

1.Introdução

1.1.Histórico

Parasitas intestinais são agentes causadores de infecções frequentes, sendo responsáveis por significativos problemas de saúde pública em muitos países.

Os primeiros relatos referentes a infecções intestinais datam da Grécia antiga, quando Hipócrates fez referência a uma “doença mortífera” em que os indivíduos apresentavam sintomas de febre e disenteria (Tanyuskel & Petri 2003).

Em 1860 Lambl observou microrganismos em fezes de um garoto com disenteria e Cunningham, em 1871, isolou protozoários de fezes de pacientes que apresentavam diarreia provocada por cólera, estabelecendo uma associação da enfermidade ao microrganismo (Silva 1997).

Lösch, em 1875, através de estudos microscópicos e clínicos fez associação entre disenteria e presença de organismos em fezes e os denominou de *Amoeba coli*, (Ackers 2002). Em 1887, Köch & Graffki relataram a invasão de tecidos por amebas semelhantes às descritas nos estudos de Lösch.

Os pesquisadores Councilman & Lafleur, em 1891, descreveram o processo patológico da invasão da ameba no intestino e fígado, atribuindo a ela a responsabilidade pela patologia, nomearam-na de *Entamoeba dysenterie*. Estes autores foram os primeiros a utilizarem as expressões disenteria amebiana e abscesso hepático amebiano (Imperato 1981).

Em 1893, Quincke & Roos descreveram os cistos, nas fezes, como estruturas arredondadas e com parede celular bem definida e relatam a presença de trofozoíto.

No início do século XX Fritz Schaudinn (1903) descreveu outra espécie de ameba a *Entamoeba coli*, considerada não patogênica, e renomeou a *Entamoeba dysenterie* como *Entamoeba histolytica* devido a sua habilidade de lisar tecidos, está caracterizada como patogênica (Martínez-Baez 1989).

Nesse período havia controvérsias quanto ao nome científico das amebas, na observação de Craig, em 1905, a nomenclatura *Entamoeba dysenterie* era prioritário sobre *E. histolytica*. Contudo em 1911, Walker redescreveu as amebas intestinais e distinguiu a diferença entre a *E. histolytica* e *Entamoeba coli* baseado no número de núcleos dos cistos das duas espécies.

A patogenicidade da *E. histolytica* foi bastante investigada. Dobell, em 1919, propôs a teoria unicista segundo a qual a *E. histolytica*, constituída de cistos tetranucleados, seria não patogênica, podendo tornar-se virulenta de acordo com a flora bacteriana intestinal ou fatores ambientais desconhecidos (Clark 1998).

Segundo a teoria dualista proposta por Emile Brumpt, em 1925, haveria duas espécies do gênero *Entamoeba* com características morfológicas idênticas, sendo a *E. histolytica* patogênica e a *Entamoeba dispar* apenas comensal. Brumpt ainda observou que muitos pacientes aparentemente infectados por *E. histolytica* eram assintomáticos e a infecção se resolvia de forma espontânea (Clark 1998). No entanto, como na época não existia metodologia adequada para distinguir as duas espécies, esta teoria não foi bem aceita pela comunidade científica.

Em 1961 Hoare apresentou a proposta neodualista, na qual afirmava que o potencial patogênico da *E. histolytica* seria bastante diverso, com graus de virulência que variam de assintomático a formas graves da doença (Silva 2006).

Diamond, em 1961, estabilizou pela primeira vez culturas axênicas de *E. histolytica*, permitindo posteriores estudos de caracterização bioquímica e imunológica (Diamond 1968). Em 1978, Sargeant e colaboradores diferenciaram isolados patogênicos e não patogênicos de *E. histolytica*, através de diferentes padrões eletroforéticos de isoenzimas, correlacionando-os a forma clínica e parâmetros biológicos, levando a teoria dualista a ganhar adeptos (Tanyuskel & Petri 2003).

Diamond & Clark (1993), considerando evidências bioquímicas, imunológicas e genéticas que distinguiam amebas isoladas de indivíduos sintomáticos e assintomáticos, confirmaram a existência de duas espécies morfolologicamente idênticas, como proposto por Brumpt em 1925, denominaram então a espécie não patogênica de *Entamoeba dispar* (Pinilla *et al* 2008).

Finalmente em 1997, em seminário sobre amebíase realizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) no México, os pesquisadores passaram a apoiar a teoria dualista, no entanto, concluíram que o diagnóstico executado com microscopia óptica deve ser registrado como *E. histolytica/Entamoeba dispar*, pois a característica tamanho usado na taxonomia da *E. histolytica*, não seria eficaz na sua diferenciação da *Entamoeba dispar* (Ackers 2002).

A teoria dualista é aceita até os dias atuais, segundo Talamás-Lara (2014) é inequívoca a existência das duas espécies de *Entamoeba*, morfolologicamente

semelhantes e estreitamente relacionadas, e está cada vez mais evidenciada por estudos imunológicos, genéticos e moleculares.

1.2. O Parasito: Morfologia e Biologia.

Existem várias espécies de ameba que podem ser encontradas no intestino grosso, tais como, *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii*, *E. histolytica* e *Entamoeba dispar*. A *E. histolytica* é a única considerada potencialmente patogênica para seres humanos (Silva; Gomes 2011).

Na classificação taxonômica, de acordo com Rey (2010), a espécie *E. histolytica* pertence ao Reino Protista, Sub-reino Protozoa, Filo Sarcomastigophora, Subfilo Sarcodina, Superclasse Rhizopoda, Classe Lobosea, Subclasse Gymnamoebia, Ordem Amoebida, Subordem Tubulina, Família Entamoebidae e Gênero *Entamoeba*, segundo o Comitê de Sistemática e Evolução da Sociedade de Protozoologia, 1980.

Existem duas situações que podem ocorrer no ciclo de vida da *E. histolytica* no organismo: o ciclo biológico mais usual em que o parasito se limita a luz intestinal e um ciclo patogênico, consequência da invasão tecidual do parasito, que culmina na amebíase invasiva.

1.2.1.Ciclo Biológico

No ciclo biológico da *E. histolytica* é monoxênico e apresenta quatro estágios evolutivos: trofozoíto, pré-cisto, cisto e metacisto. Enquanto o pré-cisto e metacisto são apenas fases intermediárias, os cistos e trofozoítos constituem fases bem definidas do parasito.

A infecção amebiana se inicia com a ingestão de resíduos fecais contendo cistos do parasito, através de água e alimentos contaminados, forma mais frequente, ou relação sexual oral-anal (Moran *et al*, 2005).

Os cistos são esféricos, apresentando cerca de 10 a 16 µm de diâmetro, possuem de 1 a 4 núcleos revestidos com grânulos de cromatina, cariossoma pequeno e central, sua parede celular é composta de polímeros de N-acetil-d-glicosamina. O citoplasma do cisto possui vacúolo contendo glicogênio, membrana nuclear pouco visível e corpos cromatóides compostos de ácido ribonucleico (Stanley 2003, Ravdin 1995, Diamond & Clark 1993). Estes cistos são resistentes a ação do suco gástrico chegando ao intestino

delgado, na porção terminal do íleo onde ocorre o desencistamento com a liberação do metacisto, através de uma pequena fenda na parede cística.

Metacisto trata-se de uma forma multinucleada da *E. histolytica* que sofre várias divisões nucleares e citoplasmáticas originando oito trofozoítos metacístico (Silva; Gomes 2011). Os trofozoítos migram para o intestino grosso, onde ficam aderidos na parede da mucosa do cólon transversal e são nutridos, por pinocitose e fagocitose, de bactérias e restos celulares. São organismos anaeróbios, entretanto, são capazes de crescer em atmosfera com até 5% de oxigênio (Tanyuskel; Petri 2003).

A *E. histolytica* apresenta trofozoítos móveis com diâmetro que varia de 20 a 40 μm , podendo chegar a 60 μm em lesões teciduais. O parasito apresenta um único núcleo, bem nítido quando corado, medindo 4 a 7 μm , com cariossoma central, membrana nuclear delgada e cromatina uniforme. Nas preparações a fresco os trofozoítos são pleomórficos, com rápida emissão de pseudópodes responsáveis pela sua locomoção e seu núcleo se torna pouco visível (Silva; Gomes 2011). O citoplasma do trofozoíto apresenta vacúolos distintos: ectoplasma, claro e hialino e endoplasma, granuloso (Diamond & Clark 1993, Ravdin 1995, Neves 2011, Perdomo 2015). A multiplicação do parasito se dá através da divisão binária dos trofozoítos.

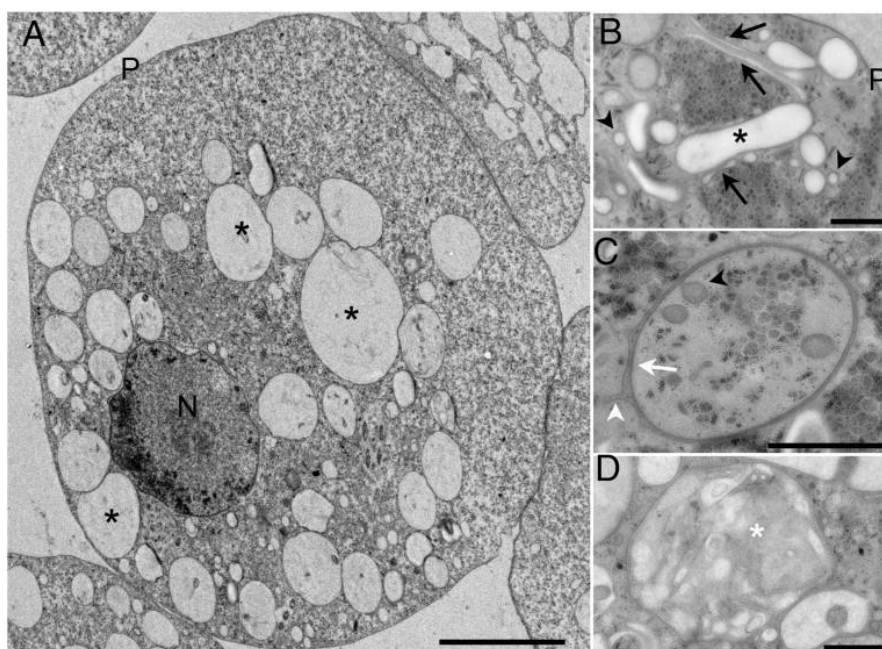


Figura 1: Trofozoítos (A) Visão geral de *E. histolytica*, com a membrana plasmática (P) delineada. Dentro do citoplasma muitos vacúolos de tamanhos diferentes estão presentes (exemplos marcados por asteriscos)(Perdomo 2015).

No ambiente externo são pouco resistentes, sendo destruídos em poucos minutos (Tanyuskel; Petri 2003). No intestino, porém, os trofozoítos podem se desprender da mucosa do intestino grosso, sofrer desidratação e transformar-se em pré-cistos.

O pré-cisto é ligeiramente arredondado, com tamanho menor que o trofozoíto, seu citoplasma contém corpo cromatóide em forma de bastonetes. Após produzir uma membrana cística o pré-cisto se transforma em um cisto mononucleado, que sofre sucessivas divisões nucleares até ser liberado nas fezes como cisto tetranucleado, podem então ser observado em fezes sólidas ou pastosas do hospedeiro, completando o ciclo de vida do parasito (Ravdin 1995).

Os cistos correspondem a um estágio evolutivo com metabolismo reduzido, desta forma, podem sobreviver várias semanas ou meses em ambiente externo com alta umidade, sendo resistentes a cloração e acidificação, entretanto, podem ser destruídos rapidamente em temperaturas abaixo de 5°C e acima de 40°C (Huston et al 1999; Tanyuskel & Petri 2003; Samie et al 2012)

1.2.2.Ciclo Patogênico

A *E. histolytica* é a ameba responsável pelos casos de amebíase, enquanto a *Entamoeba dispar*, não se relaciona a doença e apesar de poder produzir danos na mucosa intestinal não a invade, assim é considerada de baixa virulência.

Apenas o estágio de trofozoíto da *E. histolytica* participa do ciclo patogênico. Neste ciclo, há invasão tecidual que se inicia com a ameba colonizando a parede intestinal: mucosa e submucosa do ceco, reto, sigmoide e outras porções do intestino grosso. Neste local, o parasito forma pequenas úlceras expostas para a luz intestinal, que se multiplicam, produzindo ao final uma extensa área ulcerada (Rey 2010).

Os trofozoítos presentes nas úlceras podem atingir um vaso sanguíneo e através da circulação porta, migrar para outros órgãos como o fígado, formando uma necrose de liquefação e coagulação; o tecido então fica totalmente lisado. Em caso de não intervenção, bactérias do intestino podem migrar para a ulceração complicando significativamente o prognóstico do paciente. Órgãos como pulmão, rim, cérebro ou pele podem ser posteriormente ou simultaneamente infectados, culminando na amebíase extra intestinal. Este trofozoíto presente nas úlceras é denominado forma invasiva ou virulenta, não formando cistos no tecido (Silva; Gomes 2011).

Nas formas invasivas, o trofozoíto é maior que o encontrado no intestino podendo chegar a 60µm, devido a intensa atividade fagocitária e abundância de vacúolos digestivos em seu citoplasma, contendo hemácias, leucócitos e bactérias. Sua multiplicação ocorre por divisão binária (Rey 2010).

1.3.A Doença: Patogenia e Virulência

A amebíase é definida como a infecção causada pelo protozoário parasito *E. histolytica* podendo ocorrer manifestações clínicas ou não (OMS 1997).

O potencial patogênico das cepas de *E. histolytica*, a resposta imune do hospedeiro e a relação entre parasito-hospedeiro são determinantes para o surgimento e evolução ou não da doença, os mecanismos envolvidos na patogenia da amebíase são definidos pela expressão de ambos (parasito e hospedeiro) no processo (Petri 2002, Huston 2004).

A genética do parasito é um fator importante na resposta a infecção. Foi observado que trofozoítos de infecção intestinal e abscesso hepático, de um mesmo paciente, são geneticamente distintos. Portanto, subpopulações de *E. histolytica* de uma mesma infecção apresentam diferentes tropismos ou que eventos de reorganização do DNA aconteçam antes ou durante a metástase do intestino para o fígado (Ali et al 2007, Ali et al 2008).

A iniciação, evolução e resposta do processo patológico foram investigadas em vários estudos e diferentes moléculas amebianas foram relatadas como agentes indutores do processo patogênico, tais como: adesinas, amebaporos, collagenases, cisteilproteinases (CPs), serinoproteinases e fosfatases (Leippe et al 1993, Lopez-Vancell et al 2000, Que & Reed 2000, Tavares et al 2005).

A invasão intestinal se inicia com a adesão das lectinas (Gal/GalNAC), presentes na superfície do trofozoíto, aos receptores existentes nas mucinas (resíduos de galactose e N-acetil-galactosamina) das células epiteliais do intestino humano (Stauffer & Ravdin 2003, Moonah et al 2013). Essas lectinas encontradas no parasito estão envolvidas com citotoxicidade, resistência ao sistema complemento, indução de encistamento e formação da parede celular do cisto (Frederick & Petri 2005).

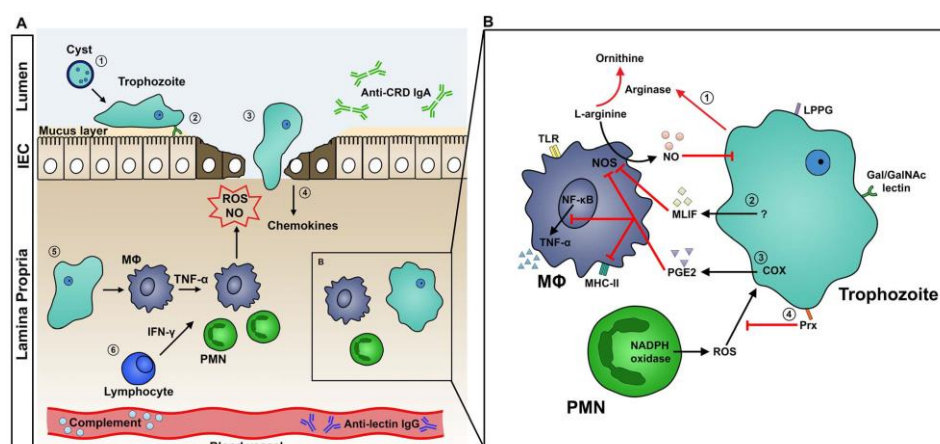


Figura 2: A. Resposta imune do hospedeiro para amebíase intestinal. B. Mecanismo imunológico do hospedeiro na invasão tecidual (Moonah et al. 2013).

Com a ocorrência dessa interação molecular, a ameba produz um peptídeo denominado de amebaporo, localizado no citoplasma do trofozoíto (Stanley 2003). O amebaporo é capaz de formar canais de íons ou poros em membranas lipídicas, de despolarizar as células do hospedeiro (Leippe 1997), de induzir a apoptose (Boettner & Petri 2005), provocar necrose em células eucarióticas e apresentar atividade antibacteriana (Leippe, Muller-Eberhard 1994).

Durante a invasão tecidual as amebas secretam cisteilproteinases (CPs), enzimas proteolíticas que provocam a lise de MUC2 (apoproteína mucina 2), o maior componente do muco, e mediam a proteólise das células caliciformes (Huston 2004). Estas enzimas hidrolisam colágeno, elastina, fibrinogênio e laminina, com o objetivo de eliminar obstáculos mecânicos para que os trofozoítos possam invadir os tecidos. As cisteilproteinases são bastante associadas a patogenicidade, respondendo por efeitos como a aderência celular, hemólise, citotoxicidade, degradação de componentes da matriz extracelular, evasão da resposta imune e aquisição de nutrientes (Ocadiz et al 2005, Moncada et al 2006, Lejeune et al 2009).

E. histolytica é o agente causador de amebíase intestinal e no fígado em humanos. De acordo com Talamás-Lara (2014) a atividade fagocitária do trofozoíto é um dos principais mecanismos de virulência responsável pela sua capacidade invasiva. Estudos de MacFarlane & Singh (2006) demonstraram que cepas de *E. histolytica* com diferentes graus de virulência apresentam diferentes níveis de expressão entre cisteilproteinases.

Outra molécula liberada pelo parasito são os complexos lipofosfoglicano (LPG) presentes na sua superfície, esta apresenta a função de proteção da ameba contra seus fatores de virulência e os mecanismos de defesa do hospedeiro (Ackes & Mirelman 2006, Frederick & Petri 2005).

A última etapa na patogênese da amebíase invasiva envolve a resposta imune do hospedeiro, segundo Maldonado-Bernal *et al* (2005) o sistema imune apresenta uma resposta inflamatória quando os receptores toll-like (TLR) 2 e 4 dos leucócitos reconhecem uma molécula na superfície da *E. histolytica* chamada lipopeptidíofosfoglicano (LPPG).

Ha migração de neutrófilos, macrófagos e linfócitos, estimulados por mediadores químicos tanto em tecidos normais quanto necrosados, ocorrendo seu acúmulo na lesão e dando início a uma sequência de eventos, que culminam na destruição e morte de células do hospedeiro (Huston 2004, Ackers & Mirelman 2006). Na amebíase hepática, há formação de um abscesso, que se estende ao longo do hipocôndrio direito, apresentando uma extensão que varia de 1,4 a 28cm de diâmetro, com um ou vários abscessos (Cernichiario-Espinosa, 2014).

A resposta imune humoral, produzida a partir da invasão dos tecidos pelos trofozoítos, pode persistir vários anos, apresentando baixos títulos de anticorpos mesmo depois da cura da doença. Possivelmente, a imunidade humoral não confere proteção contra infecção por *E. histolytica*, pois não há correlação entre os títulos de anticorpos e a proteção do hospedeiro (Manrique *et al* 2002).

A virulência da *E. histolytica* apresenta uma variada expressão gênica, bem como uma diversidade de manifestações clínicas. Assim a amebíase humana pode ocorrer desde uma forma assintomática até a situação de invasão tecidual, podendo levar o paciente ao óbito. Nos pacientes sintomáticos, pode-se observar amebíase intestinal (colite disentérica, ameboma, apendicite por ameba, colite não-disentérica) e extra intestinal (hepática, cutânea, pulmonar e cerebral) (Cunha 1977).

Vários fatores podem contribuir para o desenvolvimento ou não da doença, fatores intrínsecos ao hospedeiro, tais como a microbiota intestinal, dieta alimentar, status imune, sexo, idade e fatores relacionados ao parasito como o grau de virulência de cepas de *E. histolytica* (Gomes *et al*, 2000; Stanley 2003).

De acordo com Loftus e colaboradores (2005), possivelmente a invasão tecidual ocorra por vias múltiplas e complexas e a totalidade dos genes envolvido nos mecanismos de virulência ainda são desconhecidos.

1.4.A Doença: Diagnóstico e Tratamento

A amebíase pode ocorrer de forma assintomática ou sintomática. O trofozoíto pode permanecer comensal no intestino ou invadir os tecidos da parede intestinal, se alojando no mesmo ou migrando para outros órgãos através da circulação, originando a amebíase extra intestinal.

Na amebíase intestinal, forma mais frequente, o indivíduo infectado apresenta colite não disenterica, com cólicas abdominais, e períodos de diarreia (fase aguda) alternados por fases assintomáticas com funcionamento normal do intestino (fase crônica). Em algumas situações ocorre colite disenterica, com sintomas dispépticos exacerbados, distensão abdominal, flatulência, cólica, mais de dez evacuações muco-sanguinolentas por dia e sensação constante de vontade de evacuar. Surgem úlceras na submucosa intestinal, podendo causar alterações hidroeletrólíticas e desnutrição energético-proteica (Melo et al 2004).

