde (BRASIL, 2013). Esses órgãos atuam na saúde da família por meio de equipes de saúde que são responsáveis pelos residentes de um território definido, por

meio de ações como a promoção de saúde, educação em saúde e controle de DTNs (IGNACIO et al., 2018). Visa aumentar a atenção à saúde das populações de baixa renda e/ou aquelas que não são seguradas por planos de saúde particulares, onde o acesso a informação, na maioria das vezes, é menor para aqueles que residem em regiões do Norte do Brasil comparativamente aos da região Sul. Com este propósito foi possível aumentar a cobertura dos serviços de saúde em 30 anos (CASTRO et al., 2019). A atenção dessas equipes de multiprofissionais não está limitada às ações dentro da Unidade Básica de Saúde (UBS), podendo ser estendidas nos domicílios e outros espaços comunitários como escolas, associações, igrejas entre outros (BRASIL, 2008). No campo estudantil o SUS através do dispositivo VER-SUS é também um espaço que proporciona aos estudantes da área da saúde aprendizagem sobre a vivência no SUS (MARANHÃO, 2013). Destaca-se o apelo de investimentos constantes para a promoção em saúde por meio de projetos de pesquisas e extensão.

Até meados do século XX o processo de Educação em Saúde era focado na profilaxia das doenças infecciosas e parasitárias e controle de epidemias por meio de informações, entretanto atualmente esse processo tem mudado para ações participativas. A Educação em Saúde como se entende, é um processo teórico-prático que visa integrar de forma multidisciplinar saberes científicos, popular de senso comum, buscando maior participação, interação e uma visão crítica (GAZZINELLI, REIS e MARQUES, 2006). No presente trabalho dentro das várias atividades desenvolvidas com o intuito de interação com as crianças das escolas, funcionários e encarregados foram realizadas ações Educativas em Saúde, por meio de feiras de saúde, palestras, teatros participativos, com principal foco na tríade epidemiológica (humano, animal e meio ambiente). É uma prática institucionalizada pela OMS, que considerou como um dos elementos essenciais dentro da Atenção Básica para a Saúde das comunidades incluída o primeiro nível de atenção do SUS. (BRASIL, 2008).

É desejável que todos os programas e projetos de extensão para a saúde coletiva reservassem um espaço para as atividades educacionais, visando a incorporação de hábitos saudáveis para a população (GAZZINELLI, REIS e MARQUES, 2006).

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- ÁREAS DE ESTUDO

4.1.1 BOCAIÚVA DO SUL

O termo "Bocaiúva" origina-se do tupi "*mbocaya-üb*" e refere-se ao nome da palmeira *Acrocomia sclerocarpa*. O município possui uma população estimada de 12.944 pessoas, com densidade demográfica de 13,30 hab/km². Faz limite com os municípios de Tunas do Paraná ao Norte, Colombo ao Sul, Campina Grande do Sul à Leste e Rio Branco do Sul a Oeste. O município possui uma latitude a 25° 13' S, 49° 06' W de longitude (**Figura 3**) e 320 a 980m de altitudes. Os principais cursos de água do município são o Rio Capivari, Rio dos Patos, Rio dos Patinhos, Rio Marrecas, Lageado Cerro Lindo, Córrego Pau de Sangue. São todos afluentes do Rio Capivari, formando parte do lado esquerdo da Bacia Hidrográfica do Capivari. Quase a totalidade das propriedades rurais apresentam recursos hídricos abundantes (fontes, córregos, riachos) que são utilizados para consumo humano e animal e ainda para a exploração da piscicultura de subsistência e em menor escala piscicultura comercial. O município apresenta 58.9% de domicílios com esgotamento sanitário adequado, 13,8% de domicílios urbanos em vias públicas com arborização e 10,4% de domicílios urbanos em vias públicas com urbanização adequada (presença de bueiro, calçada, pavimentação e meio-fio) (FERREIRA, 2006; IBGE, 2017).

Para confecção dos mapas, utilizando o Google Earth[®], os pontos foram georreferenciados em função da procedência (residência por bairro) das crianças. Os casos positivos foram plotados e diferenciados em: amarelo (*G. duodenalis*), vermelho (*Blastocystis* spp.), roxo (complexo *E. histolytica*), azul claro (*A. lumbricoides*) e azul escuro (*T. trichiura*).

4.1.2 COLOMBO

Colombo é um sobrenome de origem italiana, provavelmente originado do latim "*Columbus*" pomba macho, ou do indo-europeu "kel-ombhã" com o mesmo significado, o nome da cidade é homenagem a Cristóvão Colombo, navegador italiano que descobriu a América, em 12 de outubro de 1492. O município de Colombo possui uma população estimada de 243.726 pessoas, com densidade demográfica de 1.076,72 hab/km², com geolocalização 25°17'30 de

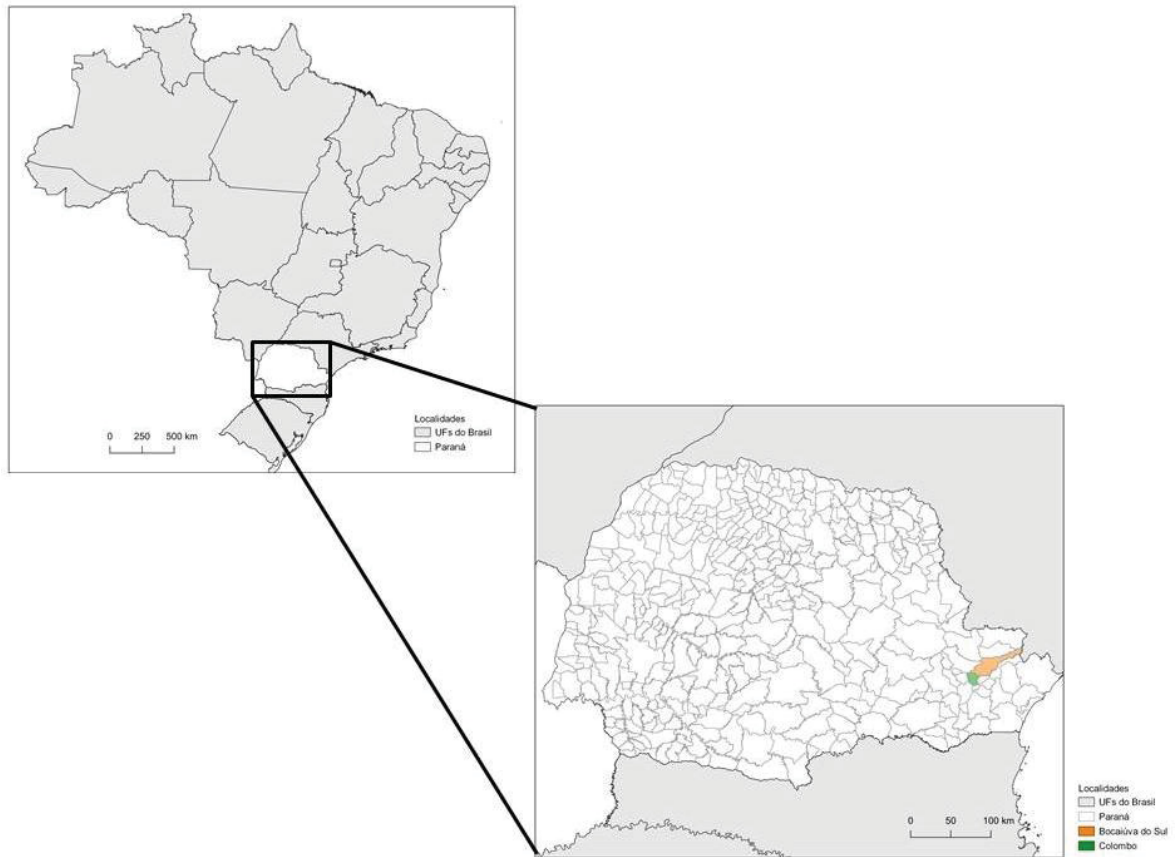


Figura 3: Mapa do Brasil ilustrando a localização do estado do Paraná e dos municípios de Bocaiúva do Sul e Colombo (Fonte: Salvador P. Chaves-Júnior).

latitude sul e 49°13'27" de longitude oeste (**Figura 3**), a uma altitude de 1.027 metros, faz limite ao norte com o município do Rio Branco do Sul, nordeste com o município de Bocaiúva do Sul, sul com o município de Pinhais, leste com o município de Campina Grande do Sul, sudoeste com o município de Curitiba e Oeste com o município de Almirante Tamandaré. O município possui 81,3% de domicílios com esgotamento sanitário adequado, 42,9% de domicílios urbanos em vias públicas com arborização e 24% de domicílios urbanos em vias públicas com urbanização adequada (presença de bueiro, calçada, pavimentação e meio-fio) (FERREIRA, 2006; IBGE, 2017; BRASIL, 2018).

Para confecção dos mapas, utilizando o Google Earth[®], os pontos foram georreferenciados em função da procedência (residência por bairro) das crianças e diferenciados em positivos (vermelho) e negativos (azul).

4.2 APROVAÇÃO DOS ÓRGÃOS COMPETENTES

Inicialmente o projeto foi apresentado às Secretarias de Saúde e de Educação dos municípios de Bocaiuva do Sul e de Colombo para a sua aprovação. As secretarias de educação indicaram algumas escolas para a possibilidade do trabalho, dentre elas escolas urbanas e rurais. Posteriormente, em cada escola, o projeto foi proposto para a direção e corpo pedagógico que consentiram a realização do mesmo. Aos pais e/ou responsáveis pelos alunos, foi solicitada a autorização para a participação das crianças denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**APÊNDICE I**). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Paraná (CAAE 91542618.0.0000.0102) (**ANEXO I**).

4.3- MÉTODOS DE COLETA DOS DADOS SOCIOECONÔMICOS

4.3.1- ELABORAÇÃO DO QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO

Foi elaborado um questionário para os pais ou responsáveis das crianças, com perguntas sobre os fatores de riscos como: presença ou ausência de diarreia, dor de barriga, se já fez exame parasitológico de fezes, como tem feito para prevenir ou tratar verminoses, se toma algum medicamento ou remédio para tratar ou prevenir parasitoses, fonte da água de consumo, se tem

animais em casa, qual é o local de evacuação das fezes, como tratam o esgoto da casa e qual é o destino do lixo (**APÊNDICE II**).

4.3.2- APLICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO

Para aplicação do questionário foi realizada uma reunião com os pais, onde abordou-se sobre a importância e objetivos do estudo. Após leitura e explicação do TCLE e de sua assinatura os pais foram instruídos como preencher o questionário estruturado com perguntas fechadas (objetivas). Durante todo o projeto foram elaboradas atividades educativas em saúde pública, como recomendado pela OMS, junto às crianças, pais e professores para mostrar a importância dos parasitos e despertar o interesse dos mesmos frente às ações de coleta de fezes e posterior diagnóstico (**Figuras 4 e 5**).

4.3.3- ANÁLISE DO QUESTIONÁRIO

Os questionários foram analisados comparando com os resultados para enteroparasitos e as respostas dos pais ou dos responsáveis, buscando as possíveis associações entre o parasitismo e os fatores socioeconômicos e ambientais.

4.4- MÉTODOS DE COLETA DAS AMOSTRAS FECAIS

Os pais foram instruídos em relação à realização da coleta de fezes. Além disso, foi entregue um *kit* de coleta com um coletor universal com um código que correspondia à série/turma do aluno seguido por um número que identificava o aluno. Também havia um panfleto com as seguintes instruções:

Além disso, foram repassadas instruções aos encarregados quanto ao tempo de coleta e modos de conservação (**APÊNDICE III e IV**). Para facilitar a logística no município de Bocaiúva do Sul, a acadêmica de Enfermagem da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC/PR), Andressa Tabora, residente do município, auxiliou no recebimento das amostras.



Figura 4: Atividades educativas (teatros, observação de ovos de helmintos e jogos), realizadas nas escoladas de ambos os municípios.



Figura 5: Atividades educativas (teatros, observação de ovos de helmintos e jogos), realizadas nas escolas de ambos os municípios.

Em data previamente estabelecida, as amostras foram entregues e colocadas em caixa de isopor refrigerada e transportada até o Laboratório de Parasitologia Humana do Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

As procedências das amostras, de ambos os municípios, podem ser observadas na **Tabela 2**. Para padronizar a forma de apresentação dos resultados os dados, de monoparasitismo e multiparasitismo, os comensais são apresentados como “parasitos”.

4.4.1- CLASSIFICAÇÃO E ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras fecais foram classificadas de acordo com a escala de Bristol (BLAKE; RAKER e WHELAN, 2016) e foram agrupadas de 1 a 5 como formadas, 6 como pastosas e 7 como diarreicas. Parte das amostras foi conservada em formol a 10% para o exame parasitológico de fezes (EPF) e em álcool 70% para biologia molecular. As amostras em formol foram mantidas à temperatura ambiente e as em álcool conservadas a temperatura de -20°C (SEGUÍ et al., 2018).

4.4.2- MÉTODO DE RITCHIE

A técnica de formol-acetato de etila modificado é uma técnica de concentração difásica na qual são extraídos gordura e muco das fezes (RITCHIE, 1948). O protocolo consistiu em colocar o formol 10% ao receber as amostras numa proporção de 1 de fezes para 3 de formol e misturou-se com palito de madeira até homogeneizá-lo. Em um tubo tipo “falcon” foi colocado 3 mL de amostra fecal fixada e foi adicionado 4 mL de formol 10%. Ao filtrado completou-se até 7 mL com formol 10% e adicionou-se 3 ml de acetato de etila. O tubo foi novamente fechado, agitado e centrifugado a 1700 rpm durante 10 minutos. Após retirar o tubo da centrífuga, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento analisado. Com auxílio de uma pipeta *Pasteur*, uma gota do sedimento e uma gota de lugol foram colocadas sobre uma lâmina de vidro, homogeneizadas e cobertas com uma lamínula.

4.4.3- MÉTODO DE ZIEL NEELSEN MODIFICADO

Tabela 2: Procedência *n* amostral de amostras fecais obtidas de crianças das escolas, vindo de áreas urbanas e rurais das diferentes escolas municipais de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná.

Escolas	Município	Procedências das crianças	n
Escola I	Colombo	Urbano	91
Escola II	Colombo	Rural	116
Escola III	Bocaiúva do Sul	Urbano	120
Escola III	Bocaiúva do Sul	Rural	21
Escola III	Bocaiúva do Sul	Não Informado	26
Escola IV	Bocaiúva do Sul	Urbano	16
Escola IV	Bocaiúva do Sul	Rural	15
Escola IV	Bocaiúva do Sul	Não Informado	9
Total			414

Para o diagnóstico de coccídios, *Cryptosporidium* spp., foi utilizada a técnica de Ziehl-Neelsen modificado sugerida pela OMS (OMS, 1991/p.18). A partir do sedimento obtido na técnica de fomal-acetato de etila modificado foi realizado um esfregaço fino em uma lâmina de vidro, deixando-a secar por 8 a 10 horas. Uma vez seca, as lâminas foram colocadas em um suporte para coloração. Vertidas sobre as lâminas um pouco de metanol (Absoluto 100%) e mantida por 3 minutos para adequada fixação da amostra. Após seca, as lâminas passaram para a fase de coloração intercalada por lavagem em água corrente:

- Fucsina fenicada 10% (marca Newprov) por 10 minutos;
- Ácido clorídrico com etanol por 10 segundos; (Composição de 30mL de ácido clorídrico e 970mL de etanol 96%);
- Fixar em azul de metileno durante 90 segundos;

As lâminas foram secas em temperatura ambiente para que posteriormente observadas para a detecção microscópica de possíveis oocistos de coccídios utilizando a objetiva de 40x e de 100x com óleo de imersão.

4.5- ANÁLISES MOLECULARES

A análise molecular foi realizada na Universidade de Valência- Espanha, seguindo a mesma metodologia adotada (SEGUÍ et al., 2018), descrita a seguir:

4.5.1- EXTRAÇÃO DO DNA

O DNA foi extraído a partir de aproximadamente 200 mg do material fecal conservado em álcool a 70% e utilizando o *Kit* comercial QIAamp® FAST DNA Stool Minkit (QIAGEN®, Hilden, Germany), seguindo as instruções do fabricante. As amostras de DNA purificado (200 µL) foram armazenadas a -20°C, até o momento da realização dos ensaios moleculares.

4.5.2- REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

A PCR é uma técnica de Biologia Molecular descrita por Mullis et al. (1986), que tem como objetivo amplificar a quantidade de cópias de fragmento de DNA particular partindo de uma quantidade mínima, obtida inicialmente através da extração.

A PCR para *Blastocystis* spp. foi realizada por meio do gene SSU rRNA (SCICLUNA et al., 2006). Este método utilizou primers universais para *Blastocystis* spp. RD5/BhRDr para amplificar um fragmento de aproximadamente 600 pb. Foi feito um mix de 25µL contendo: Buffer, MgCl²-50µM, dNTPs, solução tampão, 0,5µM de primers RD5/BhRDr, DNA Taq Polimerase, água esterilizada e 5µL de DNA extraído.

As etapas de amplificação envolveram: desnaturação 95°C – 3min, 30 ciclos de 1min cada um a 94, 59 e 72°C, e a etapa final adicional foi de 2min a 72°C.

A caracterização de *Giardia duodenalis* foi feita inicialmente mediante o método de qPCR, tendo como alvo uma região de 600pb (pares de bases) do gene SSU RNA do parasito seguindo o método de Verweij et al. (2003).

As reações de amplificações consistiu em 3 µL Produto de extração, 0,4 µM de sonda, 0,5µL Gd-80F, 0,5µL Gd-127R de primers, 12,5µL de TaqMan[®] Gene Expression com volume final de 25µL. Foi usada a água esterilizada como controle negativo em todas etapas da PCR e DNA genômico de *Giardia duodenalis* como controle positivo. As condições da reação foram: na etapa inicial 2 min a 55°C, 15min a 95 °C, seguida de 45 ciclos de 15s a 95 °C e 1 min a 60 °C. A seguir obteve-se um gráfico para proporcionar os chamados valores Cq (quantification cycle), que permite quantificar o DNA presente em cada amostra considerando valores ótimos de Cq entre 20 e 30.

A amostras positivas da qPCR foram avaliadas por genes multi-locus baseadas em sequências de genes que codificam as proteínas glutamato desidrogenase (GDH) e β-giardina (BG), do parasito, seguindo o protocolo proposto por Read et al. (2004). Amplificou-se um fragmento de aproximadamente 432 pb do gene GDH. O mix da PCR de 25 µL foi: Buffer, MgCl²-50µM, dNTPs, GDHe_F/ GDHi_R, na reação primária e GDHi_F / GDHi_R na secundária, DNA Taq Polimerase, água esterilizada, DNA extraído, solução tampão para manter o pH adequado para o funcionamento da última etapa.

As etapas foram: Desnaturação a 95°C - 3min, 35 ciclos 95°C- 30s, 55°C-30s e 72°C – 1min de anelamento e o passo final foi 72°C – 7min de extensão.

Igualmente, um fragmento de aproximadamente 511pb do gen BG e *Giardia duodenalis* foi amplificado segundo o protocolo de Lalle et al. (2005). Foram aliqüotadas em tubos de microcentrífuga um mix de (25µL) de Buffer, MgCl²-50µM, dNTPs, solução tampão, 0,4µM de primers G7_F, G759_R, DNA Taq Polimerase, H₂O esterilizada, 3µl de DNA extraído.

A reação primária foi feita nas seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C – 7min, seguido de 35 ciclos a 95°C – 30s, 65°C – 30s e 72°C – 1min de anelamento e finalizando com 72°C – 7min de extensão. A reação secundária foi idêntica com a primária exceto a temperatura de reconhecimento que foi de 55°C.

4.5.3. ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE

A fim de verificar se a PCR gerou amplificação do fragmento de DNA, foi feita a eletroforese em gel de agarose a 2%, seguindo a metodologia de Sambrook, Fritsch e Maniatis, (1989) (ANEXO II).

4.5.4- SEQUENCIAMENTO DE NUCLEOTÍDEOS

O sequenciamento de DNA, foram feitos por meio de eletroforese capilar usando BigDye[®] Terminador chemistry (Applied Biosystems) em sequenciador de DNA automático ABI PRISM 3130. A seguir procedeu-se a análise dos dados de sequenciamento em ambas as direções *forward* e *reverse*, empregando o *software* gratuito de análise de seqüências Chromas Lite versão 2.1.

As seqüências obtidas no presente estudo foram comparadas com aquelas existentes na base de dados do Nacional Center for Biotechnology Information (NCBI). As seqüências de consenso geradas foram alinhadas utilizando o *software* MEGA 6.

4.6- ANÁLISES DOS DADOS

Os dados obtidos foram tabulados no software Excel 2016 com a finalidade de classificação e descrição de todos os resultados obtidos no estudo. Em um primeiro momento, os dados foram analisados tanto por estatística descritiva quanto por estatística inferencial utilizando o programa R. Studio versão 3.6.2.

A análise estatística descritiva foi utilizada para determinação do cálculo da prevalência ($n/N \times 100$), ou seja, da frequência de um evento. As informações fornecidas através dos cálculos de prevalência permitiram estabelecer estatísticas de risco populacional (*Oddis-Ratio*) descrevendo as relações entre um conjunto de variáveis e possibilitando caracterizar um grupo a partir de sua amostra positiva ou negativa. Toda inferência foi acompanhada do Intervalo de Confiança de 95% onde para os dados serem significativos o valor de p foi menor 0,05 ($p < 0,05$).

As análises foram realizadas levando em conta os dois municípios estudados, Bocaiúva do Sul e Colombo, de forma conjunta e comparativa. As particularidades dos resultados de cada um desses municípios, em relação ao observado, são destacadas no texto.

As **Tabelas 3 a 7** estão graficamente representadas conforme Seguí et al. (2018), onde o valor de “N” refere-se ao total de indivíduos parasitados e está expresso na última linha; “n” refere-se à frequência de observação de alguma forma parasitária naquela amostra fecal. Já somatório das espécies parasitárias observadas (mono e/ou multiparasitismo) consta da segunda coluna destas tabelas.

5- RESULTADOS

5.1. ANÁLISE DAS FREQUÊNCIAS DE ENTEROPARASITOS

Somados os dois municípios foram coletadas 414 amostras fecais (**Tabela 2**) para a realização do EPF, dessas 32,4 % (134/414) das amostras foram positivas para ambos os municípios. Cerca de 124 foi detectado algum protozoário e em 10 algum helminto, sendo que Colombo apresentou uma prevalência de 36,7% (76/207) e Bocaiúva do Sul 28% (58/207), para pelo menos uma espécie parasitária. As espécies de helmintos detectadas foram *A. lumbricoides*, *T. trichiura* e *E. vermicularis*, sendo este (*E. vermicularis*) foi detectado somente em Colombo; entre os protozoários *G. duodenalis*, complexo *E. histolytica*, *E. hartmanni*, *E. coli*, *E. nana*, *I. bütschilii*, *Blastocystis* spp. e *Cryptosporidium* spp. o qual o *Cryptosporidium* spp foi exclusivo para Bocaiúva do Sul (**Tabela 3**). *Blastocystis* spp. foi a espécie parasitária mais frequente em ambos os municípios, seguida de *E. coli* e *E. nana*. Entre os helmintos, embora em menor número, *T. trichiura* e *A. lumbricoides* (**Tabela 3 e Figura 6**). Não foi observada diferença estatística significativa quando comparada a frequência de detecção de protozoários e/ou helmintos entre os municípios (Teste de Tukey, $p > 0,05$).

