

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA**

**YAGO RANNIERE TEIXEIRA SANTANA**

**AFERIÇÃO DA CARGA DE INFESTAÇÃO DA TUNGÍASE NO SOLO POR  
REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL NA TERRA  
INDÍGENA YANOMAMI**

**BRASÍLIA**

**2023**

**YAGO RANNIERE TEIXEIRA SANTANA**

**Aferição da carga de infestação da tungíase no solo por reação em cadeia da polimerase em tempo real na terra indígena Yanomami**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade de Brasília para obtenção do título de mestre em Saúde Coletiva, na área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ciro Martins Gomes.

**BRASÍLIA**

**2023**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

RS232a Ranniere Teixeira Santana, Yago  
Aferição da carga de infestação da tungiase no solo por  
reação em cadeia da polimerase em tempo real na terra  
indígena Yanomami / Yago Ranniere Teixeira Santana;  
orientador Ciro Martins Gomes. -- Brasília, 2023.  
73 p.

Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Saúde  
Coletiva) -- Universidade de Brasília, 2023.

1. Tungiase. 2. Ectoparasitoses. 3. Doenças tropicais  
negligenciadas. 4. Ambiente. I. Martins Gomes, Ciro,  
orient. II. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Yago Ranniere Teixeira Santana**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade de Brasília para obtenção do título de mestre em Saúde Coletiva, na área de concentração: Ciências da Saúde.

Aprovado em: \_\_/\_\_/\_\_.

### BANCA EXAMINADORA

#### **Presidente**

Prof. Dr. Ciro Martins Gomes

Instituição: Universidade de Brasília - UnB

#### **Membros**

Prof. Dr. Rafael Santos Santana

Instituição: Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Daniel Holanda Barroso

Instituição: Universidade de Brasília - UnB

#### **Suplente**

Prof. Dr. Renata Velozo Timbó

Instituição: Universidade de Brasília - UnB

Data de depósito da dissertação junto à SPG: \_\_/\_\_/\_\_.

## **YAGO RANNIERE TEIXEIRA SANTANA**

<b>Nascimento</b>	02 de março de 1992 Manaus - Amazonas
<b>2011 - 2015</b>	Curso de Graduação em Enfermagem na Universidade Paulista.
<b>2015 - 2016</b>	Aperfeiçoamento em Saúde da Pessoa Idosa da Universidade Federal do Maranhão.
<b>2015 - 2017</b>	Distrito Sanitário Especial Indígena Alto Rio Solimões da Secretaria de Saúde Indígena do Ministério da Saúde.
<b>2017 - 2018</b>	Curso de Especialização em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.
<b>2018 - 2018</b>	Distrito Sanitário Especial Indígena Manaus da Secretaria de Saúde Indígena do Ministério da Saúde.
<b>2018 até a presente data</b>	Secretaria de Saúde Indígena do Ministério da Saúde.
<b>2022-2022</b>	Treinamento em Saúde Ocular, Vigilância e Controle do Tracoma, pelo Ministério da Saúde.
<b>2022 até a presente data</b>	Programa de Treinamento em Epidemiologia Aplicada aos Serviços do SUS, pelo Ministério da Saúde.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho a Deus, aos Orixás que me acompanham e às minhas mães.

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, primeiramente pela oportunidade de viver essa vida extraordinária de muitos desafios.

À **Renata Timbó**, técnica do Laboratório de Dermatocologia da Faculdade de Medicina, que não mediu esforços para realizar as análises laboratoriais e pela parceria no trabalho de campo.

À **população indígena**, em especial aos Sanumá, população com quem trabalhamos no Projeto, obrigada pela oportunidade gratificante de ver nossas ações fazendo a diferença na vida de vocês.

Aos **gestores e colegas da SESAI**, que direta e indiretamente contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho e que me deram força quando estava a esmorecer, tenho certeza de que todo esforço é em prol da melhoria da saúde da população indígena.