Os sintomas da amebíase intestinal em sua fase aguda podem ser confundidos com os de infecções associadas a outros parasitos intestinais como a *Shigella dysenteriae* e *Shigella flexneri*, ou disenterias bacterianas provocadas por *Salmonella*, *Campylobacter* ou *Escherichia coli* (Tanyuskel & Petri 2003), portanto, a confirmação do diagnóstico deverá incluir investigação laboratorial.

De acordo com Rey (2010) na amebíase invasiva intestinal, quando o parasito se aloja no tecido, as evacuações apresentam trofozoítos hematófagos, na endoscopia observa-se alterações nas características da mucosa intestinal e no soro há presença de anticorpos específicos.

Nessa situação, o parasito costuma se alojar principalmente no fígado onde provoca inflamação, degeneração celular e necrose liquefativa, gerando um “abscesso amebiano hepático (ALA)”, no lobo direito. Sintomas como febre, dor intensa no hipocôndrio direito com irradiação típica de cólica biliar, hepatomegalia dolorosa a palpação, geralmente não-ictérica, são comuns aos pacientes com ALA (Cernichiaro-Espinosa 2014)

O abscesso hepático amebiano pode ser agravado por infecções secundárias provocadas por bactérias, levando à ruptura do abscesso para a cavidade abdominal, para o pulmão, pleura ou pericárdio com a disseminação do trofozoíto para esses órgãos e formação de lesões (Stanley 2003).

Como não há especificidade dos sintomas a confirmação do diagnóstico clínico da amebíase se dá somente a partir dos dados obtidos no diagnóstico laboratorial, tais como: análises microscópica, bioquímica, sorológica e de biologia molecular.

O exame de parasitos nas fezes por microscopia ótica é o mais utilizado para identificação de cistos e trofozoítos, no entanto, exige um analista experiente devido à dificuldade em se diferenciar trofozoítos não-móveis de leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e células de tecidos (Tanyuskel; Petri 2003). As amostras deverão ser coletadas em dias alternados, sendo três amostras durante um período de dez dias, devido a característica intermitente do microrganismo. Em material fecal diarreico ou pastoso pode-se encontrar trofozoítos, enquanto os cistos são mais frequentes em fezes consistentes (Pritt & Clark 2008).

No diagnóstico de amebíase, a microscopia ótica apresenta sensibilidade limitada (60%) e altas taxas de falso-positivo (Zlobl 2001), outros métodos são sugeridos para a confirmação da doença, principalmente em casos de suspeita de amebíase invasiva.

Vários métodos tem sido utilizados para diagnóstico da infecção amebiana através da detecção de anticorpos, são exemplos o ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), hemaglutinação indireta, imunodifusão, teste de difusão em gel, imunofluorescência indireta (RIFI), imunoeletroforese e fixação do complemento (Samie et al 2012).

Quando comparadas entre si, essas técnicas apresentam sensibilidade e especificidade diferentes, a técnica ELISA apresenta maior sensibilidade em relação a RIFI (Póvoa et al 2000). Indivíduos sintomáticos apresentam altos títulos de anticorpos na sorologia, enquanto assintomáticos e oligossintomáticos são negativos, estes anticorpos, no entanto, não distinguem infecções pregressas de atuais (OMS 1997).

Antígenos específicos da *E. histolytica* podem ser identificados em amostras fecais ou fluidos de abscessos hepáticos através de testes, que utilizam anticorpos monoclonais ou policlonais específicos. Estes testes para pesquisa de coproantígenos são considerados rápidos e sensíveis, porem apresentam custo elevado, o que inviabiliza seu uso na rotina laboratorial (Stanley 2003, Pritt & Clark 2008, Mohanty 2014).

A reação em cadeia de polimerase (PCR) é considerada o método de maior especificidade (100%) para a identificação de infecções por *E. histolytica* (Silva; Gomes 2011; Herlinger et al 2011). Vianna e colaboradores (2009) avaliaram a PCR como método diagnóstico de infecções amebianas mistas em amostras fecais e concluíram que

esta apresenta maior sensibilidade e especificidade, quando comparada à técnica ELISA e à microscopia ótica, sendo o método de escolha para o diagnóstico diferencial entre *E. histolytica* e *Entamoeba dispar* (Cordeiro & De Macedo 2007), apesar do tempo e custo para sua execução (Koneman et al 2008).

No diagnóstico clínico do abscesso hepático amebiano, técnicas de imagem não-invasivas, como ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética, são utilizados para confirmar a suspeita, quando associados a pesquisa de anticorpos positiva para *E. histolytica* (Zlobl 2001, Tanyuskel & Petri 2003, Ximénez et al 2009, Wiser 2010, Raza 2013).

O tratamento da amebíase utiliza duas classes de fármacos: os que atuam no lúmen intestinal e os com ação sobre os tecidos, no caso de amebíase invasiva. Aos indivíduos assintomáticos, infectados por *E. histolytica*, são administrados amebicidas luminiais (paramomicina, etofamida, teclosan, furoato de diloxanida ou iodoquinol). Estes medicamentos previnem a invasão de tecidos e propagação de cistos, eliminando as amebas presentes na luz intestinal (Stanley 2003).

Na confirmação diagnóstica de invasão tecidual e/ou amebíase extra-intestinal o tratamento se dá com amebicidas teciduais (metronidazol, tinidazol, secnidazol, dentre outros) associados a um agente luminal, com o objetivo de eliminar possíveis amebas intestinais (Pritt & Clark 2008, Wiser 2010).

O fármaco de escolha para o tratamento da amebíase mais prescrito em todo o mundo é o metronidazol, apesar dos efeitos colaterais indesejados, tais como, náuseas, vômitos, dor de cabeça, dentre outros. Em caso de abscesso hepático amebiano (ALA), poderá ser indicado metronidazol por via intravenosa. Em algumas situações, o indivíduo, além do tratamento, deve ser submetido a drenagem percutânea para prevenir infecção secundária (Cernichiaro-Espinosa et al 2014).

1.5.Epidemiologia

A amebíase é uma doença endêmica causada pelo protozoário *E. histolytica*, sendo considerada a segunda infecção parasitária mais letal do mundo, depois da malária. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a incidência de amebíase invasiva é estimada em 50 milhões de casos/ano, com aproximadamente 100.000 mortes/ano em todo o mundo. Em áreas de clima tropical, como África, Brasil, Índia e

México, é considerada endêmica (Salles et al 2003, Salles et al 2007, Raza et al 2013, Redaelli et al 2013).



Figura 3: Zonas endêmicas de amebíase no mundo.

Fonte: http://www.muskadia.com/sante/cartes/amibiases_map.htm# Acesso em: 18/02/2014.

A incidência da amebíase é influenciada por aspectos socioeconômicos, ambientais e culturais (Benetton 2003; Rocha *et al*, 2011). Em locais sem saneamento básico, a *E. histolytica* tem ampla distribuição, apresentando risco substancial onde o contato de fezes humanas com alimentos e fontes de água são comuns (Raza *et al*, 2013).

A amebíase constitui sério problema de saúde pública no México, Índia, Bangladesh, leste e sul da África, Vietnã e em toda a América do Sul. Em alguns países, a infecção amebiana é mais frequente, podendo chegar a 50% da população (Zlobl 2001).

Estudo realizado no México encontrou uma prevalência de 11,4% para *E. histolytica* em uma comunidade rural (Ramos *et al*, 2005), sendo considerada uma das vinte maiores causas de morbidade no país (Ximenez *et al*, 2011).

De acordo com Cernichiaro-Espinosa e colaboradores (2014) atualmente a incidência e a prevalência da amebíase hepática estão aumentando em todo o mundo, não se restringindo apenas aos países em desenvolvimento, explicado pelo número crescente de viagens internacionais, migrações e a imunossupressão de diferentes etiologias.

A Ásia é o continente com maior número de pessoas infectadas, apresentando 300 milhões de infectados e até 50 mil mortes anuais (OMS 2010). Por razões ainda não esclarecidas, as taxas de incidência de abscesso hepático amebiano no Vietnã são extremamente elevadas, com valores relatados de aproximadamente 21 casos por 100.000 habitantes (Ximenez *et al* 2009).

Em países que apresentam baixa prevalência de amebíase, a literatura aponta ocorrência de infecções amebianas em homens homossexuais sexualmente ativos, turistas recém-chegados de áreas endêmicas, imigrantes, pessoas institucionalizadas como idosos, crianças, deficientes mentais e pessoas portadoras do vírus HIV (Tanyuskel & Petri 2003, Moran *et al* 2005).

Na Alemanha, foi relatado um caso amebíase invasiva em um paciente do sexo masculino de 68 anos de idade, proveniente da Turquia, que vivia há mais de 30 anos no país. Laparoscopia de emergência foi executada, devido a complicação de perfuração de cólon (Redaelli *et al*, 2013).

Na era da globalização, há necessidade dos profissionais envolvidos no sistema de saúde conhecerem as patologias atípicas para os países em que trabalham, a fim de reduzir as taxas de morbidade e mortalidade a elas relacionadas.

No Brasil, a incidência da amebíase é bastante variável entre as regiões do país, assim como a patogenicidade e virulência das cepas (Cunha *et al*, 1991).

No Nordeste, o parasito é endêmico apesar de geralmente não ocorrer à doença. Braga *et al* (2001), utilizando coproantígeno, demonstraram uma prevalência de 14,9% para *E. histolytica* e de 25,4% para o complexo *E. histolytica*/*E. dispar*, em uma comunidade da periferia de Fortaleza; apesar dos achados, não associaram sintomas a nenhum dos casos identificados.

Em Pernambuco, Pinheiro e colaboradores (2004), usando testes imunológicos não detectaram casos de *E. histolytica*. Em Maceio-AL, um estudo demonstrou a prevalência de infecção pelo complexo *E. histolytica* / *E. dispar* de 3,8% no exame parasitológico de fezes utilizando microscópio óptico, sendo que destes apenas 1% da seria da espécie *E. histolytica* segundo teste de coproantígeno (Duarte *et al* 2013).

Altas frequências para parasitoses intestinais foram encontradas em Ilheus-BA, para o complexo *E. histolytica*/*E. dispar*, com 25% de positividade no EPF. Destes, somente 8,3% foram positivos para *E. histolytica* usando coproantígenos (Santos *et al* 2014).

Os trabalhos publicados sobre amebíase na região Norte ocorrem em menor número, porém os valores são significativos em relação ao restante do país.

No Amazonas, Benneton (2003) encontrou uma prevalência do complexo *E. histolytica*/*E. dispar* em 21,5% da população e na grande Belém-PA foi encontrada uma prevalência de 29,35% para *E. histolytica*, utilizando-se testes imunoenzimáticos (Silva *et al* 2005).

Pereira e colaboradores (2014), utilizando kit de ELISA (TechLab®) específico para *E. histolytica*, detectaram positividade em 3,1% das amostras avaliadas em Divinópolis- MG.

Estudo realizado com pacientes de um hospital de Niterói-RJ apresentou uma prevalência enteroparasitoses de 14,1% , sendo *Blastocystis hominis* o mais frequente (6,7%), seguido por *Entamoeba coli* (3,4%), *Giardia lamblia* (2,9%) e *E. histolytica*/*E. dispar* (2,0%). Os autores destacaram a necessidade de investigação sobre a associação entre *Blastocystis hominis* e o complexo *E. histolytica*/*E. Dispar* (Macedo *et al* 2010). Em Belo Horizonte, Gil e colaboradores (2013) estudando comunidades da periferia da cidade, encontraram 34,6% de positivos para enteroparasitoses. Destes, 3,5% foram parasitados por *E. histolytica*/*E. dispar*.

A prevalência de *E. histolytica* no país deve ser reavaliada, pois a maioria dos dados epidemiológicos existentes são baseados em exame microscópico de fezes, que não fornece resultados precisos.

1.6.Amebíase Invasiva

Não há investigações específicas sobre amebíase invasiva e extraintestinal no Brasil. São documentados somente casos isolados de amebíase hepática, apesar de se observar diversos relatos na região norte, estes geralmente são subnotificados nos estabelecimentos de saúde, portanto, não se tem dados reais sobre a mortalidade por amebíase no país. Nos Estados Unidos, entre 1990-2007, foram registrados 134 mortes por amebíase, sendo que 60% dos casos eram indivíduos nascidos em outros países (Gunther *et al* 2011).

Segundo Nagata *et al* (2012) no Japão, o número de casos de colite amebiana tende a aumentar seja em imunodeprimidos ou não. Pacientes HIV-positivos, que tem relações homossexuais e status imunodeprimidos ou não, apresentam fator de risco para

a colite amebiana. Ainda concluíram que homens mais jovens, com sífilis e infecções por HIV, têm maior predisposição para a colite amebiana.

Os principais fatores de risco para amebíase invasiva estão relacionados ao hospedeiro, ao parasito, a relação entre ambos ou a fatores ambientais. Melhorias nas condições sanitárias da população reduzem significativamente a prevalência do parasito.

Em relação às condições ambientais, como dito anteriormente, países onde o subdesenvolvimento vigora, haverá maior risco de contaminação. Contudo, não é condição *sine qua non*. Um exemplo é o Brasil onde, apesar das condições favoráveis para a *E. histolytica*, predomina a *E. dispar* na maioria dos estados.

Em estudo realizado por Oliveira (2011) sobre a prevalência de enteroparasitoses em Fortaleza em dois períodos: anterior (1992-1996) e posterior (2010) à implementação de intervenções sanitárias. Foi encontrada redução na prevalência de 9,3 % para 3% do complexo *E. histolytica/E. dispar*, após adoção de medidas sanitárias pelo município. O autor concluiu que as melhorias nas condições sanitárias da área refletiram-se em uma nítida modificação na prevalência de enteroparasitoses na comunidade avaliada.

1.7. Ancestralidade Genômica e Marcadores de Ancestralidade

Para melhor compreender os grupos humanos, estudos de associação tem sido explorados, nos quais a determinação da ancestralidade individual é utilizada como inferência para ancestralidade genética de uma população. Estudos de mapeamento genético e associação com doenças têm sido realizados para descrever a diversidade genética populacional e reconstruir a história de povoamentos e migrações (Shiver et al 2003).

As primeiras análises sobre a diversidade biológica humana foram feitas utilizando-se características morfológicas (Coon 1965); em seguida utilizando-se variantes proteicas (Harris; Hopkinson, 1972) e atualmente são utilizados preferencialmente variantes de DNA. Os avanços na área da biologia molecular permitiram o acesso ao nível hierárquico primário da informação genética e revelaram uma grande diversidade molecular na nossa espécie.

Cavalli-Sforza e Bodmer (1971) demonstraram que a frequência de algumas variantes genéticas é diferente entre populações e/ou regiões geográficas distintas. Alguns *loci* de marcadores de DNA tem demonstrado ser população-específico por

apresentarem grandes diferenciais de frequência entre populações geográfica ou etnicamente definidas.

Aquelas variantes cujo diferencial de frequência alélica entre populações distintas étnica ou geograficamente é maior que 30% foram denominados alelos específicos de população (PSAs) (Shriver 1997).

Para se determinar diferenças entre grupos populacionais, utilizam-se pequenas variações no DNA ou polimorfismos que se caracterizam por representar uma sequência de DNA localizada em um determinado *locus* cromossômico, que difere de indivíduo para indivíduo, e cujo alelo menos comum possui frequência de pelo menos 1% (Bamshad 2003, Pereira 2010).

Um polimorfismo genético refere-se a variação em um gene, cromossomo ou proteína, resultando em duas ou mais formas, cada qual com frequência maior do que a mantida apenas por mutação. Estes polimorfismos são atualmente conhecidos como Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs) (Chakraborty et al 1992, Shriver et al 1997, Parra et al 1998, Parra et al 2003).

Marcadores moleculares são ferramentas usadas para estimar a miscigenação individual e populacional. Ele podem ser classificados quanto (A) a sua localização em cromossomos autossômicos (biparentais), DNA mitocondrial e cromossomo Y (uniparentais); ou quanto (B) as características moleculares (diferentes variantes genéticas polimórficas) em SNP (Single Nucleotide Polymorphisms - polimorfismo de um único nucleotídeo), STRs (variações no comprimento de repetições em tandem) e Indels (inserções ou deleções de sequências de DNA), como as inserções *Alu* (Debortoli 2013).

Marcadores uniparentais são utilizados para estimativa da contribuição parental (materna ou paterna) isolada, e assim detectar diferenças de contribuições, masculina e feminina, na formação de uma população. Os marcadores autossômicos biparentais, fornecem informações mais completas sobre ancestralidade individual (Royal et al 2010), os mais usados são os SNPs, STRs e InDels (Pfaff et al 2004, Santos et al 2010).

A análise destes marcadores é importante para descrição da diversidade genética populacional, reconstrução histórica dos povoamentos (Callegari-Jacques & Salzano 1999; Yanagihara *et al*, 1995), estimativa de contribuição das populações ancestrais na formação de populações miscigenadas (Shriver *et al.*, 1997; Shriver *et al*, 2003; Parra *et al*, 1998; Parra *et al*, 2003), estudos de mapeamento genético e associação com doenças (Shriver 1997).

A variabilidade de marcadores polimórficos de DNA é bem maior do que a encontrada em seus produtos e está distribuída por todo genoma, sendo utilizada tanto para estudos populacionais, quanto na identificação individual (Cavalli-Sforza 1994).

A análise de ancestralidade populacional, utilizando estes marcadores, permite a avaliação da contribuição de grupos parentais na formação de uma população a partir de um ancestral comum. Uma população miscigenada através de migrações ou evolução da espécie confere um perfil genético individual e populacional diferente do original (Resende 2014).

Indels são excelentes marcadores étnicos e podem ser utilizados para estimar a composição étnica de populações híbridas como a população brasileira (Mendes & Simões 2001). Estes polimorfismos são altamente informativos em estudos de genética de populações, permitindo sua utilização como instrumento de investigação para caracterizar a composição genética de diferentes povos, uma vez que possui frequências diferenciadas para cada etnia (Ray et al 2005).

São exemplos de marcadores Indels pequenos fragmentos do DNA conhecidos como polimorfismos de inserção *Alu*, amplamente utilizados (Batzer & Deininger 2002). Esses polimorfismos fazem parte da família de DNA repetitivo, SINE (*short interspersed nuclear elements*) e são originárias de um retrotransposon. Ocasionalmente, as sequências *Alu* replicam-se e as cópias resultantes se dispersam aleatoriamente para novas posições no cromossomo de origem ou em outro cromossomo (Batzer, Deininger, 2002).

A mesma sequência *Alu* entre duas pessoas, no mesmo local de seu genoma, sugere a descendência de um ancestral comum. É improvável que o evento de inserção ocorra duas vezes em um mesmo *locus* (Batzer, Deininger, 1994). Na ancestralidade genômica autossômica, marcadores Indels são utilizados para avaliar a influência das variações étnicas no desenvolvimento de doenças, auxiliando na investigação da influencia genética ou ambiental sobre um fenótipo (McKeigue 2005), podendo também ser usada para populações miscigenadas com o objetivo de evidenciar a estratificação populacional em estudos de associação genética (Enoch et al 2006).

1.7.1.A População Brasileira

O continente americano foi um dos últimos locais a ser povoado pela espécie humana e a hipótese mais aceita entre os cientistas é de que o homem veio da Sibéria

para a América, durante a última glaciação, através do estreito de Bering. Análises do DNA mitocondrial, cromossomo Y e outras regiões polimórficas apoiam mais de uma hipótese e ainda hoje não há um consenso sobre a data da primeira migração, número de migrações e rotas utilizadas (Santos 2008).

Os resultados obtidos através do sequenciamento do genoma mitocondrial humano, em nativos americanos, sugerem que o povoamento do continente ocorreu por uma única onda migratória originada provavelmente no nordeste asiático há cerca de 20 mil anos. Antes da entrada na América, ocorreu um confinamento por cerca de cinco mil anos na Beríngia, evidenciado por um pequeno efeito gargalo. A entrada no continente americano ocorreu há aproximadamente 18 a 19 mil anos, quando houve um grande aumento populacional (Fagundes, Kanitz e Bonatto, 2008; Fagundes *et al*, 2008).

Após a entrada no continente americano, as migrações ocorreram do norte em direção ao sul, mas não há consenso a respeito das rotas utilizadas. Evidências genéticas e de morfologia craniofacial indicam a existência de duas rotas costeiras, uma pelo oceano Pacífico e outra pelo oceano Atlântico (Santos 2008, Pucciarelli *et al*, 2008).

Antes de 1500, a população brasileira era composta principalmente por vários povos indígenas que se distribuíam ao longo da costa. Com a chegada dos europeus e africanos houve a miscigenação desses povos, dando origem à população brasileira atual, caracterizada por grande diversidade genética e miscigenação intensa, composta por indivíduos de ascendência europeia, africana subsaariana, ameríndia e oriental, em diferentes proporções dependendo da região estudada (Callegari-Jacques & Salzano 1999).

A autoclassificação dos indivíduos em brancos, pretos e pardos, segundo critérios do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2010), não corresponde às mesmas proporções de ancestralidade europeia e africana em diferentes regiões do país, mostrando que a cor da pele é um marcador pouco informativo da ancestralidade genômica de indivíduos (Parra *et al*, 2003; Pimenta *et al*, 2006). O uso exclusivo dessa característica para classificação racial é fonte de vários vieses, não apenas culturais, mas também aqueles decorrentes da exposição aos raios solares. Entretanto, a maioria dos estudos na área de saúde que utilizam classificação racial, o fazem com base em características fenotípicas como, por exemplo, a cor da pele ou autodenominação (Teló, 2010).