Das crianças provenientes de área urbana, 40,3% apresentaram pelo menos uma forma parasitária, 50,7% eram provenientes de área rural em ambos os municípios e 9% não informaram a procedência. Como observado na (**Tabela 4, Figuras 7 e 8**) no ambiente rural foi detectada maior frequência tanto para helmintos quanto para protozoários. *Blastocystis* spp. foi observado em 38,1% (51/134) das amostras fecais das crianças vindos do ambiente rural, seguido de *E. nana* 11,2% (15/134) e *E. coli* 8,2 % (11/134). Já entre aqueles procedentes de área urbana, observou-se maior frequência para *Blastocystis* spp. em 23,1% (31/134), seguida de *E.*

Tabela 3: Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019). [N: total de amostras potitivas; n: frequência de observação; %: prevalência= (n/NX100)].

	N	Colombo		Bocaiúva do Sul		p-valor
		N	%	N	%	
Helmintos	10					
<i>Trichuris trichiura</i>	5	3	2,2	2	1,5	1,000
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	1	0,7	3	2,2	0,623
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	1	0,7	0	0,0	1,000
Protozoários	124					
<i>Blastocystis</i> spp.*	90	53	39,6	37	41,1	0,074
<i>Entamoeba coli</i>	23	12	9,0	11	8,2	1,000
<i>Endolimax nana</i>	23	13	9,7	10	7,5	0,668
<i>Giardia duodenalis</i>	16	9	6,7	7	5,2	0,798
<i>Entamoeba hartmanni</i>	11	6	4,5	5	3,7	1,000
<i>Iodamoeba bütschilii</i>	6	3	2,2	3	2,2	1,000
Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	3	2	2,2	1	0,7	1,000
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1	0	0,0	1	0,7	1,000
Total	134	76		58		

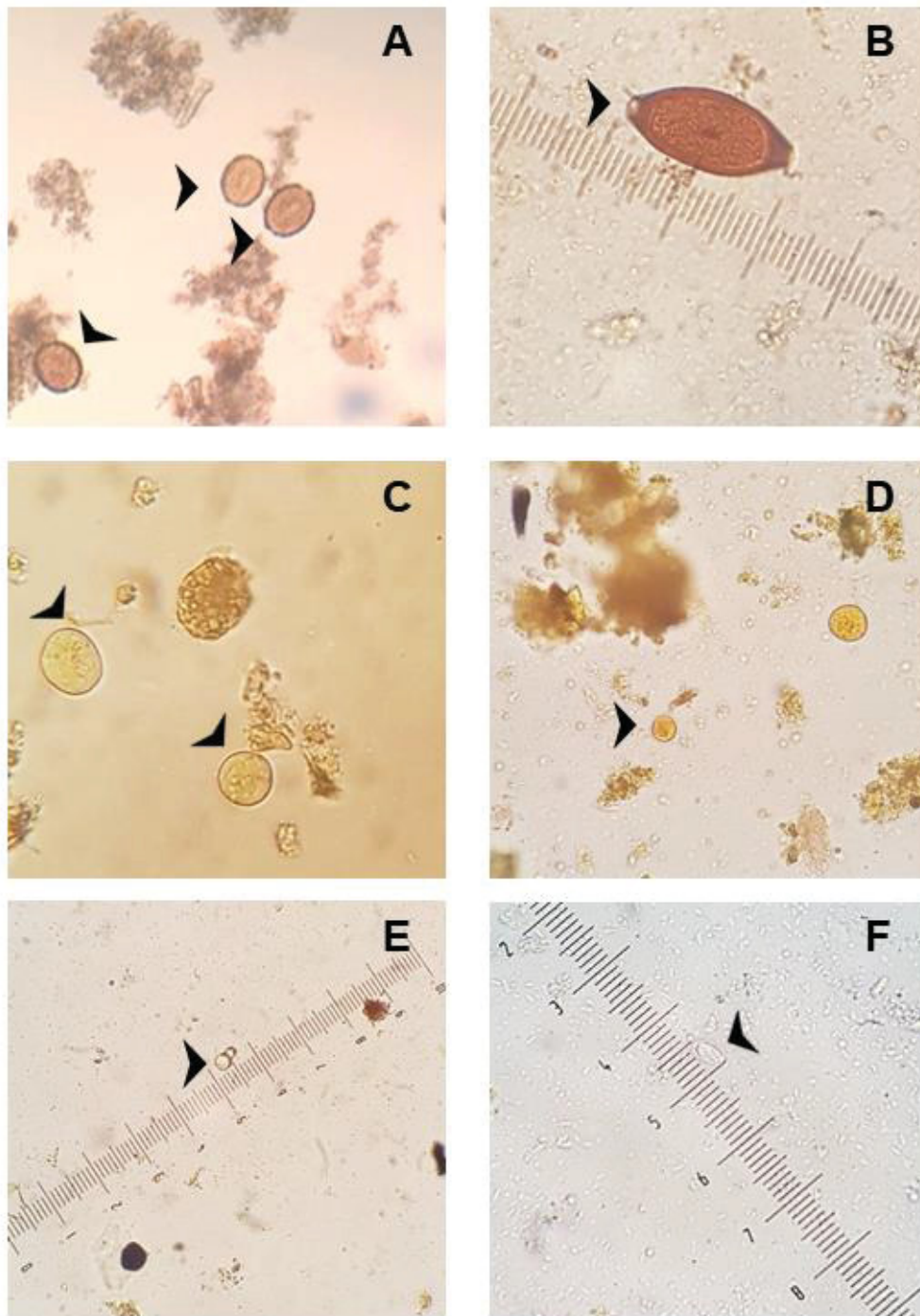


Figura 6: A: ovos de *Ascaris lumbricoides*; B) ovo de *Trichuris trichiura*; C) cistos de *Entamoeba coli*; D) cisto de *Iodamoeba butchili*; E) cisto de *Blastocystis* spp.; F) cisto de *Giardia duodenalis*. (indicados pela seta).

Tabela 4: Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças das escolas, procedentes de áreas rurais e urbanas somados os municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019) [N: total de amostras positivas; n: frequência de observação; %: prevalência= (n/NX100); *: p< 0,05].

	N	Urbano		Rural		Não informado		p-valor
		n	%	n	%	N	%	
Helmintos	10			6				
<i>Trichuris trichiura</i>	5	1	0,7	4	3,0	0	0	0,255
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	3	2,2	1	0,7	0	0	0,756
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	0	0,0	1	0,7	0	0	1,000
Protozoários	124							
<i>Blastocystis</i> spp.*	90	31	23,1	51	38,1	8	6,0	0,002
<i>Entamoeba coli</i>	23	10	7,5	11	8,2	2	1,5	0,482
<i>Endolimax nana</i>	23	6	4,5	15	11,2	2	0,0	0,669
<i>Giardia duodenalis</i>	16	7	5,2	8	6,0	1	0,7	0,543
<i>Entamoeba hartmanni</i>	11	4	3,0	5	3,7	2	0	0,230
<i>Iodamoeba bütschilii</i>	6	5	3,7	1	0,7	0	0,0	0,538
Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	3	2	1,5	1	0,7	0	0,0	1,000
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1	0	0,0	1	0,7	0	0	0,452
Total	134	54		68		12		



Figura 7: Mapeamento das espécies parasitárias de acordo a proveniência das crianças das escolas crianças das escola do município de Bocaiúva do Sul. (Fonte: elaborado por Bruno Lusosa via Google Earth®). Bh: *Blastoystis* spp./ Ec: *Entamoeba coli*/ Ena: *Endolimax nana*/ Gi: *Giardia duodenalis*/ Al: *Ascaris lumbricoides*/ Tt: *Trichuris trichiura*.

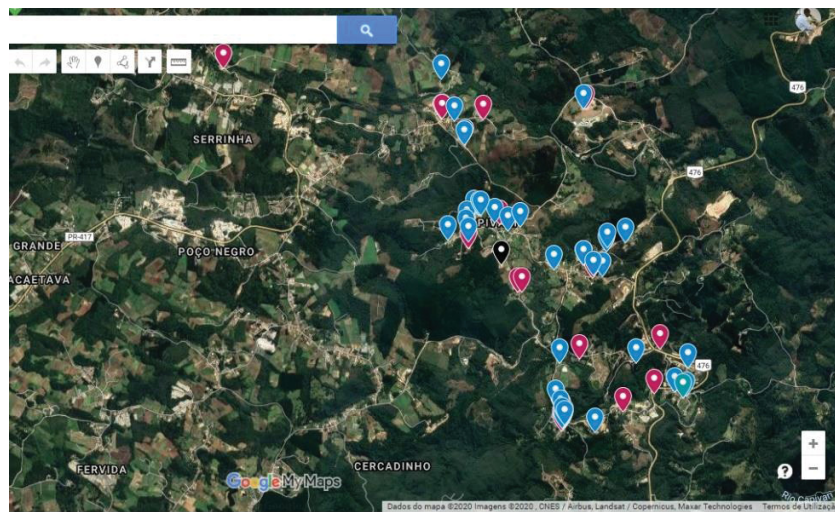
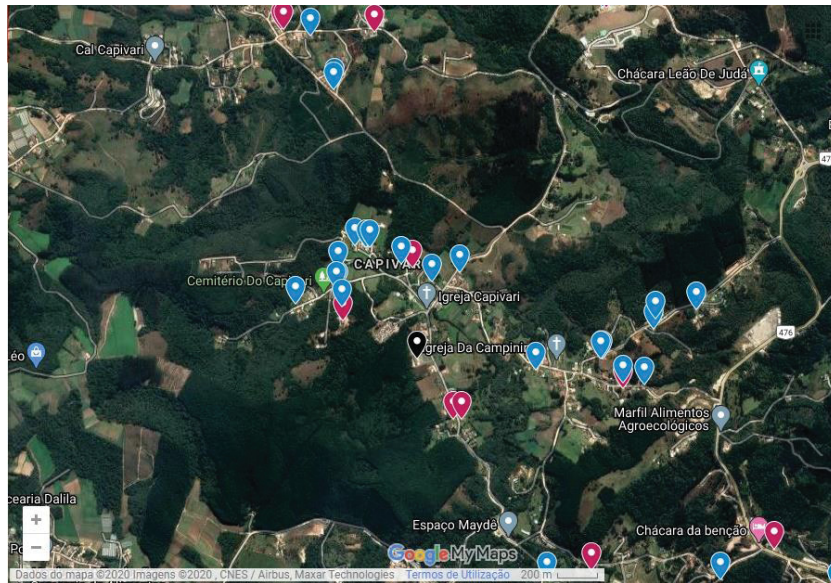


Figura 8: Mapeamento das espécies parasitárias de acordo a proveniência das crianças das escolas do município de Colombo. (Fonte: elaborado por Bruno Lusosa via Google Earth[®]). Vermelho: positivo/ Azul: negativo.

coli 7,5% (10/134) e *G. duodenalis* em 5,2% (7/134) (**Tabela 4, Figuras 7 e 8**). Foi observada diferença estatística significativa somente quando observada a frequência de detecção de *Blastocystis* spp. em relação a procedência das crianças das escolas de área rural (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Destaca-se que *Cryptosporidium* spp. e *E. vermicularis* foram observados em amostras fecais apenas provenientes de crianças das escolas de áreas rurais. Para Bocaiúva do Sul os pontos foram plotados em função do bairro, onde é possível observar a distribuição ao longo destes por espécie parasitária. *Blastocystis* spp. estava presente em todos os bairros e por diferentes pontos, mostrando a ampla distribuição deste, seguido por *G. duodenalis*. Para Colombo, embora as espécies não tenham sido discriminadas, nota-se que os casos de indivíduos positivos e negativos estão próximos e sobrepostos. Ressalta-se que, análises mais aprofundadas levando em conta os fatores de risco associados bem como o rastreamento das possíveis fontes de infecção seriam necessários para avaliação da presença e distribuição dos espécimes.

Para a frequência das espécies parasitárias (monoparasitismo e multiparasitismo) em relação ao município, observou-se maior frequência para o município de Colombo tanto para monoparasitismo quanto para multiparasitismo (**Tabela 5**). Para o monoparasitismo por helmintos destacou-se *T. trichiura* 1,5% (2/134) em Colombo e *A. lumbricoides* com 1,5% (2/134) em Bocaiúva do Sul. Para protozoários, em Colombo, a frequência de *Blastocystis* spp. foi de 27,0% (36/134), seguido de *E. coli* com 4,5% (6/134), *G. duodenalis* e *E. nana* com iguais porcentagens 2,2% (3/134); para o município de Bocaiúva do Sul, a maior frequência foi de *Blastocystis* spp. com 16,4% (22/134), seguido de *G. duodenalis* com 3,7% (5/134) e com iguais porcentagens *E. hartmanni*, *E. coli* e *E. nana* com 3% (3/134), mas sem diferença estatística (Teste de Tukey, $p > 0,05$) (**Tabela 5**).

Entre as crianças das escolas com positividade para enteroparasitos, 75% apresentaram monoparasitismo e 25% para duas ou mais espécies parasitárias. Quanto ao multiparasitismo observou-se associação de duas (2) a quatro (4) espécies parasitárias, destacando-se *Blastocystis* spp. + *E. nana* com 3,7% (5/134), *Blastocystis* spp. + *E. coli* + *E. vermicularis* + *G. duodenalis* com 0,7% (1/134), em Colombo; e *Blastocystis* spp. + *E. coli* com 3,7% (5/134) e *Blastocystis* spp. + *E. nana* + *E. coli* com 0,7% (1/134), em Bocaiúva do Sul (**Tabela 5**). O multiparasitismo com mais de 3 (três) espécies foi observado somente em crianças das escolas provenientes de Colombo.

Tabela 5: Frequência de monoparasitismo e multiparasitismo detectados em amostras fecais de crianças de escolas procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019) [N: total de amostras positivas; n: frequência de observação; %: taxa de prevalência= (n/NX100); *: p<0,05].

	N	Colombo		Bocaiúva do Sul		p-value
		n	%	n	%	
Monoparasitismo						
Helminetos						
<i>Trichuris trichiura</i>	2	2	1,5	0	0	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	0	0	2	1,5	
Protozoários						
<i>Blastocystis</i> spp.	60	36	27,0	22	16,4	
<i>Entamoeba coli</i>	10	6	4,5	4	3	0,1043
<i>Giardia duodenalis</i>	8	3	2,2	5	3,7	
<i>Endolimax nana</i>	7	3	2,2	4	3	
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	2	1,5	4	3	
Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	2	2	1,5	0	0	
<i>Iodamoeba bütschilii</i>	2	2	1,5	0	0	
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1	1	0,7	0	0	
Multiparasitismo 2						
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis</i> spp.	8	3	2,2	5	3,7	
<i>Blastocystis</i> spp.+ <i>Endolimax nana</i>	7	5	3,7	2	1,5	
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Blastocystis</i> spp.	4	2	1,5	2	1,5	
<i>Blastocystis</i> spp.+ <i>Trichuris trichiura</i>	2	0	0	2	1,5	0,5571
<i>Endolimax nana</i> + Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	2	2	1,5	0	0	
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Entamoeba hartmanni</i>	1	1	0,7	0	0	
<i>Endolimax nana</i> + <i>Iodamoeba bütschilii</i>	1	0	0	1	0,7	
Multiparasitismo 3 ou +						
Complexo <i>Entamoeba histolytica</i> + <i>Iodamoeba bütschilii</i> + <i>Blastocystis</i> spp.	1	1	0,7	0	0	
<i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Blastocystis</i> spp + <i>Endolimax nana</i>	1	1	0,7	0	0	
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Endolimax nana</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	1	1	0,7	0	0	
<i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Blastocystis</i> spp + <i>Entamoeba coli</i>	1	1	0,7	0	0	
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis</i> spp. + Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	1	0	0	1	0,7	1
<i>Blastocystis</i> spp + <i>Endolimax nana</i> + Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	1	0	0	1	0,7	
<i>Blastocystis</i> spp + <i>Endolimax nana</i> + <i>Entamoeba coli</i>	1	0	0	1	0,7	
<i>Entamoeba coli</i> + <i>Blastocystis</i> spp. + <i>Giardia duodenalis</i> + <i>Enterobius vermicularis</i>	1	1	0,7	0	0	
<i>Blastocystis</i> spp + <i>Endolimax nana</i> + <i>Entamoeba coli</i> + <i>Giardia duodenalis</i>	1	1	0,7	0	0	
Total parasitados	134	76		58		

Ascaris lumbricoides e *T. trichiura* foram observados em ambos os sexos e *E. vermicularis* somente em 1 (um) escolar do sexo feminino. Espécies do complexo *E. histolytica* e *Cryptosporidium* spp. foram observados somente em crianças do sexo feminino, mas sem diferença estatística significativa (Teste de Tukey, $p > 0,05$) (**Tabela 6**). *Blastocystis* spp. foi a espécie parasitária mais prevalente tanto em indivíduos do sexo masculino quanto do feminino.

Crianças da faixa etária dos 6 aos 10 anos apresentaram maior frequência de espécies parasitárias, tanto para helmintos quanto para protozoários, quando comparados àqueles de faixa entre 1 a 5 anos. O protozoário mais frequente, de forma geral, foi *Blastocystis* spp. (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Além destes destacaram-se *E. coli*, *E. nana* e *G. duodenalis* como mais prevalentes em ambas as idades (Teste de Tukey, $p > 0,05$), (**Tabela 7 e Figura 6**).

5.2. ANÁLISE GERAL DAS AMOSTRAS E DOS DADOS SOCIOECONÔMICOS

Das 134 (32,4%) amostras positivas, 68% (91/134) foram caracterizadas como formadas, 25% (33/134) como pastosas e as diarreicas somaram 7% (10/134) (**Figura 9**). A maior diversidade de espécies parasitárias foi observada em fezes formadas ($n = 11$ espécies); para fezes pastosas e diarreicas as mesmas foram semelhantes ($n = 6$ espécies) (**Tabela 8**). Entre os protozoários, *Blastocystis* spp. esteve presente em todos os tipos de fezes e ainda configurou-se como a espécie parasitária mais frequente, independente da idade (**Tabela 7**). Nas fezes formadas e pastosas, além de *Blastocystis* spp, destacou-se a presença de *G. duodenalis*, *E. coli* e *E. nana*. Para os helmintos, somente *T. trichiura* foi encontrado nos três tipos de fezes analisadas. Ressalta-se que, *A. lumbricoides* foi detectado somente em fezes formadas (**Tabela 8**). Quanto à biologia molecular, os três tipos de fezes permitiram a genotipagem de espécies (**ver item 5.3**). A partir dessas amostras fecais, avaliou-se a procedência das crianças. Aqueles vindos de ambiente rural apresentaram uma prevalência de 50,7% (68/134) em relação àqueles vindos de área urbana que foi de 40,3% (54/134) (Teste de Tukey, $p < 0,05$). As prevalências de espécies parasitárias observadas para as diferentes escolas, levando em conta a procedência rural foram: 39,6% para a Escola II Rural de Colombo; 6,7% para a Escola III Rural - Bocaiúva do Sul e 4,5% para a Escola IV Rural - Bocaiúva do Sul (**Tabela 9**), as quais apresentaram 12 vezes mais chances de detecção

Tabela 6: Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças das escolas, de acordo com o sexo, procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019) [N: total de amostras positivas; n: frequência de observação; %: taxa de prevalência= (n/NX100); *: p< 0,05].

	N	Masculino		Feminino		p-valor
		n	%	n	%	
Helmintos	10					
<i>Trichuris trichiura</i>	5	1	0,7	4	3,0	0,255
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	2	1,5	2	1,5	1,000
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	0	0,0	1	0,7	1,000
Protozoários	124					
<i>Blastocystis</i> spp.	90	40	29,9	50	37,3	0,905
<i>Entamoeba coli</i>	23	8	6,0	15	11,2	0,397
<i>Endolimax nana</i>	23	11	8,2	12	9,0	0,829
<i>Giardia duodenalis</i>	16	4	3,0	12	9,0	0,197
<i>Entamoeba hartmanni</i>	11	6	4,5	5	3,7	0,545
<i>Iodamoeba bütschilii</i>	6	5	3,7	1	0,7	0,095
Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	3	0	0,0	3	2,2	0,260
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1	0	0,0	1	0,7	1,000
Total parasitados	134	59		75		

Tabela 7: Frequência das espécies parasitárias/comensais detectadas nas fezes de crianças das escolas, de acordo com a idade, procedentes dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019) [N: total de amostras positivas; n: frequência de observação; %: prevalência= (n/NX100); *: p< 0,05].

	N	1- 5		6- 10		não informado		p-valor
		n	%	N	%	n	%	
Helmintos	10							
<i>Trichuris trichiura</i>	5	0	0,0	5	3,7	0	0	0,162
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	2	1,5	2	1,5	0	0	1,000
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	0	0,0	1	0,7	0	0	1,000
Protozoários	124							
<i>Blastocystis</i> spp.*	90	21	15,7	64	47,8	5	3,7	0,002
<i>Entamoeba coli</i>	23	6	4,5	17	12,7	0	0,0	0,218
<i>Endolimax nana</i>	23	7	5,2	15	11,2	1	0,0	0,819
<i>Giardia duodenalis</i>	16	5	3,7	10	7,5	1	0,7	0,769
<i>Entamoeba hartmanni</i>	11	5	3,7	4	3,0	2	1,5	0,138
<i>Iodamoeba bütschilii</i>	6	3	2,2	3	2,2	0	0,0	0,784
Complexo <i>Entamoeba histolytica</i>	3	0	0,0	3	2,2	0	0,0	0,394
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1	1	0,7	0	0,0	0	0,0	0,440
Total parasitados	134	54		68		12		

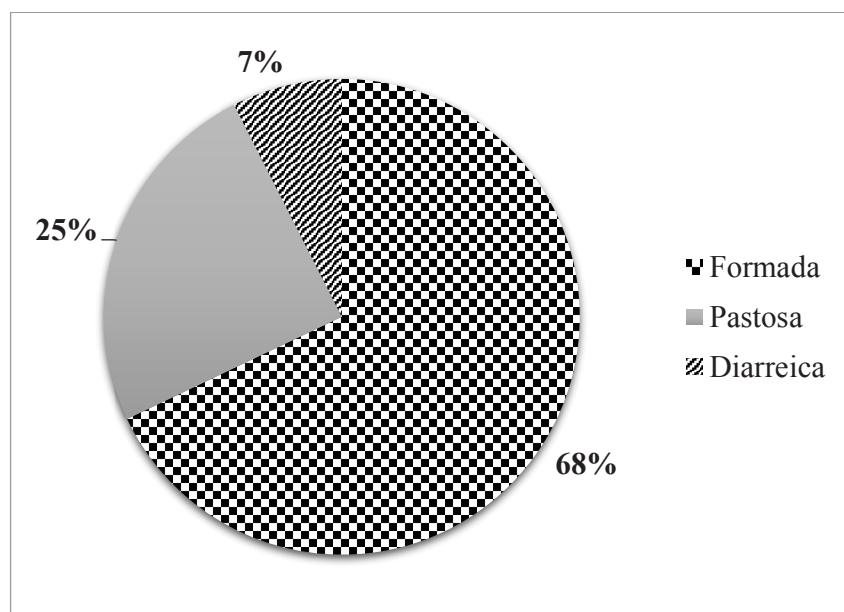


Figura 9: Consistência das fezes analisadas de crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).