Às **minhas mães**, que sempre estiveram ao meu lado me incentivando em todas as minhas escolhas.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao meu orientador,

**Prof. Dr. Ciro Martins Gomes**

Por aceitar o desafio de me orientar nessa empreitada.

Por comprar a causa das Doenças Tropicais Negligenciadas,  
Agradeço por todas sua contribuição e seus ensinamentos que foram muito  
importantes para a minha formação.

Meu agradecimento e admiração.

Muito obrigado!



## **EPIGRAFE**

*A persistência é o caminho do êxito.*

*(Charles Chaplin)*

## RESUMO

Santana, Y.R.T. Aferição da carga de infestação da tungíase no solo por reação em cadeia da polimerase em tempo real na terra indígena Yanomami [dissertação]. Brasília: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília; 2023.

**Introdução:** A tungíase é uma ectoparasitose causada pelo sifonáptero *Tunga penetrans*, membro da família dos tungídeos originários das américas, sendo comum nas zonas rurais de todo o Brasil. A *T. penetrans* é o agente causador da tungíase, uma doença negligenciada, que está relacionada a regiões em desenvolvimento social e com falta de caracterização epidemiológica adequada, que se agrava com a ausência de métodos confiáveis para monitoramento da infestação do solo ou a ausência desses resultados de ações de controle. **Objetivo:** O presente estudo consiste em desenvolver ferramenta molecular para monitorar a infestação por *T. penetrans* em solos da terra indígena Yanomami. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, analítico que objetiva desenvolver métodos moleculares para dosagem da *T. penetrans* no solo. Foram desenhados iniciadores específicos para detecção do DNA do parasita e alvos genéticos sintéticos para controle por meio de clonagem gênica. Um protocolo de extração e quantificação do DNA do solo por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) foram validados. Foram avaliados solos da população residente próxima ao polo base Auaris, região Yanomami, Roraima, Brasil. **Resultados:** A ação da Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI) realizou avaliação e tratamento de 555 indivíduos residentes em 78 domicílios. Destes, 45 indivíduos apresentavam tungíase ativa. Na presente pesquisa, as condições ambientais e estratégias de avaliação do solo foram comparadas com a ocorrência da tungíase no nível individual. O número de moradores que moravam em cada casa variava de 2 a 16 indivíduos. Nenhuma das casas avaliadas eram divididas internamente por paredes. Todas as casas foram construídas no formato quadrado ou retangular, com área variando de 5 a 9 metros quadrados. Cinquenta e quatro das 78 casas avaliadas (69,23%) continham paredes em todos os lados e uma porta, mas 5 (6,41%) tinham pelo menos um lado sem parede e 19 (24,36%) não tinham paredes. A amostragem de solo foi feita de 18 casas (23,08%) das 78 avaliadas. Comparando-se o achado do solo com a ocorrência de tungíase, o nível de infestação do solo medido pelo método direto foi maior para a casa dos indivíduos com tungíase ativa ( $p < 0,001$ ). Os dados laboratoriais demonstraram resultados de validação adequados para detecção e quantificação do DNA de *T. penetrans* no solo. A quantificação molecular da tungíase nos solos avaliados também demonstrou que maiores quantidades de DNA foram relacionadas com maior ocorrência de tungíase ( $p = 0,002$ ). **Discussão:** O presente estudo confirma que a infestação do solo pela *T. penetrans* está relacionada à infecção humana. Os dados mostram também que ferramentas moleculares podem ser utilizadas para a avaliação de ações de combate à tungíase em áreas remotas do território brasileiro.

**Palavras-chave:** Tungíase; Ectoparasitoses; Doenças tropicais negligenciadas; Ambiente

## ABSTRACT

Santana, Y.R.T. Measurement of the load of tungiasis infestation in the soil by real-time polymerase chain reaction in the Yanomami indigenous land. [dissertation]. Brasília: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília; 2023.