A população brasileira é bastante heterogênea e possui grande diversidade genômica (Cardena, 2013), apresentando tanto características genotípicas, quanto fenotípicas resultantes do cruzamento de colonizadores europeus (principalmente portugueses), escravos africanos e ameríndios brasileiros (Alves-Silva et al 2000, Salzano e Bortolini 2002, Lopes et al 2011). No entanto, a distribuição ao longo do território brasileiro é diferenciada como consequência do processo de colonização do país, associado as imigrações e migrações internas.

A classificação da ancestralidade dos brancos brasileiros a partir das características moleculares do DNA mitocondrial mostrou que no Brasil como um todo, 33%, 28% e 39% das linhagens eram de origem ameríndia, africana e europeia, respectivamente (Alves-Silva *et al* 2000). A maioria das linhagens mitocondriais na região Norte são de origem ameríndia (54%), na região Nordeste predomina a ancestralidade africana (44%) e no Sul, a europeia (66%) (Alves-Silva et al 2000). A ancestralidade ameríndia predominante na região Norte pode ser explicada pela menor miscigenação na região, tendo em vista que africanos imigraram principalmente para os estados de Pernambuco, Bahia e Rio de Janeiro, enquanto imigrantes asiáticos e europeus para as regiões sudeste e sul do Brasil.

Os dados genéticos geralmente corroboram os achados históricos. Por exemplo, estudos que analisam a mistura genética, utilizando marcadores clássicos de polimorfismo, apresentam a contribuição ameríndia estimada em populações miscigenadas com variação de 55% na População de Alenquer, no norte do país, a 5% em Santa Catarina na região sul (Santos et al 1995, Dornelles et al 1999)

Apesar da contribuição ameríndia ser maior na região norte e menor no sul, a contribuição europeia varia pouco e a africana é similar nas demais regiões. Estudo realizado na região centro-oeste brasileira, com 1037 indivíduos utilizando 12 microsatélites autossômicos, relata situação similar nos diversos estados com maior presença de ancestralidade europeia, seguida da africana e ameríndia (Callegari-Jacques et al 2003)

Estudos que analisaram apenas o cromossomo Y em indivíduos das cinco regiões brasileiras apontam para uma patrilinearidade essencialmente europeia, enquanto que as matrilinearidades foram principalmente africanas e ameríndias (Alves-Silva et al 2000, Carvalho-Silva et al 2001, Abe-Sandes et al 2004).

Na análise da diversidade genética intrapopulacional utilizando-se marcadores de DNA, observa-se que há maior diversidade em africanos e menor em ameríndios (Zago et al 1996, Bowcock et al 1994).

Em uma população tri-híbrida como a brasileira, que apresenta grande diversidade étnica e intensa miscigenação, a caracterização das bases genéticas é essencial para compreensão do comportamento individual no desenvolvimento e evolução de doenças. A resposta a infecções parasitárias, bem como, a composição genética dos indivíduos são importantes fatores a serem considerados na relação parasito-hospedeiro.

2.0. Justificativa

Vários inquéritos epidemiológicos têm sido realizados para estimar a incidência e a prevalência da amebíase no Brasil. A região Norte desponta com os maiores índices, sendo que Belém-PA apresenta a maior prevalência para *E. histolytica* com 29,5% da população residente na região metropolitana infectada (Silva *et al*, 2005).

Uma importante pergunta, ainda sem resposta na pesquisa de amebíase, é porque apenas uma proporção (cerca de 20%) de indivíduos expostos a *E. histolytica* desenvolvem a doença? A variação na composição genética do hospedeiro pode ser a chave para explicar as diferenças interindividuais na susceptibilidade a amebíase (Moonah *et al* 2015). Neste contexto, a subestruturação genômica da população brasileira poderia subsidiar o fenômeno.

Quando se avalia a população em relação a ancestralidade nas diversas regiões brasileiras, conclui-se que, no Norte, as linhagens mitocondriais de 54% da população apresenta origem ameríndia, enquanto a proporção do DNA mitocondrial africano é maior no Nordeste (44%) e a europeia no Sul (66%) (Alves-Silva *et al* 2000).

Tendo em vista a endemicidade da infecção amebiana na região Norte em relação a outras regiões do Brasil, com semelhantes características: ausência de infraestrutura de saneamento e exposição a precárias condições socioeconômicas, seria a ancestralidade do indivíduo um fator de risco para o desenvolvimento da doença? Em busca da resposta avaliaremos a associação entre a amebíase sintomática (invasiva) e ancestralidade.

3.0.Objetivos

3.1.Objetivo Geral

Correlacionar o perfil de ancestralidade genômica com a sorologia para a amebíase, em indivíduos residentes na grande Belém, PA.

3.2.Objetivos Específicos

Avaliar a prevalência de soropositivos para amebíase na população estudada;

Caracterizar a ancestralidade genômica dos participantes da pesquisa;

Avaliar a relação entre ancestralidade genômica a sorologia positiva e negativa para amebíase;

Relacionar fatores higiênico-sanitários e nutricionais a soropositividade para amebíase invasiva.

4.0. Material e Métodos

População:

Compôs o estudo 318 pacientes atendidos no Setor de Atendimento Médico Unificado (SOAMU) do Instituto Evandro Chagas/MS (IEC) e Hospital Universitário João de Barros Barreto/UFPA (HUIBB), aleatoriamente convidados a participarem da pesquisa. Os pacientes eram residentes em Belém-PA e/ou região metropolitana, composta por Belém, Ananindeua, Marituba, Benevides, Santa Bárbara e Santa Izabel (Assembleia Legislativa do Pará 1995 e 2010) observada na figura 4. O material foi coletado nos meses de março, abril e julho de 2013, nos dois locais.

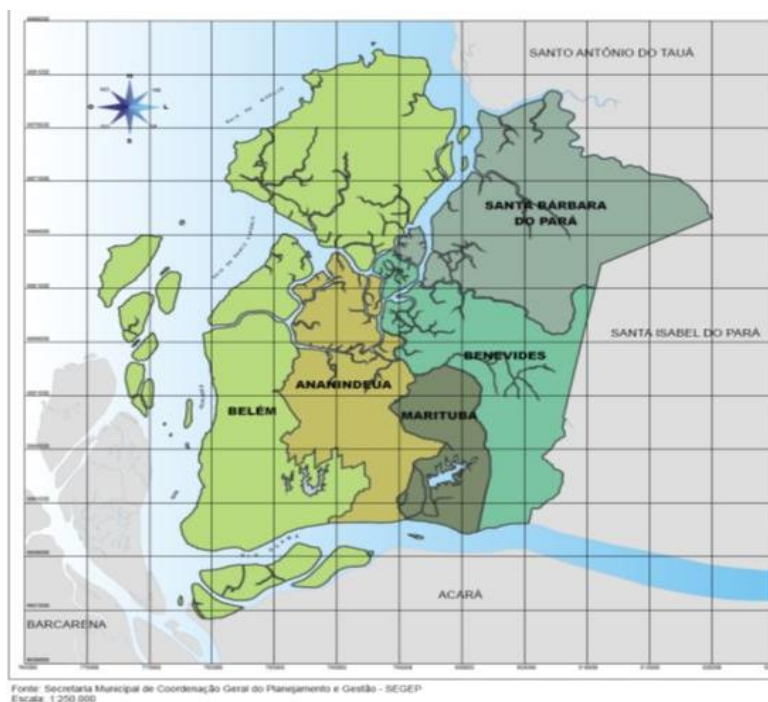


Figura 4: Região Metropolitana de Belém-PA

Disponível em: www.belem.pa.gov.br/planodiretor/paginas/brasao.php, acesso em 07/01/2015.

Esta investigação foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG com Parecer nº ETIC 0081.0.203.000-10 (Anexo I).

Antes da coleta, foi feita entrevista em que era apresentado ao indivíduo o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo II) e a explicação detalhada sobre o objetivo da pesquisa.

Foi aplicado questionário sobre o perfil higiênico – sanitário e alimentar (Anexo III) e coletados sangue, células da mucosa oral e solicitado fezes dos participantes.

Os resultados dos exames parasitológicos e sorológicos foram encaminhados aos participantes cerca de 30 dias após a coleta, os casos positivos orientados para atendimento médico na instituição colaboradora.

4.1. Tamanho da amostra

Os dados atuais da prevalência da *E. histolytica*/*E. dispar* no Brasil mostram que a mesma varia de 4 a 40% em várias regiões do país, com uma média de 8%, que foi utilizada como referência para o cálculo amostral. Assim, considerando-se uma precisão absoluta de 4% e um nível de significância de 5%, o tamanho da amostra estimado foi de 144 indivíduos, entretanto, devido à eficácia do recrutamento, um total de 318 indivíduos foi incluído no estudo e destes, 178 foram aleatoriamente incluídos e genotipados para ancestralidade.

Análise estatística

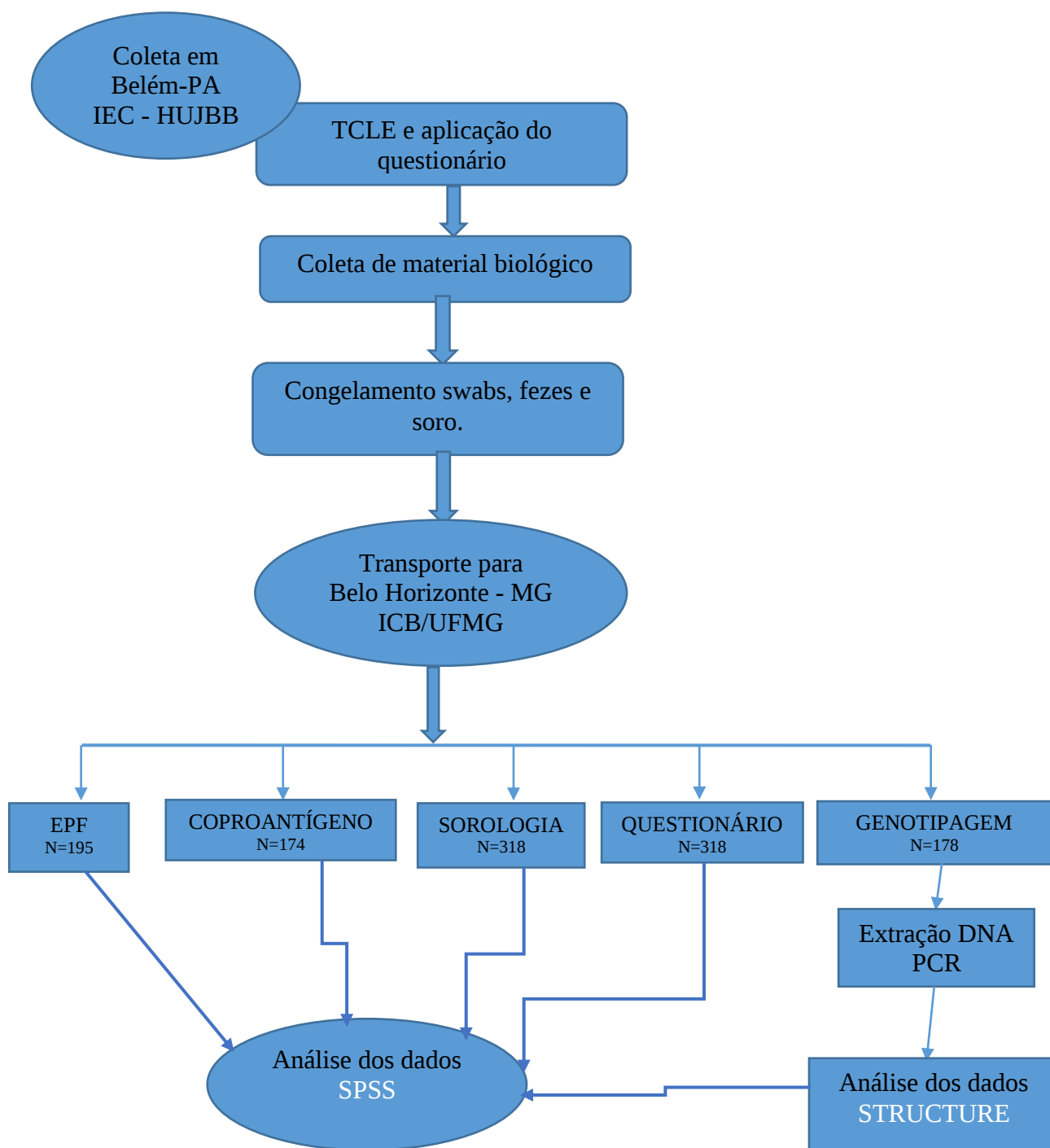
Na análise da normalidade das variáveis contínuas, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnoff, sendo encontrado que a variável percentual de ancestralidade não teve distribuição normal.

As variáveis categóricas foram descritas como proporção e porcentagens, e as variáveis contínuas como média $\pm$ DP, ou a mediana com intervalo interquartil (25-75%). Na comparação entre os grupos utilizou-se, para as variáveis contínuas paramétricas o teste t-Student, e para as não paramétricas o teste U-Mann-Whitney. Na comparação entre as variáveis categóricas, utilizou-se o teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher. Utilizou-se também a ANOVA não-paramétrica de Kruskal-Wallis, na comparação entre múltiplos grupos, seguido do teste de Dunn. Diferenças com um $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas, com um intervalo de confiança de 95%.

Os dados foram armazenados em planilhas do programa Microsoft Excel[®]: respostas das entrevistas, resultados do exame parasitológico de fezes, resultados da sorologia e resultados da ancestralidade, e uma planilha constando todos os dados. Foi calculada Frequência absoluta individualmente para os resultados do questionário, do Exame Parasitológico de Fezes (EPF) e da sorologia, para uma visualização mais clara e independente dos dados. Em seguida, foi utilizado o Programa SPSS (*Statistical Package for the Social Science* - versão 22.0) para associação entre os resultados obtidos em cada seção.

O delineamento experimental da pesquisa está demonstrado na figura 5.

Figura 5: Delineamento Experimental da pesquisa.



N= nº de amostras analisadas

4.2. Inquérito Sanitário-Alimentar

Foi aplicado um questionário semi estruturado com o objetivo avaliar possível relação entre fatores higiênico-sanitários e alimentares e a soropositividade para amebíase invasiva nos indivíduos participantes do estudo.

O Inquérito Sanitário-Alimentar apresenta abordagens sobre o perfil do indivíduo em relação as condições de moradia, hábitos de higiene e de alimentação, que possam fornecer informações relacionadas aos fatores de risco para incidência de doenças infecciosas com rota de contaminação oral-fecal.

Com o Inquérito Sanitário-Alimentar foram obtidas informações das seguintes variáveis: fatores demográficos (sexo), hábitos alimentares (tipo de dieta, ingestão de álcool, higiene alimentar), fatores relacionados a moradia (tipo de construção, qualidade da água, acesso ao saneamento, destino do lixo), fatores relacionados a distribuição da água e tratamento de esgoto.

Após a coleta, os participantes foram orientados sobre medidas profiláticas para evitar infecções por parasitos intestinais.

4.3. Exame Parasitológico de Fezes

O material fecal foi coletado uma única vez em potes disponibilizados pela Instituição e congelados a -20°C após recebimento, sem adição de conservantes. Em seguida, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Amebíase e Parasitoses Intestinais (LAPI) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

No momento da análise, a amostra foi descongelada e concentrada por centrifugação em formol-éter para observação microscópica do pellet, corado com lugol, para pesquisa de parasitos intestinais.

Para o diagnóstico da infecção por *E. histolytica*/*E. dispar*, historicamente tem sido escolhida a microscopia ótica, apesar de sua incapacidade de diferenciar as duas formas.

4.4. Coproantígeno

Para a detecção de coproantígenos foram utilizados kits comerciais *E. histolytica* II test® (Techlab Inc., Blacksburg, VA). Este teste imunoenzimático consiste na

detecção rápida da adesina (Gal/GalNac) de *E. histolytica* em amostras de fezes humanas. O kit, contendo todos os reagentes e tampões, foi utilizado de acordo com as recomendações do fabricante.

4.5.Sorologia

Nas últimas décadas, testes imunoenzimáticos são utilizados na quantificação de antígenos ou anticorpos, demonstrando alta sensibilidade (De Carli 2001). Neste estudo foi utilizada a técnica ELISA, de acordo com protocolo definido por Okazaki et al (1988) modificado e utilizado como método de rotina para sorologia de amebíase no Laboratório de Amebíase e Parasitoses Intestinais (LAPI/ICB/UFMG).

Foram coletados de cada indivíduo 5ml de sangue venoso em tubos a vácuo, sem anticoagulante. Após a formação do coágulo, o soro foi separado, aliquotado em tubos de plástico e armazenado em freezer a -20°C.

O material foi transportado, envolvido em gelo artificial, dentro de caixas de isopor vedadas, para o Laboratório de Amebíase e Parasitoses Intestinais do Instituto de ICB da UFMG onde a técnica foi executada.

A presença de anticorpos anti-*E. histolytica* foi detectada nos soros dos participantes através da reação de ELISA.

As placas foram sensibilizadas com os antígenos obtidos de cepas axênicas e foi determinado ponto de corte para a comunidade em estudo, usando soros negativos como controles.

A confirmação da ocorrência de infecção por *E. histolytica* é indicadora de amebíase invasiva intestinal e/ou de amebíase extra intestinal, sendo o abscesso hepático, a mais frequente entre as formas extra-intestinais (Benetton 2003).

4.6.ELISA

As placas sensibilizadas com o antígeno foram lavadas 1 vez com PBS-Tween 20 (0,05%). Em seguida, 100µl dos soros, previamente diluídos em PBS-Caseína a 2% na diluição única de 1:100, definida por titulação prévia, foram distribuídos em cada orifício da placa. Os soros foram testados em duplicata. Após incubar por uma hora à temperatura ambiente, as placas foram lavadas 5 vezes com PBS-Tween 20.

Após o período de incubação e lavagem das placas, foi adicionado a cada poço 100µl de conjugado anti-IgG humana marcado com peroxidase (Sigma), na diluição de 1:1000 em PBS-Caseína, conforme o título previamente estabelecido e seguido de uma nova incubação por 1 hora à temperatura ambiente.

Após a incubação de 1 hora, as placas foram lavadas 5 vezes com PBS-Tween 20, seguida da adição de 100µl do substrato (2 µg de orto-fenilenoldiamino-OPD em 10ml de solução tampão citrato-fosfato (ácido cítrico) e 30µl de H₂O₂-30vol).

Após adição do substrato, as placas foram incubadas durante 45 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após este período, a reação foi interrompida com a adição de 30µl de ácido sulfúrico 4N (H₂SO₄) em cada orifício.

As leituras das reações foram feitas em espectrofotômetro com filtro de 490nm. Os resultados foram expressos em valores de densidade óptica (absorbância). Para determinação do ponto de corte utilizou-se 10 soros negativos para *E. histolytica*/ *E. dispar*, testados na diluição 1:100. O ponto de corte foi definido como a soma da média das absorbâncias dos 10 soros negativos mais dois desvios padrão ($\bar{x} + 2DP$).

4.7. Ancestralidade Genômica

4.7.1. Obtenção dos Dados da Ancestralidade Genômica

As células da mucosa oral foram coletadas com swabs específicos (Omni swabs[®] Whatman[®]) colocados em eppendorf com 600µl de solução de lise e congelados.

Todo o material foi transportado para o Laboratório de Amebíase e Protozoários Intestinais do Departamento de Parasitologia (ICB/UFMG) e congelado até o momento da análise.

Para análise da ancestralidade foram selecionados um total de 178 swabs de pacientes positivos e negativos no exame sorológico.

4.7.2. Extração do DNA

A extração do DNA foi realizada no Laboratório de Genética Bioquímica (LGB) do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Protocolo de Extração do DNA

1ª Etapa:

Os eppendorfs com os swabs foram submetidos ao vórtex durante 20 segundos, em seguida foi dado *spin*. Foi adicionado 15µl de solução de proteinase K, a amostra foi então submetida ao vórtex e *spin* e colocada em banho-maria a 55°C overnight.

2ª Etapa

A amostra foi submetida a vórtex e *spin*. Retirou-se o swab (pressionando-se contra a parede do tubo), com pinça. Adicionou-se 200 µl de solução de precipitação (Protein Precipitation Solution- Gentra®) e levou-se ao vórtex por 20 segundos. Centrifugou-se por 3 minutos na velocidade 13.000-14.000 RPM. Transferiu-se o sobrenadante para novo tubo com isopropanol (600µl). Homogeneizou-se delicadamente e levou-se ao freezer a -20°C overnight.

3ª Etapa

Centrifugou-se a amostra por 30 minutos em velocidade de 14.000RPM, descartou-se cuidadosamente o sobrenadante e virou-se o tubo sobre um papel absorvente limpo. Adicionou-se 1000 µl de etanol 70% gelado, inverteu-se gentilmente os tubos e centrifugou-se por 5 minutos em velocidade máxima. Descartou-se cuidadosamente o sobrenadante e virou-se o tubo sobre um papel absorvente limpo. Adicionou-se 1000 µl de etanol 95% gelado, inverteu-se gentilmente os tubos e centrifugou-se por 5 minutos também a 14.000 RPM. Descartou-se cuidadosamente o sobrenadante e virou-se o tubo sobre papel absorvente limpo. Deixou-se o etanol evaporar.