Tabela 8: Características das amostras fecais e frequências de espécies parasitárias das crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).

Espécies parasitárias	Formadas	Genótipos	Pastosas	Genótipos	Diarreicas	Genótipos
	n (%)		n (%)		n (%)	
<i>Trichuris trichiura</i>	3 (2,3%)		1(0,7%)		1(0,7%)	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4(3%)					
<i>Enterobius vermicularis</i>	1(0,7%)					
<i>Blastocystis</i> spp.	61(45,5%)	ST 1, 2,3,4,7	22(16,4%)	ST 1, 2	7(5,2%)	
<i>Entamoeba coli</i>	11(8,2%)		12(9%)			
<i>Endolimax nana</i>	18(13,4%)		5(7,3%)			
<i>Giardia duodenalis</i>	11(8,2%)	BIII	3(2,3%)		2(1,5%)	BIV
<i>Entamoeba hartmanni</i>	7(5,2%)		2(1,5%)		2(1,5%)	
<i>Iodamoeba bütschilii</i>	5(7,3%)				1(0,7%)	
Complexo <i>E. histolytica</i>	2(1,5%)				1(0,7%)	
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1(0,7%)					

Tabela 9: Frequências das características das crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019). [N: total de amostras; n: frequência de observação; %: taxa de prevalência= (n/NX100); *: p< 0,05; OR: Oddis Ratio].

Variáveis	N	N	%	OR	p-valor
MUNICÍPIO					
Colombo	207	76	36,7	1,5	0,074
Bocaiúva do Sul	207	58	28,0	1,0	
AMBIENTE					
Urbano	227	54	40,3	1,0	<0,001
Rural*	152	68	50,7	2,6	
não informado	35	12	9,0	1,6	
ESCOLA					
Escola I (Urbano - Colombo)	91	23	17,2	5,1	<0,001
Escola II (Rural - Colombo)*	116	53	39,6	12,6	
Escola III (Urbano - Bocaiuva do Sul)	120	30	22,4	5,0	
Escola III (Rural - Bocaiúva do Sul)*	21	9	6,7	11,3	
Escola III (Não Informado)	26	7	5,2	5,5	
Escola IV (Urbano - Bocaiuva do Sul)	16	1	0,7	1,0	
Escola IV (Rural - Bocaiúva do Sul)*	15	6	4,5	10,0	
Escola IV (Não Informado)	9	5	3,7	18,8	
SEXO					
Feminino	233	75	32,2	1,0	1,000
Masculino	181	59	32,6	1,0	
FAIXA ETÁRIA					
1- 5	158	40	9,7	1,0	0,038
6- 10*	232	87	21,0	1,8	
Não informado	24	7	1,7	0,8	
TOTAL	414	134	32,4		-

de alguma espécie parasitária quando comparadas àquelas procedentes do ambiente urbano (Teste de Tukey, $p < 0,05$) (**Tabela 9**).

Das amostras positivas 32,2% (59/181) foram do sexo masculino e 32,6% (75/233) foram do sexo feminino, demonstrando maior prevalência daquele, porém sem diferença significativa (Teste de Tukey, $p > 0,001$) (**Tabela 6**). Quanto à faixa etária a maior prevalência foi detectada em crianças de 6-10 anos com 21,0% (87/134), sendo diferente estatisticamente daqueles com menor idade (Teste de Tukey, $p < 0,05$) (**Tabela 7**).

Quando observado os dados socioeconômicos de ambos os municípios (**Tabela 10**), notou-se que em Colombo 25,0% (5/20) que tiveram resultado positivo no EPF realizado já tomaram Albendazol[®], 50,0% (1/2) tomaram Nitazoxanida[®] e 22,2% (6/18) chá de hortelã. Quando observado os mesmos dados para Bocaiúva do Sul o chá de hortelã foi mais utilizado pelos indivíduos amostrados 8,7% (14/67), seguido pelo Albendazol[®] com 8,2 (13/48) e Nitazoxanida[®] com 5,1 (8/31).

A Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR) abastece (fonte de água destinada a consumo humano) a maior parte das residências das crianças das escolas em ambos os municípios. Outras fontes de água utilizadas para consumo podem ser consultadas na **Tabela 10**.

Em Colombo observou-se que 41,5% (27/66) usam o banheiro da casa como local para evacuação das fezes e para o município de Bocaiúva do Sul 21,3% (17/80). Outros locais de evacuação das fezes relatados foram latrina 50% (2/4) e terreno no entorno da casa 25% (4/1), particularmente nesse último município (**Tabela 10**).

A Prefeitura (órgão público) faz a coleta do lixo na maior parte das residências em ambos os municípios, entretanto em Bocaiúva do Sul foram relatadas outras formas de descarte, como a queimada.

O tratamento de esgoto para os dois municípios é feito na maior parte pela SANEPAR. A maior parte das crianças das escolas possui algum tipo de animal doméstico, com destaque para cachorros, gatos, porcos e galinhas.

Entre todas essas variáveis analisadas (medicação, fonte de água, local de evacuação, destino do lixo, tratamento de esgoto e presença de animais) para aquelas crianças foram positivos para alguma forma parasitária, não foram observadas diferenças estatísticas significativas (Oddis-Ratio e Teste de Tukey, $p > 0,05$).

Tabela 10: Frequência das respostas ao questionário socioeconômico pelos responsáveis das crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Agosto de 2017 à Julho de 2019).

Variáveis	Colombo				Bocaiúva do Sul					
	(N = 66)	n	%	OR	p-value	(N = 164)	n	%	OR	p-value
REMÉDIOS PARA VERME										
Albendazol	20	5	25,0	0,3	0,106	48	13	8,2	1,02	1,000
Nitazoxanida	2	1	50,0	1,4	1,000	31	8	5,1	0,94	1,000
Hortelã	18	4	22,2	0,3	0,079	67	14	8,7	0,59	0,213
FONTE DE ÁGUA										
Saneapar	53	22	41,5	1,5	0,792	111	29	26,126	0,90	0,916
Fonte	12	7	58,3	2,2	0,363	59	19	32,203	1,52	0,327
Filtrada	1	0	0,0	-	1,000	90	26	28,889	1,26	0,632
Fervida	1	0	0,0	-	-	6	2	33,333	1,38	1,000
Não Informado	1	0	0,0	-	0,174	-	-	-	-	-
LOCAL DE EVACUAÇÃO DAS FEZES										
Banheiro	65	27	41,5	-	0,877	80	17	21,25	0,80	0,648
Latrina	-	-	-	-	-	4	2	50	2,81	0,626
Terreno a Volta	-	-	-	-	-	4	1	25	0,91	1,000
Não Informado	1	1	100,0	-	1,000	2	1	50	2,77	1,000
DESTINO DO LIXO										
Prefeitura	66	28	42,4	-	1,000	102	24	23,529	0,65	0,298
Terreno a Volta	-	-	-	-	-	29	11	7	1,89	0,209
Queimada	-	-	-	-	-	4	1	0,6	0,91	1,000
Não Informado	-	-	-	-	-	3	2	66,667	5,67	0,361
TRATAMENTO DO ESGOTO										
Saneapar	11	4	36,4	-	0,911	153	39	24,7	0,41	0,275
Fossa Séptica	-	-	-	-	-	8	2	1,3	0,90	1,000
Valeta da Rua	-	-	-	-	-	1	1	0,6	-	0,268
Não Informado	55	24	43,6	-	0,911	2	2	100	-	0,071
PRESEÇA DE ANIMAIS EM CASA										
Cachorro	54	23	42,6	0,455	0,363	45	12	7,6	0,99	1,000
Gato	23	12	52,2	1,841	0,362	18	4	2,5	0,76	0,853
Galinha	22	12	54,5	2,1	0,252	9	1	0,6	0,33	0,447
Porco	4	3	75,0	4,44	0,402	84	21	13,3	0,83	0,715
Coelho	4	0	0,0	-	0,212	22	8	5,1	1,68	0,409
Pato	1	1	100,0	-	0,877	20	4	2,5	0,65	0,641

5.3. GENOTIPAGEM DAS AMOSTRAS POSITIVAS PARA *Giardia duodenalis* E *Blastocystis* spp.

As **Figuras 10** e **11** representam as porcentagens de genótipos de *Blastocystis* spp. e *G. duodenalis*, respectivamente. Das 207 amostras fecais de crianças das escolas de Colombo, 53 estavam positivas para *Blastocystis* spp. sendo que 3 (três) foram possíveis de amplificação por PCR e sequenciadas. Na genotipagem de *Blastocystis* spp. foram caracterizados os subtipos ST1 (n=2) e ST2 (n=1). Para Bocaiúva do Sul, das 167 amostras fecais enviadas para genotipagem, 27 estavam positivas para *Blastocystis* spp. sendo que 5 (cinco) foram possíveis de amplificação por PCR e sequenciadas. Na genotipagem foram caracterizados os subtipos ST1 (n=1), ST2 (n=1), ST3 (n=1), ST4 (n=1) e ST7 (n=1).

Dado ao baixo sucesso na genotipagem os dados são apresentados em conjunto para os dois municípios na **Figura 10**, onde é possível observar que o ST1 foi o mais prevalente. Nas fezes formadas foram caracterizados os subtipos ST 1, 2, 3, 4 e 7 de *Blastocystis* spp. e nas pastosas os subtipos ST1 e ST2 (**Tabela 8**).

Das 207 amostras fecais de crianças das escolas de Colombo, 9 (nove) estavam positivas para *G. duodenalis*, sendo que para nenhuma foi possível amplificação por PCR.

Para Bocaiúva do Sul, das 167 amostras fecais enviadas para genotipagem, 7 (sete) estavam positivas para *G. duodenalis* por EPF, sendo que 5 (cinco) foram possíveis a amplificação por PCR, porém apenas 3 (três) (**Figura 11**) foram submetidos ao sequenciamento nucleotídico, dos quais foram caracterizadas as assembleias BIV 67% (n=2), em fezes formadas e BIII 33% (n=1) em fezes diarreicas (**Figura 12 e Tabela 8**).

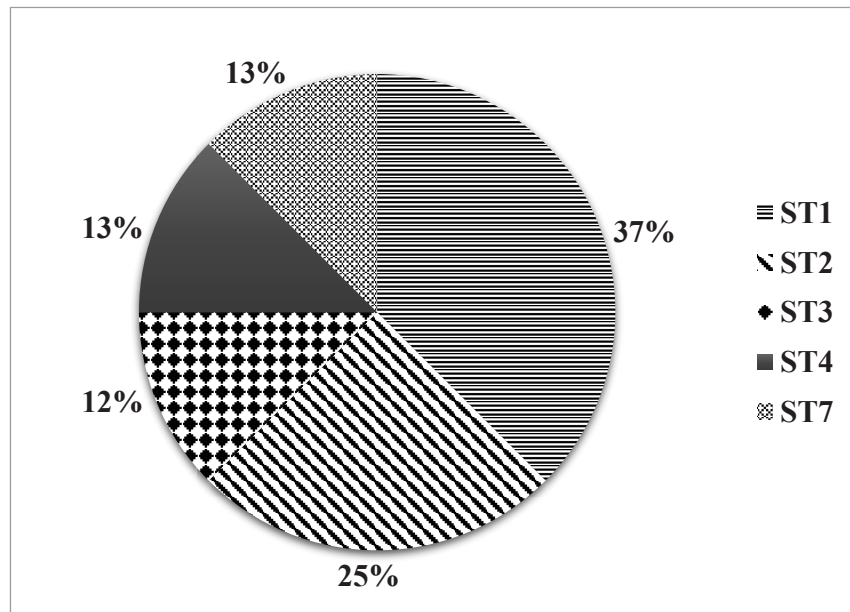


Figura 10- Porcentagens dos genótipos de *Blastocystis* spp. obtidas de amostras fecais de crianças das escolas dos municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, Paraná (Total de amostras genotipadas: oito).

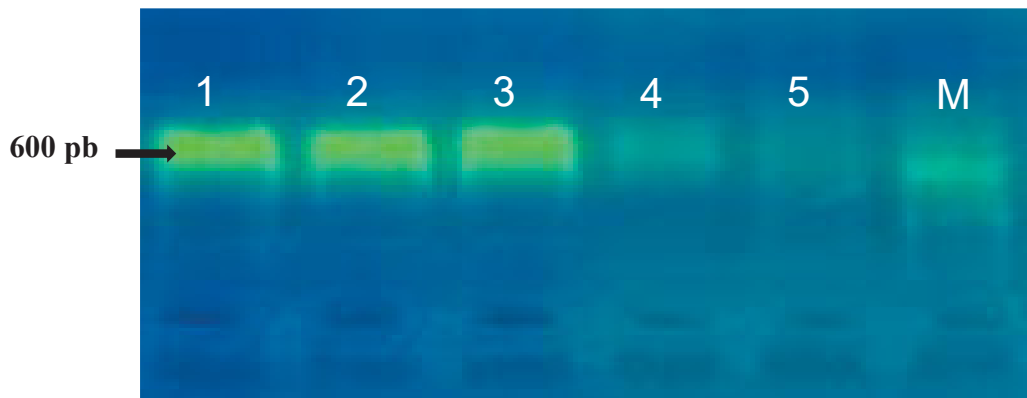


Figura 11: Eletroforese da amplificação do fragmento de rRNA de SSU de *Giardia duodenalis*. (1-5) positivo; M: Marcador de peso molecular.

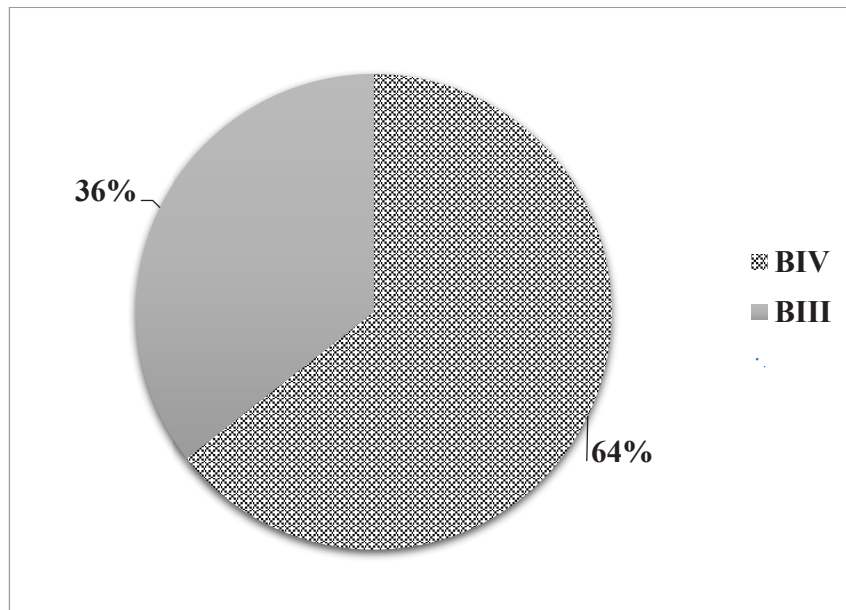


Figura 12- Porcentagens dos genótipos de *Giardia duodenalis* obtidas de amostras fecais de crianças das escolas dos municípios de Bocaiúva do Sul, Paraná (Total de amostras genotipadas: três).

6- DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta pela primeira vez a prevalência de enteroparasitos para os municípios de Colombo (36,7%) e Bocaiúva do Sul (28,0%). Para toda a parte norte da Região Metropolitana de Curitiba (RMC) só há um estudo realizado em 2002 no município de Campina Grande do Sul, com prevalência relatada de 55,4% (OGLIARI e PASSOS, 2002). Essa alta prevalência poderia estar associadas às diferentes metodologias empregadas, ao grupo amostral de crianças acima de 10 anos procedentes de ambiente rural, principalmente, ao saneamento básico inexistente relatado no estudo. Por outro lado, os resultados de Bocaiúva se aproximam do encontrado na região sudoeste da RMC em que foi descrito uma prevalência de 24,8% em Campo do Tenente - Paraná (OISHI et al., 2019) e o resultado de Colombo ao litoral do estado do Paraná onde foi observado 46,1% (SEGUÍ et al., 2018). Alguns autores, em diferentes estados, obtiveram prevalências superiores quando comparadas com estes estudos, como em Alagoas que foi de 68%, São Paulo de 65,9% e Amapá de 59% (DIAS et al., 2013, DAVID et al., 2015, DA SILVA et al., 2016).

Blastocystis spp. foi a espécie mais prevalente nas amostras com 39,6% para o município de Colombo e 41,1% para Bocaiúva do Sul, sendo considerado o protozoário mais observado em humanos (COCO et al., 2017). Oishi et al. (2019) analisando fezes de crianças de 0 a 15 anos, em Campo do Tenente, Paraná detectaram maior prevalência (38,9%) de *Blastocystis* spp., aplicando o mesmo método de EPF do presente estudo. Em outra investigação realizada em Sumidouro, Rio de Janeiro, foi detectado 55,8% para *Blastocystis* spp., usando o método de Lutz e HPJ (BARBOSA et al., 2018). Dos Santos et al. (2014), em Florianópolis (SC), encontraram também maior prevalência para *B. hominis* seguido de *G. duodenalis*. De forma geral as pesquisas realizadas no Brasil com enteroparasitoses têm detectados uma maior quantidade de protozoários do que para helmintos, com destaque para *E. nana* e *E. coli* e *G. duodenalis* (TAKIZAWA, FALAVIGNA e GOMES, 2009; BOSQUI et al., 2015, BUENO et al., 2015, PEREIRA, PEDROTTI, ZANCANARO, 2016; FONSECA; BARBOSA e FERREIRA, 2017; ALMEIDA et al., 2020). Embora não ser parte da população alvo da presente pesquisa, segundo Oliveira, Santos e García-Zapata, (2013), pacientes em hemodíalises apresentam risco de infecção por enteroparasitos como *Cryptosporidium* sp, *Cyclospora cayetanensis* e *Blastocystis* spp. Em

pacientes imunodeprimidos pode acarretar complicações se não diagnosticados e tratados de forma antepada (JESKEA et al., 2018).

Em outros continentes e países as prevalências de protozoários é semelhante àquela do Brasil, incluindo o do presente estudo (MOLINA et al., 2011, FORSELL et al., 2016, DACAL et al., 2018; HERNÁNDEZ et al., 2019; VILLAMIZAR et al., 2019, PEREA et al., 2020). No Continente Africano, Forsell et al. (2016), na Tanzânia, obtiveram maior prevalência para *E. coli* (21,3%), seguido de *Blastocystis* spp. (20,1%), enquanto que os resultados obtidos por Dacal et al. (2018), na província de Benguela (Angola), demonstram que, a espécie parasitária mais prevalente foi *G. duodenalis* (37,9%) seguida de *Blastocystis* spp. com 25,6% destacando, mais uma vez, a comum detecção destes em amostras fecais. Ainda na América Latina, em países como Colômbia, Nicaraguá e Argentina, os protozoários mais comuns em amostras fecais de crianças foram *Blastocystis*, *Endolimax*, *Entamoeba* e *Giardia* (MOLINA et al., 2011, MUÑOZ-ANTOLI et al., 2018; HERNÁNDEZ et al., 2019, VILLAMIZAR et al., 2019), sendo que o consumo de água não tratada apresenta-se como um importante fator de risco (HERNÁNDEZ et al., 2019).

Uma das hipóteses, para que ocorra variações nas prevalências de espécies parasitárias, pode estar atrelada à sensibilidade dos métodos parasitológicos utilizados. Pesquisas realizadas, até a presente data, demonstraram que o método de Ritchie tem apresentado maior sensibilidade e especificidade em comparação com outros EPFs. Alyani et al. (2015) ao compararem dois métodos observaram 100% de sensibilidade para o Ritchie e 93,33% para o Faust. Os mesmos resultados foram obtidos por Azevedo et al. (2017), em que utilizando a técnica de Ritchie modificada detectaram espécies parasitárias em (20,1%) das amostras positivas, em comparação aos métodos onde para o método de Lutz foram 59 amostras (15,8%), Faust 48 (12,8%); e Kato-Katz 4 (1,1%) tanto para helmintos quanto para protozoários. Eymael, Schuh e Tavares (2010) ao compararem técnica de Ritchie e HPJ, detectaram respectivamente 32% e 20% de positividade para algumas formas parasitárias. O mesmo estudo destacou que a técnica de Ritchie foi mais efetiva na detecção de protozoários, sobretudo para *E. nana* e *Blastocystis*. Outro trabalho demonstrou que o uso de água em métodos como HPJ e Faust, pode influenciar na baixa prevalência para *Blastocystis* spp. (ALARCÓN et al., 2007), principalmente as formas vacuolares, o que justificaria a escolha do método de Ritchie no presente estudo.

Independente do município, dada à presença das espécies parasitárias, hipotetisa-se um constante contato com diferentes fontes de infecção. Para o multiparasitismo observou-se, no presente estudo, *Blastocystis* spp. teve maior associação, corroborando os resultados de Perea et al. (2020) em crianças de escola primária de uma comunidade do Panamá. Porém outros estudos demonstraram maior associação parasitária entre *E. nana* e *E. coli* (CASAVECHIA et al., 2016; DAMÁZIO, SOARES e SOUZA, 2016), havendo associação de 2 (duas) a 3 (três) espécies parasitárias. No presente estudo houve associação de 3 (três) ou mais. Al-Delaimy et al. (2014), na Malásia, detectaram maior associação entre duas espécies parasitárias, além da associação de 5 (cinco) espécies diferentes. Neste mesmo estudo, *T. trichiura*, *A. lumbricoides*, *Blastocystis* spp. e *G. duodenalis* foram as coinfeções mais prevalentes, onde houve influência com o saneamento básico e os hábitos de higiene das crianças. No presente estudo foi detectado um máximo de associação de quatro espécies, com destaque para protozoários. Porém Oliveira, Gurgel-Gonçalves e Machado, (2016), em São Gabriel da Cachoeira, num estudo realizado com populações indígenas no estado do Amazonas observaram associação parasitária de 14 espécies, com destaque para *A. lumbricoides*, *G. duodenalis* e *E. coli*. Apesar de algumas espécies parasitárias serem comensais ao trato intestinal humano, são indicadores de falha na higiene pessoal, já que o seu mecanismo de transmissão se dá pela via fecal-oral (ALMEIDA et al., 2020), o que poderia influenciar ao multiparasitismo.