**Introduction:** Tungiasis is an ectoparasitosis caused by the siphonapter *Tunga penetrans*. A member of the tungidae family, it is native to Central and South America and is a common parasite in rural areas throughout Brazil. *T. penetrans* is the causative agent of tungiasis. It is a neglected disease that affects underdeveloped regions and does not have an adequate epidemiological characterization. Soil control is essential, but there are no reliable methods for monitoring the infestation or the outcome of control actions. **Objective:** The main objective of the present study is to develop a molecular tool to monitor *T. penetrans* infestation in indigenous soils. **Methods:** This is a cross-sectional, analytical study that aims to develop a molecular method for measuring *T. penetrans* in soil. Specific primers were designed for detection of parasite DNA and synthetic genetic targets for control by means of gene cloning. A protocol for extracting and quantifying soil DNA by real-time polymerase chain reaction (qPCR) was validated. Soils from the resident population near the Auaris base pole, Yanomami region, Roraima, Brazil were evaluated. **Results:** The action of the Special Secretariat for Indigenous Health (SESAI) carried out evaluation and treatment of 555 individuals living in 78 households. Of these, 45 individuals had active tungiasis. In the present research, environmental conditions and soil assessment strategies were compared with the occurrence of tungiasis at the individual level. The number of residents who lived in each house ranged from 2 to 16. None of the evaluated houses were internally divided by walls. All the houses were built in a square or rectangular format, with an area ranging from 5 to 9 square meters. Fifty-four of the 78 (69.23%) houses evaluated had walls on all sides and a door, but 5 (6.41%) had at least one side without a wall and 19 (24.36%) had no walls. Soil sampling was carried out in 18 houses (23.08%) of the 78 evaluated. Comparing the soil finding with the occurrence of tungiasis, the level of soil infestation measured by the direct method was higher for the homes of patients with active tungiasis ( $p < 0.001$ ). Laboratory data demonstrated adequate validation results for detection and quantification of *T. penetrans* DNA in soil. Molecular quantification of tungiasis in the evaluated soils also showed that higher amounts of DNA were related to a higher occurrence of tungiasis ( $p = 0.002$ ). **Discussion:** The present study confirms that soil infestation by *T. penetrans* is related to human infection. The data also show that molecular tools can be used to evaluate actions to combat tungiasis in remote areas of the Brazilian territory.

**Keywords:** Tungiasis; Ectoparasitoses; Neglected tropical diseases; Environment.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Infestação de tungíase na mão.....	20
<b>Figura 2</b> - Infestação de tungíase na região interglútea.....	21
<b>Figura 3</b> - Ciclo de desenvolvimento e transmissão da <i>T. Penetrans</i> .....	22
<b>Figura 4</b> - Organização e modelo assistencial dos Distritos Sanitários Especiais Indígenas.....	25
<b>Figura 5</b> . Distritos Sanitários Especiais Indígenas .....	26
<b>Figura 6</b> - Mapa do território Yanomami, 2018.....	27
<b>Figura 7</b> - Pirâmide etária do DSEI Yanomami, 2020.....	29
<b>Figura 8</b> - Distribuição da população por ciclos de vida no DSEI Yanomami, 2020.....	29
<b>Figura 9</b> - Distribuição dos casos de tungíase, DSEI Yanomami, 2010 a 2020 .....	31
<b>Figura 10</b> - Imagens de exame direto de amostras de solo .....	43
<b>Figura 11</b> - Mapa do plasmídeo clonado para utilização como controle da reação em cadeia da polimerase em tempo real. ....	44
<b>Figura 12</b> - Descrição do gene alvo clonado para fins de controle com base na avaliação molecular de infestação do solo (geneart, thermofisher, waltham, eua). ....	44
<b>Figura 13</b> . Resultados de validação da análise molecular de infestações de solo.....	45
<b>Figura 14</b> - Domicílios locais nas comunidades visitadas. ....	52
<b>Figura 15</b> - Geolocalização dos casos de tungíase diagnosticados durante o estudo.....	53