4ª Etapa

Adicionou-se 60 µl de TE (tris +EDTA) pH 8.0, colocou-se no banho maria por 15 minutos, deu-se *spin*, colocou-se 10 µl da amostra em eppendorf de 0,2 µl.

4.7.3.Quantificação do DNA

Todas as amostras de DNA genômico foram quantificadas utilizando-se o kit Quantifiler™ (Applied Biosystems). Uma curva-padrão foi ajustada, usando-se concentrações crescentes de DNA (inclusas no kit) nas quantidades: 0,023; 0,068; 0,21; 0,62; 1,85; 5,56; 16,7 e 50 nanogramas. Com base nessa curva padrão as concentrações de DNA das amostras foram determinadas.

As reações de PCR foram feitas em um volume final de 12,5 µL. Destes 12,5 µL; 5,25 µL eram do reagente Quantifiler™ *primer mix*; 6,25 µL eram do Quantifiler™ *mix* de reação para PCR e 1 µL era de DNA. As reações para obtenção da curva-padrão

foram feitas nessa mesma proporção, usando-se os padrões como material genético. As reações foram conduzidas em placas de 384 wells, os parâmetros de ciclagem utilizados foram: 10 min a 95 °C e 50 ciclos de 15 segundos a 95 °C (desnaturação) e 1 min a 60 °C (anelamento e extensão), utilizando o aparelho 7900HT *Fast Real-Time PCR System* (Applied Biosystems).

4.7.4.Determinação da Ancestralidade

Bastos-Rodrigues *et al* (2006) e Pena *et al* (2009) estudaram um grupo de 40 marcadores indels bialélicos, estes foram eficientes na caracterização da estrutura da população humana a nível mundial. Pena *et al* (2009) mostraram que esse grupo de 40 marcadores indels apresentou alta sensibilidade na discriminação entre Ameríndios, Europeus e Africanos subsaarianos, as três raízes ancestrais brasileiras.

Conforme descrito por Bastos-Rodrigues *et al* (2006), foi usado um sistema de quatro reações multiplex, cada uma consistindo de uma mistura de 9-12 pares de iniciadores, seguido da eletroforese capilar dos produtos de PCR obtidos no sequenciador de DNA ABI 3130xl *Genetic Analyzer* contendo 96 capilares. Adaptação, descrita por Durso (2014), em relação ao protocolo inicialmente descrito, foi executada nesse trabalho, de forma que cada reação multiplex foi marcada com apenas um fluoróforo, sendo assim possível em apenas uma eletroforese capilar visualizar os produtos das amplificações dos 40 indels.

Após as eletroforeses seguiu-se a determinação dos alelos presentes nas reações dos multiplexes, com o auxílio do programa Gene Mapper ID v 3.2. Foi utilizado um controle positivo denominado escala alélica, constituída por uma mistura de DNA de 203 indivíduos, que apresenta todos os alelos.

4.7.5.Estimativa de Ancestralidade Biogeográfica

Para estimar a proporção relativa de ameríndios, europeus e africano com ascendência subsaariana, foi utilizada para cada amostra genotipada o seguinte painel de indels: MID-1 (rs3917), MID-15 (rs4181), MID-17 (rs4183), MID-51 (rs16343), MID-89 (rs16381), MID-107 (rs16394), MID-131 (rs16415), MID-132 (rs16416), MID-150 (rs16430), MID-159 (rs16438), MID-170 (rs16448), MID-258 (rs16695), MID-278

(rs16715), MID-420 (rs140709), MID-444 (rs140733), MID-468 (rs140757), MID-470 (rs140759), MID-663 (rs1305047), MID-788 (rs1610874), MID-857 (rs1610942), MID-914 (rs1610997), MID-918 (rs1611001), MID-1002 (rs1611084), MID-1092 (rs2067180), MID-1100 (rs2067188), MID-1129 (rs2067217), MID-1291 (rs2067373), MID-1352 (rs2307548), MID-1428 (rs2307624), MID-1537 (rs2307733), MID-1549 (rs2307745), MID-1586 (rs2307782), MID-1642 (rs2307838), MID-1654 (rs2307850), MID-1759 (rs2307955), MID-1763 (rs2307959), MID-1847 (rs2308043), MID-1861 (rs2308057), MID-1943 (rs2308135) e MID-1952 (rs2308144) . Nesta lista o número MID diz respeito à nomenclatura de Weber *et al* (2002).

4.7.5. Análise dos Dados da Ancestralidade Genômica

A determinação da ancestralidade de cada indivíduo brasileiro deste estudo foi obtida usando o programa *Structure* v 2.3.3 (Pritchard *et al*, 2000). A análise foi feita utilizando o algoritmo MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*) com *burn-in* 200.000 e 1.000.000 de interações.

4.8. Associação da Estimativa de Ancestralidade com a Sorologia Positiva para Amebíase

Os dados referentes à ancestralidade foram tabulados e submetidos a análises uni- bi- e multivariadas com o auxílio do *software SPSS (Statistical Package for the Social Science - versão 22.0)*. Inicialmente foram utilizados média, mediana, quartis, mínimo, máximo e desvio padrão para a identificação das principais características dos participantes cuja ancestralidade foi determinada. Para comparação entre os grupos com sorologia positiva e negativa e o grau de ancestralidade, utilizou-se o teste de comparação de dois grupos independentes t-Student.

Na análise da normalidade, foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnoff, sendo encontrado que a variável “percentual de ancestralidade” não teve distribuição normal. Assim, na comparação entre os grupos, as variáveis contínuas foram comparadas utilizando-se o teste de U-Mann-Whitney, e a ANOVA não paramétrica de Kruskal-Wallis.

A regressão logística múltipla foi utilizada para avaliar as relações múltiplas existentes entre, a sorologia e os graus de ancestralidade europeia, ameríndia e africana, de forma conjunta. Foram realizados também testes de correlação entre os valores das

ancestralidades, para avaliar o padrão de dominância entre os tipos de ancestralidade. Para determinar se as diferenças encontradas foram estatisticamente significativas, foi considerado valores de p-valor menor ou igual a 0,05.

5.0.Resultados

5.1.Exame Parasitológico de Fezes

Foram executadas análises nas fezes de 195 indivíduos, que forneceram material. O parasito que apresentou maior frequência foi o *Blastocystis* sp (25,6%), seguido de *E. histolytica* / *E. dispar* (9,7%) e *Endolimax nana* (8,2%). Nas tabelas abaixo a distribuição dos parasitos nos exames (Tabela 1) e sua relação com serviços de abastecimento de água por rede (Tabela 2) e esgotamento sanitário por rede (Tabela 3).

Tabela 1: Distribuição de parasitos nos 195 exames realizados.

Parasitos	N	%
<i>Blastocistys sp</i>	50	25,6
<i>E histolytica E díspar</i>	19	9,7
<i>E coli</i>	18	9,2
<i>Endolimax nana</i>	16	8,2
<i>Trichura trichiura</i>	14	7,2
<i>Giardia lamblia</i>	5	2,6
<i>Ancilostomídeos</i>	3	1,5
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	1,0
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,5

Tabela 2: Associação dos diferentes parasitos com o serviço de abastecimento de água por rede.

Parasitos	Sem rede água		Com rede água		p
	N	%	N	%	
<i>Blastocistys sp</i>	22	24,4	28	26,7	0,723
<i>E coli</i>	8	8,9	10	9,5	0,879
<i>E histolytica E dispar</i>	6	6,7	13	12,4	0,180
<i>Trichura trichiura</i>	6	6,7	8	7,6	0,797
<i>Endolimax nana</i>	5	5,6	11	10,5	0,212
<i>Giardia lamblia</i>	2	2,2	3	2,9	0,780
<i>Ancilostomídeos</i>	1	1,1	2	1,9	0,654
<i>Ascaris lumbricoides</i>	0	0,0	2	1,9	0,188
<i>Hymenolepis nana</i>	0	0,0	1	1,0	0,353

Tabela 3: Prevalência das espécies de parasitos e ausência de rede de esgotamento geral.

Parasitos	Sem rede água		Com rede água		p
	N	%	N	%	
<i>Blastocistys sp</i>	42	26,8	8	21,1	0,470
<i>E histolytica E dispar</i>	17	10,8	2	5,3	0,299
<i>Endolimax nana</i>	14	8,9	2	5,3	0,461
<i>E coli</i>	13	8,3	5	13,2	0,351
<i>Trichura trichiura</i>	12	7,6	2	5,3	0,610
<i>Giardia lamblia</i>	5	3,2	0	0,0	0,265
<i>Ancilostomídeos</i>	3	1,9	0	0,0	0,390
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	1,3	0	0,0	0,484
<i>Hymenolepis nana</i>	0	0,0	1	2,6	0,042

5.2.Sorologia

Na sorologia, observou-se um alto índice de positividade no teste ELISA, com uma diluição de 1:100 nas amostras de soro e 2 desvios padrões. Dos 318 participantes do estudo, 140 indivíduos (44,03%) apresentaram resultados positivos para anticorpos anti *E. histolytica*, ou seja, apresentaram ou apresentam infecção amebiana, já que a detecção de anticorpos IgG pode significar infecção regressa ou atual.

Quadro 1: Sorologia

Positivo		Negativo	
140	44,03%	178	55,97%

A associação entre sorologia positiva e negativa com os resultados do exame parasitológico de fezes são observados na tabela 4.

Tabela 4: Prevalência das espécies de parasitos e sorologia para *E. histolytica*.

Parasitos	Sorologia negativa		Sorologia positiva		p
	N	%	N	%	
<i>Blastocistys sp</i>	26	25,7	24	25,5	0,973
<i>E histolytica E dispar</i>	12	11,9	7	7,4	0,297
<i>Trichura trichiura</i>	11	10,9	3	3,2	0,037
<i>Endolimax nana</i>	11	10,9	5	5,3	0,157
<i>E coli</i>	9	8,9	9	9,6	0,873

<i>Ancilostomídeos</i>	2	2,0	1	1,1	0,603
<i>Giardia lamblia</i>	2	2,0	3	3,2	0,593
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	1,0	1	1,1	0,959
<i>Hymenolepis nana</i>	1	1,0	0	0,0	0,333

5.3. Inquérito Epidemiológico

O objetivo deste questionário foi identificar a partir dos dados coletados, fatores ambientais, sanitários e hábitos alimentares que pudessem contribuir para a incidência e agravamento de doenças infecciosas com rota de contaminação oral-fecal.

O inquérito abrangeu os seguintes temas: sexo, qualidade da água consumida, exposição a fatores de riscos ambientais, hábitos de higiene pessoal, qualidade da alimentação, consumo de álcool.

Foram entrevistados 318 participantes neste estudo, no Instituto Evandro Chagas/MS e Hospital Universitário João de Barros Barreto/UFPa.

As entrevistas para preenchimento do questionário foram feitas pela pesquisadora após apresentação e assinatura do TCLE.

Sexo

Participaram da pesquisa 43,7% de indivíduos do sexo masculino e 56,3% do sexo feminino.

Quadro 2: Sexo

Masculino		Feminino	
139	43,7%	179	56,3%

Qualidade da água consumida

Em relação ao abastecimento de água disponível para as residências, a maioria tem acesso a rede geral (55,7%). Dos participantes 44,7% consumiam água de poço e 0,9% relataram que utilizavam água de outras fontes, como rio, igarapés, etc.

Quadro 3: Abastecimento de água nas residências

Rede Geral		Poço		Outros	
177	55,7%	142	44,7%	3	0,9%

Considerando a grande percentagem de utilitários de água não canalizada, os participantes foram questionados quanto aos cuidados com a água a ser ingerida no domicílio. Dentre os respondedores, 29,9% filtram a água antes do consumo, 0,9% fazem cloração na própria residência, nenhum dos entrevistados afirmou utilizar o processo de fervura (0%) e a maioria (69,5%) relatou consumir a água da forma que chega ao domicílio, sem tratamento adicional.

Quadro 4: Tratamento da água de beber

Filtração		Cloração		Fervura		Não faz tratamento	
95	29,9%	3	0,9%	0	0,0%	221	69,5%

Dentre os indivíduos que afirmaram “não fazer tratamento algum” na água consumida em seu domicílio, houve muitos relatos de uso de água mineral, no entanto, na ausência de recursos para aquisição desta, consumiam a água disponível no domicílio independente da origem.

Exposição a fatores de riscos ambientais

O Esgotamento sanitário teve como destino a Rede geral em 54 domicílios, enquanto a fossa séptica esteve presente na residência de 236 entrevistados (74,2%), a resposta “outros” foi informada por um participante, e em 6,9% dos domicílios não havia esgotamento sanitário algum.

Quadro 5: Esgotamento sanitário nos domicílios

Rede geral		Fossa séptica		Outros		Não tem	
54	17,0%	236	74,2%	1	0,3%	22	6,9%

Destino do lixo

Foram avaliadas as condições de destinação do lixo produzido nas residências. Os dados relatados apontaram que em 94,7% dos domicílios o lixo é coletado com frequência, em 12 residências o lixo é queimado/enterrado (3,8%) e em 6 os moradores deixam-no a céu aberto (1,6%).

Quadro 6: Destino do lixo nos domicílios

Coletado		Queimado/enterrado		Céu aberto		Outros	
301	94,7%	12	3,8%	5	1,6%	0	0,0%

Tipo de construção da habitação

Foram avaliadas as condições da moradia dos participantes: tipo de construção, número de cômodos e número de residentes. Para as duas últimas questões não havia opções definidas para respostas, as categorias foram elaboradas a partir dos dados obtidos. Desta forma, o número de cômodos citado variou entre 1 a 10 e a quantidade de habitantes de 1 a 13 em cada residência.

A maioria dos entrevistados (78,9%) residia em casas de alvenaria. Dois entrevistados afirmaram residirem em casas de pau-a-pique (0,2%), 48 pessoas disseram morar em casas de madeira (15,1%) e 18 (5,7%) em palafitas.

Quadro 7: Tipo de construção da habitação

Tipo Construção	N	%
Alvenaria	251	78,9
Pau a Pique	2	0,6
Madeira	48	15,1
Outro	18	5,7

Quanto aos cômodos das moradias, as respostas variaram entre 1 e 10 cômodos, a maioria dos participantes residiam em habitações com 4 (23,6%) ou 5 (22,3%) cômodos (Figura 6). O número de residentes em cada habitação variou de 1 a 13, sendo mais frequente 4 pessoas por domicílio (Figura 7).

Figura 6: Número de cômodos por Residência.

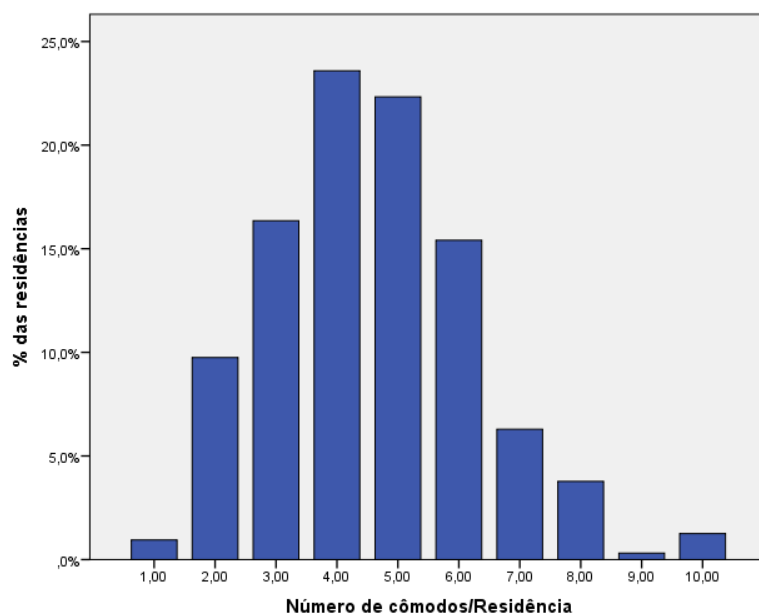
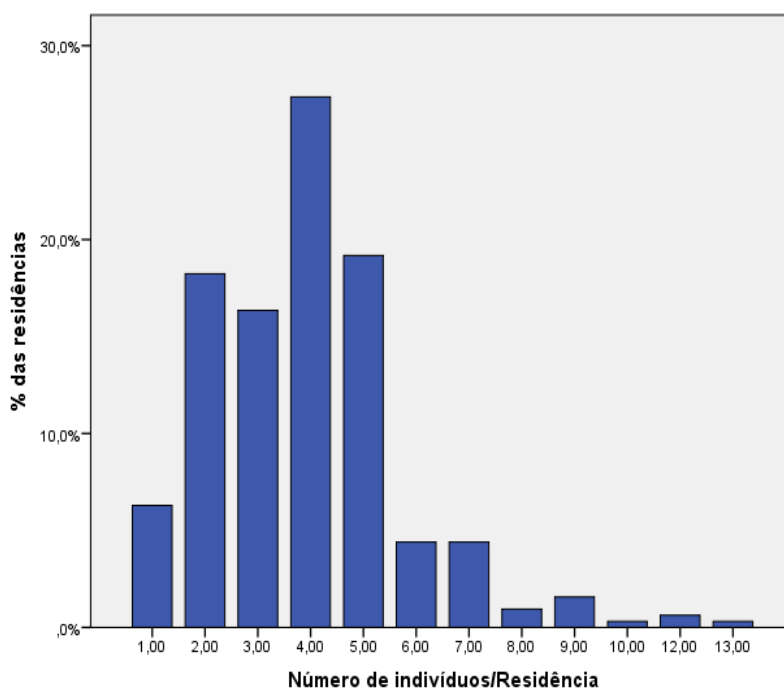


Figura 7: Número de indivíduos por Residência.



Qualidade da alimentação

Procurando determinar a rotina alimentar dos participantes, verificou-se que arroz (83,6%), farinha (58,9%), carne (38,1%), frango (28,9%), feijão (27,7%), peixe (25,5%) e açaí (23,0%) foram os mais citados.

Quadro 8: Alimentos mais consumidos

Alimento	Nº de respostas	Frequência
Açaí	73	23,0%
Farinha	187	58,8%
Frango	92	28,9%
Carne	121	38,1%
Peixe	81	25,5%
Camarão	3	0,9%
Arroz	266	83,6%
Feijão	88	27,7%

A frequência no consumo do alimento preferido, revelou que a grande maioria (95,3%) dos participantes consumia sua “preferência” alimentar diariamente.

Procurando definir a frequência de ingestão de alimentos crus, verificou-se que 45,3% dos participantes não possuíam este hábito alimentar. Dentre os indivíduos que consomem alimento crus, a opção por verduras foi a mais frequente (51,9%). Com relação a frequência de ingestão, 17,3% dos entrevistados afirmaram consumir alimentos crus diariamente

Quadro 9: Consumo de alimentos crus

Verduras		Legumes		Frutas		Não consome	
165	51,9%	101	31,8%	108	34,0%	144	45,3%

A maioria dos participantes do estudo (99,4%) não cultivava alimentos em sua residência, apenas 2 entrevistados (0,6%) relataram o hábito de produzir hortas ou pomares. Estes afirmaram residir em comunidades ribeirinhas, em municípios da região metropolitana de Belém-PA.

Os participantes que faziam uso de alimentos crus foram questionados quanto a forma de higienização dos mesmos. A maioria (51,3%) apenas lava os alimentos em água de torneira.

Quadro 10: Higienização de alimentos ingeridos crus

Água da torneira		Água filtrada		Vinagre		Hipoclorito	
163	51,3%	6	1,9%	46	14,5%	31	9,7%

Em relação a ingestão proteica de alto valor nutritivo considerou-se o consumo de carne e leite. A maioria dos participantes respondeu ingerir carne diariamente (33,6%).

Quadro 11: Consumo de carne

Consumo Carne Semanal	N	%
Consumo Carne Semanal 1Vez	25	7,9
Consumo Carne Semanal 2Vezes	50	15,7
Consumo Carne Semanal 3Vezes	89	28,0
Consumo Carne Semanal 4Vezes	16	5,0
Consumo Carne Semanal 5Vezes	15	4,7
Consumo Carne Semanal Todos os dias	107	33,6
Consumo Carne Semanal Raramente	3	0,9
Consumo Carne Semanal Nunca	15	4,7

Em relação ao consumo de leite 247 (77,7%) participantes afirmaram ingerir todos os dias.

Quadro 12: Consumo de leite

Consumo Leite Semanal	N	%
Consumo Leite Semanal 1Vez	4	1,3
Consumo Leite Semanal 2Vezes	4	1,3
Consumo Leite Semanal 3Vezes	6	1,9
Consumo Leite Semanal Todos os dias	247	77,7
Consumo Leite Semanal Raramente	8	2,5
Consumo Leite Semanal Nunca	49	15,4

Consumo de álcool

Considerando que o consumo exagerado de álcool predispõe a infecções intestinais, a frequência de seu consumo foi investigado. Dentre os participantes, 18,6% afirmaram ser consumidores, sendo que a maioria (11,6%) ingeria em média uma vez por semana.