No presente estudo, as crianças procedentes do ambiente rural apresentaram maior prevalência de enteroparasitos, onde foram detectados *Blastocystis* spp., *E. nana*, *T. trichiura* e *E. vermicularis*, apresentando mais chances de risco de infecção, corroborando os resultados obtidos por Belo et al. (2012), em Minas Gerais. Esses autores ao analisarem a procedência das crianças (área rural ou urbana), notaram que aqueles vindos de ambiente rural apresentaram maior número de espécies parasitárias tanto para monoparasitismo como para o multiparasitismo. Ainda destacaram a presença de *E. coli* utilizando o método de HPJ e Kato-Katz. Biolchi et al. (2015) empregando os métodos de HPJ e Faust, obtiveram maior prevalência em crianças provenientes de áreas rurais de Santa Catarina, em que houve maior frequência de ancilostomatídeos, seguido de *A. lumbricoides*; e para as crianças provenientes de áreas urbanas a maior prevalência foi de *A. lumbricoides* seguido de *E. coli*. Além disso, alguns hábitos como andar descalço, ligado à idade, e o consumo de água do rio são fatores de risco para infecção por enteroparasitos (AIMPUN e HSHIEH, 2004 e MUÑOZ-ANTOLI et al., 2014). Biolchi et al.

obtiveram 58,5% de prevalência em procedentes de áreas rurais e os mesmos não possuíam água tratada. Diferentemente os resultados obtidos por Macchioni et al. (2015), em crianças provenientes de áreas rurais e peri-urbanas da Bolívia, utilizando o método de Ritchie, obtiveram maior prevalência em crianças provenientes de áreas peri-urbanas, onde foram mais detectados protozoários como *E. coli*, *G. duodenalis* e *Blastocystis* spp. No presente estudo a prevalência de enteroparasitos na área rural de Colombo é significativamente maior que o encontrado em Bocaiúva do Sul. Apesar de serem considerados ambientes rurais foi possível observar que em Colombo as residências eram próximas uma das outras o que pode influenciar na contaminação do solo e conseqüentemente de animais domésticos e dos moradores.

A maior parte das amostras fecais das crianças das escolas analisada foi caracterizada, segundo a escala Bristol, como formadas (BLAKE; RAKER e WHELAN, 2016), onde nas mesmas foram observadas maior número de espécies parasitárias (*A. lumbricoides* e *Blastocystis* spp.) corroborando com os resultados obtidos por Seguí et al. (2018). Belloto et al. (2011), caracterizaram a maior parte das amostras fecais de crianças como formadas 11,1% e as diarreicas somaram 8,9% das amostras, onde nas formadas foram detectadas mais *G. duodenalis* em relação às diarreicas, utilizando o método de Faust e HPJ. Santos, (2014) avaliou a prevalência de *G. duodenalis* em 36 amostras fecais diarreicas de crianças, onde apenas 2 (duas) foram positivas. Acredita-se que caracterização das amostras fecais quanto à consistência é importante visto que esta pode ser uma variável incluída para se analisar a prevalência de espécies parasitárias (helmintos e/ou protozoários). Alguns estudos fazem essa caracterização das amostras fecais (BELLOTO et al., 2011; SANTOS, 2014), porém a maioria não caracterizam ou não descrevem as características das fezes (CAVAGNOLLI et al., 2015; BARBOSA et al., 2018; OISHI et al., 2019; PEREA et al., 2020; COCIANCIC et al., 2020). Tendo em conta os resultados encontrados na literatura e com aqueles do presente estudo sugere-se que a Escala Bristol (BLAKE; RAKER e WHELAN, 2016) seja utilizada com mais frequência para relacionar aos resultados obtidos.

Foi constatado que indivíduos do sexo masculino apresentaram maior prevalência, porém a mesma não teve diferença estatística significativa quando comparada ao sexo oposto, diferentemente dos resultados obtidos por outros autores que detectaram maior prevalência no sexo feminino (DIAS et al., 2013; SILVA et al., 2016; BARBOSA et al., 2017; MENEZES et al., 2018; SEGUÍ et al., 2018;; OISHI et al., 2019). Chama-se a atenção para o fato de nenhuma dessas pesquisas avaliarem os possíveis fatores de risco associados à essas prevalências, bem

como no presente estudo. Por outro lado, quando se trabalha com grupos de risco para outras parasitoses, por exemplo, a pediculose, nota-se que a prevalência do *Pediculus capitis* é maior em meninas (COSTA et al., 2017; LUSTOSA et al., 2020), o que sabidamente está ligado às questões comportamentais.

Quanto a faixa etária a maior prevalência foi detectada em crianças de 6-10 anos o que corrobora Belo et al. (2012) que em 21 escolas do ensino fundamental do estado de Minas Gerais, observaram majoritariamente protozoários como *E. histolytica/dispar* e *E. coli* onde elencam que a medida que a idade aumenta, o tempo de exposição às formas infectivas dos parasitos também aumenta. Ludwig e Conte, (2017), em São Paulo, detectaram maior prevalência de parasitos com o aumento da idade, entretanto neste trabalho foram realizadas 2 (duas) coletas, antes e depois das ações educativas onde observou-se uma redução de positividade na segunda. Tendo em conta os hábitos de higiene das crianças nessa faixa etária como, levarem a mão na boca e por muitas vezes as brincadeiras estarem sempre relacionadas com o solo, essas estariam mais propensas a estar em contato com as formas infectantes dos parasitos (CANTUÁRIA et al., 2011).

A utilização de antiparasitário foi relatada em maior porcentagem em Colombo que Bocaiúva do Sul sendo que 50% das famílias relataram ter administrado Nitazoxanida. O uso de antihelmínticos pode justificar a baixa prevalência de helmintos, o que corrobora os resultados obtidos por Machado et al. (1996), em que observaram uma diminuição de *A. lumbricoides* após o tratamento com Albendazol. Outros autores também obtiveram resultados semelhantes à baixa prevalência associada ao uso de antihelmíntico (CAVAGNOLLI et al., 2015; CAMELLO et al., 2016; RECH et al., 2016; AULER et al., 2018). É uma realidade que muitas pessoas tomam fármacos sem realizar exame laboratorial e em caso de enteroparasitoses o tratamento em massa sem o melhoramento do saneamento básico poderá levar a reinfeção. Neste contexto surge a necessidade de maior divulgação sobre a prevenção das doenças e o perigo da automedicação (CAVAGNOLLI et al. 2015). Outros trabalhos elencaram o uso de Nitazoxanida (Annita) sem prescrição médica em crianças do estado do Rio Grande do Sul (RECH et al. 2016), portanto esse fármaco é de amplo espectro, atuando tanto para helmintos quanto para protozoários (FOX e SARAVOLATZ, 2005; ABUBAKAR et al., 2007; GARCÍA et al., 2013). No presente estudo das 14 crianças que já tomaram Nitazoxanida, 9 (nove) apresentaram resultados positivos, os quais estavam parasitados por *T. Trichiura* e *Blastocystis* spp. Ainda a respeito de uso de substâncias consideradas eficazes contra os enteroparasitos, pesquisas mostraram que o uso de hortelã tem

efeito positivo no tratamento para protozoário *G. duodenalis* (VIDAL et al., 2007) e atividade anti-helmíntica (OLIVEIRA; OLIVEIRA e ANDRADE, 2010). Quando observado os resultados do presente estudo, somados os dois municípios, das 43 crianças que só tomaram chá de hortelã, 10 tiveram resultado positivo para alguma espécie parasitária, ou seja, 23% do total, confirmando um possível efeito antiparasitário da planta.

Um dos fatores de transmissão de enteroparasitos é o consumo de água não tratada. No presente estudo, os responsáveis relataram a Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR) como a maior fornecedora de água nas residências das crianças em ambos os municípios, por isso acredita-se que a mesma encontrava-se tratada. O abastecimento de água é um dos fatores determinantes para a transmissão de parasitos entéricos (LUDWIG et al., 1999). Barbosa et al. (2017) na cidade de Rio Preto, Minas Gerais, relataram que as crianças usavam majoritariamente a água filtrada para consumo, não obstante os mesmos autores elencaram outras fontes de água, semelhante às detectadas no presente estudo. Outros trabalhos demonstraram o consumo de água vindo da rede pública (BELO et al., 2012; VIANA et al., 2017) como um dos fatores importantes para a diminuição da prevalência de formas parasitárias em amostras fecais. Outro fator importante a ser considerado é a coleta e destino de lixo, que pode favorecer a transmissão ou reinfecção, em que no presente estudo a maior parte é feita pela prefeitura, em ambos os municípios, corroborando aos resultados obtidos por Barbosa et al. (2017), em que 91,2% era feito pela prefeitura. Porém outros autores obtiveram resultados diferentes em que a população tinha como destino a incineração do lixo (VIANA et al., 2017). Neste mesmo estudo a prevalência foi acima de 50% com destaque para protozoários das espécies *E. nana* e *E.coli*; os mesmos autores salientaram que, a falta de saneamento básico aumenta o risco de transmissão das infecções e propiciam a sua manutenção. Dados do presente estudo, evidencia que crianças que relataram outras formas de coleta e destino de lixo apresentaram maior prevalência para protozoários.

Enteroparasitos zoonóticos são fundamentais para o estudo da influência de animais domésticos e até mesmo silvestres na prevalência deste em humanos. Desta forma a biologia molecular é comumente utilizada no estudo de *Blatocystis* spp e de *G. duodenalis* para auxiliar no entendimento da dispersão ou distribuição geográfica, na possível patogenicidade associada e no rastreamento das infecções. No presente estudo o subtipo ST1 de *Blatocystis* spp. foi o mais prevalente somados os dois municípios, corroborando aos resultados obtidos por Perea et al. (2020) em

crianças de uma comunidade rural no Panamá e diferente dos resultados obtidos por Oishi et al. (2019) e Seguí et al. (2018) que detectaram maior prevalência para o subtipo ST3, no estado do Paraná. Esse subtipo já foi detectado em amostras de animais como bovinos e cachorros (STENSVOLD et al., 2009; BADPARVA, SADRAEE e KHEIRANDISH, 2015). Barbosa et al. (2017) estudando pacientes em um hospital e creche em Duque de Caxias, Rio de Janeiro, relataram o subtipo ST2 em familiares dos pacientes com episódios diarreicos intermitentes. Neste mesmo trabalho, os subtipos ST1, ST2 e ST3 foram identificados em outros familiares de pacientes que relataram flatulência, inchaço e desconforto abdominal. Os subtipos ST1 e ST4 têm sido associados a doenças intestinais (DOMÍNGUEZ-MÁRQUEZ et al., 2009 e PEREA et al., 2020), entretanto no presente estudo a maior parte dos subtipos foram caracterizadas em fezes formadas, sem sintomatologia associada. Há ainda relatos de detecção do subtipo ST4, ST7 e ST8 no Rio de Janeiro (BARBOSA et al., 2018). No presente estudo fez-se o primeiro registro do subtipo ST7 para o estado do Paraná. Este subtipo já foi encontrado em humanos e roedores em Singapura e Japão (YOSHIKAWA et al., 2003). Um estudo de subtipos feito na Europa demonstrou que, cerca de 30% foi do tipo ST3, sendo que geneticamente é mais conservado (DOMÍNGUEZ-MÁRQUEZ et al., 2009). Em humanos a infecção por este subtipo é causada predominantemente pela transmissão antroponótica e que os subtipos para humanos que caem em outros clados são quase certamente o resultado da transmissão zoonótica (DOMÍNGUEZ-MÁRQUEZ et al., 2009; STENSVOLD, ALFELLANI CLARK, 2011).

Essa heterogeneidade genética observada entre amostras de *Blastocystis* spp. e também para *G. duodenalis* sugere exposição a várias fontes, incluindo contatos de pessoa a pessoa (DAVID et al., 2015). Seguí et al. (2018), em Paranaguá, obtiveram maior prevalência para a subassembleia AII (47, 4%), diferente do presente estudo onde subassembleia BIV foi a mais prevalente (64%). A assembleia B, assim como a A apresentam caráter zoonótico (CACCIO et al., 2008), as quais são frequentemente detectadas em animais (cachorros) (PAZ e SILVA et al. 2011, MINETT et al., 2015; COELHO et al., 2017; REHBEIN et al., 2018). Aparentemente a assembleia B está relacionada com população proveniente de área rural (MINVIELLE et al., 2008). Em Fortaleza, KOHLI et al. (2008), sem realizarem a genotipagem a nível de subassembleia, detectaram assembleia A e B, demonstrando a ampla distribuição geográfica desses genótipos no Brasil. Crianças com assembleia B eliminam mais cistos que aquelas com assembleia A (KOHLI et al., 2008) o que justificaria a prevalência encontrada, mesmo em baixa

quantidade. Tal fato pode ser observado no trabalho de Matsuchita et al. (2017), em São Jerônimo da Serra (PR) cujas prevalências maiores foram de 68,6% e 31,4% para, B e A, respectivamente. Essa maior prevalência de assembleia B também é observada em outros países. Dacal et al. (2018), em Benguela (Angola), obtiveram maior prevalência para subassembleia BIV, corroborando ao presente estudo, seguida das subassembleias AI e AII, comuns também em outros estudos (FORSELL et al., 2016). Villamizar et al. (2019), em Cuaca, na Colômbia, obtiveram maior prevalência para subassembleia BIII em 50%, BIV em 33,3%. Por outro lado, Hernández et al. (2019), em crianças de uma comunidade rural em Apulo, na Colômbia, revelaram a presença de subassembleia AII em 7 (sete) amostras e BIII e BIV em 2 amostras. Molina et al. (2011), em crianças de Berisso, na Argentina, obtiveram à amplificação genômica da assembleia B em 65,7%, seguido da sub AII em 31,4%. Segundo Xiao e Feng, (2017) a assembleia B apresenta maior prevalência à nível mundial. No presente estudo as crianças diagnosticadas com a assembleia BIV não apresentaram sintomas, de qualquer forma os mesmos continuam eliminando cistos, o que pode infectar outras crianças ou contaminar o ambiente. Estudos apontam a subassembleia BIV em indivíduos com diarreia e dor abdominal (LUCIO et al., 2015). Indivíduos com subassembleia B relataram apsementar mais sintomas como vômito, perda de apetite e inflamação do estômago, comparativamente aos infectados com assembleia A (MINETT et al., 2015).

Destaca-se que, os trabalhos, de forma geral, não caracterizam o tipo de amostra fecal quanto a consistência. No presente estudo a maior parte das assembleias foram caracterizadas a partir de fezes formadas, porém a ampliação de amostras analisadas poderá fornecer subsídios mais consistentes para relacionar os aspectos das fezes às assembleias de *G. duodenalis*.

6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Diagnosticam-se, pela primeira vez, espécies parasitárias para os municípios de Colombo e Bocaiúva do Sul, em que foi observada prevalências de 36,7% e 28%, respectivamente; *Blastocystis* spp. foi a espécie parasitária mais frequente em crianças das escolas de ambos os municípios, o que chama a atenção para necessidade de utilização de diferentes métodos de diagnóstico nos laboratórios de análises clínicas para que não haja subnotificação;

- As crianças provenientes de área rural apresentaram maior risco de aquisição de alguma espécie parasitária, o que possivelmente está associado a saneamento básico (água imprópria para consumo e local de evacuação das fezes);
- O genótipo ST7 de *Blastocystis* spp. foi registrado pela primeira vez no estado do Paraná, o qual apresenta caráter zoonótico, demonstrando um possível contato dessas crianças com fontes de infecção provenientes de animais domésticos.
- Os resultados da genotipagem de *Blastocystis* spp. e *G. duodenalis* foram apresentados 55º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical/ XXVI Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia/ GHAGASLEISH, de 2019 e recebeu o prêmio de melhor trabalho científico no Eixo Parasitologia Básica (**ANEXO III**).

7. PERSPECTIVAS

-Propor futuros planejamentos de fluxogramas para definir e discutir as ações a serem implementadas, visando uma maior eficácia na busca de dados socioeconômicos que possam influenciar, dentro das áreas de estudos e do público alvo, selecionados;

-Realização e ampliação das coletas de amostras fecais de animais, não humanos, e de amostras ambientais, visto que, embora os resultados não estejam discutidos (**APÊNDICE V**), o presente estudo abre perspectivas para futuras investigações de parasitos com potencial zoonótico;

-Realizar genotipagem de outras amostras positivas de *Blastocystis* spp. e *G. duodenalis* e do complexo *E. histolytica*.

- O presente estudo, analisou 53 amostras fecais de animais das crianças das escolas. Foram observadas apenas 2 (duas) positivas para *G. duodenalis* e *Blastocystis* spp. em dois cachorros, todos no município de Bocaiúva do Sul. Desses apenas foi possível genotipar *Blastocystis* spp. cujo subtipo foi ST3 (**APÊNDICE V**).

- Continuação da realização de atividades de ações educativas participativas, Promoção de Saúde, (**Figura 4 e 5**) como preconizado pela OMS, com professores, pais/responsáveis e crianças, visto que é nesse momento que se desperta o interesse daquela população para as atividades que serão realizadas, aplicação do TCLE e questionário, conseqüentemente, a adesão desde para obtenção das amostras fecais.

-Um número expressivo da população mundial não tem acesso a informações básicas de saúde e as instituições de ensino e pesquisa devem atuar para diminuir esta lacuna de conhecimentos. As universidades públicas incentivam a aproximação do saber científico à sociedade em geral. Neste sentido o presente estudo é resultado de ações extensionistas que propõe a transversalidade dos conhecimentos acadêmicos em saúde ao saber popular para sociabilização destes saberes. Tanto a OMS como o Ministério da Saúde do Brasil enfatizam a necessidade de educação em saúde e a define como qualquer combinação de experiências destinadas a ajudar os indivíduos e as comunidades a melhorar sua saúde, aumentando os seus conhecimentos ou influenciar suas atitudes de aprendizagem (JACKSON et al. 2006, BRASIL 2018; ALMEIDA et al. 2020). Desde os primeiros contatos com a população, tanto equipe política, corpo pedagógico como a população em geral indicaram as informações que pretendiam adquirir através de diálogo e entrevistas por escrito.

-Várias ações foram desenvolvidas e desde a apresentação do projeto foi proporcionado informações sobre as parasitoses intestinais. Na sequência oficinas, feiras de saúde e rodas de conversas foram desenvolvidas tanto com informações sobre as parasitoses como outros temas de saúde selecionados pela comunidade. Na Escola Municipal Pedro Alberto Costa foi realizado além das atividades pontuais de coleta de material uma feira de Ciência onde foram abordados diversos temas de saúde para estudantes, corpo pedagógico, funcionários, pais e comunidade.

9.- REFERÊNCIAS

- ABE, N. e TERAMOTO, I. Molecular evidence for person-to-person transmission of a novel subtype in *Giardia duodenalis* assemblage B at the rehabilitation institution for developmentally disabled people. *Parasitology Research*. v. 110, p.1025–8, 2012.
- ABERA, A; NIBRET, E. Prevalence of gastrointestinal helminthic infections and associated risk factors among schoolchildren in Tilili town, northwest Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v.7, p. 525-530, 2014.
- ABUBAKAR, I; ALIYU, S.H; ARUMUGAM, C; USMAN, N.K e HUNTER, P.R. Treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised individuals: systematic review and meta-analysis. *British Journal of Clinical Pharmacology*. v. 63, p. 387–393, 2007.
- ADAMS, J; GURNEY, K.A; PENDLEBURY, D. *Neglected Tropical Diseases*, Thomson Reuters Global Research Report, p. 1-16, 2012.
- AULER, M.R; CAMPOS, L.A; HORST, J.A.E; DOS SANTOS, TB; et al. Saúde itinerante nos centros municipais de educação infantil do município de Guarapuava - PR; os desafios da promoção da saúde em crianças expostas a doenças parasitárias. *Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar*. v. 22, n. 1, p. 33-41, 2018.
- AIMPUN, P e HSHIEH, P. Survey for intestinal parasites in Belize, Central America. *Tropical Medicine and Public Health*. v.35, p. 506–511, 2004.
- ALMEIDA, A. S; NICULTCHE, F. F; XAVIER, G. X; SANTOS, O; DENIS, R; ZENI, J. Entero-parasitoses humanas em Curitiba. *Boletim de Debates Científico-Cultural “Dr. Victor do Amaral”*, p.15-20, 1955.
- ALMEIDA, T.M; OGAWA, L; MELO, S.C.C.S e OTOMURA, F.H. Occurrence of enteroparasites in schoolchildren in the city of Bandeirantes, Paraná, Brazil. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina*. v. 41, p. 31-42, 2020.
- ALI, I. K. M. Intestinal Amebae. *Clinics in Laboratory Medicine*. v. 35, p. 393-422, 2015.
- ALYANI, D; MURHANDARWATI, E.H; SUMARNI, S; ERNANINGSIH, E. Comparing the Sensitivity and Specificity of Zinc Sulphate Flotation Method to Formol Ether Sedimentation

Method in Identifying Intestinal Protozoa's Cysts. *Tropical Medicine Journal*. v.3, p. 83-176, 2015.

ALARCÓN, R. S. R.; AMATO NETO, V.; GAKIYA, E.; BEZERRA, R. C. Observações sobre *Blastocystis hominis* e *Cyclospora cayetanensis* em exames parasitológicos efetuados rotineiramente. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, p. 253-255, 2007.

AL-DELAIMY, A.K; AL-MEKHLAFI, H.M; NASR, N.A; SADY, H; ATROOSH, W.M; NASHIRY, M; ANUAR, T.S; MOKTAR, N; LIM, Y.A e MAHMUD, R. Epidemiology of intestinal polyparasitism among Orang Asli school children in rural Malaysia. *PLoS Negl Trop Dis*. v. 8, p. 3074, 2014.

ANTINORI, S; GALIMBERTI, L; BIANCO, R; GRANDE, R; GALLI, M; e CORBELLINO, M. Chagas disease in Europe: A review for the internist in the globalized world. *European Journal of Internal Medicine*. v. 43, p.6 -15, 2017.

AMOAH, I. D; SINGH, G; STENSTROM, T. A; REDDY, P. Detection and quantification of soil-transmitted helminths in environmental samples: A review of current state-of-the-art and future perspectives. *Acta Tropica*, v. 169, p. 187- 201, 2017.

AHMED, S.A e KARANIS, P. *Blastocystis* spp., Ubiquitous Parasite of Human, Animals and Environment. *Encyclopedia of Environmental Health*, 2nd Edition, p. 429-435, 2018.

AJJAMPUR, S. S. R; TAN, K. S. W. Pathogenic mechanisms in *Blastocystis* spp. Interpreting results from in vitro and in vivo studies. *Parasitology International*. v. 65, p. 772-779, 2016.

ANKARKLEV, J; JERLSTRÖM-HULTQVIST, J; RINGQVIST, E; TROELL, K; SVÄRD, S. G. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nature Reviews Microbiology*, v. 8, p. 413-422, 2010.

ANTUNES, A.S; LIBARDONI, K.S. DE B. Prevalence of enteroparasitosis in children of day-care center in the municipality of Santo Ângelo, RS. *Revista Contexto & Saúde*, v. 17, n. 32, 2017.

ARAÚJO, A; e FERREIRA L.F. Paleoparasitology and the Antiquity of Human Host-parasite relationships. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 95, p.89-93, 2000.