Quadro 13: Consumo de álcool

Variável (N total= 318)	N	%
Consume Álcool	59	18,6
Consome 1 Vez/semana	37	11,6
Consome 2 Vezes/semana	22	6,9

Associação sorologia para *E. histolytica*, com as condições de água, saneamento e de moradia, número de cômodos e residentes nas moradias (Tabelas 5, 6 e 7):

Tabela 5: Relação da sorologia para *E. histolytica* com as condições de água, saneamento e moradia

Variáveis	Sorologia negativa		Sorologia positiva		p
	N	%	N	%	
Tratamento água Filtração	51	28,7	44	31,4	0,591
Tratamento água Cloração	1	0,6	2	1,4	0,427
Tratamento água Fervura	0	0,0	0	0,0	.
Tratamento água Outro	125	70,2	96	68,6	0,751
Esgotamento Sanitário Rede Geral	36	20,2	18	12,9	0,082
Esgotamento Sanitário Fossa Séptica	129	72,5	107	76,4	0,423
Esgotamento Sanitário Outro	1	0,6	0	0,0	0,374
Esgotamento Sanitário Não tem	10	5,6	12	8,6	0,303

Destino Lixo Coletado	168	94,4	133	95,0	0,808
Destino Lixo Queimado enterrado	6	3,4	6	4,3	0,671
Destino Lixo Céu Aberto	4	2,2	1	0,7	0,275
Destino Lixo Outro	0	0,0	0	0,0	.
Tipo Construção Alvenaria	140	78,7	111	79,3	0,891
Tipo Construção Pau a Pique	1	0,6	1	0,7	0,864
Tipo Construção Madeira	30	16,9	18	12,9	0,323
Tipo Construção Outro	8	4,5	10	7,1	0,310

Tabela 6: Relação da sorologia para *E. histolytica* com o número de cômodos das moradias

Variáveis	Sorologia negativa		Sorologia positiva		p
	N	%	N	%	
Número Cômodos na casa 1	1	0,6	2	1,4	0,427
Número Cômodos na casa 2	19	10,7	12	8,6	0,530
Número Cômodos na casa 3	34	19,1	18	12,9	0,135
Número Cômodos na casa 4	46	25,8	29	20,7	0,285
Número Cômodos na casa 5	33	18,5	38	27,1	0,067
Número Cômodos na casa 6	25	14,0	24	17,1	0,447
Número Cômodos na casa 7	12	6,9	8	5,8	0,694
Número Cômodos na casa 8	8	4,5	6	4,3	0,928
Número Cômodos na casa 9	0	0,0	1	0,7	0,259
Número Cômodos na casa 10	1	0,6	3	2,1	0,209

Tabela 7: Relação da sorologia para *E. histolytica* com o número de moradores por residência.

Variáveis	Sorologia negativa		Sorologia positiva		p
	N	%	N	%	
Número Pessoas na casa 1	12	6,7	8	5,7	0,708
Número Pessoas na casa 2	33	18,5	25	17,9	0,876
Número Pessoas na casa 3	29	16,3	23	16,4	0,974
Número Pessoas na casa 4	42	23,6	45	32,1	0,090
Número Pessoas na casa 5	40	22,5	21	15,0	0,093
Número Pessoas na casa 6	6	3,4	8	5,7	0,312
Número Pessoas na casa 7	11	6,4	3	2,2	0,084
Número Pessoas na casa 8	2	1,1	1	0,7	0,708
Número Pessoas na casa 9	3	1,7	2	1,4	0,851

Número Pessoas na casa 10	0	0,0	1	0,7	0,257
Número Pessoas na casa 11	0	0,0	0	0,0	.
Número Pessoas na casa 12	0	0,0	2	1,4	0,110
Número Pessoas na casa 13	0	0,0	1	0,7	0,259

Não houve associação de nenhum dos itens abrangendo prevalência de enteroparasitoses com sexo, qualidade da água consumida, exposição a fatores de riscos ambientais, qualidade da alimentação e consumo de álcool, com a presença de infecções intestinais ou sorologia positiva para amebíase.

5.4. Ancestralidade Genômica

Foi avaliado o genoma de 178 indivíduos, a ancestralidade genômica dos indivíduos apresentou uma maior proporção de genes para ancestralidade Europeia (75,8%), seguido da ancestralidade Ameríndia (14,6%) e Africana (9,6%). Chamamos esta maior proporção de genes para uma determinada ancestralidade de dominância, já que todos possuem genes relacionados as três ancestralidades avaliadas.

Avaliamos o padrão de ocorrência das ancestralidades ameríndia, europeia e africana nas amostras elencadas, percebemos nitidamente que nossa amostra continha uma maior proporção de europeus (Figuras 8, 9 e 10).

Figura 8: Distribuição percentual de Ameríndios.

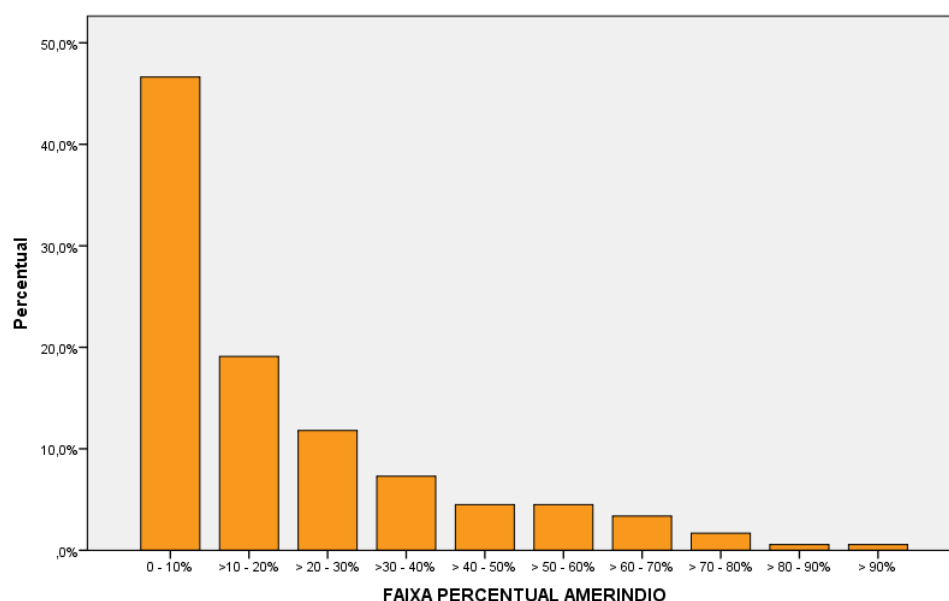


Figura 9: Distribuição percentual de Africanos.

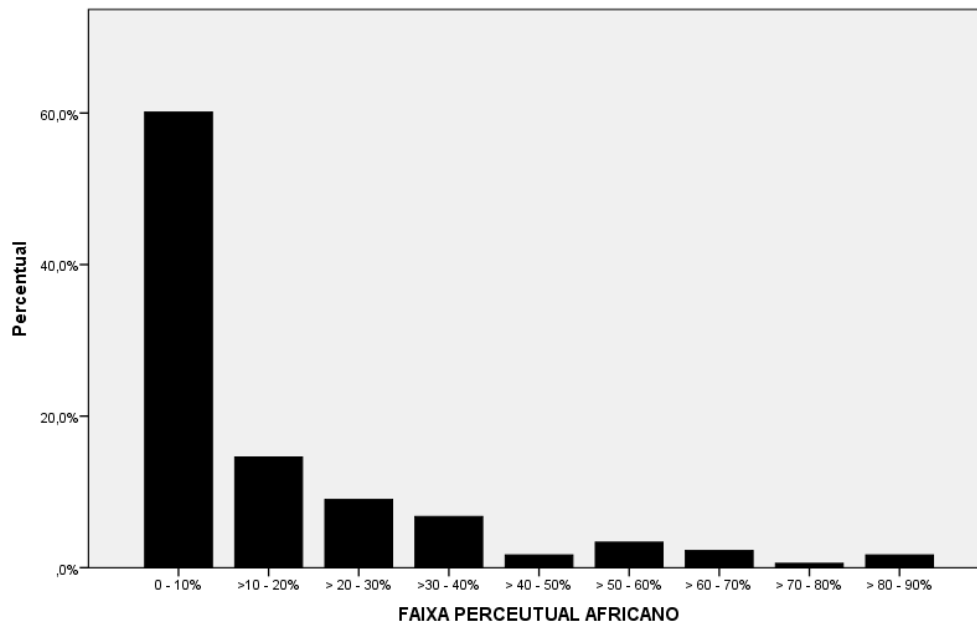
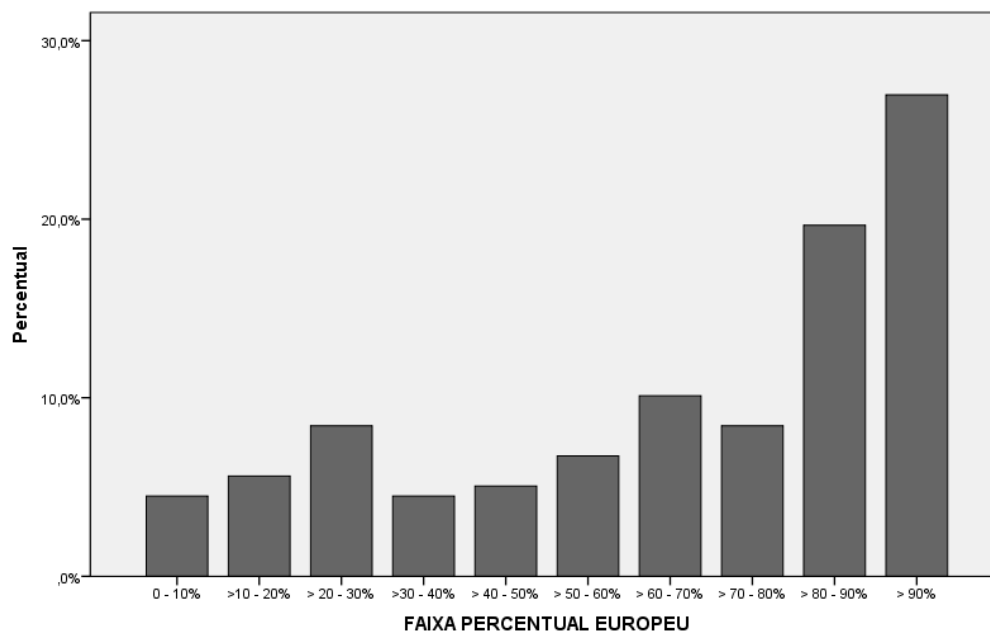


Figura 10: Distribuição percentual de Europeus.



Associação entre estimativa de ancestralidade e sorologia

Dentre os indivíduos que tiveram sua estimativa de ancestralidade individual determinada, 100 apresentaram sorologia negativa para amebíase e 78 positiva no teste de ELISA com uma diluição de 1:100 com 2 desvios padrões. Tendo em mãos os resultados da sorologia e ancestralidade destes indivíduos, investigamos a relação entre ancestralidade e sorologia para amebíase.

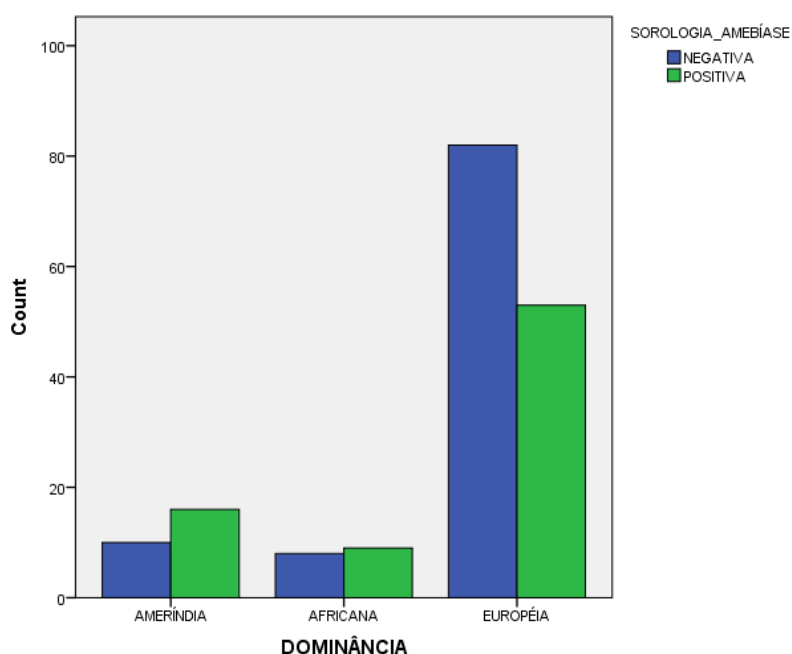
A análise dos dados revelou que o grupo cuja sorologia é negativa possui estimativa de ancestralidade europeia maior que o grupo cuja sorologia é positiva, sendo a diferença observada significativa. Já os grupos cuja sorologia para amebíase foi positiva possui grau de ancestralidade africana e ameríndia bem superior ao que apresentou sorologia negativa. A diferença observada foi significativa para ambos os grupos, sendo a probabilidade de significância do teste menor que 0,05 (Tabela 8).

Tabela 8: Associação entre grau de ancestralidade e sorologia para amebíase.

	<i>Sorologia</i>	<i>Média</i>	<i>Mediana</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>P-valor</i>
Ancestralidade Européia	Negativa	0,730	0,854	0,267	0,026	0,986	< 0,001
	Positiva	0,569	0,613	0,290	0,037	0,967	
Ancestralidade Africana	Negativa	0,119	0,038	0,171	0,005	0,893	0,001
	Positiva	0,188	0,111	0,200	0,009	0,890	
Ancestralidade Ameríndia	Negativa	0,152	0,081	0,178	0,008	0,810	0,002
	Positiva	0,243	0,161	0,221	0,011	0,925	

* *Teste de Mann-Whitney*

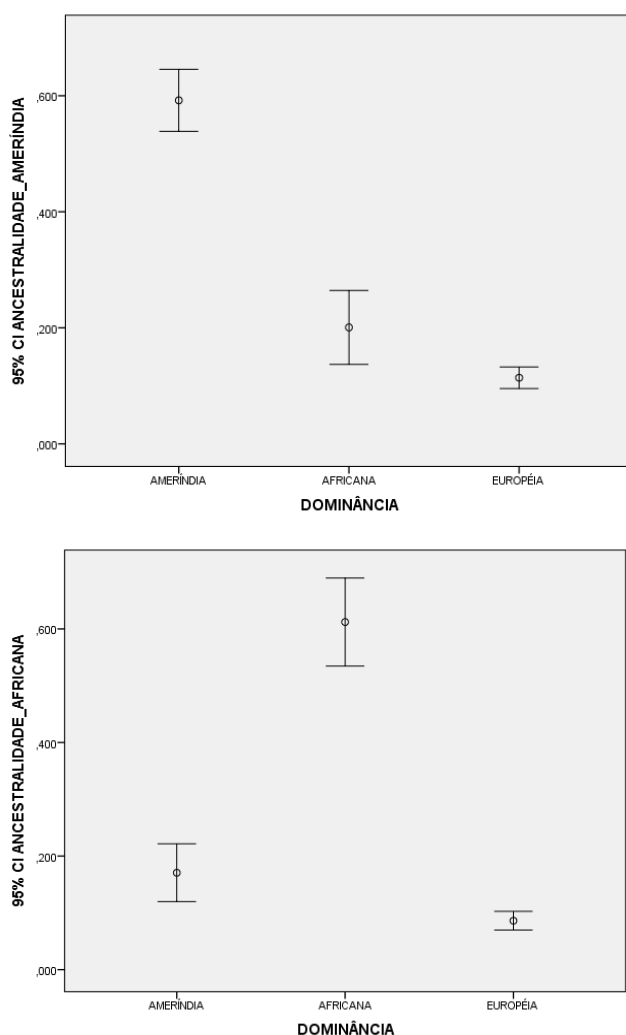
Figura 11: Associação entre grau de ancestralidade e sorologia para amebíase.

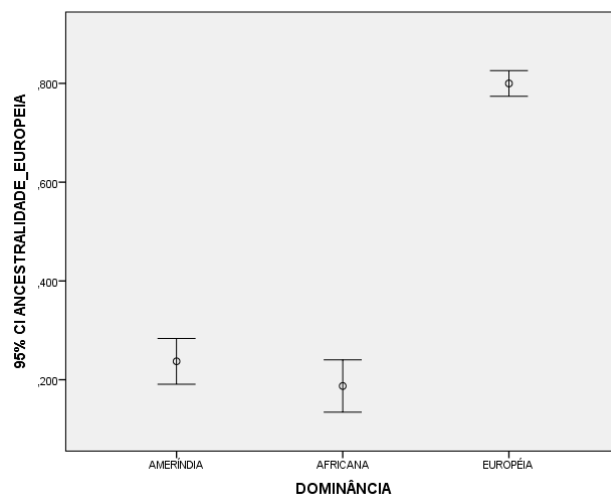


Avaliação da proporção de ancestralidade genômica europeia, africana e ameríndia em cada grupo de ancestralidade.

O valor do percentual ameríndio nos três grupos de dominâncias foi significativamente diferente entre si, sendo, como esperado, maior no grupo ameríndio, mas na comparação entre africano e europeu, o grupo de ancestralidade africano teve maior percentual de ameríndio. O valor do percentual africano foi maior no grupo africano, mas na comparação entre ameríndio e europeu, o grupo de dominância ameríndio teve maior percentual de africano. O valor do percentual europeu foi significativamente diferente entre o grupo de dominância europeu em relação aos outros dois grupos, entretanto, não houve diferença significativa do percentual de ancestralidade europeia entre os grupos de dominância ameríndio e africano (Figura 12).

Figura 12: Percentual de ameríndio, africano e europeu conforme grupos de dominância de cada ancestralidade.

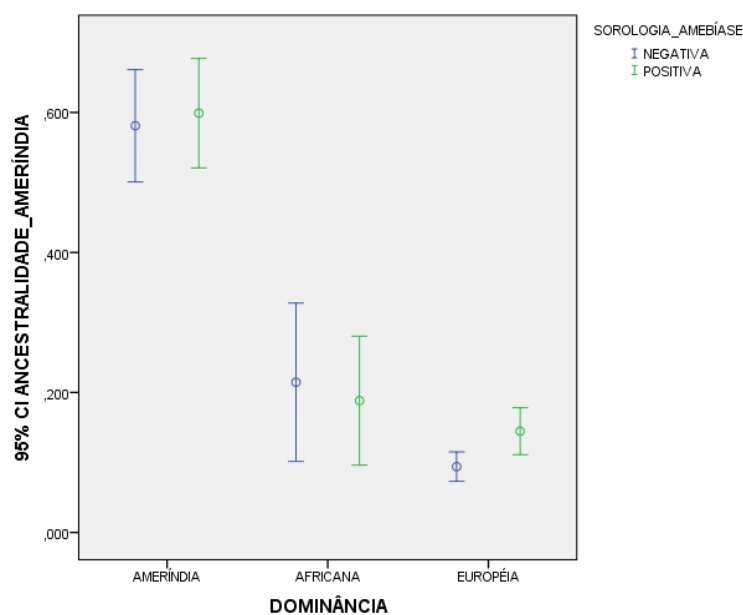


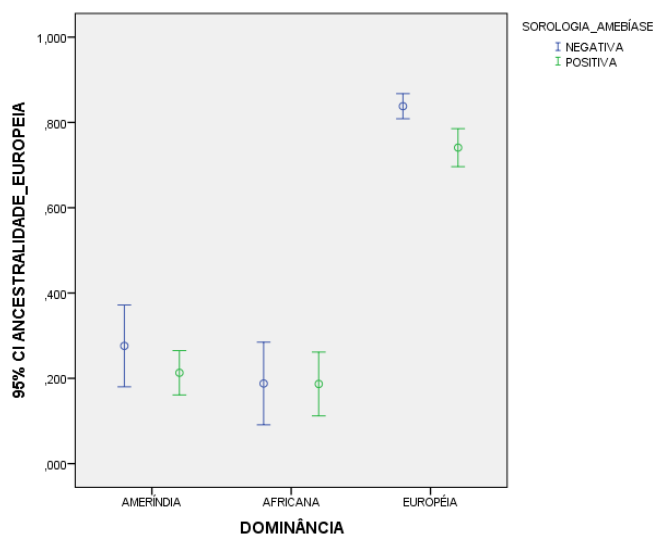
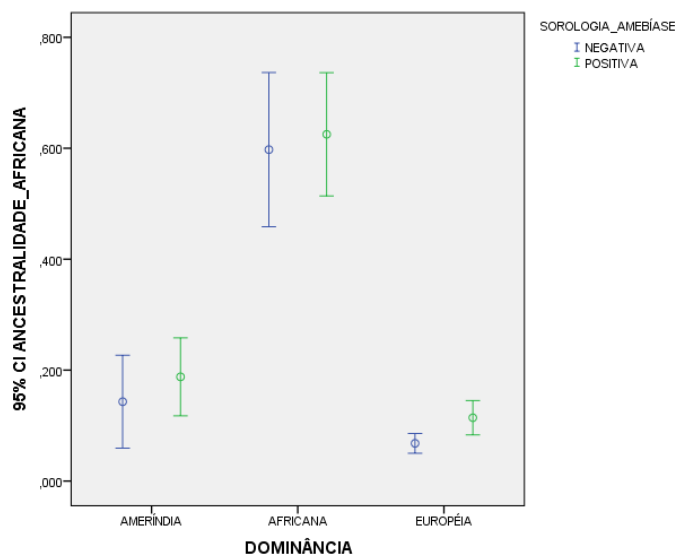


5.5. Impacto das ancestralidades na sorologia positiva

O impacto das três ancestralidades na sorologia positiva foi avaliado. O percentual da ancestralidade ameríndio e africana foi significativamente maior nos soropositivos apenas no grupo com dominância de ancestralidade europeia. Não houve diferença entre soropositivos e soronegativos nos outros dois grupos de dominância. A ancestralidade europeia foi significativamente menor nos soropositivos, no grupo de dominância europeia, mas não nos grupos de dominância ameríndios e africanos, não havendo diferença significativa entre positivos e negativos nestes últimos.

Figura 13: Impacto das ancestralidades na sorologia positiva.





O impacto conjunto das três ancestralidades na sorologia positiva demonstrou que dentre todas as características levantadas, somente a ancestralidade europeia impactou de forma significativa na sorologia positiva, sendo que a chance de sorologia positiva reduz 6,1% a cada aumento de 10% na ancestralidade europeia (Tabela 9)

Tabela 9: Associação entre ancestralidade e sorologia positiva.

Variável Independente	Categorias	OR*	IC 95% OR		P-valor
			Inferior	Superior	
Ameríndia	Não	1,000	-	-	-
	Sim	3,287	0,867	12,461	0,080
Africana	Não	1,000	-	-	-
	Sim	2,520	0,561	11,320	0,228
Europeia	Não	1,000	-	-	-
	Sim	0,388	0,238	0,632	< 0,001

* OR: Odds Ratio

Discussão

Enteroparasitoses constituem importante problema de saúde pública em países em desenvolvimento. Muitos são os parasitos responsáveis por estas infecções. Alguns, como *E. histolytica*, *E. dispar*, *Giardia lamblia*, *Hymenolepis nana*, *Taenia solium*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Cryptosporidium parvum* e *Enterobius vermicularis*, são transmitidos pela água ou alimentos contaminados. Outros, como *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *Strongyloides stercoralis*, são transmitidos por larvas presentes no solo (Neves *et al*, 2011). As enteroparasitoses estão fortemente associadas à falta de saneamento básico, higiene e condições de vida e moradia, comprometendo não apenas a saúde do indivíduo, mas também a força de trabalho impactando na geração de riquezas do país.

Os relatos de prevalência das parasitoses intestinais no Brasil disponíveis na literatura são escassos e muito circunstanciais, pois geralmente consideram populações específicas (escolares, crianças, idosos ou pacientes imunossuprimidos) e refletem apenas a realidade de pequenas localidades. Desse modo, não se conhece a prevalência dessas parasitoses em nível nacional (Braz *et al* 2014).

A amebíase é uma doença infecciosa muito intrigante. Possui rota oral-fecal, possuindo maior probabilidade de expansão em países em desenvolvimento, pela falta de investimentos em engenharia sanitária e educação, de uma maneira geral. Contudo as informações referentes à distribuição da infecção no globo mostram que as condições sanitárias não são as únicas determinantes da presença da infecção.

Fatores como o número crescente de viagens internacionais, migrações e a consequente imunossupressão de diferentes etiologias têm contribuído para o aumento do número de casos de amebíase em todo o mundo (Cernichiaro-Espinosa *et al* 2014). Algumas regiões, no entanto, por razões ainda não esclarecidas apresentam taxas de incidência de amebíase hepática extremamente elevada, como o Vietnã, por exemplo, com valores relatados de aproximadamente 21 casos por 100.000 habitantes (Ximenez *et al* 2009).

O que se pode observar é que apesar das condições favoráveis para a disseminação da infecção parasitária em muitas regiões do Brasil, os relatos de amebíase invasiva parecem se restringir a região Norte, onde, depoimentos dos profissionais envolvidos na assistência da doença, denunciam ocorrência de amebíase

invasiva, hepática ou intestinal. Em Belém-PA ocorre a maior prevalência para *E. histolytica*/*E. dispar*, com 29,5% da população residente na região metropolitana infectada (Silva *et al*, 2005). Este confinamento pode relacionar-se tanto a fatores ambientais, sanitários e alimentares da população, como também a genética dos indivíduos que habitam esta área geográfica (Fumagalli *et al.*, 2011).

A cidade de Belém é entrecortada pelos rios Guamá e Acará, que se encontram na Baía de Guajará formando muitas ilhas, apresentando alto índice pluviométrico, o que coloca a região em uma situação diferenciada de risco ambiental e de saúde. Um dos principais meios de transporte é o fluvial e a floresta ainda está muito presente na paisagem da região.

Na alimentação as frutas nativas como açaí e pupunha, ficam mais escassas a cada ano devido à baixa sustentabilidade da produção e alto custo de comercialização. Como ainda há disponibilidade de peixes devido a estrutura geográfica do local, este ainda é um alimento preferencialmente consumido com farinha de mandioca e/ou açaí (Santana *et al* 2014).

Diante do exposto, investigamos a possível associação de fatores nutricionais, ambientais, higiênico-sanitários, e sociais na maior prevalência de enteroparasitoses e também de sorologia positiva para amebíase na região.

Não encontramos associação entre nenhum dos fatores analisados com a presença de enteroparasitos ou sorologia positiva para amebíase. Resultados semelhantes foram encontrados por Gil *et al* (2013), que verificaram alta prevalência de enteroparasitoses em comunidades da periferia de Belo Horizonte, sem encontrar associação com fatores ambientais e de estrutura sanitária. Estes resultados sugerem que comportamentos individuais poderiam relacionar-se a maior transmissão de enteroparasitos nas duas regiões.

Contudo gostaríamos de ressaltar outra possibilidade de interpretação destes resultados remetendo a capacidade de discernimento de cada entrevistado.

Houve uma procura voluntária significativa de indivíduos para participar desta pesquisa, denotando a carência da população em relação a atenção à saúde. No entanto, por falta de estrutura adequada, espaço físico e colaboradores, vários foram dispensados.

Nas respostas ao questionário colocadas durante a entrevista houve diversos relatos espontâneos sobre a ocorrência de infecções parasitárias em vários episódios ao longo da vida dos indivíduos. Muitos conviveram em sua infância nas comunidades

ribeirinhas ou mesmo utilizaram as águas dos rios e mananciais para consumo ou lazer, e no relato usaram expressões de dor para externar os episódios de colite e diarreia vividos, descreviam como “*um nó na tripa*” sintoma de forte dor abdominal.

Na orientação sobre o objetivo da pesquisa, antes da assinatura do TCLE, alguns participantes demonstraram dificuldade de compreensão da informação repassada. Perguntas curiosas surgiram, como: “*o que é esse tal de DNA?*” e “*de onde vem o verme?*”, desafiando a capacidade de clareza e objetividade nas respostas aos questionamentos.

No entanto, vamos fazer algumas colocações que julgamos pertinentes para contextualizar os leitores à realidade de Belém e aos riscos para aquisição de infecções por parasitos intestinais.

6.1. Enteroparasitoses

As precárias condições socioeconômicas na região estudada, bem como a falta de saneamento básico na maioria das localidades, expõe a população a maior risco de contrair infecções com rota oral-fecal. Na Região Norte do Brasil a ocorrência de parasitoses intestinais é elevada, principalmente na população ribeirinha, área com maior deficiência de saneamento básico. Os resultados de Silva et al (2014) revelaram positividade em 94,5% no Exame Parasitológico de Fezes (EPF), sendo encontrado entre os protozoários, *Entamoeba* sp. (36,26%) como o mais frequentes.

Dentre os indivíduos arrolados, 195 forneceram material para o exame de fezes. Em 40% das amostras avaliadas no EPF, foi encontrada alguma espécie de parasito. O complexo *E. histolytica*/*E. dispar* apresentou 9,7% de positividade. Números excepcionais para o Brasil, contudo considerados baixos quando comparados aos números encontrados na literatura para esta região (Silva et al 2005). No entanto, devemos salientar que estas amostras foram obtidas de uma só coleta fecal. Os outros trabalhos se referem a prevalência de enteroparasitos em amostras obtidas de três coletas formalizadas em dias alternados. Outro aspecto a salientar se refere a conservação do material, que foi mantido congelamento em Belém para depois ser encaminhado para Belo Horizonte onde o exame de fezes foi executado. Muitas das amostras estavam apresentando corpos deteriorados, sem definição para diagnóstico. Assim, concluímos que o material poderia conter muito mais parasitos que os por nós identificados, incluindo *E. histolytica*/*E. dispar*.

Segundo Rey (2010) o tempo decorrido entre a evacuação das fezes e sua condução ao laboratório pode influenciar no resultado, o ideal é que a investigação ocorra em três amostras fecais, em períodos alternados de no máximo dez dias, assim aumenta a segurança do resultado na investigação de enteroparasitos, pois contempla a intermitência no seu ciclo evolutivo.

No Brasil a distribuição geográfica da amebíase é bem diversificada, comunidades localizadas nas regiões Sudeste e Nordeste apresentam um reduzido número de indivíduos infectados por *E. histolytica/dispar* em relação a região Norte.

Macedo et al (2010) encontrou *E. histolytica/E. dispar* em 34 amostras (2,0%) em estudo no Rio de Janeiro.

Em investigação realizada em Alagoas em 68 (3,8%) amostras fecais analisadas por microscopia optica foi detectada a presença do complexo *E. histolytica / E dispar* (Duarte 2013).

Gil et al. (2013), avaliando a prevalência de enteroparasitoses em comunidades da periferia de Belo Horizonte, identificou 3,5% de infectados com o complexo.

O multiparasitismo é situação comum entre os pacientes desta pesquisa, neste estudo outros parasitos também foram encontrados, os dados apontam para uma prevalência de *Blastocystis hominis* (25,6%) e *Endolimax nana* (8,2%).

Cordeiro e Macedo (2007) demonstraram importante associação entre *E. histolytica/E. dispar* e *B. hominis*, de 34 casos positivos para *E. histolytica / E. dispar*, 20 casos (58,8%) apresentavam também *B. hominis*, apontando uma possível influência de um sobre a patogenicidade do outro, como ocorre em relação às bactérias da flora intestinal.

6.2.Sorologia

A sorologia para amebíase constituiu o cerne deste trabalho. A amebíase, infecção por *E. histolytica*, pode acontecer em todo o globo, contudo infecções sintomáticas são mais frequentes em determinadas regiões. A amebíase assintomática não produz resposta de anticorpos detectável em imunodiagnósticos convencionais. O oposto é observado para os casos sintomáticos, onde ocorre invasão dos tecidos intestinais ou extra-intestinais pelas amebas com sorologia positiva na quase totalidade dos casos por tempo desconhecido, mesmo depois do tratamento (Haque et al., 2000; Gandhi et al., 1987; Jacson et al., 1984; Juniper et al., 1972; Krupp e Powell, 1971;

Yang e Kennedy, 1979). Considerando o exposto, podemos concluir que a sorologia positiva é um marcador de gravidade e prevalência da infecção numa região.

Em Minas Gerais, a princípio, não há relatos de amebíase grave, a maioria das infecções é assintomática. A quase totalidade dos exames sorológicos realizados aqui é negativo, mesmo aqueles com suspeita de invasão hepática e/ou intestinal. Assim decidimos realizar a coleta de material no Norte, para maximizar a possibilidade de encontrar pessoas com a doença. No entanto, nesta região o diagnóstico geralmente é presuntivo. Indivíduos apresentando sintomas de hepatomegalia e colite disenterica grave são tratados para amebíase. Assim foi difícil encontrar alguém com a doença atual. Muitos dos nossos entrevistados relataram terem sido tratados para amebíase (a doença é bem conhecida na região). Neste embate, a sorologia tornou-se a ferramenta para identificar amebíase invasiva, ativa ou regressa.

Há um número reduzido de trabalhos na região estudada utilizando o método ELISA para sorologia na pesquisa de ameba, os dados documentados na literatura apresentam valores obtidos apenas no EPF, coproantígeno e PCR. O método utilizado em uma investigação pode subestimar ou superestimar a prevalência da doença. A técnica de ELISA apresenta alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de amebíase (Tan et al, 2013).

Métodos imunológicos e moleculares apresentam melhor sensibilidade e especificidade em relação a microscopia ótica. A detecção de anticorpos pelo teste ELISA é uma das ferramentas mais utilizadas no diagnóstico de amebíase invasiva extra intestinal, como o abscesso hepático amebiano, apresentando sensibilidade de 90%. Nas formas invasivas intestinais a sensibilidade fica em torno de 70% para anticorpos anti *E. histolytica* no soro (Sánchez-Guillén et al 2002, Tanyuskel & Petri 2003).

A sorologia positiva para amebíase pode indicar infecção anterior, tendo em vista, que a IgG para *E. histolytica*, detectada pelo método, pode ser encontrada no indivíduo anos após ter sido infectado (Santos e Soares 2008). Porém, altos títulos de IgG, são observados apenas no começo da infecção, algumas semanas do início dos sintomas de colite amebiana e abscesso hepático amebiano (Weber et al. 2006, Sánchez-Guillén et al. 2002).

Os resultados encontrados na sorologia dos 318 participantes desta pesquisa apontaram para uma alta frequência (44,03%) de amebíase na comunidade estudada. No entanto, este método é pouco utilizado como rotina no diagnóstico devido ao seu custo, associado a subnotificação da doença na região, culminando em ausência de dados

documentados que possam ser utilizados como parâmetro para manejo estratégico do controle da amebíase.

Visando identificar *E. histolytica* nas amostras positivas para o complexo no exame de fezes, realizamos o teste de coproantígenos específicos para *E. histolytica*.

Participantes que apresentaram sorologia positiva também tiveram o material fecal processado para o ensaio imunoenzimático específico para identificação de *E. histolytica*. Nenhuma das 174 amostras avaliadas foi positiva. Possivelmente devido aos baixos valores de antígenos presente nas amostras. Segundo Acuna-Soto *et al* (1993), altos níveis de antígenos de *E. histolytica* são necessários para sua detecção, sugerindo a inabilidade deste kit em detectar baixo número de parasitos nas amostras, especialmente em indivíduos assintomáticos em áreas de endemicidade, que podem estar infectados com ambos os tipos de amebas.

6.3.Fatores ambientais, sanitários e nutricionais.

Os entrevistados, em sua maioria consumiam água da rede geral de abastecimento (55,7%), no entanto, há uma porcentagem significativa de indivíduos que utilizam água de poço (44,7%), quando questionados sobre o fato, estes justificaram que a qualidade da água que chega as torneiras seria o principal motivo da escolha. Em conversa informal com pesquisadores do IEC sobre a qualidade da água tratada distribuída para a população da grande Belém, estes colocaram que se observa que a água que sai da central de abastecimento é de boa qualidade, no entanto, ao longo da trajetória até chegar a torneira do domicílio poderia ser contaminada por tubulações inadequadas (antigas, danificadas) e/ou no próprio reservatório das casas.

As pessoas que afirmaram utilizar água de rios e igarapés para beber sem tratamento algum foram categorizadas como *outros* (0,9%), este valor é considerado baixo se comparado ao total da amostragem, esse dado é atribuído ao fato que a maioria dos entrevistados reside em áreas urbanas, perfil diferente das comunidades ribeirinhas.

Durante a entrevista várias pessoas afirmaram utilizar água mineral para beber, no entanto, como os recursos financeiros muitas vezes são limitados, acabam alternando com água da torneira. Este depoimento foi bastante recorrente e observa-se nesta afirmação a exposição ao fator de risco associado a baixa educação sanitária, já que o entrevistado desconhece a importância desta conduta para a aquisição de doenças. Estes participantes foram então orientados, ao final da entrevista, a consumir *água filtrada*, já que resolveria a questão da qualidade da água de beber e tornaria desnecessário o

consumo de água mineral, gerando economia para a família, esse método de tratamento da água é utilizado por 29,9%, que afirmaram filtrar a água antes do consumo.

Os participantes que faziam *cloração* na própria residência moravam em comunidades ribeirinhas, sem acesso a rede de abastecimento e foram orientados a utilizar este método por agentes de saúde que visitam seus domicílio. Diziam fazer cloração na “*água do pote*” utilizada para beber ou na “*caixa d’água*”.

A ingestão de água ou alimentos contaminados com dejetos consiste em um importante fator de risco para a ocorrência de infecções parasitárias (Cardoso 2014), a maioria dos indivíduos participantes de nosso estudo (69,5%) não fazia nenhum tipo de tratamento na água consumida em seus domicílios. Apesar disto, não encontramos correlação entre o consumo de água de uma maneira geral com maior risco de infecção parasitária. Talvez este resultado se relacione a indiferença na qualidade da água proveniente da rede de abastecimento e dos poços artesianos, que, aliás, consistia de quase metade dos entrevistados.

Sabemos que não só o abastecimento de água, como também o esgotamento sanitário por rede constituem base para melhorar a qualidade de vida das pessoas e aumentar o índice de desenvolvimento humano em uma região. Doenças infecciosas são os principais entraves para o desenvolvimento de regiões que não contam com as benesses da Engenharia Sanitária (Rocha 2011). Em Belém a maioria dos entrevistados (74,2%) afirmou utilizar fossa séptica em seu domicílio. Alguns entrevistados relataram que apesar da fossa ou do banheiro, dejetos produzidos por moradores são distribuídos no entorno de suas residências. Considerando os altos índices pluviométricos na região, a disseminação de dejetos infectados torna-se realidade. Este comportamento dos entrevistados talvez possa se relacionar a indiferença na prevalência de enteroparasitoses entre os agraciados com o esgotamento sanitário por rede e aqueles que utilizam a fossa, além de considerarmos que grande parte da população em estudo não contava com esgotamento sanitário.

O tipo de moradia foi avaliado para idealizarmos a condição financeira dos entrevistados, já que obtivemos material de indivíduos de toda grande Belém. O tipo de habitação, o número de cômodos e de pessoas em cada habitação nos levou a concluir que trabalhávamos com uma população em sua maioria de baixa renda.

Os padrões de consumo de alimentos dependem de fatores como condições socioeconômicas e demográficas, aspectos culturais e históricos da vida de cada

indivíduo (Azevedo et al 2014). Assim, procuramos avaliar a possibilidade de diferenças no cardápio da região Norte se relacionar a maior prevalência de amebíase.

Houve uma grande variedade de pratos citados (31 tipos) sendo o mais frequente arroz (83,6%), farinha (58,8%), carne (38,1%), frango (28,9%), peixe (25,5%), feijão (27,7%) e açaí (23,0%). Não identificamos nenhum alimento diferente dos consumidos nas outras regiões que pudesse se relacionar a maior predisposição a amebíase. Inclusive não verificamos diferenças quanto ao consumo de alimentos crus (cerca de 50% dos entrevistados os utilizam), que podem potencializar a disseminação de enteroparasitoses, principalmente devido a precária higienização dos mesmos.

A maioria dos entrevistados (51,3%) usava somente água de torneira para higienização, semelhante ao observado em outras regiões (Nolla e Cantos, 2005. Gil et al., 2013).

Os alimentos ingeridos crus mais citados foram *tomate* e *alface*, relatos de legumes geralmente foram seguidos da frase “*legumes eu como cozido*”, se referindo a cenoura, beterraba e outros. Relato de Silva et al (2014) mostra a presença de parasitos em todas as amostras de alfaces, avaliadas. Os mais frequentes foram *Entamoeba coli* (67%), *E. histolytica* (20%), *Giardia sp* (13%) e *Ascaris lumbricoides* (7%).

A desnutrição proteica pode constituir importante fator predisponente para aquisição de infecções (Corware et al., 2014). Avaliamos a ingesta proteica de alto valor nutritivo nos participantes através do consumo de leite e carne. Foram avaliadas também a ingesta de álcool como fator predispositor para desnutrição.

A maioria dos indivíduos afirmou consumir carnes e leite com grande frequência. O consumo de álcool se manteve no razoável (18,6%) não havendo exacerbações que culminassem em perigo para a saúde. Assim nossa população de estudo não apresentou carências nutricionais.

Nossos resultados corroboram com estudo realizado por Azevedo (2014) que encontrou, frequência reduzida de consumo de legumes, frutas e hortaliças e elevado consumo de carnes, embutidos, leite e derivados em mais de 1/3 da população estudada.

6.4. Ancestralidade e Sorologia para amebíase

Na região Norte, como em todo Brasil, encontra-se grande miscigenação de ameríndios, europeus e africanos, nossas três raízes étnicas. Esta região foi colonizada principalmente por europeus Portugueses e índios Tupinambás (Cardoso 2014). Isto

explica os achados deste estudo em que a maioria dos participantes apresentou ancestralidade europeia (75,8%), seguida de ameríndia (14,6%) e em menor percentual de africanos (9,6%). O efeito da etnia na prevalência de doenças, assim como sob sua forma clínica, é amplamente estudado, entretanto, não há relatos de investigação sobre a ancestralidade de indivíduos e sua susceptibilidade a infecções parasitárias.

Neste estudo, procuramos avaliar a maior ocorrência de amebíase sintomática no Norte do Brasil, associando a sorologia para a doença com a ancestralidade. A escolha da sorologia como marcador neste estudo, se justifica pela apresentação da amebíase nos indivíduos infectados. A amebíase é classificada como infecção sintomática ou assintomática do homem pelo parasito *E. histolytica*.

A infecção assintomática é presumida por acontecer na luz intestinal sem haver invasão tecidual. Neste caso, o diagnóstico sorológico convencional é geralmente negativo (Braga et al., 1996; Benetton, 2003). A amebíase sintomática é presumida por acontecer invasão da submucosa intestinal e de outros órgãos. Neste caso a sorologia é positiva quase na totalidade dos casos avaliados (Haque et al., 2000; Gandhi et al., 1987; Jacson et al., 1984; Juniper et al., 1972; Krupp e Powell, 1971; Yang e Kennedy, 1979).

Considerando o exposto, podemos concluir que a sorologia positiva é um marcador de gravidade e maior prevalência da infecção numa região. Utilizamos a sorologia para identificar infecções ativas ou antigas, já que neste estudo visamos associar a predisposição para amebíase invasiva com ancestralidade. Assim, não importava se o indivíduo estava ou esteve doente.