ARAÚJO, A; REINHARD, K.J; FERREIRA, L.F; GARDNER, S.L. Parasites as probes for prehistoric human migrations? Trends Parasitol. v.24, p.5-112, 2008.

ARAÚJO, A e FERREIRA, L.F. Oxiúriase e migrações pré-históricas. Hist Cienc Saúde. v. 2, p. 99-108, 1995.

ARAÚJO, A; REINHARD, K; FERREIRA, L.F; PUCU, e ECHIEFFI, P.P. Paleoparasitology: the origin of human parasites. Arq Neuropsiquiatr. v. 71, p. 722-726, 2013.

AZEVEDO EP, ALMEIDA EM, MATOS JS, RAMOS AR, SIQUEIRA MP, FONSECA ABM, et. al. Parasitological diagnosis in fecal samples in the laboratory of clinical analyses: comparison of techniques and cost of implantation. Role-based access control, v.49, p.401-2017.

BADPARVA, E; SADRAEE, J e KHEIRANDISH, F. Diversidade genética de *Blastocystis* isolados de bovinos em khorramabad, Irã. Jundishapur J Microbiol. v.8, e14810, 2015.

BARBOSA, V.C; DE JESUS B.R; PEREIRA, I.R; D'AVILA, L.C.M; WERNECK, DE M.H; CARNEIRO, S.H.L. Distribution of *Blastocystis* subtypes isolated from humans from an urban community in Rio de Janeiro, Brazil. Parasit Vectors. v.25, p.518, 2017.

BARBOSA, J.A; ALVIM, M.M; DE OLIVEIRA, M.M; SIQUEIRA, R.DE A; DIAS, T.R; GARCIA, P.G. Análise do perfil socioeconômico e da prevalência de enteroparasitoses em crianças com idade escolar em um município de Minas Gerais. HU Revista, Juiz de Fora, v. 43, n. 3, p. 391-397, 2017.

BARBOSA, C.V; BARRETO, M.M; ANDRADE, R.D.J; SODREÂ, F; D'AVILA-LEVY, C.M; PERALTA, J.M; et al. Intestinal parasite infections in a rural community of Rio de Janeiro (Brazil): Prevalence and genetic diversity of *Blastocystis* subtypes. PLoS ONE 13 (3): e0193860, 2018.

BASUNI, M; MUHI, J; OTHMAN, N; VERWEIJ, J.J; AHMAD, M; MISWAN, N; et al. A pentaplex real-time polymerase chain reaction assay for detection of four species of soil-transmitted helminths. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. v.84, p.43-338, 2011.

BATISTA, T; TREVISOL, F.S; TREVISOL, D.J. Parasitoses intestinais em pré escolares matriculados em creche filantrópica no sul de Santa Catarina. *Arquivos Catarinenses de Medicina*. v.38, p. 39-45, 2009.

BASSO, R.M.C; SILVA-RIBEIRO, R.T; SOLIGO, D.S; RIBACKI, S.I; CALLEGARI JACQUES, S.M; et al. Evolution of the prevalence of intestinal parasitosis among schoolchildren in Caxias do Sul, RS. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* v.41, p.263-268, 2008.

BELLOTO, M.V.T; SANTOS JUNIOR, J.E; MACEDO, E.A; PONCE, A; GALISTEU, K.J; DE CASTRO, E; et al. Enteroparasitoses in a population of students from a public school in the Municipality of Mirassol, São Paulo State, Brazil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 2, p. 37-44, 2011.

BETHONY, J; BROOKER, S; ALBONICO, M; GEIGER, S.M; LOUKAS, A; DIEMERT, D; et al. Soil transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*. v. 367, p. 1521-1532, 2006.

BELO, V.S; DE OLIVEIRA, R.B; FERNANDES, P.C; NASCIMENTO, B. W. L; FERNANDES, F.V; et al., Factors associated with intestinal parasitosis in a population of children and adolescents. *Revista Paulista de Pediatria*. v.30, São Paulo, p. 198, 2012.

BERN, C; MESSENGER, L.A; WHITMAN, J.D; MAGUIRE, J.H. Chagas Disease in the United States: a Public Health Approach. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 33, e00023, 2019.

BIANCHINI, R. A; TEIXEIRA, F. M; DA SILVA, A. F; ANDRESSA, D; BORDIN; T. M; DO NASCIMENTO; et al. Enteroparasitoses: Prevalência em Centro de Educação Infantil na cidade de Maringá, Paraná, Brasil. *Revista Uningá Review*. v. 24, p. 6-10, 2018.

BIASI, L.A; TACCA, J.A; NAVARINI, M; BELUSSO, R; NARDINO, A; SANTOLIN, J.C; et al. Prevalência de enteroparasitoses em crianças de entidade assistencial de Erechim/RS. *Perspectiva*. v. 34, p. 173-179, 2010.

BIOLCHI, L.C; COLLET, M.L; DALLANORA, F.J; D'AGOSTINI, F.M; NARDI, G.M; MÜLLER, G.A e WAGNER, G. Enteroparasites and commensals in students aged 7 to 14 years in rural and urban areas of Campos Novos, west of Santa Catarina, Brazil. *Journal of Tropical Pathology*. v. 44, p. 337-342, 2015.

BOECHATA, N; MAGALHÃES, J. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Departamento de Síntese Orgânica, Manguinhos. Revista Virtual de Química. v. 4, p. 195-196, 2012.

BORGES, J.D; ALARCÓN, R.S.R; NETO, V.A e GAKIYA, E. Intestinal parasitosis in Indians of the Mapuera community (Oriximiná, State of Pará, Brazil): high prevalence of *Blastocystis hominis* and finding of *Cryptosporidium* sp and *Cyclospora cayetanensis*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v. 42, p. 348-350, 2009.

BOSQUI, L.R; SANFELICE, R.A; CUSTÓDIO, L.A; DE MENEZES, M.C.N.D; MURAD, V.A; DIEHL, L.A. Coproparasitological survey of intestinal parasites in the city of Londrina, Parana, Brazil: a retrospective analysis. Journal of Tropical Pathology, v. 44, p.453-464, 2015.

BUENO, G.C.L; REIS, M; DANTAS-CORRÊA, E.B; SCHIAVON, L.L; NARCISO-SCHIAVON, J.L. The prevalence of intestinal parasitoses according to gender in a university hospital in Southern Brazil. Journal of Tropical Pathology, v. 44, p.441-452, 2015.

BUSNELLO, M.I e TEIXEIRA-LETTIERI, M. Enteroparasites prevalence in students of two primary schools. Revista Farmacia. v.51, p. 30-35, 2009.

BUSCHINI, M.L.T; PITTNER, E; CZERVINSKI, T; MORAES, I.F; MOREIRA, M.M; SANCHES, H.F; et al. Spatial distribution of enteroparasites among school children from Guarapuava, State of Paraná, Brazil. Brazilian Journal of Epidemiology. v.10, p.78-568, 2007.

BLAKE, M.R; RAKER, J.M e WHELAN K. Validity and reliability of the Bristol Stool Form Scale in healthy adults and patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. Aliment Pharmacol Ther. v. 44, p. 693–703, 2016.

BLOOD-SIEGFRIED, J; ZEANTOE, G.C; EVANS, L.J; BONDO, J; FORSTNER, J.R e WOOD, K. The Impact of Nurses on Neglected Tropical Disease Management. Public Health Nurs. v. 32, p. 680-701, 2015.

BRASIL, Presidência da República Casa Civil Subchefia para Assuntos Jurídicos. LEI Nº 8.080, DE 19 DE SETEMBRO DE 1990. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8080.htm Acessado aos 20/01/2020.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Gabinete do Ministro. PORTARIA Nº 95, DE 26 DE JANEIRO DE 2001. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0095_26_01_2001.html. Acessado aos 15/01/2020.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses. Brasília-DF: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS); 2005. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/enteroparasitoses_pano_nacional.pdf. Acessado aos 11/03/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância em Saúde Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Cadernos de atenção básica. 2ª edição. Revisada. Brasília. 2008. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cab_n21_vigilancia_saude_2ed_p1.pdf. Acessado aos 11/02/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde [Neglected diseases: the strategies of the Brazilian Ministry of Health]. Rev Saude Publica. v. 44, p. 200-202, 2010.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota Técnica N.º 1/2011/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz; 2011. Disponível em: <https://www.OMS.int/en/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>. Acessado aos 11/03/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Política Nacional de Atenção Básica. Série E. Legislação em Saúde. Brasília-DF: Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica; 2012.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema Único de Saúde (SUS): estrutura, princípios e como funciona, 2013, Disponível em: <http://www.saude.gov.br/sistema-unico-de-saude>. Acessado aos 18/01/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. 4ª edição Vigilância Da Esquistossomose Mansoni Diretrizes Técnicas. 2014. Disponível em:

http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_esquistossome_mansoni_diretrizes_tecnicas.pdf. Acessado aos 31/01/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Lista Nacional de Notificações Compulsórias de Doenças e Agravos. 2016. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/abril/25/Portaria-n---2014-de-17--Fevereiro-2016.pdf>. Acessado aos 31/01/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informe Técnico e Operacional “V Campanha Nacional de Hanseníase, Verminoses, Tracoma e Esquistossomose. 2017. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/abril/23/Informe-Tecnico-e-Operacional---V-Campanha-Nacional-de-Hanseníase-Verminoses-Tracoma-e-Esquistossomose.pdf>. Acessado aos 31/01/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia de vigilância em saúde. v.3. 1ª edição atualizada. 2017b. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/05/Guia-de-Vigilancia-em-Saude-2017-Volume-3.pdf>. Acessado aos 06/02/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Política Nacional de Promoção da Saúde: PNPS: Anexo I da Portaria de Consolidação nº 2, de 28 de setembro de 2017, que consolida as normas sobre as políticas nacionais de saúde do SUS/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

BRASIL, PREFEITURA MUNICIPAL DE COLOMBO. 2018. Disponível em: <http://www.colombo.pr.gov.br/>. Acessado aos 08/01/2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Uma análise da situação de saúde e os desafios para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. 2018. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_brasil_2017_analise_situacao_saude_desafios_objetivos_desenvolvimento_sustentavel.pdf. Acessado em 31/01/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia Prático para o controle das Geo-helminthíases. 2018. Disponível: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_pratico_controle_geohelminthias.pdf. Acessado aos 25/01/2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2019. Esquistossomose. Disponível em: <http://saude.gov.br/saude-de-a-z/esquistossomose>. Acessado aos 25/01/2020.

BROOKER, S; BETHONY, J e HOTEZ, P.J. Human hookworm infection in the 21st century. *Adv Parasitol.* v. 58, p. 197-288, 2004.

CACCIO, S.M, BECK, R.M; LALLE, A; MARINCULIC, E; POZIO, E. A genotipagem multifocal de *Giardia duodenalis* revela diferenças marcantes entre as assembléias A e B. *International Journal for Parasitology.* v.38, p.1523 -1531. 2008.

CACCIÒ, S. M; CHALMERS, R.M. Human cryptosporidiosis in Europe, *Clinical Microbiology and Infection*, v. 22, p. 471-480, 2016.

CACCIÒ, S.M; LALLE, M e SVÄRD, S.G. Host specificity in the *Giardia duodenalis* species complex. *Infection, Genetics and Evolution.* v. 66, p. 335–345, 2018.

CAMELLO, J.T; CAVAGNOLLI, N.I; SPADA, P.K.W.D.S; POETA, J e RODRIGUES, A.D. Prevalência de parasitoses intestinais e condições de saneamento básico das moradias em escolares da zona urbana de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul. *Scientia Médica*, v.26, n.1, p.1-6, 2016.

CANTUÁRIA, F.D; COCCO, J; BENTO, R.R.L e RIBEIRO, F. Avaliação de Parasitoses Intestinais em Escolares do Ensino Fundamental no Município de Coração de Jesus em Minas Gerais, Brasil. *Brazilian Journal of Clinical Analysis*v. 43, p. 277- 283, 2011.

CASTRO, M.C; MASSUDA, A; ALMEIDA, G; MENEZES-FILHO, N.A; ANDRADE, M.V; DE SOUZA; et al. Brazil's unified health system: the first 30 years and prospects for the future. *Lancet.* v. 394, nº 10195, p. 345-356, 2019.

CAVAGNOLLI, N.I; CAMELLO, J.T; TESSER, S; POETA, J; e RODRIGUES, A.D. Prevalência de enteroparasitoses e análise socioeconômica de escolares em Flores da Cunha-Rs. *Revista de Patologia Tropical.* v. 44, p.312-322, 2015.

CARVALHO, T.B; CARVALHO, L.R e MASCARINI, L.M. Occurrence of enteroparasites in day care centers in Botucatu (São Paulo State, Brazil) with emphasis on *Cryptosporidium* sp., *Giardia duodenalis* and *Enterobius vermicularis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* v. 48, p. 269-273, 2006.

CASAVECHIA, M.T.G; LONARDONI, M.V.C; VENZAZZI, E.A.S; CAMPANERUT SÁ, P.A.Z; BENALIA, H.R.C; MATTIELLO, M.F; et al. Prevalence and predictors associated with intestinal infections by protozoa and helminths in southern Brazil. *Parasitology Research*. v. 115, p. 2321–2329, 2016.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Lymphatic Filariasis: Epidemiology and Risk Factors. 2013. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/lymphatic-filariasis/epi.html> Acessado aos 24/01/2020.

CHIEFFI, P.P e NETO, A.V. Vermes, verminoses e a saúde pública. *Science and Culture*. v. 55, p.3-41, 2003.

CHOUDHURI, G; RANGAN, M. Amebic infection in humans. *Indian Journal of Gastroenterology*, v. 31, p. 153-162, 2012.

COELHO, J. C. U. Incidência de enteroparasitos em alunos do grupo escolar “Dr. Oswaldo Cruz”, Curitiba, Paraná. *Acta Biológica Paranaense*, v. 4, p, 3-12, 1975.

COELHO, C.H; DURIGAN, M; LEAL, D.A.G; SCHNEIDER, A.B; FRANCO, R.M.B; SINGER, S.M. Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. v.11, e0006005, 2017.

COCIANCIC, P; TORRUSIO, S.E; ZONTA, M.L e NAVONE, G.T. Risk factors for intestinal parasitoses among children and youth of Buenos Aires, Argentina. *One Health*. v.9, pagina 2020.

CORRÊA, C.R.T; OLIVEIRA-ARBEX, A.P; DAVID, É.B e GUIMARÃES, S. Genetic analysis of *Giardia duodenalis* isolates from children of low-income families living in an economically successful region in Southeastern Brazil. *Journal of the Institute of Tropical Medicine of Sao Paulo*. v. 62, e20, 2020.

DEL COCO, V.F; MOLINA, N.B; BASUALDO, J.A e CÓRDOBA, M.A. *Blastocystis* spp.: avances, controversias y desafíos futuros [*Blastocystis* spp.: Advances, controversies and future challenges]. *Rev Argent Microbiol*. v.49, p.110–118, 2017.

COLE, E.R; VITÓRIA, E.L; AMIGO, B.V; MELOTTI, J; PONTES, P.F. Prevalência de enteroparasitoses entre os moradores do bairro Terra Vermelha no município de Vila Velha,

Espírito Santo, e possíveis fatores causais relacionados. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 6, p. 138-152, 2009.

COLLI, C.M; BEZAGIO, R.C; NISHI, L; BIGNOTTO, T.S; FERREIRA, É.C; FALAVIGNA-GUILHERME, A.L; GOMES, M.L. Identical assemblage of *Giardia duodenalis* in humans, animals and vegetables in an urban area in Southern Brazil indicates a relationship among them. PLoS One, v. 10, e0118065, 2015.

CONSTITUIÇÃO DA REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL. Texto constitucional promulgado em 5 de outubro de 1988, com as alterações determinadas pelas Emendas Constitucionais de Revisão nos 1 a 6/94, pelas Emendas Constitucionais nos 1/92 a 91/2016 e pelo Decreto Legislativo no 186/2008 .https://www2.senado.leg.br/bdsf/bitstream/handle/id/518231/CF88_Livro_EC91_2016.pdf.

CODREAN, A; DUMITRASCU, D.L; CODREAN, V; TIT, D.M; BUNGAU, S; ALEYA, S; et al. Epidemiology of human giardiasis in Romania: A 14 years survey. Science of the Total Environment, 705: 135784, p.8, 2019.

CONTEH, L; ENGELS, T; e MOLYNEUX, D.H. Neglected tropical diseases. 4. Socioeconomic aspects of neglected tropical diseases. The Lancet. v. 375, p.239-247, 2010.

COOPER, E e BUNDY, D. Trichuris is not trivial. Parasitology Today. v. 4, p. 301- 306, 1988.

CORRALES, L.F; IZURIETA, R; MOE, C.L. Associação entre infecções parasitárias intestinais e tipo de sistema de saneamento na zona rural de El Salvador. Tropical Medicine & International Health. v.11, p. 1821-1831, 2006.

COSTA, C.C; RIBEIRO, G.M; ASSIS, I.M; LIMA, N.R e ROMANO, M.C.C. Prevalência de pediculose de cabeça em crianças inseridas em centros municipais de educação infantil. Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro, v. 7, e1558, 2017.

CUERVO, M.R; AERTS, D.R; HALPERN, R. Nutritional status surveillance of children in a health district in southern Brazil. Journal of Pediatrics (Rio J). v.81, p.325-31, 2005.

CHALMERS, R.M; ELWIN, K; THOMAS, A.L; GUY, E.C e MASON, B. Long-term Cryptosporidium typing reveals the aetiology and species-specific epidemiology of human cryptosporidiosis in England and Wales, 2000 to 2003. Euro Surveill. v. 14: 19086, 2009.

CHEN, K.Y; YEN, C.M; HWANG, K.P e WANG, L.C. Enterobius vermicularis infection and its risk factors among pre-school children in Taipei, Journal of Microbiology, Immunology and Infection. v.51, n^o4, p. 559-564, 2018.

CROMPTON, D.W.T. The Prevalence of *Ascariasis*. Department of Zoology, University of Glasgow Glasgow G 12 8QQ, UK. Parasitology Today, v. 4, p. 163-168, 1988.

CPQRR – Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ MINAS – Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte, 2014. Acessado: aos 08/01/2020 <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/iciict/25662/2/Inqu%c3%a9rito%20Nacional%20de%20Preval%c3%aaancia%20da%20Esquistosomose%20mansonii%20e%20Geo-helmintos.pdf>

DACAL E, SAUGAR JM, DE LUCIO A, HERNÁNDEZ-DE-MINGO M, ROBINSON E, KÖSTER PC, et al. Prevalence and molecular characterization of *Strongyloides stercoralis*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Blastocystis* spp. isolates in school children in Cubal, Western Angola. Parasit Vectors. v.11, p.67, 2018.

DACAL, E; SAUGAR, J.M; SOLER, T; AZCÁRATE, J.M; JIMÉNEZ, M.S; MERINO, F.J; et al. Parasitological versus molecular diagnosis of strongyloidiasis in serial stool samples: how many? Journal of Helminthology. v.92, p.12-16, 2018.

DAVID, É.B; GUIMARÃES, S; DE OLIVEIRA, A.P; GOULART, O.S.T.C; NOGUEIRA, B.G; MORAES, N.A.R; et al. Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. Parasit Vectors. v.8, p.103, 2015.

DAMÁZIO, S. M; SOARES, A. R; SOUZA, M. A. A. Perfil parasitológico de escolares da localidade de Santa Maria, zona rural do município de São Mateus/ES, Brasil. Revista de Atenção Primária à Saúde, v. 19, p. 261-267, 2016.

DA SILVA, B.V; JÚNIOR, A.B.F; Enteroparasitoses Em Escolares No Brasil – Uma Revisão Enteroparasitosis In School In Brazil – A Review. Revista Educação Meio, Ambiente e Saúde. 0173, p 1-9, 2016.

DA SILVA, J.V; FONTES, G; DOS SANTOS, C.D; DOS SANTOS, R.V; DA ROCHA, E.M. Factors Associated with Gastrointestinal Parasitic Infections among Young Population in Northeast Brazil. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. v. 2016, p.6, 2016.

DE SILVA NR, CHAN MS, BUNDY DA. Morbidade e mortalidade por ascaridíase: re-estimativa e análise de sensibilidade dos números globais em risco. *Tropical Medicine & International Health*. v.2, p.519-528, 1997.

DE CARVALHO, TB; DE CARVALHO, L.R; MASCARINI, L.M. Occurrence of enteroparasites in day care centers in Botucatu (São Paulo State, Brazil) with emphasis on *Cryptosporidium* sp., *Giardia duodenalis* and *Enterobius vermicularis*. *Magazine of the Institute of Tropical Medicine of São Paulo*. v.48, p.73-269, 2006.

DE OLIVEIRA, G.L; DE OLIVEIRA, A.F.M e ANDRADE L.H.C. Plantas medicinais utilizadas na comunidade urbana de Muribeca, Nordeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica*. v. 24, p. 571-577, 2010.

DE SOUZA, F.D; MAMEDE-NASCIMENTO, T.L E DOS SANTOS, C.S. Encontro de ovos e larvas de helmintos no solo de praças públicas na zona sul da cidade do Rio de Janeiro. *Revista de patologia tropical* v.36, 247-253, 2007.

DERMAUW, V; VAN DEN BROUCKE, S; VAN BOCKSTAL, L, Luyten L, LUYCKX, K, BOTTIEAU, E; DORNY, P. Cysticercosis and taeniasis cases diagnosed at two referral medical institutions, Belgium, 1990 to 2015. *Euro Surveill*. v. 24: 1800589, 2019.

DIAS, D.S; MENEZES, R.A.O; SOUZA, M.J.C; BARBOSA, F.H.F; DE ANDRADE, R.F; SOUTO, R.N.P. Fatores de riscos que contribuem para as parasitoses intestinais em crianças de 0 a 5 anos em Macapá – Amapá, Brasil. *Ciência Equatorial*, v. 3, p. 18-28, 2013.

DOMÍNGUEZ-MÁRQUEZ, M.V; GUNA, R; MUÑOZ, C; GÓMEZ-MUÑOZ, M.T; BORRÁS, R. High prevalence of subtype 4 among isolates of *Blastocystis hominis* from symptomatic patients of a health district of Valencia (Spain). *Parasitology Research*. v.105:p. 949–55, 2009.

DOS SANTOS, J; DUARTE, A.R.M; GADOTTI, G; LIMA, L.M. Parasitoses intestinais em crianças de creche comunitária em Florianópolis, SC, BRASIL *Journal of Tropical Pathology*, v.43, p.332-340, 2014.

DOS SANTOS, H.G; DE ANDRADE, S.M; BIROLIM, M.M; DE CARVALHO, W.O; SILVA, A.M.R. Infant mortality in Brazil: a literature review before and after the unified health system implementation. *PEDIATRIA (SÃO PAULO)*, v.32, p.43-131, 2010.

DOGRUMAN, A.L.F; KUSTIMUR, S; YOSHIKAWA, H; TUNCER, C; SIMSEK, Z; TANYUKSEL, M; et al. *Blastocystis* subtypes in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease in Ankara, Turkey. Mem Inst Oswaldo Cruz. v.104, p.7-724, 2009.