Vários estudos têm sido realizados na tentativa de estimar a contribuição das populações parentais para a formação de populações, utilizando-se polimorfismos genéticos clássicos, polimorfismo de DNA nuclear, marcadores de DNA mitocondrial e marcadores do cromossomo Y. Estes estudos demonstram que dependendo do marcador genético utilizado, a contribuição de genes ancestrais pode variar bastante (Lopes Maciel 2011).

A ancestralidade do povo brasileiro tem sido avaliada usando diferentes marcadores genéticos. Utilizando marcadores uniparentais, foram avaliados polimorfismos de DNA na porção não-recombinante do cromossomo Y e na região hipervariável do DNA mitocondrial (mtDNA). A grande maioria dos cromossomos Y, independentemente da região, mostraram ser de origem europeia (Carvalho-Silva et al., 2001 e 2006). Estudos de mtDNA revelaram uma realidade diferente: para o Brasil

como um todo, 33%, 39% e 28% das matrilineagens eram de origem Ameríndia, Europeu e Africano, respectivamente (Alves-Silva et al., 2000).

Trabalhos recentes tem apresentado um grau de miscigenação diferente do caracterizado, as disparidades regionais brasileira definida pela ascendência usando mtDNA foram mantidas, no entanto, com o uso de marcadores biparentais foram observados valores mais homogêneos nas diversas regiões do Brasil (Pena 2011).

A ancestralidade do povo brasileiro foi avaliada usando marcadores genéticos biparenterais, escolhidos dentro da base de dados de Weber *et al.* (2002). Com este conjunto de 40 *indels* consegue-se reproduzir com alto valor discriminatório a identificação dos principais grupos étnicos documentados no Brasil: ameríndios, europeus e africanos. Os marcadores autossômicos biparentais, fornecem informações mais completas sobre estrutura populacional humana a nível mundial (Royal et al 2010, Bastos-Rodrigues 2006, Cann *et al* 2002)

Neste estudo, foram avaliados 178 indivíduos residentes na grande Belém. Destes, 78 (43.8%), apresentaram sorologia positiva para amebíase. A maioria dos participantes apresentou um padrão de mistura interétnica similar a da população de Belém, com maior contribuição de genes europeus (Santos et al., 2009).

A comparação entre os grupos com sorologia positiva e negativa e a estimativa de ancestralidade, revelou que a estratificação populacional, no caso da sorologia positiva (amebíase invasiva) se associou significativamente a ancestralidade indígena e africana.

Talvez estes resultados possam ser explicados pela grande frequência de ascendências de mtDNA ameríndia na região amazônica (Pena et al., 2009), apesar da homogeneidade das frequências nas ancestralidades no Brasil como um todo (Alves-Silva et al., 2000), a maioria das matrilineagens na região Norte teve origem ameríndia (54%). Somado ao exposto, encontra-se os achados de maior ancestralidade ameríndia na região mesmo usando marcadores biparenterais, como os nossos (Santos et al., 2009; Pena et al., 2011). Assim para embasarmos nossa suspeita investigamos o percentual de ancestralidade ameríndio nos três grupos de dominância avaliados. O grupo africano teve maior percentagem de ancestralidade ameríndia e vice versa. O grupo com dominância europeu apresentou baixa proporção de ancestralidade africana e ameríndia, não havendo diferença significativa do percentual de ancestralidade europeia entre os grupos de dominância ameríndio e africano.

Avaliamos ainda o impacto do conjunto das três ancestralidades na sorologia positiva. Somente a ancestralidade europeia impactou de forma significativa na sorologia positiva, sendo que a cada 10% de aumento na ancestralidade europeia, reduz em 6,1% a chance de ocorrer sorologia positiva. Resumindo, indivíduos com alto grau de ancestralidade europeu tem menor probabilidade de desenvolver amebíase invasiva. Estes resultados talvez possam explicar a baixa prevalência de amebíase sintomática em outras regiões do Brasil, onde predominam a mistura de africanos e europeus, com uma maior proporção de ancestralidade europeia na mistura (Cardena et al., 2013, Pena et al. 2011). Estes resultados nos estimulam a hipotetizar que os europeus possam ter conseguido modular a *E. histolytica* para um organismo menos agressivo, que em resposta a pressão alterou seu genótipo, passando a ser reconhecida como nova espécie, a *E. dispar*.

Em conclusão, nosso estudo revelou que quanto maior a contribuição de ancestralidade europeia em um indivíduo, menor a chance de desenvolver amebíase invasiva. Considerando a grande mistura interétnica no Brasil, outras regiões devem ser estudadas para confirmação destes resultados dando prosseguimento aos estudos dos mecanismos envolvidos na proteção e predisposição de europeus, africanos e ameríndios a amebíase invasiva.

7.0. Conclusões

O ineditismo da proposta deste trabalho, ao identificar a infecção amebiana sintomática (ativa ou não) sob a luz da sorologia e associar sua prevalência com ancestralidade genômica dos indivíduos, tem grande relevância para a literatura médica e científica, sinalizando para uma releitura da relação ameba-hospedeiro.

Foi observada grande prevalência de enteroparasitoses na população estudada,

Foi observada grande prevalência de *E. histolytica*/*E. dispar* na população estudada, comparada a outras regiões do Brasil

A amebíase invasiva, detectada pela sorologia, se mostrou muito prevalente na população estudada, corroborando com as descrições dos entrevistados e a expectativa para a região.

Os fatores ambientais, nutricionais e sanitários não se associaram a infecções parasitárias e nem a sorologia para amebíase.

Observou-se subestruturação genômica na população estudada semelhante a encontrada na cidade de Belém, tirando possíveis vieses relacionados a estratificação social.

A ancestralidade africana e ameríndia impactou de forma significativa para a presença da sorologia positiva,

A ancestralidade europeia impactou de forma significativa na sorologia positiva, sendo que a cada 10% de aumento na ancestralidade europeia, reduziu em 6,1 a chance de ocorrer sorologia positiva.

8.0.Referências Bibliográficas

Abe-Sandes K, Silva JR WA & Zago M A 2004. Heterogeneity of the Y chromosome in Afro-Brazilian populations. **Human Biology**, 77-86.

Ackers JP & Mirelman D 2006. Progress in research on *E. histolytica* pathogenesis. **Current Opinion in Microbiology**, 9(4): 367-373.

Ackers JP 2002. The diagnostic implications of the separation of *E. histolytica* and *Entamoeba dispar*. **Journal of Biosciences**, 27(6): 573-578.

Acuna-Soto R, Samuelson J, Girolami P, Zarate L, MillanVelasco F, Schoolnick G, Wirth D 1993. Application of polymerase chain reaction amplification to the epidemiology of pathogenic and non pathogenic *E. histolytica*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 48(1): 58-70.

Ali IKM, Mondal U, Roy S, Haque R, Petri W A, Clark CG 2007. Evidence for a link between parasite genotype and outcome of infection with *E. histolytica*. **Journal of Clinical Microbiology**, 45(2): 285-289.

Ali IKM, Solaymani-Mohammadi S, Akhter J, Roy S, Gorrini C, Calderaro A, Clark CG 2008. Tissue invasion by *E. histolytica*: evidence of genetic selection and/or DNA reorganization events in organ tropism. **PloS Neglected Tropical Diseases**, 2(4): e219.

Alves-Silva J, da Silva Santos M, Guimarães PE, Ferreira AC, Bandelt HJ, Pena JD, Prado V 2000. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **American Journal of Human Genetics**, 67:444–461.

Assembleia Legislativa do Estado do Pará. Lei Complementar nº 027, de 19 de outubro de 1995: **Institui a Região Metropolitana de Belém e dá outras providências**. Diário Oficial do Estado do Pará, Belém, n. 28.370, p. 2, Cad.1, 19 outubro 1995.

Assembleia Legislativa do Estado do Pará. Lei Complementar nº 072, de 20 de abril de 2010: Altera a Lei Complementar nº 027, de 19 de outubro de 1995; **Incorpora o**

Município de Santa Izabel a Região Metropolitana. Diário Oficial do Estado do Pará, Belém, n. 31.656, p. 9, Cad.4, 30 abr. 2010.

Azevedo EC, da Silva Diniz A, Monteiro JS & Cabral PC 2014. Padrão alimentar de risco para as doenças crônicas não transmissíveis e sua associação com a gordura corporal—uma revisão sistemática. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, 19(5).

Bamshad MJ 2003. Human Population Genetic Structure and Inference of Group Membership. **American Journal of Human Genetics**, 72: 578-589.

Bastos-Rodrigues L, Pimenta JR, Pena SDJ 2006. The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. **Annals of Human Genetics**, 70: 658–665.

Batzler MA Deininger PL 1994. A human-specific subfamily of Alu sequences. **Genomics**, 9: 481-487.

Batzler MA & Deininger PL 2002. Alu repeats and human genomic diversity. **Nature Reviews Genetics**, 3(5): 370-379.

Benetton MLFN 2003. **Estudo epidemiológico para identificação de fatores de risco para amebíase na cidade de Manaus-Amazonas.** PhD Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 169 pp.

Boettner DR & Petri WA 2005. E. histolytica activates host cell caspases during contact-dependent cell killing. In: **Role of Apoptosis in Infection**. Springer Berlin Heidelberg, 175-184 pp.

Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR & Cavalli-Sforza LL 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. **Nature** (368): 455-7.

Braga LL, Lima AA, Sears CL, Newman RD, Wuhib T, Paiva CA, Guerrant RL and Mann BJ 1996. Seroepidemiology of *E. histolytica* in a slum in northeastern Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, 55 (6): 693-697.

Braga LL, Gomes ML, Silva MW, Paiva C, Sales A, Mann BJ 2001. *E. histolytica* and *Entamoeba dispar* infections as detected by monoclonal antibody in an urban slum in Fortaleza, Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 34 (5): 467-471.

Braz AS, de Andrade CAF, da Mota, LM H e Lima CMBL 2014. Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia sobre diagnóstico e tratamento das parasitoses intestinais em pacientes com doenças reumáticas autoimunes. **Revista Brasileira de Reumatologia**.

Brumpt E 1925. Etude sommaire de l'Entamoeba dispar n. sp. Amibe a kystes quadrinuclees parasite de l'homme. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, 94: 943-952.

Callegari-Jacques SM, Salzano FM 1999. Brazilian Indian/non-Indian interactions and their effects. **Ciência e Cultura**, 51:166-174.

Callegari-Jacques SM, Grattapaglia D, Salzano FM, Salamoni SP, Crossetti SG, Ferreira ME & Hutz MH 2003. Historical genetics: spatiotemporal analysis of the formation of the Brazilian population. **American Journal of Human Biology**, 15(6): 824-834.

Cann HM, De Toma C, Cazes L et al. 2002. A human genome diversity cell line panel. **Science** 296: 261–262.

Cardena MMSG 2013. **Avaliação da relação entre haplogrupo mitocondrial e ancestralidade genômica no desenvolvimento de insuficiência cardíaca em amostra brasileira**. Dissertação. Universidade de São Paulo, São Paulo, 133 p.

Cardoso A 2014. Guerra híbrida no atlântico equinocial. Índios, portugueses e espanhóis na conquista do Maranhão e Grão-Pará (1614-1616). **História Revista**, 18(2).

Cardoso BC 2014. **Avaliação da incidência de enteroparasitos em crianças e manipuladores de alimentos no centro de referência em educação infantil**. Monografia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 51 p.

Carvalho-Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SD 2001. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. **The American Journal of Human Genetics**, 68(1): 281-286.

Carvalho-Silva DR, Tarazona-Santos E, Rocha J, Pena SDJ, Santos FR 2006. Y chromosome diversity in Brazilians: switching perspectives from slow to fast evolving markers. **Genetica**, 126: 251–260.

Cavalli - Sforza LL, Menozzi P, Piazza A 1994. **The History and Geography of Human Genes**. Princeton University Press, 1088 pp.

Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF 1971. **The genetics of human population**. W.H. Freeman, San Francisco, 965pp.

Cernichiaro-Espinosa LA, Segura-Ortega JE, Panduro A, Moreno-Luna LE 2014. Amebic Liver Abscess: A New Perspective on the Prognosis of Patients in an Endemic Area Regional Referral Center. **Journal Liver**, 3:142.

Chakraborty R, Kamboh MI, Nwankwo M, Ferrell RE 1992. Caucasian genes in American blacks: new data. **American Journal of Human Genetics**, 50(1): 145.

Clark CG 1998. Entamoeba dispar: an organism reborn. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 92(4): 361-364.

Coon CS 1965. **The living races of man**. Knopf, New York, 39pp.

Cordeiro TGP, De Macedo HW 2007. Amebíase. In: **Revista de Patologia Tropical**, Rio de Janeiro, 36(2): 119-128.

Corware K, Yardley V, Mack C, Schuster S, Al-Hassi H, Herath S ... & Kropf P 2014. Protein energy malnutrition increases arginase activity in monocytes and macrophages. **Nutrition & Metabolism**, 11(1): 51.

Craig CF 1905. Observations upon amebas infecting the human intestine with a description of two species, *Entamoeba coli* and *Entamoeba dysenterie*. **American Journal of Medical**, 9: 854-861, 897-903, 936-942.

Cunha AS, Castro L, Rocha P 1991. Amebíase. In: **Tópicos em Gastroenterologia Tropical**. Editora Medsi, Rio de Janeiro, 287-316p.

Cunha AS, Silva EF, Raso P, Mello SM 1977. Pathogenesis of amebiasis.1. Clinical aspects of amebiasis in Brazil. Study of 3 groups of population of 3 different geographic regions. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, 19: 289-300.

Debortoli G 2013. **Elaboração de um painel de marcadores de ancestralidade para estudos caso-controle e organização das informações em banco de dados local**. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 112 p.

Diamond LS & Clark CG 1993. A redescription of *E. histolytica* Schaudinn, 1903(Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 40(3): 340-344.

Diamond LS 1968. Techniques of axenic cultivation of *E. histolytica* Schaudinn, 1903 and *E. histolytica*-like amebae. **Journal of Parasitology**, 54(5):1047-1056.

Dobell C 1919. **The amoebae living in man: A zoological monograph**. John Bale Sons and Danielsson .W.Wood & Company, London, p.

Dornelles CL, Callegari-Jacques SM, Robinson WM, Weimer TDA, Franco MHL, Hickmann AC ... & Salzano FM 1999. Genetics, surnames, grandparents' nationalities,

and ethnic admixture in Southern Brazil: Do the patterns of variation coincide? **Genetics and molecular biology**, 22(2): 151-161.

De Carli GA. Parasitologia Clínica: Seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. Editora Atheneu, São Paulo, 2001.

Duarte, IAC, Santos RV, Fontes G, Galindo LF, Ximenes RAA, Maciel MAV, Aca IS, Rocha EMM 2013. Prevalencia de infección por *E. histolytica* en escuelas públicas de la ciudad de Maceió, Alagoas, Brasil. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, 65(1): 4-12.

Durso DF 2014. **Estudo da estrutura genética de populações brasileiras baseado em polimorfismos de DNA associados à autodeclaração da cor da pele**. PhD Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 133 pp.

Enoch MA, Shen PH, Xu K, Hodgkinson C, Goldman D 2006. Using ancestry-informative markers to define populations and detect population stratification. **Journal of Psychopharmacology**, 20(4 suppl): 19-26.

Fagundes NJ, Kanitz R, Eckert R, Valls AC, Bogo MR, Salzano FM, Smith DG, Silva WA Jr, Zago MA, Ribeiro-Dos Santos AK, Santos SE, Petzl-Erler ML, Bonatto SL 2008. Mitochondrial population genomics supports a single pre-Clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. **American Journal of Human Genetics**, 82(3): 583-592.

Fagundes NJR, Kanitz R, Bonatto SL 2008. A reevaluation of the Native American mtDNA genomic diversity and its bearing on the models of early colonization of Beríngia. **PLoS One**, 3(9): e3157.

Frederick JR & Petri WA 2005. Roles for the galactose-/N-acetylgalactosamine-binding lectin of *Entamoeba* in parasite virulence and differentiation. **Glycobiology**, 15(12): 53R-59R.

Fumagalli M, Sironi M, Pozzoli U, Ferrer-Admettla A, Pattini L & Nielsen R 2011. Signatures of environmental genetic adaptation pinpoint pathogens as the main selective pressure through human evolution. **PLoS genetics**, 7(11): e1002355.

Gandhi BM, Irshad M, Chawla TC & Tandon BN 1987. Enzyme linked protein-A: an ELISA for detection of amoebic antibody. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 81(2): 183-185.

Gil FF, Busatti HG, Cruz VL, Santos JF, Gomes MA 2013. High prevalence of enteroparasitosis in urban slums of Belo Horizonte-Brazil. Presence of enteroparasites as a risk factor in the family group. **Pathogens and global health**, 107(6): 320-324.

Gomes MA, Melo MN, Macedo AM, Pires E, Pena GPM, Caliari MV, Silva EF 2000. Characterization of *E. histolytica* and *E. dispar* by biological, biochemical and molecular parameters. **Archives of Medical Research**, 31: 249-250.

Gunther J, Shafir S, Bristow B, Sorvillo F 2011. Amebiasis-Related Mortality among United States Residents, 1990–2007. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 85(6): 1038-1040.

Harris H, Hopkinson DA 1972. Average heterozygosity per locus in man: an estimate based on the incidence of enzyme polymorphisms. **Annals of Human Genetics**, 36: 9-20.

Haque R, Mollah NU, Ali IK, et al. Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the Techlab Entamoeba histolytica II antigen detection and antibody tests. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3235–9.

Herbinger KH, Fleischmann E, Weber C, Perona P, Loscher T, Bretzel G 2011. Epidemiological, clinical, and diagnostic data on intestinal infections with *E. histolytica* and *Entamoeba dispar* among returning travelers. **Infection**, 39(6): 527–535.

Huston CD 2004. Parasite and host contributions to the pathogenesis of amebic colitis. **Trends in Parasitology**, 20(1): 23-26.

Huston CD, Haque R, Petri WA 1999. Molecular-based diagnosis of *E. histolytica*. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, 1(9):1-11.

IBGE. Censo Demográfico 2010. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br>, acesso em 13/01/2015.

Imperato PJ 1981. A historical overview of amebiasis. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, 57(3): 175-187.

Jackson TFHG, Anderson CB & Simjee AE 1984. Serological differentiation between past and present infection in hepatic amoebiasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 78(3): 342-345.

Juniper K, Worrell CL, Minshew MC, Roth LS, Cypert H & Lloyd RE 1972. Serologic diagnosis of amebiasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, 21(2): 157-168.

Koch R & Graffiki G 1887. Bericht uber die thatizkeit der sur Erfuschung der Cholera im Jahre 1883 nach Egypten und Indien Ensandten Kommission. **Arb. K. Gesundth Amt**.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC 2008. Diagnóstico microbiológico. 6. ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1488 pp.

Krupp IM & Powell SJ 1971. Comparative Study of the Antibody Response in Amebiasis Persistence after Successful Treatment. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, 20(3): 421-424.

Leippe M 1997. Amoebapores. **Parasitology Today**, 13(5): 178-183.

Leippe M, Bahr E, Tannich E & Horstmann RD 1993. Comparison of pore-forming peptides from pathogenic and nonpathogenic *E. histolytica*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, 59(1): 101-109.

Leippe M, Müller-Eberhard HJ 1994. The pore-forming peptide of *E. histolytica*, the protozoan parasite causing human amoebiasis. **Toxicology**, 87(1), 5-18.

Lejeune M, Rybicka J M, Chadee K 2009. Recent discoveries in the pathogenesis and immune response toward *E. histolytica*. **Future Microbiology** 4: 105–118.

Loftus B, Anderson I, Davies R, Alsmark UCM, Samuelson J, Amedeo P ... & Clark C G 2005. The genome of the protist parasite *E. histolytica*. **Nature**, 433(7028): 865-868.

Lopes Maciel LG, Ribeiro Rodrigues EM, Carneiro dos Santos NP, Ribeiro dos Santos Â, Guerreiro JF, Santos S 2011. Afro-derived Amazonian populations: inferring continental ancestry and population substructure. **Human Biology**, 83(5): 627-636.

López-Vancell R, Montfort I & Pérez-Tamayo R 2000. Galactose-specific adhesin and cytotoxicity of *E. histolytica*. **Parasitology Research**, 86(3): 226-231.

Macedo HW, Gonçalves AMH, Almeida CB, Dias LVB, Muniz MF 2010. Infecção por *Blastocystis hominis* e *E. histolytica*/*Entamoeba dispar* em pacientes atendidos em um hospital localizado em Niterói, Rio de Janeiro. **Revista de Patologia Tropical**, 39(1): 56-62.

MacFarlane RC & Singh U 2006. Identification of differentially expressed genes in virulent and nonvirulent *Entamoeba* species: potential implications for amebic pathogenesis. **Infection and Immunity**, 74(1): 340-351.

Maldonado-Bernal C, Kirschning CJ, Rosenstein Y, Rocha LM, Rios-Sarabia N, Espinosa-Cantellano M ... & Isibasi A 2005. The innate immune response to *E. histolytica* lipopeptidophosphoglycan is mediated by toll-like receptors 2 and 4. **Parasite Immunology**, 27(4): 127-137.

Manrique OR, Romero HU, Barrios MH & Muñoz JF 2002. Evaluación de la actividad de polimorfonucleares neutrófilos frente a antígenos de cepas patógenas de *E. histolytica*. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, 54(2): 96-100.

Martínez-Baez M 1989. **Introducción histórica. In: Amebiasis.** Medica Panamericana, Bogotá, 11-16 pp.

McKeigue PM 2005. Prospects for admixture mapping of complex traits. **The American Journal of Human Genetics**, 76(1): 1-7.

Melo, MDCB, Klem VGQ, Mota JAC & Penna FJ 2004. Parasitoses intestinais. **Rev Med Minas Gerais**, 14: 3-12.

Mendes-Junior CT & Simões AL 2001. Alu insertions and ethnic composition in a Brazilian population sample. **Int J Hum Genet**, 1(4): 249-254.

Mohanty S, Sharma N & Deb M 2014. Microscopy versus enzyme linked immunosorbent assay test for detection of *E. histolytica* infection in stool samples. **Tropical parasitology**, 4(2): 136.

Moncada D, Keller K, Ankri S, Mirelman D, Chadee K 2006. Antisense Inhibition of *E. histolytica* Cysteine Proteases Inhibits Colonic Mucus Degradation. **Gastroenterology**, 130(3): 721-730.

Moonah SN, Jiang NM, Petri Jr WA 2013. Host Immune Response to Intestinal Amebiasis. **PLoS Pathogens**, 9(8): 1-4.

Moonah SN, Jiang NM & Petri Jr WA 2015. Human Genetic Susceptibility to Amebiasis. In **Amebiasis** (pp. 487-495). Springer Japan.

Moran P, Ramos F, Ramiro M, Curiel O, Gonzalez A, Gomez A, Garcia G 2005. Melendro, E.I.; Ximenez, C. *E. histolytica* and *Entamoeba dispar*: infection frequency in HIV+/AIDS patients in México City. **Experimental Parasitology**, 110: 331-334.

Nagata N, Shimbo T, Akiyama J, Nakashima R, Nishimura S, Yada T, ... & Uemura N 2012. Risk factors for intestinal invasive amebiasis in Japan, 2003–2009. **Emerging infectious diseases**, 18(5): 717.

Neves DP, De Melo AL, Vitor RWA 2011. **Parasitologia Humana**, 12.ed. São Paulo: Atheneu. 494pp.

Nolla AC & Cantos GA 2005. Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos e aspectos epidemiológicos em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Cad Saúde Pública**, 21(2): 641-5.

Ocádiz R, Orozco E, Carrillo E, Quintas LI, Ortega-López J, García-Pérez RM, Rodríguez MA 2005. EhCP112 is an *E. histolytica* secreted cysteine protease that may be involved in the parasite-virulence. **Cellular Microbiology**, 7(2): 221-232.

Okazaki M, Miranda P, Neto J, Diegues V, Alves J, Cauas M, ... & Takeuchi T 1988. Parasitological and serological studies on amoebiasis and other intestinal parasitic infections in Recife and its suburban area, Northeast Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, 30: 313-321.

Oliveira, MAA 2011. **Prevalência de enteroparasitoses em comunidade carente de Fortaleza-Ce: comparação entre duas décadas**. Dissertação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 74 pp.

Organização Mundial de Saúde (OMS) 1997. A consultation with experts on amoebiasis. México City, México. **Epidemiological Bulletin**, 18: 13-14.

Parra EJ *et al*, 1998. Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles. **American Journal Human Genetics**, 63(6): 1839-51.

Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SDJ 2003. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 100(1): 177-182.

Pena SD, Di Pietro G, Fuchshuber-Moraes M, Genro JP, Hutz MH, Kehdy F de S, Kohlrausch F, Magno LA, Montenegro RC, Moraes MO, de Moraes ME, de Moraes MR, Ojopi EB, Perini JA, Racciopi C, Ribeiro-Dos-Santos AK, Rios-Santos F, Romano-Silva MA, Sortica VA, Suarez-Kurtz G 2011. The genomic ancestry of

individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PLoS One**, 16; 6(2): e17063.

Pena SDJ, Bastos-Rodrigues L, Pimenta JR, Bydlowski SP 2009. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 42: 870–876.

Perdomo D, Aït-Ammar N, Syan S, Sachse M, Jhingan GD, Guillén N 2015. Cellular and proteomics analysis of the endomembrane system from the unicellular *E. histolytica*. **Journal of Proteomics**, 112: 125-140.

Pereira JF 2010. **Análise de polimorfismos de inserção ALU como marcadores de ancestralidade em estudo caso- controle de coronariopatas do estado da Bahia**. Dissertação, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 76 p.

Pereira VV, Conceição ADS, Maximiano LHS, Belligoli LDQG, Silva ESD 2014. Laboratory diagnosis of amebiasis in a sample of students from southeastern Brazil and a comparison of microscopy with enzyme-linked immunosorbent assay for screening of infections with *Entamoeba* sp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 47(1): 52-56.

Petri Jr. WA 2002. Pathogenesis of amebiasis. **Curr Opin Microbiol**, 5: 443-447.

Pfaff CL, Barnholtz-Sloan J, Wagner JK, Long JC 2004. Information on ancestry from genetic markers. **Genetic epidemiology**, 26(4): 305-315.

Pimenta JR, Zuccherato LW, Debes AA, Maselli L, Soares RP, Moura-Neto RS, Rocha J, Bydlowski SP, Pena SDJ 2006. Color and Genomic Ancestry in Brazilians: A Study with Forensic Microsatellites. **Human Heredity**, 62(4): 190-195.

Pinheiro SM, Carneiro RM, Aca IS, Irmao JI, Morais MA, Coimbra MR, Carvalho LB 2004. Determination of the prevalence of *E. histolytica* and *E. dispar* in the Pernambuco state of northeastern Brazil by a polymerase chain reaction. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 70(2): 221-224.

Pinilla AE, Lopez MC, Viasus DF 2008. Historia del protozoo *E. histolytica*, **Revista Médica del Chile**, 136(1): 118-124.

Póvoa MM, Arruda JE, Silva MC, Bichara CN, Esteves P, Gabbay YB, Machado RL 2000. Diagnosis of intestinal amebiasis using coproscopic and immunological methods in a population sample in greater metropolitan Belem, Pará, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, 16: 843-846.

Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, 155(2): 945-959.

Pritt BS, Clark CG 2008. Amebiasis. **Mayo Clinic Proceedings**, 83 (10): 1154-1160.

Pucciarelli HM, Gonzalez-Jose R, Neves WA, Sardi ML, Rozzi FR 2008. East-West cranial differentiation in pre-Columbian populations from Central and North America. **Journal of Human Evolution**, 54: 296-308.

Que X & Reed SL 2000. Cysteine proteinases and the pathogenesis of amebiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, 13(2): 196-206.

Quincke H and Ross EI 1893. Uber amben-enteritis. **Berliner Klinische Wochenschrift**, 30:1089-1094.

Ramos F, Moran P, González E, García G, Ramiro M, Góiez A, Carie M, León G, Melendro EI; Váldéz A, Ximénes C 2005. *E. histolytica* and *Entamoeba dispar*: prevalence infection in a rural mexican community. **Experimental Parasitology**, 110: 327-330.

Ravdin JI 1995. Amebiasis. **Clinical and Infectious Diseases**, 20: 1453-1466.

Ray DA, Walker JA, Hall A, Llewellyn B, Ballantyne J, Christian AT, Turteltaub K, Batzer MA 2005. Inference of human geographic origins using Alu insertion polymorphisms. **Forensic Science International**, 153(2): 117-124.

Raza A, Iqbal Z, Muhammad G, Ahmad M, Hanif K 2013. Amebiasis as a Major Risk to Human Health: A Review. **International Journal of Molecular Medical Science**, 3(3): 13-24.

Redaelli M, Mahmoodhzad J, Lang R, Schenckin M 2013. Globalised World, Globalised Diseases: A case report on amoebiasis associated colon perforation. **World Journal Clinical Cases**, 1(2): 79-81.

Resende TDA 2014. **Variação do gene SLC45A2 e associação com a cor da pele e ancestralidade genética africana em quilombos Brasileiros**. Dissertação, Universidade de Brasília, Brasília, 82 p.

Rey, L. **Bases da Parasitologia Médica**, 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 379p.

Rocha TJM, Braz JC, Silveira LJD, Calheiros CML 2011. Relação entre aspectos socioeconômicos e a ocorrência de ectoparasitoses em uma comunidade do litoral norte alagoano. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, 43(4): 271-6.

Royal CD, Novembre J, Fullerton SM, Goldstein DB, Long JC, Bamshad MJ, Clark AG 2010. **Inferring genetic ancestry: opportunities, challenges, and implications**. **The American Journal of Human Genetics**, 86(5): 661-673.

Salles JM et al 2007. Invasive amebiasis: an update on diagnosis and management. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, 3(5): 893–901.

Salles JM, Moraes LA, Salles MC 2003. Hepatic amebiasis. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 7(2): 96-110.

Salzano FM, Bortolini MC. 2002. **Evolution and genetics of Latin American populations**. Cambridge, England: Cambridge University Press, 512 p.

Samie A, Elbakri A, Abuodeh R 2012. Amebiasis in the Tropics: Epidemiology and Pathogenesis. In: **Current Topics in Tropical Medicine**, 201-226.

Sánchez-Guillén MC, Pérez-Fuentes R, Salgado-Rosas H, Ruiz-Arguelles A, Ackers J, Shire A, Talamás-Rohana P 2002. Differentiation of *E. histolytica* / *Entamoeba dispar* by PCR and their correlation with humoral and cellular immunity in individuals with clinical variants of amoebiasis. **American Journal Tropical and Medicine Hygiene**, 66(6): 731-737.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 74: 5463–5467.

Santana ACD, Santana ÁLD, Santana ÁLD, Santos MASD & Oliveira CMD 2014. Multiple discriminant analysis of the retail açaí market in Belém do Pará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 36(3): 532-541.

Santos, Fabrício R. "O povoamento das Américas através de estudos de ancestralidade paterna." 2008. Disponível em: <http://www.fumdam.org.br/fumdhamentos7/artigos>. Acesso em: 15 de jan de 2015.

Santos HLC, Martins LAF, Peralta RHS, Peralta JM, Macedo HWD 2014. Frequency of amoebiasis and other intestinal parasitoses in a settlement in Ilheus City, State of Bahia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, (AHEAD), 00-00.

Santos NP, Ribeiro-Rodrigues EM, Ribeiro-dos-Santos ÂK, Pereira R, Gusmão L, Amorim A, Guerreiro JF, Zago MA, Matte C, Hutz MH, Santos SE 2010. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48–insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. **Human Mutation**, 31(2): 184-190.

Santos RV, Fry PH, Monteiro S, Maio MC, Rodrigues JC, Bastos-Rodrigues L & Pena SD 2009. Color, race, and genomic ancestry in Brazil. **Current Anthropology**, 50(6): 787-819.

Santos SEB, Guerreiro JF 1995. The indigenous contribution to the formation of the population of the Brazilian Amazon region. **Braz J Genet**, 18:311–315.

Santos FLN, Soares NM 2008. Mecanismos fisiopatogênicos e diagnóstico laboratorial da infecção causada pela *E. histolytica*. **Jornal Brasileiro Patologia Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, 44(4): 249-261.

Schaudinn F 1903. Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a.d. Kaiserl. **Gesundh Amte.**, 19: 547-576.

Shriver MD *et al* 1997. Ethnic Variation as a Key to the Biology of Human Disease. **Annals of Internal Medicine**, 127(5): 401-403.

Shriver MD *et al* 2003. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. **Human Genetics**, 112(4): 387-99.

Silva EF 1997. ***E. histolytica*: Isolamento, axenização e caracterização de diferentes cepas através de parâmetros morfológicos, bioquímicos e de patogenicidade “in vivo” e in vitro**”. PhD Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 384p.

Silva EF, Gomes MA. **Amebíase: *E. histolytica*/E. *dispar***. In: Neves DP, De Melo AL, Vitor RWA. Parasitologia Humana, 12.ed. São Paulo: Atheneu. 2011, 127-138p.

Silva MCM, Monteiro CSP, Araújo BAV, Silva JV, Póvoa MM 2005. Determinação da infecção por *E. histolytica* em residentes da área metropolitana de Belém, Pará, Brasil, utilizando ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de antígenos. **Cadernos de Saúde Pública**, 21(3): 969-973.

Silva PSC 2006. **Parasitoses Intestinais entre os Índios Suruí, Região Amazônica, Brasil**. Dissertação, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 149p.

Silva AMBD, Bouth RC, Costa KSD, Carvalho DCD, Hirai KE, Prado RR ... & Ribeiro KTS 2014. Ocorrência de enteroparasitoses em comunidades ribeirinhas do Município de Igarapé Miri, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, 5(4): 45-51.

Stanley SL Jr 2003. Amoebiasis. **The Lancet**, 361(9362): 1025-1034.

Stauffer W & Ravdin JI 2003. *E. histolytica*: an update. **Current Opinion in Infectious Diseases**, 16(5): 479-485.

Talamás-Lara D, Chávez-Munguía B, González-Robles A, Talamás-Rohana P, Salazar-Villatoro L, Durán-Díaz Á, Martínez-Palomo A 2014. Erythrophagocytosis in *E. histolytica* and *Entamoeba dispar*: A Comparative Study. **BioMed Research International**, 2014.

Tan ZN, Wong WK, Noordin R, Zeehaida M, Olivos GA & Lim BH 2013. Efficacies of two in-house indirect ELISAs for diagnosis of amoebic liver abscess. **Tropical Biomedicine**, 30(2): 250-256.

Tanyuskel M, Petri WA 2003. Laboratory diagnosis of amebiasis. **Clinical Microbiology**, 16(4):713-729.

Tavares P, Rigotherier MC, Khun H, Roux P, Huerre M & Guillén N 2005. Roles of cell adhesion and cytoskeleton activity in *E. histolytica* pathogenesis: a delicate balance. **Infection and Immunity**, 73(3): 1771-1778.

Teló EP 2010. **Estimativa de mistura étnica avaliada por Marcadores Informativos de Ancestralidade (AIMs) e Microsatélites (STRs)**. Dissertação, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz/MS, Salvador, 68 p.

Vianna EN, Costa JO, Santos CKS, Cury MC, Silva EF, Costa AO, Gomes MA 2009. An alternative method for DNA extraction and PCR identification of *E. histolytica* and *E. dispar* in fecal samples. **Parasitology**, 136: 765-769.

Walker EL 1911. A comparative study of amoeba in the manila water supply in the intestinal tract of healthy persons and amoebic dysentery. **Phillip. J. Sci.**, 6: 259-279.

Weber JL, David D, Heil J *et al* 2002. Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, 71:854–862.

Weber C, Guigon G, Bouchier C, Frangeul L, Moreira S, Sismeiro O ... & Guillén N. 2006. Stress by heat shock induces massive down regulation of genes and allows differential allelic expression of the Gal/GalNAc lectin in *E. histolytica*. **Eukaryotic cell**, 5(5): 871-875.

Wiser MF 2010. **Entamoeba and Amebiasis**. In: Protozoa and Human Disease, 1. Ed.: Garland Science, Estados Unidos, 250pp.

Ximénez C, Morán P, Rojas L, Valadez A, Gómez A 2009. Reassessment of the epidemiology of amebiasis: State of the art. **Infection, Genetics and Evolution**, 9 (6): 1023–1032.

Ximénez C, Morán P, Rojas L, Valadez A, Gómez A, Ramiro M, Cerritos R, González E, Hernández E, Oswaldo P 2011. Novelties on Amoebiasis: A Neglected Tropical Disease. **Journal of Global Infectious Diseases**, 3(2): 166–174.

Yanagihara R *et al* 1995. Molecular phylogeny and dissemination of human Tcell lymphotropic virus type I viewed within the context of primate evolution and human migration. **Cellular and Molecular Biology** (Noisy-le-grand), 41(1): 145-61.

Yang JAMES & Kennedy MT 1979. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of amebiasis. **Journal of clinical microbiology**, 10(6): 778-785.

Zago, MA, Silva Jr WA, Tavella MH, Santos SEB, Guerreiro JF & Figueiredo MS 1996. Interpopulational and intrapopulational genetic diversity of Amerindians as revealed by six variable number of tandem repeats. **Human Heredity**, 46(5): 274-289.

Zlobl TL 2001. Amebiasis. **Primary Care Update for OB/GYNS**, 8(2): 65-68

Anexo I



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 0081.0.203.000-10

**Interessado(a): Profa. Maria Aparecida Gomes
Departamento de Parasitologia
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 20 de outubro de 2010, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Ancestralidade genômica como fator predisponente para amebíase invasiva"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Assinatura manuscrita em tinta preta, com uma caligrafia fluida e elegante.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

Anexo II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

TÍTULO DO PROJETO:	Ancestralidade genômica como fator predisponente para amebíase invasiva
--------------------	---

O(a) Senhor(a) está sendo solicitado(a) a participar de uma pesquisa que vem sendo realizada no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, com o objetivo de estudar o protozoário *E. histolytica*, com coordenação da profa. Mércia Aurélia Gonçalves Leite. Caso o Sr(a) decida participar, deverá fornecer amostras de fezes para pesquisa de enteroparasitos e 10 mL de sangue (em caso de dificuldades para obtenção de sangue, serão usadas células da mucosa bucal, obtida por raspagem com swab) para estudarmos marcadores de virulência que possam estar envolvidos com a gravidade da doença. Informamos ainda, que não serão realizadas quaisquer intervenções novas, sem comprovações científicas consistentes.

Antes de assinar este termo o(a) Senhor(a) deve ainda estar informado(a) que:

- 1- O Senhor(a) poderá recusar-se a participar da pesquisa ou dela se afastar a qualquer momento, sem prejuízo em relação a assistência à sua saúde, e sem qualquer outro ônus.
- 2- O material fornecido pelo Senhor(a) para exames no laboratório, não será utilizado para qualquer outra finalidade além das descritas neste termo.
- 3- Os investigadores se obrigam a manter em sigilo sua identidade em qualquer publicação resultante deste estudo.
- 4- Os exames e procedimentos aplicados serão gratuitos.
- 5- Você ainda terá o benefício de ter o diagnóstico e tratamento gratuitos de eventuais patologias diagnosticadas no curso do estudo. Ou seja, caso constatada infecção por algum enteroparasito com manifestação clínica ou não, o Senhor(a) será submetido a exame clínico no Centro de Saúde da comunidade que o abriga e se necessário receberá tratamento.
- 6- Os riscos a que o Senhor(a) será submetido serão aqueles relacionados aos efeitos colaterais dos tratamentos das enteroparasitoses, tratamentos estes já consagrados.
- 7- Você será submetido a um questionário a respeito de questões como: idade, tipo de moradia, tipo de água para consumo, tipo de esgoto na residência, tipo de alimentação e manuseio da mesma.
- 8- Lembre-se ainda que todas as dúvidas poderão ser esclarecidas pelos entrevistadores antes de você decidir assinar este termo.
- 9- Para participantes menores de 18 anos, os pais serão os responsáveis pelo consentimento e pelas respostas do questionário, caso o menor seja incapaz de fazê-lo. Adolescentes (13-17 anos) receberão juntamente com os pais um TCLE para assinarem.

Declaro estar ciente do conteúdo deste Termo de Consentimento, decidindo-me a participar da pesquisa proposta depois de ter feito perguntas e recebido respostas satisfatórias a todas elas, e ciente de que poderei voltar a fazê-las a qualquer tempo. Declaro, pois, dar meu consentimento para participar dessa pesquisa, recebendo uma cópia do Termo, estando ciente de que outra cópia permanecerá registrada nos arquivos do Departamento de Parasitologia.

Nome do voluntário: _____
Endereço do voluntário _____
Assinatura do voluntário ou responsável: _____
Assinatura do investigador: _____
Nome da Testemunha: _____
Assinatura da Testemunha: _____
Local e Data: _____
Assinatura Pesquisador _____

Telefone pesquisador: (66)8138-7200, Mércia Aurélia Gonçalves Leite. Endereço UFMG: Av. Ant. Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005.Cep: 31270-901 – BH – Minas Gerais.

Anexo III

Inquérito Sanitário-Alimentar

Objetivo:

Identificar a partir dos dados coletados, procedimentos, hábitos alimentares e higiênico-sanitários que possam contribuir para a incidência de doenças infecciosas com rota de contaminação oral-fecal.

1)Sexo:

() M () F

2)Abastecimento de água:

() Rede geral () Poço () outro

3)Você faz algum tratamento de água no seu domicílio:

() Filtração

() Cloração

() Fervura

() Sem tratamento

4)Esgotamento sanitário em uso:

() Rede geral

() Fossa séptica

() outro

() Não tem

5)Destino do lixo:

() Coletado

() Queimado/enterrado

() Céu aberto

() Outro

6)Qual o tipo de construção de sua habitação (alvenaria, pau-a-pique, madeira, palafitas), quantos cômodos e qual o número de pessoas que vivem lá?

7)Verificar o tamanho das unhas e aspecto das mãos (Unhas grandes? Mãos sujas?)

8)No local onde você trabalha há fornecimento de refeição ou tíquete refeição?

9)Qual refeição você não consome em casa e quem a prepara?

10)Qual seu prato preferido? Com que frequência você o consome? (Importante: descrever a comida do dia a dia do indivíduo)

11)Qual(is) tipo(s) de alimento(s) cru(s) você gosta mais (verduras, legumes e frutas). Com que frequência o consome? Cultiva algum em sua residência? Como eles são higienizados?

12)Com que frequência você consome carnes ?

13)Com que frequência você consome leite?

14) Você faz consumo de bebidas alcoólicas? Com que frequência?

() sim / 1 x semana () sim/ 2 x ou mais por semana () não