DUJARDIN, J.C; HERRERA, S; ROSARIO, V; AREVALO, J; BOELAERT, M; CARRASCO, H.J; CORREA-OLIVEIRA, R; et al., Research priorities for neglected infectious diseases in Latin America and the Caribbean region. PLoS neglected tropical diseases. v.4, e 780, 2010.

EFSTRATIOU, A; ONGERTHA, J.E; KARANISA, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011–2016. Water Research, v. 114, p. 14-22, 2017.

EL SAFADI, D; GAAYEB, L; MELONI, D; CIAN, A; POIRIER, P; WAWRZYNIAK, I; DELBAC, F; DABBOUSSI, F; DELHAES, L; SECK, M; HAMZE, M; RIVEAU, G e VISCOGLIOSI E. Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed worldwide. Infectious Diseases. v. 14, p. 164, 2014.

EL SAFADI, D; CIAN, A; NOURRISSON, C; PEREIRA, B; MORELLE, C; BASTIEN, P; et al. Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite *Blastocystis* sp. From a large scale multi-center study in France. v. 16, p.451, 2016.

EYMAEL, D; SCHUH, G.M e TAVARES, R.G. Padronização do diagnóstico de *Blastocystis hominis* por diferentes técnicas de coloração [Standardization of *Blastocystis hominis* diagnosis using different staining techniques]. Brazilian Society of Tropical Medicine. v. 43, p. 309–312, 2010.

FARIA, C.P; ZANINI, G.M; DIAS, G.S, et al. Geospatial distribution of intestinal parasitic infections in Rio de Janeiro (Brazil) and its association with social determinants. PLoS Negl Trop Dis. v.11, e0005445, 2017.

FERREIRA, J.C.V. Municípios Paranaenses origens e significados de seus nomes, Cadernos ParanádaGenten°5,2006.Disponívelem:http://www.itcg.pr.gov.br/arquivos/File/Produtos_DGEO/Divisas_Municipais/Origens_Significados_nomes_municipios_pr.pdf. Acessado 11/12/2019

FERREIRA, J. R; VOLPATO, F; CARRICONDO, F. M; MARTINICHEN, J. C; LENARTOVICZ, V. Diagnóstico e prevenção de parasitoses no reassentamento São Francisco em Cascavel - PR. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 36, p. 145-145, 2004.

FERREIRA, L.F; CHIEFFI, P.P e ARAÚJO, A. Parasitismo Não é Doença Parasitária. Norte Ciência, v. 3, n. 1, p.200-221, 2012.

FERREIRA, G.R e ANDRADE, C.F.S. Alguns aspectos socioeconômicos relacionados a parasitoses intestinais e avaliação de uma intervenção educativa em escolares de Estiva Gerbi, SP. Brazilian Society of Tropical Medicine. v. 38, p.5-402, 2005

FERREIRA, L.F; REINHARD, K.J; ARAÚJO, A. Fundamentos de Paleoparasitologia. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, p. 484, 2011.

FENG, Y e XIAO, L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. Clinical Microbiology Reviews. v.24, p. 40-110, 2011.

FLANAGAN, P A. “Giardia--diagnosis, clinical course and epidemiology. A review.” Epidemiology and infection. v. 109, p.1-22, 1992.

FLETCHER, S.M; STARK, D; HARKNESS, J; ELLISA, J. Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. Clinical Microbiology Reviews, v. 25, p. 420-449, 2012.

FLISSER, A; SARTI, E; LIGHTOWLERS, M e SCHANTZ, P. Neurocysticercosis: regional status, epidemiology, impact and control measures in the Americas. Acta Tropica. v. 87, p. 43–51, 2003.

FORSELL J, GRANLUND M, SAMUELSSON L, KOSKINIEMI S, EDEBRO H, EVENGÅRD B. High occurrence of *Blastocystis* sp. subtypes 1-3 and *Giardia intestinalis* assemblage B among patients in Zanzibar, Tanzania. Parasit Vectors. v.9, p.370, 2016.

FONTES, G; LEITE, A.B; DE LIMA, A.R; FREITAS, H; EHRENBERG, J.P; DA ROCHA, E.M. Lymphatic filariasis in Brazil: Epidemiological situation and outlook for elimination. Parasit Vectors. v.26, p.272, 2012.

FONSECA, E.O; TEIXEIRA, M.G; BARRETO, M.L; CARMO, E.H e COSTA, M.D.A.C. Prevalência e fatores associados às geo-helminthíases em crianças residentes em municípios com baixo IDH no Norte e Nordeste brasileiros [Prevalence and factors associated with geohelminth infections in children living in municipalities with low HDI in North and Northeast Brazil]. Cadernos de Saude Publica. v. 26, p. 143-152, 2010.

FONSECA, R.E.P.D; BARBOSA, M.C.R; FERREIRA, B.R. High prevalence of enteroparasites in children from Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil Revista Brasileira de Enfermagem. v.70, p.566–571, 2017.

FOX, L.M e SARAVOLATZ, L.D. Nitazoxanide: a new thiazolide antiparasitic agent. Clinical Infectious Diseases. v.40, p.1173–1180, 2005.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE DO BRASIL – FUNASA; Manual de Saneamento; Ministério da Saúde; Brasília, 3 Ed., p. 10-30, 2006.

FREI, F; JUNCANSEN, C; RIBEIRO-PAES, J.T. Epidemiological survey of intestinal parasite infections: analytical bias due to prophylactic treatment. Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v. 24, p. 2919-2925, 2008.

FRIESEN, J; FUHRMANN, J; KIETZMANN, H; TANNICH, E; MÜLLER, M e IGNATIUS R. Evaluation of the Roche LightMix Gastro parasites multiplex PCR assay detecting *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica*, cryptosporidia, *Dientamoeba fragilis*, and *Blastocystis hominis*. Clinical Microbiology and Infection. v. 24, p. 1333-1337, 2018.

GARCIA, H.H; GILMAN, R.H; GONZALEZ, A.E; VERASTEGUI, M; RODRIGUEZ, S; GAVIDIA, C; et al. Hyperendemic human and porcine *Taenia solium* infection in Peru. The American journal of tropical medicine and hygiene. v. 68, p. 268–75, 2003.

GARCÍA, F.B.B; Díaz, D.R.R; Fernández, P.A; Marchena, A.P. Eficacia y seguridad de Nitazoxanida comparada com Albendazol en el tratamiento de Giardiasis sintomática en niños de Trujillo, Perú 2008 – 2009. Revista Científica Ciência Médica, v. 16, p. 6-11, 2013.

GAZZONIS, A.L; MARANGI, M; ZANZANI, S.A; VILLA, L; GIANGASPERO, A e MANFREDI, M.T. Molecular epidemiology of *Blastocystis* sp. in dogs housed in Italian rescue shelters. Parasitology Research. v.118, p. 3011–3017, 2019.

GAZZINELLI, F.M; DOS REIS, C.D e MARQUES, C.R. Educação em Saúde, teoria, métodos e imaginação. p. 10-135, 2006.

GEISBRECHT, B.V; LAMBRIS, J.D e RICKLIN, D. Complement evasion by human pathogens. Nature Reviews Microbiology. v.6, p.132. 2008.

- GEISSLER, P.W; MWANIK, D; THIONG, F e FRIIS H. Geophagy as risk factor for geohelminth infections: a longitudinal study of Kenyan primary schoolchildren. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. v.92, p. 7-11, 1998.
- GONÇALVES, M.L; ARAÚJO, A e FERREIRA, L.F. Paleoparasitologia no Brasil Revista Ciência e Saúde Coletiva. v.7, p. 191-196, 2002.
- GONÇALVES, M.L; ARAÚJO, A; FERREIRA, L.F. Human intestinal parasites in the past: new findings and a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. v. 98, p.18-103, 2003.
- GORDON, C.A; GRAY, D.J; GOBERT, G.N e MCMANUS, D.P. DNA amplification approaches for the diagnosis of key parasitic helminth infections of humans. Molecular and Cellular Probes. v. 4, p. 52-143, 2011.
- GOTUZZO, E; TERASHIMA, A; ALVAREZ, H; TELLO, R; INFANTE, R; WATTS, D.M et al. Strongyloides stercoralis hyperinfection associated with human T cell lymphotropic virus type-1 infection in Peru. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. v. 60, p. 146-149, 1999.
- GUILHERME, A.L.F; DE ARAÚJO, S.M, PUPULIM, ÁUREA, R.T; JÚNIOR, J.E.L E FALAVIGNA, D.L.M. Parasitos intestinais e comensais em indivíduos de três Vilas Rurais do Estado do Paraná, Brasil. Acta Scientiarum. Health Sciences Maringá, v. 26, p. 331-336, 2004.
- GHOSH, S; DEBNATH, A; SIL, A; DE S; CHATTOPADHYAY, D. J; DAS, P. PCR detection of Giardia lamblia in stool: targeting intergenic spacer region of multicopy rRNA gene. Molecular and Cellular Probes. v.14, p.181-189, 2000.
- HERWALDT, B.L. Laboratory-Acquired Parasitic Infections from Accidental Exposure. Clinical Microbiology Reviews, v 14, p. 659, 2001.
- HEREDIA, R. D; FONSECA, J. A; LÓPEZ, M. C. *Entamoeba moshkovskii* perspectives of a new agent to be considered in the diagnosis of amebiasis. Acta Tropica, v. 123, p. 139-145, 2012.
- HEMPHILL, A; MÜLLER, N e MÜLLER, J. Comparative Pathobiology of the Intestinal Protozoan Parasites *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, and *Cryptosporidium parvum*. Pathogens.v.8, p. 116, 2019.

HEIDARE, A; ROKNI, M. Prevalence of intestinal parasites among children in Day-care centers in Damghan-Iran. *Iranian Journal of Public Health*. v.32, p.31-34, 2003.

HERNÁNDEZ, N.B; MATAMOROS, A.R.B; MARTÍNEZ, H.J.R; e CASTRO, G.I. Rectal prolapse in Honduras: case presentation and Review of Literature. *Revista Medica Hondureña*, v. 82, n° 3, p. 115-138, 2014.

HERNÁNDEZ PC, MORALES L, CHAPARRO-OLAYA J, SARMIENTO D, JARAMILLO JF, ORDOÑEZ GA, CORTÉS F, SÁNCHEZ LK. Intestinal parasitic infections and associated factors in children of three rural schools in Colombia. A cross-sectional study. *PLoS One*. v.14, e0218681, 2019.

HEYWORTH, M. F. *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. *Parasite*, v. 23, p. 13, 2016.

HOFFMANN, W.A; PONS, J.A; JANER, J.L. Sedimentation concentration method in schistosome. *Puerto Rico Journal of Public Health*. v. 9, p. 281-298 1934.

HOTEZ, P. J. et al. Incorporating a Rapid-Impact Package for Neglected Tropical Diseases with Programs for HIV/AIDS, Tuberculosis, and Malaria. *PLoS Medicine*, v. 3, e 102, 2006.

HOTEZ, P.J; MOLYNEUX, D.H; FENWICK, A; KUMARESAN, J; SACHS, S.E; SACHS, J.D; SAVIOLI, L. Control of neglected tropical diseases *New England Journal of Medicine*. v.357, p. 27-1018, 2007.

HOLCOMBE, C. Surgical emergencies in tropical gastroenterology. *Gut* v. 36, p. 9–11, 1995.

HOTEZ, P.J; BRINDLEY, P.J; BETHONY, J.M; KING, C.H; PEARCE, E.J e JACOBSON, J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *Journal of Clinical Investigation*. v. 118, p. 1311–1321, 2008.

HOTEZ, P.J; ALVARADO, M; BASÁÑEZ, M.G; BOLLIGER, I; BOURNE, R; BOUSSINESQ, M; BROOKER; S.J; BROWN, A.S; BUCKLE, G; BUDKE, C.M; CARABIN, H; COFFENG, L.E; et al. The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. v. 8, e2865, 2014.

HOTEZ, P.J; AKSOY, S; BRINDLEY, P.J; KAMHAWI, S. World neglected tropical diseases day. *PLoS Negl Trop Dis*. v. 14, e0007999, 2020.

IGNACIO, C.F; DE LIMA BARATA, M.M e DE MORAES NETO, A.H.A. The Brazilian Family Health Strategy and the management of intestinal parasitic infections. *Primary Health Care Research e Development*. v. 4, p. 333-343, 2018.

IMAI, K; MAEDA, T; SAYAMA, Y; MIKITA, K; FUJIKURA, Y; MISAWA, K; NAGUMO, M; IWATA, O; ONO, T; KURANE, I; MIYAHIRA, Y; KAWANA, A e MIURA, S. Mother-to-child transmission of congenital Chagas disease, Japan. *Emerg Infect Dis*. v.1, p. 8 -146, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Paraná, Bocaiúva do Sul. 2010. Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/bocaiuva-do-sul/panorama>. Acessado dia 11/12/2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Paraná, Colombo. 2010. Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/colombo/panorama>. Acessado dia 11/12/2019.

JACKSON, S.F; PERKINS, F; KHANDOR, E; CORDWELL, L; HAMANN, S e BUASAI, S. Integrated health promotion strategies: a contribution to tackling current and future health challenges. *Health Promotion International*. v. 21 Supplement, p. 75-83, 2006.

JESKEA, S; BIANCHIA, T.F; MOURAA, M.Q; BACCEGAA, B; PINTOA, N.B; et al. Intestinal parasites in cancer patients in the South of Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. v. 78, p. 574-578, 2018.

KANG, W.H e JEE, S.C. *Enterobius vermicularis* (Pinworm) Infection. *New England Journal of Medicine*. v. 381, e1, 2019.

KATZ, N; COELHO, P.M; PELLEGRINO, J. Evaluation of Kato's quantitative method through the recovery of *Schistosoma mansoni* eggs added to human feces. *Journal of Parasitology*. v. 56, p. 1032–1033, 1970.

KIKUCHI, T; KOGA, M; SHIMIZU, S; MIURA, T; MARUYAMA, H; KIMURA, M. Efficacy and safety of paromomycin for treating amebiasis in Japan. *Parasitology international*, v. 62, p. 497–501, 2013.

KOLTAS, I.S; ELGUN, G; EROGLU, F e DEMIRKAZIK, M. The importance of Real-Time Polymerase Chain Reaction method in diagnosis of intestinal parasites in cases with diarrhea. *Tropical Biomedicine*, v. 34, p.895–902, 2017.

- KORPE, P.S; GILCHRIST, C; BURKEY, C; TANIUCHI, M; AHMED, E; MADAN, V; et al. Case-control study of *Cryptosporidium* transmission in Bangladeshi households. *Clinical Infectious Disease*. v. 68, p. 1073-1079, 2019.
- KOHLI, A; BUSHEN, O.Y; PINKERTON, R.C; HOUP, E; NEWMAN, R.D; SEARS, C.L; et al. *Giardia duodenalis* assemblage, clinical presentation and markers of intestinal inflammation in Brazilian children. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. v.102, p.718-25, 2008.
- KUBIAK, K; WRÓŃSKA, M; DZIKA, e et al. The prevalence of intestinal parasites in children in preschools and orphanages in the Warmia-Masuria province (North-Eastern Poland). *Przegl Epidemiol*. v. 69, p. 483–604, 2015.
- LEPCZYŃSKA, M; DZIKA, E; KUBIAK, K; KORYCIŃSKA, J. The role of *Blastocystis* sp. as an etiology of irritable bowel syndrome. *Polish Annals of Medicine*, v. 23, p. 57-60, 2016.
- LELLO, J; BOAG, B; FENTON, A; STEVENSON, I.R e HUDSON, P.J. Competition and mutualism among the gut helminths of a mammalian host. *Nature*. v.428, p.4-840, 2004.
- LALLE, M; POZIO, E; CAPELLI, G; BRUSCHI, F; CROTTI, D e CACCIÒ, S.M. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *International Journal for Parasitology*. v. 35, p. 207–213, 2005.
- LEON, I. F; STROTHMANN, A.L; ISLABÃO, C.L; JESKE, S e VILLELA, M.M. Geohelminths in the soil of the Laguna dos Patos in Rio Grande do Sul state, Brazil Braz. *Journal of Integrative Biology*. Ahead of Print, S1519, 2019.
- LEVECKE, B; DREESEN, L; BARRIONUEVO-SAMANIEGO, M; BENÍTEZ ORTÍZ, W; PRAET, N; BRANDT, J e DORNY P. Molecular differentiation of *Entamoeba* spp. in a rural community of Loja province, South Ecuador. *Trans. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. v, 105, p. 737-739, 2011.
- LIMA, E.C; ZENI, J; SUPLICY, H.L. Aspectos clínico, parasitológico e hematológico de 801 moradores da zona portuária da cidade de Paranaguá. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade do Paraná, Curitiba*, v.5, p.99-104, 1962.

LIMA, E.C; SUPPLY, H.L; DENIS, R; ZENI Jr.J; MOTA, C.C.S; COSTA, S.O.P; PASQUINI, R; BORBA, A. M. Parasitoses, estado de nutrição e índices hematológicos em um núcleo populacional da zona litorânea. In: Anais da Faculdade de Medicina da Universidade do Paraná. Curitiba, v. 2, p. 21- 33, 1959.

LIESE, B.H e SCHUBERT, L. Official development assistance for health-how neglected are neglected tropical diseases? An analysis of health financing. International Health. v.1, p.7-141, 2009.

LINDOSO, J.A.L e LINDOSO, A.A.B.P. NEGLECTED TROPICAL DISEASES IN BRAZIL. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. v. 51, p. 247-253, 2009.

LÓPEZ, M.C; LEÓN, C.M; FONSECA, J, et al. Molecular Epidemiology of Entamoeba: First Description of *Entamoeba moshkovskii* in a Rural Area from Central Colombia. PLoS One. v.10, 2015.

LOPES, F.M.R; GONÇALVES, D.D; REIS, C.R; BREGANÓ, R.M; ANARUNA, F; MURAD, V.A; et al. Occurrence of enteroparasitosis in schoolchildren of the municipal district of Jataizinho, State of Parana, Brazil. Acta Scientiarum Health Science, v. 28, p. 107-111, 2006.

LOZANO R, NAGHAVI M, FOREMAN K, LIM S, SHIBUYA K, ABOYANS V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet. v.380, p. 128-2095. 2012.

LWANGA, F; KIRUNDA, B.E; ORACH, C.G. Intestinal helminth infections and nutritional status of children attending primary schools in Wakiso District, Central Uganda [published correction appears in Int J Environ Res Public Health. v.10, p.3769, 2012.

LUCIO, A; MARTÍNEZ-RUIZ, R; MERINO, F.J; BAILO, B; AGUILERA, M; et al. Molecular Genotyping of *Giardia duodenalis* Isolates from Symptomatic Individuals Attending Two Major Public Hospitals in Madrid, Spain. PLoS One.; v.10, e0143981, 2015.

LUDWIG, K.M; FREI, F; ALVARES FILHO, F e RIBEIRO-PAES JT. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine. v.32, p. 547-55, 1999.

- LUDWIG, K.M e CONTE, A.O.C. Enteroparasitosis in children of a creche in the city of assis: before and after educational campaigns. *Saúde (Santa Maria)*. v. 43, n. 2, p. 265-345, 2017.
- LUNA-NÁCAR, M; NAVARRETE-PEREA, J; MOGUEL, B; BOBES, R.J; LACLETTE, J.P e CARRERO, J.C. Proteomic Study of *Entamoeba histolytica* Trophozoites, Cysts, and Cyst-Like Structures. *PLoS One*. v. 11, e0156018, 2016.
- LUSTOSA, B.P.R; HAIDAMAK, J; OISHI, C.Y, et al. Vacuuming method as a successful strategy in the diagnosis of active infestation by *Pediculus humanus capitis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. v.62, p. 7, 2020.
- MACHADO, M.T; MACHADO, T.M; YOSHIKAE, R.M, et al. Ascariasis in the subdistrict of Cavacos, municipality of alterosa (MG), Brazil: effect of mass treatment with albendazole on the intensity of infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. v. 38, p. 265–271, 1996.
- MACHADO, R.L.D; FIGUEREDO, M.C; FRADE, AF; KUDÓ, M.E; SILVA FILHO, M.G. et al Comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da *Giardia lamblia* em fezes de crianças residentes em Belém, Pará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. São Paulo, v. 34, n. 1, p. 91-93, 2001.
- MACCHIONI F, SEGUNDO H, GABRIELLI S, et al. Dramatic decrease in prevalence of soil-transmitted helminths and new insights into intestinal protozoa in children living in the Chaco region, Bolivia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 92, p. 794–796, 2015.
- MALHEIROS, AF; STENSVOLD, C.R; CLARK, C.G; BRAGA, G.B; SHAW, J.J. Short Report: Molecular characterization of *Blastocystis* obtained from members of the indigenous Tapirapé ethnic group from the Brazilian Amazon region, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v.85, p.1050, 2011.
- MAZZINELLI, F.M; DOS REIS, C.D e MARQUEZ, C.R. Educação em Saúde, teoria, métodos e imaginação. 2006.
- MARTINS, N.D; CARDOSO, K.C.I; COUTO, A.A.R.A. Estudo da prevalência de enteroparasitoses no município de Ferreira Gomes/AP após a enchente em 2011. *Biota Amazônia Open Jornal System*. v. 4, p. 15-24, 2014.

MARTINS-MELO, F.R; JÚNIOR, A.N.R; HEUKELBACH, J. Mortality related to neglected tropical diseases in Brazil, 2000-2011: Revista de Medicina da UFC. v. 56, p. 79-80, 2016.

MARTINS-MELO, F.R; RAMOS, A.N.JR; CAVALCANTI, M.G; ALENCAR, C.H e HEUKELBACH, J. Reprint of "Neurocysticercosis-related mortality in Brazil, 2000-2011: Epidemiology of a neglected neurologic cause of death". Acta Trop. v. 165, p. 170–178, 2017.

MARANHÃO, T. Vivências e estágios na realidade do Sistema Único de Saúde: um “garimpo” bibliográfico Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação. Rio de Janeiro, v.7, n.4, 2013.

MATSUCHITA, H.L.P; PITZ, A.F; MELANDA, F.N; BREGANO, R.M; DE OLIVEIRA, F.J.A; MORI, F.M.R.L; et al. Descriptive molecular epidemiology study of *Giardia duodenalis* in children of Parana State, Brazil International Journal of Epidemiologic Research, v.4, p.1-9, 2017.

MATEO, M; MATEO, M; MONTOYA, A; BAILO, B; SAUGAR, J.M; AGUILERA, M; FUENTES, I e CARMENA, D. Detection and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in children attending day care centers in Majadahonda, Madrid, Central Spain. Medicine (Baltimore). v. 93, e75, 2014.

MACINKO, J; LIMA-COSTA, M.F. Horizontal equity in health care utilization in Brazil, 1998–2008. International Journal for Equity in Health. v. 11, p. 1-8, 2012.

MEIGA, M.Z; DE SOUZA, J.A; DE OLIVEIRA, R.N; ROCHA, C.S e MINÉ, J.C. Frequency of enteroparasites in individuals in the municipality of Ponta Grossa - PR (2010-2016). O Mundo da Saúde, São Paulo. v. 42, p. 744-761, 2018.

MENDES, C.S; COELHO, A.B; FÉRES, J.G; SOUZA, E.C; CUNHA, D.A. The impact of climate change on leishmaniasis in Brazil. Cien Saude Colet. v. 1, p. 72-263, 2016.

MENEZES, R.A.O, GOMES, M.D.S.M, MENDES, A.M, COUTO, ÁARA, NACHER M, PIMENTA TS, SOUSA ACP, BAPTISTA ARS, JESUS MI, ENK MJ, CUNHA MG, MACHADO RLD. Enteroparasite and vivax malaria co-infection on the Brazil-French Guiana border: Epidemiological, haematological and immunological aspects. v. 2, p.13. 2018.

- MITRA, A.K e MAWSON, A.R. Neglected Tropical Diseases: Epidemiology and Global Burden. *Tropical Medicine and Infectious Disease*. v. 7, p.36, 2017.
- MINVIELLE MC, MOLINA NB, POLVERINO D, BASUALDO JA. First genotyping of *Giardia lamblia* from human and animal feces in Argentina, South America. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. v.103, p.98-103, 2008.
- MINETTI, C; LAMDEN, K; DURBAND, C; JOHN, C; KATHERINE, P; et al. Case-Control Study of Risk Factors for Sporadic Giardiasis and Parasite Assemblages in North West England. *Journal of Clinical Microbiol*. v. 53, p.3133-3140, 2015.
- MONIS, P. T; ANDREWS, R.H; MAYRHOFER, G; EY, P.L. Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 3, p. 29-38, 2003.
- MONIS, P.T; CACCIO, S.M; THOMPSON, R.C.A. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology*, v. 25, p. 93-100, 2009.
- MONTEIRO, A.C.S e et al. Intestinal parasitism and related risk factors for primary school students in the municipality of João Pessoa, Northeast Brazil. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 34, n. 4, p. 1062-1072, 2018.
- MOURA, R.G.F; OLIVEIRA-SILVA, M.B; PEDROSA, A.L; NASCENTES, G.A.N e CABRINE-SANTOS, M. Occurrence of *Blastocystis* spp. in domestic animals in Triângulo Mineiro area of Brazil. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*. v.51, p. 240–243, 2018.
- MOLINA, N; PEZZANI, B; CIARMELA, M; ORDEN, A; DIANA, R; APEZTEGUÍA, M; BASUALDO, J; MINVIELLE, M. Intestinal parasites and genotypes of *Giardia intestinalis* in school children from Berisso, Argentina. *J Infect Dev Ctries*, v.5, p.527-534, 2011.
- MULLIS, K; FALOONA, F; SCHARF, S; SAIKI, R; HORN, G e ERLICH, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. v. 51, p. 73-263, 1986.
- MUÑOZ-ANTOLI, C; PAVÓN, A; MARCILLA, A; TOLEDO, R e ESTEBAN, J.G. Prevalence and risk factors related to intestinal parasites among children in Department of Rio San Juan,

Nicaragua. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. v. 108, p. 774–782, 2014.

MUÑOZ-ANTOLI, C; GOZALBO, M; PAVÓN, A; PÉREZ, P; TOLEDO, R; ESTEBAN, J.G. Enteroparasites in Preschool Children on the Pacific Region of Nicaragua. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. v.98, n.2, p.570–575, 2018.

NAVES, M.M e COSTA-CRUZ, J.M. High prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection among the elderly in Brazil. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo, v. 55, n. 5, p. 309- 313, 2013.

NOËL, C; PEYRONNET, C; GERBOD, D; EDGCOB, V.P, DELGADO-VISCOGLIOSI, P; SOGIN, M.L; et al. Phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from different hosts based on the comparison of small-subunit rRNA gene sequences. Mol Biochem Parasitol. v.126, p.23-119, 2003.

NOVO, S.P; LELES, D; BIANUCCI, R; ARAUJO, A. *Leishmania tarentolae* molecular signatures in a 300 hundred-years-old human Brazilian mummy. Parasit Vectors. v.8, p.72; 2015.

NOORALDEEN, K. Contamination of public squares and parks with parasites in Erbil city, Iraq. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. v. 22, p.418-420, 2015.

NUSSBAUM, J.C; VAN DYKEN, S.J; VON MOLTKE, J; CHENG, L.E; MOHAPATRA, A; MOLOFSKY, A.B; et al. Type 2 innate lymphoid cells control eosinophil homeostasis. Nature. v.502, p.8-245, 2013.

NDIMUBANZI, P.C; CARABIN, H; BUDKE, C.M; et al. A systematic review of the frequency of neurocytotoxicosis with a focus on people with epilepsy. PLoS Negl Trop Dis. v. 4, e 870, 2010.

OGLIARI, T.C.C e PASSOS, J.T. Enteroparasitos em estudantes de quintas séries do Colégio Estadual de Terra Boa, Campina Grande do Sul, Paraná (Sul do Brasil). Acta Biológica Paranaense, v. 31, p. 65-70. 2002.

OLIVEIRA-ARBEX, A.P; DAVID, E.B; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C, BITTENCOURT, G.N; GUIMARÃES, S. Genotyping of *Giardia duodenalis* isolates in asymptomatic children attending daycare centre: evidence of high risk for anthroponotic transmission. Epidemiol Infect. v.144, p.28-1418, 2016.

OLIVEIRA, R.A; GURGEL-GONÇALVES, R e MACHADO, E.R. Intestinal parasites in two indigenous ethnic groups in northwestern Amazonia. ACTA AMAZONICA. v. 46, p. 241 – 246, 2016.

OLIVEIRA, S.A; SANTOS, S.F.O; MARCO, GARCÍA-ZAPATA, T.A. Opportunistic intestinal parasites in hemodialysis patients - a systematic literature review Parásitos intestinales oportunistas en pacientes sometidos a hemodiálisis - revisión sistemática de la literatura. Revista Eletrônica de Enfermagem. v. 15, p. 1043-1051, 2013.

OLIVEIRA, Y.L.D.C; OLIVEIRA, L.M; OLIVEIRA, Y.L.M; et al. Changes in the epidemiological profile of intestinal parasites after a school-based large-scale treatment for soil-transmitted helminths in a community in northeastern Brazil: Epidemiological profile after large-scale school-based treatment for STH. Acta Tropica. v. 202: 105279, 2020.

OLSEN, A; VAN LIESHOUT, L; MARTI, H; POLDERMAN, T; POLMAN, K; et al. Strongyloidiasis—the most neglected of the neglected tropical diseases? Trans R Soc Trop Med Hyg. v. 103, p. 967–972, 2009.

OISHI, C. Y; KLISIOWICZ, D. R.; SEGUÍ, R; KÖSTER, P. C; CARMENA, D; TOLEDO, R; et al. Reduced prevalence of soil-transmitted helminths and high frequency of protozoan infections in the surrounding urban área of Curitiba, Paraná, Brazil. Parasite Epidemiology and Control, jun 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Basic laboratory methods in medical parasitology. Geneva: World Health Organization. 1991. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40793/9241544104_khm.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acessado aos 20 de Agosto de 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). The Millennium Development Goals. The evidence is in: deworming helps meet the Millenium Development Goals. Geneva; p. 1-2, 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Neglected tropical diseases, hidden successes, emerging opportunities. Geneva: OMS. 2009a. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44214/?sequence=1>. Acessado aos 1 de Agosto de 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS) - Leishmaniasis. Burden of disease. 2009b. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden.en/>. Acessado aos 26/01/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases**: second OMS report on neglected tropical diseases. Geneva, 2013a. Disponível em: https://www.who.int/neglected_diseases/9789241564540/en/ Acessado aos 14/01/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Infectious Diseases. Home Page, Intestinal Parasites. 2013b. Disponível em <<http://www.who.int/topics/helminthiasis/en/>> Acesso em: 31 de Agosto de 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). <https://www.who.int/neglecteddiseases/diseases/en/>, accessed November 30, 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Neglected tropical diseases. 2016. Disponível em: http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/. Acesso em: 14/01/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Integrating neglected tropical diseases into global health and development: fourth OMS report on neglected tropical diseases. Geneva: World Health Organization. 2017a. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255013/WHO-HTM-NTD-2017.02-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessado aos 1 de Agosto de 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS) Neglected tropical diseases. 2017b. Disponível:https://www.who.int/neglected_diseases/news/whofacilitate_access_paediatric_treatment/en/. Acessado aos 25/01/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Neglected tropical diseases.2017c. Disponível em: https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/. Acessado em 14/01/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Developing surveillance indicators to measure global progress against pork tapeworm. 2019a Disponível em: https://www.who.int/neglected_diseases/news/surveillance-indicators-measureprogress-against-pork-tapeworm/en/. Acesado aos 20/01/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Schistosomiasis. 2019b. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>. Acessado aos 25/01/2020.

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). World Health Organization, Neglected infectious diseases: Chagas disease, 2017.

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). PAHO. Leishmaniasis. 2019 Disponível:https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=29&Itemid=40754&lang=en. Acessado aos 25/01/2020.

PAES, N.A; SILVA, L.A. Infectious and parasitic diseases in Brazil: a decade of transition]. Revista Panamericana de Salud Publica. v. 6, p. 99-109, 1999.

PAZ E SILVA F.M, MONOBE, M.M, LOPES, R.S, ARAUJO, J.P. Molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs from Brazil. Parasitol Res, v.109, p.1481, 2011.

PARIJA, S.C; JEREMIAH, S.S. *Blastocystis*: Taxonomy, biology and virulence. Tropical Parasitology, v. 3, p. 17-25, 2013.

PASQUALI, A.K.S; BAGGIO, R.A; BOEGER, W.A; GONZÁLEZ-BRITEZ, N; GUEDES, D.C; CHAVES, E.C; et al. Dispersion of Leishmania (*Leishmania*) infantum in central-southern Brazil: Evidence from an integrative approach. PLoS Negl Trop Dis. v. 13, e0007639, 2019.

PAULA, F.M e COSTA-CRUZ, J.M. Epidemiological aspects of *Strongyloidiasis* in Brazil. Parasitology. v.138, p. 1331-40, 2011.

PEDERSEN, A.B e FENTON, A. Emphasizing the ecology in parasite community ecology. TRENDS in Ecology and Evolution. v.22, 2007.

PEREIRA, D.S.; FERREIRA, C.S. Método de Faust et al: Rendimento de colheita por alça metálica. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 33, p. 153-158, 1991.

PEREIRA, F.R.S; PEDROTTI, L.A; ZANCANARO, V. Incidence of intestinal parasites in a municipal school of basic education in the city of Caçador/SC. RIES, Caçador, v.5, nº 2, p. 96-105, 2016.

PEREIRA MG, ALBUQUERQUE ZP. Características da mortalidade na infância no Distrito Federal. Rev Assoc Med Bras, v.29, p.47-51, 1983.

- PEREA, M; VÁSQUEZ, V; PINEDA, V; SAMUDIO, F; CALZADA, J.E; e SALDAÑA, A. Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp. infecting children from a rural community in Panama. *Parasite epidemiology and control*, v.9, 2020.
- PETRI, W.A.JR; HAQUE, R; LYERL, Y.D e VINES, R.R. Estimating the impact of amebiasis on health. *Parasitol Today*. v.16, p. 320–321, 2000.
- PEZZI, N.C; TAVARES, R.G. Relação de aspectos sócio - econômicos e ambientais com parasitoses intestinais e eosinofilia em crianças da Enca, Caxias do Sul- RS. *Estudos*, v. 34, p. 1041-1055, 2008.
- PHIRI, K; WHITTY, C. J. M; GRAHAM, S.M; SSEMBATYA, L.G. Urban/rural differences in prevalence and risk factors for intestinal helminth infection in Southern Malawi. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, v. 94, p. 381-387, 2000.
- PULLAN, R.L e BROOKER, S. The global limits and population at risk of soil-transmitted helminth infections in 2010. *Parasites & Vectors*. v. 5, p. 81, 2012.
- 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, p. 37, 2014.
- PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis*. v.1, p.92-100, 2001.
- PRASAD, K.N; PRASAD, A; GUPTA, R.K; NATH, K; PRADHAN, S; TRIPATHI, M et al. Neurocysticercosis in Patients with Active Epilepsy From a Pig Farming Community. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*. v.103, p.144-150, 2009.
- QI, M; JI, X; ZHANG, Y; WEI, Z; JING, B; ZHANG, L; LIN, X; et al. Prevalence and multilocus analysis of *Giardia duodenalis* in racehorses in China. *Parasitol Res*. 2020.
- QUADROS, R.M; MARQUES, S; ARRUDA, A.A.R; DELFES, P.S.W.R.E e MEDEIROS, Í.A.A. Intestinal parasites in nursey schools of Lages, Southern Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 37, p. 22-423, 2004.

- RAMÍREZ, J.D; SÁNCHEZ, L.V; BAUTISTA, D.C; CORREDOR, A.F; FLÓREZ, A.C e STENSVOLD, C.R. *Blastocystis* subtypes detected in humans and animals from Colombia. *Infect Genet Evol.* p. 8-223, 2014.
- REH, L; MUADICA, A.S; KÖSTER, P.C; BALASEGARAM, S; VERLANDER, N.Q; CHÉRCOLES, E.R; et al. Substantial prevalence of enteroparasites *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* sp. in asymptomatic schoolchildren in Madrid, Spain, November 2017 to June 2018. *Euro Surveill.* v. 43, 2019.
- RECH, S.C; CAVAGNOLLI, N.I; DALLA, P.K.W; SPADA, S e RODRIGUES, A.D. Frequency of intestinal parasites and socioeconomic conditions of São Marcos city-RS schoolchildren. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina,* v. 37, p. 25-32, 2016.
- REBOLLA, M.F; SILVA, E.M; GOMES, J.F; FALCÃO, A.X; REBOLLA, M.V; FRANCO, R.M. High prevalence of *Blastocystis* spp. Infection in children and staff members attending public urban schools in São Paulo state, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* v. 58, p.31, 2016.
- REMME, J.H.F; FEENSTRA, P; LEVER, P.R; et al. Tropical diseases targeted for elimination: Chagas disease, lymphatic filariasis, onchocerciasis, and leprosy. *Disease Control Priorities in Developing Countries.* New York: Oxford University Press, ed.2, p.50-433, 2006.
- REINHARD, K.J; CONFALONIERI, U; FERREIRA, L.F; HERRMANN, B e ARAÚJO A. Recovery of parasite remains from coprolites and latrines: aspects of paleoparasitological technique. *Homo.* v.37, p.217-239, 1988.
- RITCHIE, L.S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bulletin of the United States Army Medical Department.* n.8, p. 326, 1948.
- RYAN, U; CACCIÒ, S.M; Zoonotic potential of *Giardia*. *International Journal for Parasitology,* v. 43, p. 943-956, 2013.
- RYAN, U; HIJJAWI, N. New developments in *Cryptosporidium* research. *International Journal for Parasitology,* v. 45, p. 367-373, 2015.
- RYAN, U; ZAHEDI, A; PAPANINI, A. *Cryptosporidium* in humans and animals—a one health approach to prophylaxis. *Parasite Immunology,* v. 38, p. 535-547, 2016.

ROTHENBERG, M.E e HOGAN, S.P. The eosinophil. *Annu Rev Immunol.* v.24, p.74-147, 2006.

RODRÍGUEZ, V; ESPINOSA, O; CARRANZA, J.C; et al. Genotipos de *Giardia duodenalis* en muestras de niños de las guarderías del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar y de perros en Ibagué, Colombia. *Biomedica.* v.34, p.271–281, 2014.

RUFFER, M. A. Note on the presence of “*Bilharzia haematobia*” in Egyptian mummies of the Twentieth Dynasty [1250–1000 BC]. *British Medical Journal*, v. 1, p.16, 1910.

RUFFER, M.A. *Studies of the paleopathophysiology of Egypt.* Chicago: University of Chicago Press; 1921.

SARD, B. G; NAVARRO, R. T; SANCHIS, J. G. E. Amebas intestinales no patógenas: uma visão clinico analítica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 29, p. 20-28, 2011.

SAMBROOK, J; FRISTSCH, E.F; MANIATIS, T. *Molecular cloning. A laboratory manual..* Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. V I, II e III, p. 17-18, 1989.

SANGER, F; NICKLEN, S e COULSON, A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* v.74, p. 5463–5467, 1977.

SANTORO, C; VINTON, S.D; REINHARD, K.J. Inca expansion and parasitism in the Iluta valley: preliminary data. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* v.98, p.3-161, 2003.

SANTOS, I.F.C; NHANTUMBO, B e ALHO, P. Occurrence Of *Ancylostoma caninum* and *Toxocara canis* In The Veterinary School Hospital (Hev) (2001 – 2010)– Maputo – Mozambique. *Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária.* 2013.

SANTOS JUNIOR, J.E. Frequency and manifestations of diarrhea related to enteropathogen *Giardia duodenalis* in adults and children. *Arq. Ciênc. Saúde.* v. 24, p. 58-61, 2014.

SANTOS, P.H.S; BARROS, R.C.S; GOMES, K.V.G; NERY, A.A e CASOTTI, C.A. Prevalence of intestinal parasitosis and associated factors among the elderly. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* Rio de Janeiro, v. 20, p. 244-254, 2017.

SEGUÍ, R; KLISIOWICZ, D; OISHI, C.Y; TOLEDO, R; ESTEBAN, J.G e MUÑOZ-ANTOLI, C. Intestinal symptoms and *Blastocystis* load in schoolchildren of Paranaguá Bay, Paraná, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* v. 59, p. 1-3, 2017.

SEGUÍ R, MUÑOZ-ANTOLI C, KLISIEWICZ DR, OISHI CY, KÖSTER PC, DE LUCIO A, et al. Prevalence of intestinal parasites, with emphasis on the molecular epidemiology of *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* sp., in the Paranaguá Bay, Brazil: a community survey. *Parasit Vectors*. p. 3-19, 2018.

SILVA, E.F.D.J; LACERDA, M.V.G; FONTES, G; MOURÃO, M.P.G; MARTINS, M. *Wuchereria bancrofti* infection in Haitian immigrants and the risk of re-emergence of lymphatic filariasis in the Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*. v. 50, p. 256-259, 2017.

SILVA, R. S. B.; MALHEIROS, A. F.; SANTOS, D. P.; SHAW, J. J.; ARAÚJO, M. S. M.; MORAES, M. F. A.; et al. Estudo de parasitoses intestinais em moradores de corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Ibero-American Journal of Environmental Sciences*, v.10, n.2, p.109-128, 2019.

SILVA, N.R; CHAN, M.S; BUNDY, D.A. Morbidity and mortality due to *Ascariasis*: re-estimation and sensitivity analysis of global numbers at risk. *Trop Med Int Health*. v.2, p.519–528, 1997.

SOLOMONS, N. Pathways to the impairment of human nutritional status by gastrointestinal pathogens. *Parasitology*, v. 107, p.19-35, 1993.

SCANLAN; P.D e STENSVOLD, C.R. *Blastocystis*: getting to grips with our guileful guest. *Trends in Parasitology*. v.29, Ed 11, p. 523-529, 2013.

SCILUNA, S.M; TAWARI, B; CLARK, C.G. DNA barcoding of *Blastocystis*. *Protist*. v. 157, p. 77-85, 2006.

SCOLARI, C; TORTI, C; BELTRAME, A; MATTEELLI, A; CASTELLI, F; GULLETTA, M; et al. Prevalence and distribution of soil-transmitted helminth (STH) infections in urban and indigenous schoolchildren in Ortigueira, State of Paraná, Brasil: implications for control. *Trop Med Int Health*. v.5, p.7-302, 2000.

SCHIERACK, P., LUCIUS, R., SONNENBURG, B., SCHILLING, K. e HARTMANN, S. Parasite-specific immunomodulatory functions of filarial cystatin. *Infect. Immun*. v.71, p.2422–2429, 2003.

SCHMID-HEMPEL, PAUL. Immune defence, parasite evasion strategies and their relevance for 'macroscopic phenomena' such as virulence. *Phil. Trans. R. Soc. B*, v. 364, p. 85–98, 2009.

SCHÄR, F; TROSTDORF, U; GIARDINA, F; KHIEU, V; MUTH, S; MARTI, H; et al. *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors. *PLoS Negl Trop Dis*. v. 7, 2013.

SHIKANAI YASUDA, M.A; SÁTOLO, C.G; CARVALHO, N.B; et al. Interdisciplinary approach at the primary healthcare level for Bolivian immigrants with Chagas disease in the city of São Paulo. *PLoS Negl Trop Dis*. v. 11, 2017.

STANLEY SL JR. Amoebiasis. *Lancet*. v. 22, ed. 361, p.34-1025, 2003.

STENSVOLD, C.R; LEWIS, H.C; HAMMERUM, A.M; et al. *Blastocystis*: desvendar potenciais fatores de risco e significado clínico de um parasita comum, mas negligenciado. *Epidemiol. Infectar*. v.137, p.1663-1655. 2009.

STENSVOLD, C.R; ALFELLANI, M.A; NØRSKOV-LAURITSEN, S, PRIP K, VICTORY EL, MADDOX C; et al. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype. *Int J Parasitol* 39:473–479, 2009b.

STENSVOLD, C.R; CHRISTIANSEN, D.B; OLSEN, K.E; NIELSEN, H.V. *Blastocystis* sp. subtype 4 is common in Danish *Blastocystis*-positive patients presenting with acute diarrhea. *Am J Trop Med Hyg*. v.84, 2011.

STENSVOLD, C.R; ALFELLANI, M e CLARK, C. G. Levels of genetic diversity vary dramatically between *Blastocystis* subtypes. *Infect. Genet*, v.12, Ed. 2, p263-273, 2012.

STENSVOLD, C.R e CLARK, C.G. Current status of *Blastocystis*: A personal view. *Parasitology International*, v. 65, p. 763-771, 2016.

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 Medicine*, v. 11, p. 2-4, 2014.

SEYER, A; KARASARTOVA, D; RUH, E; GÜRESER, A.S; TURGAL, E; IMIR, T; et al. Epidemiology and prevalence of *Blastocystis* spp. in North Cyprus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v.96, p.1164–1170, 2017.

- SHAKER D, ANVARI D, HOSSEINI SA, FAKHAR M, MARDANI A, ZIAEI HEZARJARIBI H, et al. Frequency and genetic diversity of *Blastocystis* subtypes among patients attending to health centers in Mazandaran, northern Iran. *J Parasit Dis.* v.43, p.537-453, 2019.
- TAN, K. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 21, p. 639-645, 2008.
- TAKIZAWA, M.G.M.H; FALAVIGNA, D.L.M e GOMES, M.L. Enteroparasitosis and their ethnographic relationship to food handlers in a tourist and economic center in Paraná, southern Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, v.51, p.31-35, 2009.
- TEIXEIRA, J.C; HELLER, L e BARRETO, M.L. *Giardia duodenalis* infection: risk factors for children living in sub-standard settlements in Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, p.1489-1493, 2007.
- TENZA, M.I.P; RUIZ-MACIÁ, J.A; COTS-NAVARRO, M; COLOMÉ, J.G; RODRIGO, J.M.C; GARCÍA, J.L. *Strongyloides stercoralis* infection in a Spanish regional hospital: Not just an imported disease. *Enf Infect Microbiol Clin*, v. 26, n. 1, p. 24-28, 2018.
- TITO, R.Y; CHAFFRON, S; CAENEPEEL, C; LIMA, M.G; WANG, J; VIEIRA, S; et al. J. Population-level analysis of *Blastocystis* subtype prevalence and variation in the human gut microbiota. *Gut*. Aug, 31, European Molecular Biology Laboratory. p. 1-6, 2018.
- UDONSOM, R; PRASERTBUN, R; MAHITTIKORN, A, et al. *Blastocystis* infection and subtype distribution in humans, cattle, goats, and pigs in central and western Thailand. *Infect Genet Evol.* v. 65 p. 107–111, 2018.
- ULRICH, Y; SCHMID-HEMPEL, P. Host modulation of parasite competition in multiple infections. *Proc Biol Sci.* v.279, p.9-2982, 2014.
- VIDAL, F; VIDAL, J.C; GADELHA, A.P.R; LOPES, C.S; COELHO, M.G.P e MONTEIRO-LEAL, L.H. *Giardia lamblia*: The effects of extracts and fractions from *Mentha x piperita* Lin. (Lamiaceae) on trophozoites. *Experimental Parasitology*, v. 115, p. 25–31, 2007.
- VERWEIJ, J.J; SCHINKEL, J; LAEJENDECKER, D; VAN ROOYEN, M.A; VAN LIESHOUT, L; POLDERMAN, A.M. Real-time PCR for the detection of *Giardia lamblia*. *Molecular and Cellular Probes*, v. 17, p. 223-225, 2003.

- VERWEIJ, J.J; BRIENEN, E.A; ZIEM, J; YELIFARI, L; POLDERMAN, A.M e VAN LIESHOUT, L. Simultaneous detection and quantification of *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, and *Oesophagostomum bifurcum* in fecal samples using multiplex real-time PCR. *Am J Trop Med Hyg.* v. 77, n° 4, p. 90-685, 2007.
- VIANA, M.L; FIALHO, N.R; ROCHA, S.M.S; ALVES, T.C.L.A; TRINDADE, R.A e MELO, A.C.F.L. Intestinal parasites and their interrelationship with socioeconomic aspects of individuals living in a rural Community. *Scientia Plena*, v. 13, 2017.
- VILLAMIZAR X, HIGUERA A, HERRERA G, VASQUEZ-A LR, BUITRON L, MUÑOZ LM, GONZALEZ-C F.E; et al. Molecular and descriptive epidemiology of intestinal protozoan parasites of children and their pets in Cauca, Colombia: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* v.29, p.190, 2019.
- VLEESCHOUWERS, W; HOFMAN, P; GILLARDIN, J.P; MEERT, V e VAN SLYCKE S. Appendicitis-like clinical image elicited by *Enterobius vermicularis*: case report and review of the literature. *Acta Chir Belg.* v. 113, p. 139-42, 2013.
- WANG, J; GONG, B; LIU, X; ZHAO, W; BU, T; ZHANG, W; et al. Distribution and genetic diversity of *Blastocystis* subtypes in various mammal and bird species in northeastern China. *Parasit Vectors.* v. 11, p.522, 2018.
- WERNECK, G.L; HASSELMANN, M.H; GOUVÊA, T.G. Uma visão geral dos estudos sobre nutrição e doenças negligenciadas no Brasil. *Cien Saude Colet.* v. 16, p. 39-41, 2011.
- WEBER, D.J; RUTALA, W.A. The emerging nosocomial pathogens *Cryptosporidium*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, and hepatitis C: epidemiology, environmental survival, efficacy of disinfection, and control measures. *Infection control and hospital epidemiology: the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America.* v. 22. p. 306-315, 2001.
- WEISS, J.B. DNA probes and PCR for diagnosis of parasitic infections. *Clin Microbiol Rev.* v.8, p.30-113,1995.
- WILLIAMS, J. A. Evidence of hydatid disease in a Plains Woodland burial. *Plains Anthropol.* v.30, p. 25-28, 1985.

WINNICKI, W; EDER, M; MAZAL, P; MAYER, F.J; SENGÖLGE, G e WAGNER, L. Prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection and hyperinfection syndrome among renal allograft recipients in Central Europe. *Sci Rep.* v.8, p. 15406, 2018.

YUNES, J. Características sócio-econômicas da mortalidade infantil em São Paulo. *Pediatria (São Paulo)*, v.5, p.8-162, 1983.

XIMÉNEZ, C; MORÁNA, P; ROJASA, L; VALADEZA, A; GÓMEZ, A. Reassessment of the epidemiology of amebiasis: State of the art. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 9, p. 1023-1032, 2009.

XIAO, L e FENG, Y. Molecular epidemiologic tools for waterborne pathogens *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. *Food Waterborne Parasitol.* v. 8, p. 14-32, 2017.

ZOUARI, M; LOUATI, H; ABID, I, et al. *Enterobius vermicularis*: A Cause of Abdominal Pain Mimicking Acute Appendicitis in Children. A Retrospective Cohort Study. *Arch Iran Med.* v. 21, p. 67–72, 2018.

ZYLBERBERG, H.M; GREEN, P.H; TURNER, K.O; GENTA, R.M E LEBWOHL, B. Prevalence and Predictors of *Giardia* in the United States. *Dig Dis Sci.* v. 62, p. 432-440, 2017.

APÊNDICE I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Sr (Sra):

A criança, sob sua responsabilidade, está sendo convidada por mim Débora do Rocio Klisiowicz, e pelos professores: Andrey José de Andrade, Diego A. Guiguet Leal, Larissa Reifur, Magda Clara Vieira da Costa-Ribeiro e Márcia K. Shimada da Universidade Federal do Paraná, a participar de um estudo intitulado “Entero e ectoparasitoses na Região Metropolitana de Curitiba e litoral do Paraná”.

a) O objetivo desta pesquisa é estudar os parasitos intestinais (vermes) e ectoparasitos (piolhos) de crianças e adultos de seu município. Também, após estudo sobre os tratamentos caseiros (chás e óleos), utilizados pela comunidade, os pesquisadores poderão informar quais destes tratamentos realmente poderiam ajudar no combate destes microrganismos. Com os resultados poderá haver uma melhora na saúde comunitária.

b) Caso o (a) senhor(a) autorize a participação da criança nesta pesquisa, será necessário responder a um questionário sobre saúde abordando sobre alguns sintomas e tratamentos utilizados contra estes parasitos, além do possível uso de medicamentos caseiros. Também receberá um questionário para conhecermos melhor o local onde vive, como por exemplo, se há rede de esgoto, tratamento de água e coleta de lixo. Para o estudo das parasitoses (verminoses) forneceremos, gratuitamente, frascos para coleta de fezes que deverão ser devolvidos em local e data descritas num folheto explicativo, previamente entregue, sobre como coletar e acondicionar as fezes. A verificação da presença de piolhos (pediculose) será realizada de forma individual em local reservado onde a cabeça das crianças será inspecionada com uma lupa de mão, com pente especial para piolhos e com um aspirador de pó que as mesmas denominaram em projetos anteriores como “máquina do poder”, pois são realizadas brincadeiras de “SUPER PODERES” durante o processo. Todo o trabalho será realizado de forma lúdica e a criança somente participará se der seu consentimento, mesmo tendo a autorização dos pais ou responsáveis.

c) É possível que a criança, durante a coleta de fezes, experimente algum desconforto por causa do odor das amostras. O odor desaparecerá logo após o completo fechamento do frasco coletor. Para evitar constrangimentos indicaremos que a amostra seja embrulhada em papel e colocada em um saco plástico antes da entrega do material. Em relação aos piolhos é possível que a criança experimente algum desconforto, temporário, principalmente relacionado ao ruído do aspirador de pó e por isso antes da aplicação do mesmo na cabeça da criança será realizada algumas brincadeiras para que as mesmas se acostumem com o ruído e sintam-se a vontade para participar da ação.

d) Alguns riscos relacionados ao estudo podem se dar ao fato que as crianças sentem nojo ao se comentar que o exame é dos seus “cocoziños”, quando se explicar que a coleta será dos mesmos. Para minimizar estes riscos haverá o aconselhamento para que as mãos sejam bem lavadas antes e após a coleta de fezes. Caso seja usado algum produto para a coleta de piolhos (cremes comerciais de pentear) estes produtos serão testados no antebraço da criança. Caso haja alguma reação, os pais serão avisados e a criança encaminhada ao posto de saúde mais próximo.

e) Os benefícios diretos esperados com essa pesquisa são que seu (sua) filho (a) possa receber um tratamento adequado, se estiver com vermes ou piolhos, podendo ainda contribuir para o avanço da ciência. Os pesquisadores entregarão, em envelope lacrado, os resultados dos

exames com indicação se o mesmo deverá ou não ser encaminhado ao médico do posto de saúde local ou ao médico particular. A família da criança também será convidada a participar de oficinas e palestras sobre estas parasitoses. Estas oficinas ou palestras serão completamente gratuitas e serão realizadas na escola.

f) Os pesquisadores Débora do Rocio Klisiowicz (deborak@ufpr.br), Andrey José de Andrade (andreyandrade@ufpr.br), Diego A. Guiguet Leal (diego.leal@ufpr.br), Larissa Reifur (reifurla@ufpr.br), Magda Clara Vieira da Costa-Ribeiro (magdaribeiro@ufpr.br) e Márcia K. Shimada (shimada@ufpr.br), responsáveis por este estudo, poderão ser localizados pelos telefones: 41 3361 1697, 3361 1574 3361 1701 ou 3361 1698 ou no endereço: Av. Cel. Francisco H. dos Santos, 100 - Universidade Federal do Paraná - Centro Politécnico - Setor de Ciências Biológicas - Caixa Postal 19031 - Departamento de Patologia Básica. O horário de Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR - CEP/SD Rua Padre Camargo, 285 - térreo Alto da Glória - Curitiba/PR - CEP 80060-240 - cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259 atendimento é 09h às 17h. Caso haja algum desconforto ou efeito colateral durante o tratamento entre em contato em algum dos telefones acima ou por e-mail.

g) A participação da criança neste estudo é voluntária, portanto, é possível desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado.

h) Em todos os registros da pesquisa, haverá um código que substituirá o nome do participante, assim as informações obtidas e os resultados das análises laboratoriais serão confidenciais e não serão utilizados para outros fins que não sejam para a pesquisa.

i) As amostras biológicas (vermes e piolhos) serão utilizadas unicamente para essa pesquisa e, eventualmente, para fins didáticos na UFPR, sempre sem a identificação do (a) portador (a). Os questionários, imagens e vídeos – serão utilizados unicamente para essa pesquisa e serão destruídos/descartados (guilhotina ou incineração) ao término do estudo.

j) As despesas necessárias para a realização da pesquisa, bem como os exames parasitológicos de fezes e da pediculose não são de sua responsabilidade e não receberá qualquer valor em dinheiro pela participação da criança. O (A) senhor (a) tem total liberdade para recusar a participação do (a) seu (sua) filho (a) em qualquer um ou mais dos procedimentos ou retirar sua aceitação a qualquer momento. Se o (a) senhor (a) se recusar a participar não acarretará qualquer dano durante o tempo em que seu (sua) filho (a) estiver no CMEI ou CEI.

k) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá o nome da criança, e sim um código.

l) Se tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone 3360-7259. O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão colegiado multi e transdisciplinar, independente, que existe nas instituições que realizam pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil e foi criado com o objetivo de proteger os participantes de pesquisa, em sua integridade e dignidade, e assegurar que as pesquisas sejam desenvolvidas dentro de padrões éticos (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde).

m) Autorizo (), não autorizo (), uso da imagem da criança em todo e qualquer material entre fotos, documentos e outros meios de comunicação para divulgação do Projeto de Extensão. Estas imagens referem-se às atividades realizadas no CMEI ou CEI sobre as parasitoses (catação de

piolhos, brincadeiras, teatros, etc.) e não poderão estar vinculadas às parasitoses, mas somente às atividades de promoção à saúde.

Eu, _____ li esse Termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo para o qual autorizo a participação da criança sob minha responsabilidade. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que somos livres para interromper a participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim e para o menos sob minha responsabilidade. Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Bocaiuva do Sul, _____ de _____ de 2018.

Responsável pela criança:

Dra. Débora do Rocio Klisiowicz
Pesquisadora Responsável pelo projeto

APÊNDICE II

QUESTIONÁRIO

Prezados pais e/ou responsáveis!

A equipe do projeto "Entero e ectoparasitoses na Região Metropolitana de Curitiba e litoral do Paraná" da Universidade Federal do Paraná está realizando exames de fezes na escola dos eu filho. E junto com os resultados gostaríamos de saber alguns dados importantes.



Preencher e DEVOLVER na escola no dia:...../...../2018.

-feira.

Aluno: _____ Série: _____

(marcar com um X a resposta nos quadradinhos):

A criança teve ou tem?

DIARRÉIA FREQUENTE:	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM	
DOR DE BARRIGA FREQUENTE:	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM	
JÁ FEZ EXAME DE FEZES? (fora da escola)	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM	Resultado: _____
JÁ TEVE PIOLHO?	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM	Quando: _____

Se sim, como eliminou o piolho? _____

Para prevenir ou tratar verminoses a criança já tomou?

Remédio para verme:	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM	Qual: _____	Quando: _____
Outro remédio:	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM	Qual: _____	Quando: _____
CHÁ DE HORTELÃ:	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM		Quando: _____
Outro tipo de chá:	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	SIM	Qual: _____	Quando: _____

Outro tipo de tratamento: _____

De onde vem a água que bebem:

Sanepar
 Poço
 Bica
 Cano que vem do morro
 Filtrada
 Fervida
 Outro - qual: _____

Animais domésticos na família:

Cachorro
 Gato
 Galinha
 Porco
 Cavalo
 Pato
 Outro: qual: _____

A família faz cocô no:

Banheiro de casa
 Casinha/Latrina
 Terreno em volta da casa
 Outro - qual: _____

Como é tratado o esgoto da sua casa?

Sanepar
 Fossa
 Valeta da rua
 Outro: ? Qual? _____

Onde você mora há a presença de Baratas:

Nunca
 Pouca
 Muita/Sempre

Onde você mora há a presença de moscas:

Nunca
 Pouca
 Muita/Sempre

Destino do Lixo:

Coleta da prefeitura em frente a casa
 Terrenos baldios
 Queimado
 Outro - qual: _____

A criança tem alguma doença respiratória?

Não
 Sim, Asma
 Sim, Bronquite
 Sim, Rinite
 Sim, Outros - qual: _____

Outro(s) problema de saúde do seu filho?.....

Obrigado pelas respostas! Estamos trabalhando para melhorar a saúde de TODOS



No verso você poderá fazer perguntas sobre saúde ou sugerir temas para reuniões na escola

APÊNDICE III

COMO COLETAR AS FEZES (COCOZINHO) DO SEU FILHO

Dentro da mochila está o kit EXAME DE FEZES do seu filho(a).

1. Fazer cocô dentro de um pinico ou dentro de uma sacola plástica.
2. Com auxílio da pazinha coloque um pouco das fezes no pote e feche bem.
2. As fezes devem ser coletadas sem água e sem xixi.
3. Metade do pote com fezes é o suficiente para realizar o exame.
4. Guardar o potinho numa sacola e manter em local bem fresco até a entrega.

Por favor, entregar na escola no dia:...../...../2018. .

* Logo entregaremos o resultado.

APÊNDICE IV

Prezados pais e/ou responsável,

A equipe do projeto "Entero e ectoparasitoses na Região Metropolitana de Curitiba e litoral do Paraná" gostaria de convidar seu filho a participar do nosso projeto.



O projeto tem como objetivo a melhoria da saúde das crianças e realizará exames de fezes e de piolhos. A participação é **completamente gratuita** e somente será necessário nos entregar um potinho com um pouco de fezes da criança e permitir o exame da cabeça da criança.

Junto com este aviso **estamos enviando:**

- O potinho com as instruções para a coleta das fezes;
- Um questionário para ser preenchido pelo pai e/ou responsável;
- Um termo de consentimento a ser assinado pelo pai e/ou responsável;

Os resultados dos exames serão enviados em envelope fechado com indicação se devem ser encaminhados ao médico do posto de saúde.

Ao responderem os questionários e colocarem suas dúvidas poderemos preparar palestras a fim de melhorar a saúde da comunidade.

POR ISSO A PARTICIPAÇÃO DE TODOS É MUITO IMPORTANTE.

APÊNDICE V

Legenda: Frequência de formas parasitárias dos animais das crianças das escolas do Centro Municipal de Educação infantil de Bocaiúva do Sul e da Escola Municipal Antônio Cavassin e Escola Rural Municipal Irmã Antonieta Farani/ Colombo do Município de Colombo- Paraná, de Agosto de 2017 à Julho de 2019.

	N	Colombo		Bocaiúva do Sul		p-valor
		n	%	n	%	
Helmintos	2					
<i>Ancilostomatídeos</i>	X	x		x	X	
<i>Trichuris</i> sp.	1			1		
Protozoários	2					
<i>Giardia duodenalis</i>	1			1		
<i>Blastocystis</i> spp.	1			1		
Total	4	X		3		

ANEXO I

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Entero e ectoparasitoses na Região Metropolitana de Curitiba e litoral do Paraná

Pesquisador: DÉBORA DO ROCIO KLISIEWICZ

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 91542618.0.0000.0102

Instituição Proponente: Departamento de Patologia Básica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.754.459

Apresentação do Projeto:

Título do Projeto: Entero e ectoparasitoses na Região Metropolitana de Curitiba e litoral do Paraná

Pesquisador Principal: Débora do Rocio Klisiewicz

Colaboradores:

- Andrey José Andrade- Professor do Departamento de Patologia Básica da UFPR
- Diego A. Guiguet Leal - Professor do Departamento de Patologia Básica da UFPR
- Larissa Reifur – Professora do Departamento de Patologia Básica da UFPR
- Magda Clara Vieira da Costa-Ribeiro- Professora do Departamento de Patologia Básica da UFPR
- Marcia K. Shimada - Professora do Departamento de Patologia Básica da UFPR
- Teresa C. C. Ogliari - Professora do Departamento de Patologia Básica da UFPR

Local de Realização: Região Metropolitana de Curitiba e litoral do Paraná

Período da Pesquisa: 08/2018 a 06/2022.

O público alvo do projeto serão alunos de escolas municipais localizadas em Curitiba, sua região metropolitana e litoral paranaense. As comunidades escolares compostas por familiares, vizinhos e todo o corpo discente e de funcionários da escola também poderão participar do projeto. A Secretaria de Educação indicará escolas para o desenvolvimento do projeto. O chamamento para a apresentação do projeto e para as demais atividades do projeto será através de bilhetes enviados pela escola. Reuniões com o corpo pedagógico das escolas serão efetuadas para alinhamento do

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Tênis

Bairro: Alto da Glória

UF: PR

Telefone: (41)3360-7259

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO II

Material e equipamentos

Cubeta de eletroforese, equipamento de eletroforese, molde para o gel de agarose, tampão TAE composto por 48,1 g/L de Tris base, 1,14% de ácido acético e 10 μ M de EDTA, Buffer, corante SafeView™.

Procedimentos

1. Dissolver a preparação de agarose a 2% contendo o tampão TAE no micro-ondas.
2. Adicionar o corante SafeView™ na temperatura de 40°C (**Figura 1A**).
3. Transferir para o molde para posteriormente formar o gel (numa superfície plana e evitar a formação de bolhas dentro do gel), deixar solidificar a temperatura ambiente com tempo de aproximadamente 30 min e retirar o molde (verificar se formou poços no gel).
4. Colocar na cubeta de eletroforese, unindo os eletrodos positivo e negativo com as partes correspondentes (em função das cores) e fechar a cubeta.
5. Selecionar a voltagem 60volt e 400mA em 30 min.
6. Foi usado para visualização das bandas amplificadas o sistema por imagem da ChemiDoc™, Bio-Rad que emite em uma câmara de luz UV (**Figura 1B**).

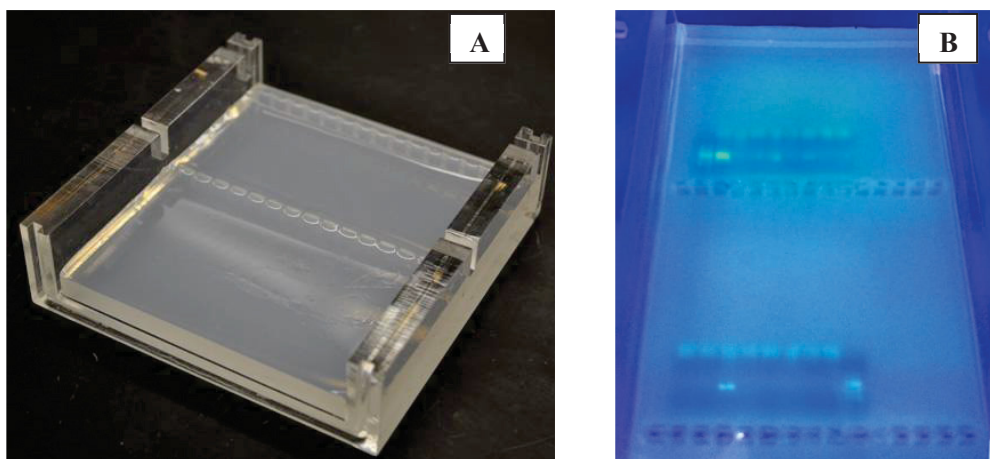


Figura 1: **A)** Fotografia de gel de agarose sem o corante SafeView™; **B)** Gel com bandas de DNA amplificadas na câmara de luz UV em gel de agarose.

ANEXO III



55º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL
XXVI CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA
CHAGASLEISH | 2019

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho Caracterização molecular de *Giardia duodenalis* e *Blastocystis spp* em escolares do município de Bocaiúva do Sul, Paraná dos autores **Adelino Tchilanda Tchivango, Marielly Ospedal Batista, Bruno Paulo Rodrigues Lustosa, Raimundo Seguí López-Peñalver, Andressa Francielli Razoto Taborda, Carla Muñoz Antoli-Candela, Luiz Eduardo Oliveira Lisboa, Andrey José de Andrade, Débora do Rocio Klisiowicz**, foi vencedor do Prêmio Melhor Trabalho Científico (Eixo 9 | Parasitologia Básica) apresentado na modalidade e-pôster, durante o 55º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e XXVI Congresso Brasileiro de Parasitologia, realizados de 28 a 31 de Julho de 2019, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Belo Horizonte 31 de julho de 2019

**ROSÁLIA MORAIS TORRES E
WALDEREZ ORNELAS DUTRA**
PRESIDENTES DO 55º CONGRESSO DA SOCIEDADE
BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL

**RICARDO TOSHIO FUJIWARA,
GRASIELLE CALDAS D'ÁVILA PESSOA E
MARCOS HORÁCIO PEREIRA**
PRESIDENTES DO XXVI CONGRESSO
BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA