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

<b>Tabela 1.</b> Distribuição da população indígena do DSEI Yanomami por sexo e faixa etária, 2020 .....	28
<b>Tabela 2.</b> Distribuição dos casos de tungíase no SasiSUS, de 2010 a 2020 .....	30
<b>Tabela 3.</b> Distribuição de casos de tungíase, DSEI Yanomami, 2011 a 2020. ....	32
<b>Tabela 4.</b> Comparações univariadas das principais características demográficas, animais e ambientais entre pacientes com e sem tungíase. ....	51
<b>Tabela 5.</b> Quantificação microscópica e molecular de parasitas em amostras de solo de casas nas seis comunidades de Auaris avaliadas .....	55
<b>Tabela 6.</b> Comparação entre as características ambientais e a ocorrência reportada de tungíase .....	57
<b>Quadro 1.</b> Revisão de literatura: histórico dos primeiros registros de surto por <i>Tunga penetrans</i> . .....	18

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>CDC</b>	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
<b>CONDISI</b>	Conselho Distrital de Saúde Indígena
<b>CONEP</b>	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
<b>DEPP</b>	Doenças Epidérmicas Parasitárias da Pele
<b>DSEI</b>	Distrito Sanitário Especial Indígena
<b>SasiSUS</b>	Subsistema de Atenção à Saúde Indígena
<b>SESAI</b>	Secretaria Especial de Saúde Indígena
<b>SVS</b>	Secretaria de Vigilância em Saúde
<b>PNASPI</b>	Política Nacional de Atenção à Saúde dos Povos Indígenas
<b><i>T. Penetrans</i></b>	<i>Tunga Penetrans</i>
<b>UnB</b>	Universidade de Brasília

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
1.1. Tungíase .....	17
1.1.1. Histórico .....	17
1.1.2. Aspectos etiológicos.....	19
1.1.3. Ciclo biológico da tunga penetrans .....	20
1.1.4. Formas clínicas da tungíase.....	22
1.1.5. Fatores de risco.....	23
1.1.6. Controle da tungíase.....	23
1.2. Subsistema de Atenção à Saúde Indígena no Âmbito do Sistema Único de Saúde.....	24
1.2.1. DSEI Yanomami .....	26
1.2.1.1. <i>Aspectos epidemiológicos</i> .....	30
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>35</b>
<b>3. HIPÓTESE DO ESTUDO .....</b>	<b>36</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>38</b>
4.1. Objetivo geral.....	38
4.2. Objetivos específicos.....	38
<b>5. METODOLOGIA .....</b>	<b>40</b>
5.1. Medidas humanas .....	40
5.2. Medidas animais.....	41
5.3. Métodos observacionais .....	41
5.3.1. Procedimentos de geolocalização e monitoramento .....	41
5.3.2. Avaliação molecular e direta de infestações de solo.....	42
5.3.2.1. <i>Método: exame direto e microscópico do solo</i> .....	42
5.3.2.2. <i>Exame molecular do solo</i> .....	43
5.3.2.2.1. Padronização da reação de pcr em tempo real .....	43
5.3.2.3. <i>Curva padrão</i> .....	45
5.3.2.4. <i>Análise molecular do solo</i> .....	46
5.4. Análise estatística.....	46
5.5. Aspectos éticos .....	48
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>50</b>
6.1. Avaliações demográficas, ambientais e de saneamento.....	50
6.2. Condições de moradia .....	52

6.3.	Análise de infestação direta do solo .....	53
6.4.	Análise de infestação molecular do solo .....	54
6.5.	Comparação analítica do solo .....	54
<b>7.</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>60</b>
<b>8.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>64</b>
<b>9.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>66</b>



## **INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA**

## 1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1. TUNGIÁSE

#### 1.1.1. Histórico

As doenças epidérmicas parasitárias de pele (DEPP) é caracterizada por um grupo de doenças causadas por parasitas que infestam ou afetam a pele e podem levar a uma série de sintomas e complicações. Apesar da carga considerável causada pela DEPP, esta categoria de doenças parasitárias tem sido amplamente negligenciada pela comunidade científica e pelos profissionais de saúde (FELDMEIER, 2009; HEUKELBACH *et al.*, 2003).

Historicamente, relatos de surtos de tungíase são raros e escassos em informações epidemiológicas (Quadro 1). Acredita-se que a tungíase tenha se originado na América Central e do Sul, onde a pulga-da-areia *Tunga penetrans* - Linnaeus, 1758 (HEUKELBACH; FRANCK; FELDMIEIER, 2004) é nativa - condição descrita pela primeira vez por exploradores e naturalistas europeus que a encontraram durante suas viagens a essas regiões - menção registrada que remonta ao século XVII (FELDMEIER, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Com a expansão do comércio, exploração e colonização, considerando rotas comerciais e marítimas observou-se a disseminação do parasita em casos envolvendo viajantes com destino a áreas endêmicas, esses registros relataram que os espanhóis conheceram e se infectaram pelo parasita quando Cristóvão Colombo aportou em Guanahani, em 12 de outubro de 1492, e quando partiram do Haiti, em janeiro de 1493 (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

**Quadro 1.** Revisão de literatura: histórico dos primeiros registros de surto por *Tunga penetrans*.

Autor, ano	Território	Contexto
Decle, 1898 (MATIAS, 1989)	Montana, Estados Unidos	Forte Raymond, um total de 230 colaboradores (160 soldados e 70 carregadores), foram acometidos pela <i>T. penetrans</i> sendo que, 72 soldados e 30 carregadores ficaram incapacitados para o serviço por consequência das úlceras causadas por esta pulga, deste quantitativo 30 homens ficaram com deformidade física (aleijados).
Jolly, 1915 (MATIAS, 1989)	Leste da África	A tropa sofreu o impacto do surto, causando incapacidade de marcha em poucas semanas.
(GORDON, 1941)	Orizaba, América do Norte.	No ano de 1863, tropas francesas enfrentaram problemas com a tungíase.
(HOEPPLI, 1963)	África	A tripulação de Thomas Mitchell em 1872, sofreu com a infestação especialmente pelo fato de desconhecem a causa.
(REISS, 1966)	Monrovia/Libéria, África	Buttikofer em visita à cidade, observou alta infestação da cidade por <i>T. penetrans</i> , ocasionando complicações à população, a citar, a perda dos dedos dos pés.
(GOLDMAN, 1976)	Quesada/México, América do Norte	Guyon em 1870, descreve o surto em tropas francesas.
(BELL; NEELY; PEEPLES, 1979)	Guiana Britânica	Richard Schomburgk, em 1840, <u>Aldeia de Warrau</u> relata;  “ ... adultos e crianças principalmente, apresentavam os pés, nádegas, cobertos de feridas e algumas extremidades deformadas pela <i>Tunga penetrans</i> . O autor refere ter experimentado uma reação dolorosa e pruriginosa nos pés, de onde um nativo retirou 83 parasitas em poucos minutos. Seguiu uma marcada inflamação.  No local da coceira há um aumento de volume do parasita causando dor. Fica uma área eritematosa com um ponto preto no centro, que são os segmentos posteriores, onde se localizam o ânus por onde os ovos são liberados ...”

No tocante aos primeiros informes sobre casos de surto de tungíase, observa-se poucas informações e reduzido relato de ocorrência na Europa e na América do Norte, sendo endêmica

na América do Sul e Central, na África Subsaariana e no oeste da Índia. Nas áreas endêmicas geralmente há reinfestação recorrente, e os indivíduos afetados podem apresentar dezenas de parasitas em diversos estágios de desenvolvimento (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Atualmente o impacto e a prevalência da tungíase é preocupante. No estudo realizado em uma comunidade em Fortaleza, nordeste do Brasil, os pesquisadores identificaram 142 indivíduos residentes nesse território que apresentavam alta carga parasitária, indicando presença significativa de tungíase. Os pesquisadores registraram vários aspectos relacionados à doença, incluindo o número de lesões, sua localização, estadiamento e patologias associadas (ARIZA *et al.*, 2007).

Os achados revelaram que os moradores da comunidade apresentavam condições de vida extremamente precárias. Foram contabilizadas 3.445 lesões nos pés, com mediana de 17 lesões por pessoa e máximo de 98 lesões. Os pés foram a área mais acometida, ressaltando a importância do calçado na prevenção da tungíase. Quase todos os indivíduos apresentaram deformidades e inchaço nas unhas, e mais de 70% deles sentiram dor e fissuras. A perda da unha foi observada em 46% dos casos, enquanto a deformação digital esteve presente em 25% dos casos. Além disso, 42% dos indivíduos apresentavam abscessos e 59% relataram dificuldade para caminhar, destacando o impacto significativo da tungíase na mobilidade e na qualidade de vida. Com base nesses achados, os pesquisadores concluíram que a tungíase nessa comunidade urbana de baixa renda no nordeste do Brasil está associada a uma patologia grave. Ressaltaram a necessidade do reconhecimento da doença como problema de saúde pública na região estudada e em outras áreas endêmicas semelhantes. Esse reconhecimento permitiria a implementação de intervenções e estratégias adequadas para prevenir e controlar a tungíase, melhorando a saúde e o bem-estar da população afetada (ARIZA *et al.*, 2007).

### **1.1.2. Aspectos etiológicos**

A tungíase é uma ectoparasitose causada pelo sifonáptero *Tunga penetrans*, membro da família dos tungídeos originário da América Central e América do Sul, comum nas zonas rurais de todo o Brasil (ARIZA *et al.*, 2007).

*T. penetrans*, agente etiológico da tungíase, popularmente chamado de “bicho de pé”, é uma doença negligenciada que está relacionada a regiões em desenvolvimento e de vulnerabilidade social e econômica, que não possuem caracterização epidemiológica adequada, habita preferencialmente solos rurais, de comunidades com baixo desenvolvimento social ou comunidades indígenas de países tropicais (CHEN; THONG; JEE, 2011; JOSEPH *et al.*, 2006).

### 1.1.3. Ciclo biológico da *Tunga Penetrans*

A *Tunga penetrans* é um tipo de pulga (macho e fêmea), que se alimenta de sangue, mas, somente a fêmea, após ser fecundada, penetra na pele (epiderme) de pessoas e de animais, onde inicia o processo de amadurecimento de seus ovos, eliminando-os no meio ambiente. A fêmea fecundada, quando penetra a pele do hospedeiro humano, expele os ovos gerando uma lesão cutânea característica da tungíase, com tropismo pelas regiões periungueal dos dedos dos pés e calcanhares, que pode também afetar outras partes do corpo, como mãos, cotovelos, nádegas e pernas (Figuras 1 e 2) (MILLER; RODRÍGUEZ, 2010).



**Fonte:** Distrito Sanitário Especial Indígena (DSEI) Yanomami, 2018.

**Figura 1** - Infestação de tungíase na mão

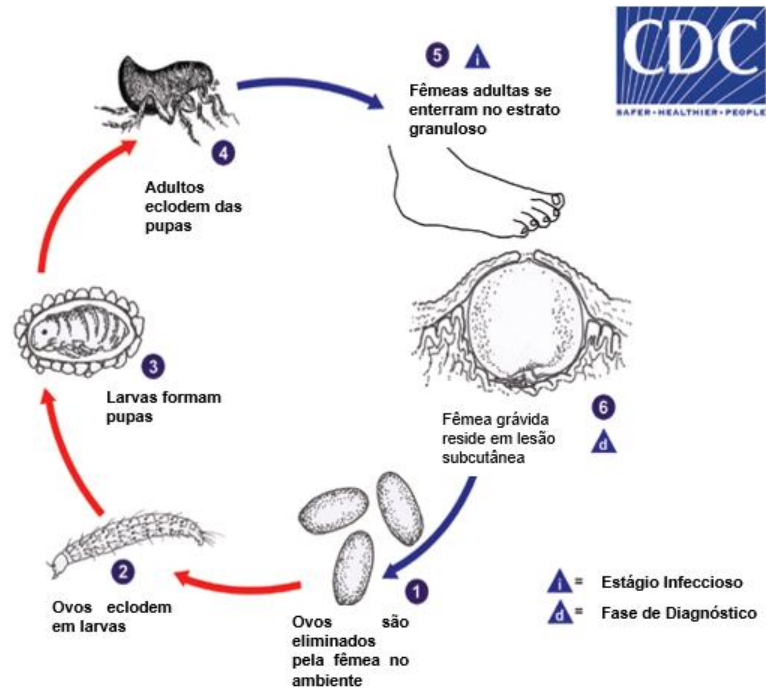


Fonte: SESAI/MS, 2021.

**Figura 2** - Infestação de tungíase na região interglútea

De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (*Centers for Disease Control and Prevention* - CDC), órgão governamental dos Estados Unidos (CDC, 2017), o ciclo de transmissão da tungíase pode ser descrito em seis estágios (Figura 3):

- 1) ovos são lançados no ambiente pela fêmea grávida;
- 2) no ambiente, no período de 3-4 dias os ovos eclodem eliminando larvas, que se alimentam de detritos orgânicos no ambiente e possuem dois estágios larvais antes de formar pupas;
- 3) as pupas ficam em casulos, por vezes recobertos com detritos do ambiente (areia, seixos, etc.);
- 4) o estágio larval e pupal levam cerca de 3-4 semanas até quando adultos eclodem das pupas;
- 5) no estágio adulto têm preferência por hospedeiros possíveis de realizar a hematofagia. Ambos, macho e fêmea, se alimentam de forma intermitente, mas apenas as fêmeas fecundadas penetram na pele (epiderme) do hospedeiro, ocasionando inchaço nodular. Depois de anexar com suas peças bucais penetram no estrato córneo e se aprisionam no estrato granuloso, com suas extremidades posteriores expostas ao ambiente; e
- 6) as pulgas fêmeas continuam a alimentação e o abdômem se estendem até cerca de 1 cm quando eliminam cerca de 100 ovos pelo período de duas semanas. Após este período elas morrem e são expelidas pela pele do hospedeiro (Figura 3).



Fonte: Adaptado do *Centers for Disease Control and Prevention*, 2017.  
**Figura 3** - Ciclo de desenvolvimento e transmissão da *T. Penetrans*

#### 1.1.4. Formas clínicas da tungíase

Segundo a classificação de Fortaleza (FELDMEIER *et al.*, 2004), a doença pode ser descrita em 5 estágios:

- 1) penetração, a *T. penetrans* penetra parcialmente à pele, causando o principal sintoma, a coceira;
- 2) início da hipertrofia do parasita, na qual aparece uma mancha central marrom de 0,5 a 2mm circundada por área eritematosa;
- 3) hipertrofia máxima, que aparece uma zona circular branca com diâmetro de três a dez milímetros com um pequeno ponto preto central, os sintomas mais comuns nessa fase são eritema, edema, sensibilidade, calor, dor, coceira intensa e descamação da camada córnea ao redor da lesão;
- 4) involução inicial da lesão com diminuição da zona hipertrófica 3 semanas após a penetração e melhora do quadro após 5 semanas em média; e
- 5) expulsão, o parasita é expulso do corpo, os resíduos clínicos podem ser observados da semana 6 até vários meses após a penetração.

Apesar de ser, tradicionalmente, uma infecção autolimitada, a doença pode gerar complicações secundárias como infecção bacteriana cutânea e patologias como tétano (FELDMEIER *et al.*, 2004).

Casos mais graves são descritos em comunidades indígenas, geralmente resultantes da tungíase disseminada com sequelas, amputações e até a morte, em que os métodos de extração manual podem ser inviáveis para quadros disseminados ou quando predisõem a complicações secundárias.

### **1.1.5. Fatores de Risco**

Considerando o número limitado de estudos que investigam fatores de risco para a presença e gravidade da tungíase, podemos identificar (SABOYÁ-DÍAZ *et al.*, 2022);

- construção precária das casas,
- presença de animais no local,
- baixo nível de escolaridade,
- uso pouco frequente de calçados.
- más condições de moradia e a ausência de piso sólido, fatores de risco independentes para a presença e gravidade da tungíase.

Outros estudos realizados em áreas rurais da Argentina, Venezuela e no Brasil especificamente em Santa Catarina também relataram fatores de risco semelhantes, como baixo nível econômico, presença de lixo no local e falta de piso sólido (SABOYÁ-DÍAZ *et al.*, 2022).

Algumas evidências circunstanciais sugerem que a tungíase não está apenas causalmente relacionada à pobreza, mas também contribui para a perpetuação desta condição social econômica. Isso implica que o fardo da tungíase pode afetar desproporcionalmente comunidades socioeconomicamente desfavorecidas, que pode exacerbar os níveis de pobreza existentes (SABOYÁ-DÍAZ *et al.*, 2022).

### **1.1.6. Controle da tungíase**

O controle da infestação em nível comunitário é complexo e não há intervenção universalmente aceita em comunidades endêmicas (BUCKENDAHL *et al.*, 2010)(HEUKELBACH *et al.*, 2003). Nesse sentido, a experiência realizada na África, sugere que a prevenção é possível por meio do uso diário de repelentes, distribuição de sapatos fechados e



construção de pisos cimentado (MILLER; RODRÍGUEZ, 2010)(MALMONTET *et al.*, 2020)(DASSONI *et al.*, 2014).

Outro relato de experiência bem-sucedida no controle da tungíase em comunidades indígenas da Colômbia foi baseada em atividades coordenadas e complementares (MILLER; RODRÍGUEZ, 2010).

As medidas imediatas de controle incluem: o tratamento das pessoas afetadas com dimeticona a 92%; ao mesmo tempo o estabelecimento de medidas comunitárias para controlar a infestação nas residências, como o umedecimento dos pisos por pulverização de água corrente; e a retirada de matéria orgânica dos pisos com vassoura (THIELECKE *et al.*, 2014).

A aplicação de inseticidas residuais piretróides no piso das residências afetadas e nos criadouros de *T. penetrans* (como casas abandonadas, currais e periferia das habitações) é medida adicional de controle que garante a quebra do ciclo biológico da *T. penetrans* (FELDMEIER *et al.*, 2004). O controle químico das pulgas nos pisos e nos locais de reprodução são acompanhadas pelo tratamento de cães, porcos e outros mamíferos domésticos infestados com dimeticona a 92% (FELDMEIER *et al.*, 2004).

## 1.2. SUBSISTEMA DE ATENÇÃO À SAÚDE INDÍGENA NO ÂMBITO DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

O Subsistema de Atenção à Saúde Indígena (SasiSUS) foi instituído em 1999, por meio da Lei 9.836 de 23 de setembro de 1999, que acrescentou dispositivos à Lei nº 8080, de 19 de setembro de 1990, que “dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências” (BRASIL, 1999).

A Política Nacional de Atenção à Saúde dos Povos Indígenas (PNASPI), promulgada em 2002, requereu a adoção de um modelo complementar e diferenciado de organização dos serviços voltados para a proteção, promoção e recuperação da saúde, que garanta aos indígenas o direito à saúde dessa população (BRASIL, 2002).

A Secretaria de Saúde Indígena (SESAI) é a área do Ministério da Saúde (MS) responsável por coordenar a PNASPI e o processo de gestão SasiSUS no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Sua criação, em 2010, originou-se da necessidade de reformulação da gestão da saúde indígena no país, reivindicada pelos próprios indígenas. Assim, a SESAI é uma conquista dos

povos indígenas e essa população é a única que conta com um subsistema de atenção à saúde dentro do SUS (BRASIL, 2019)

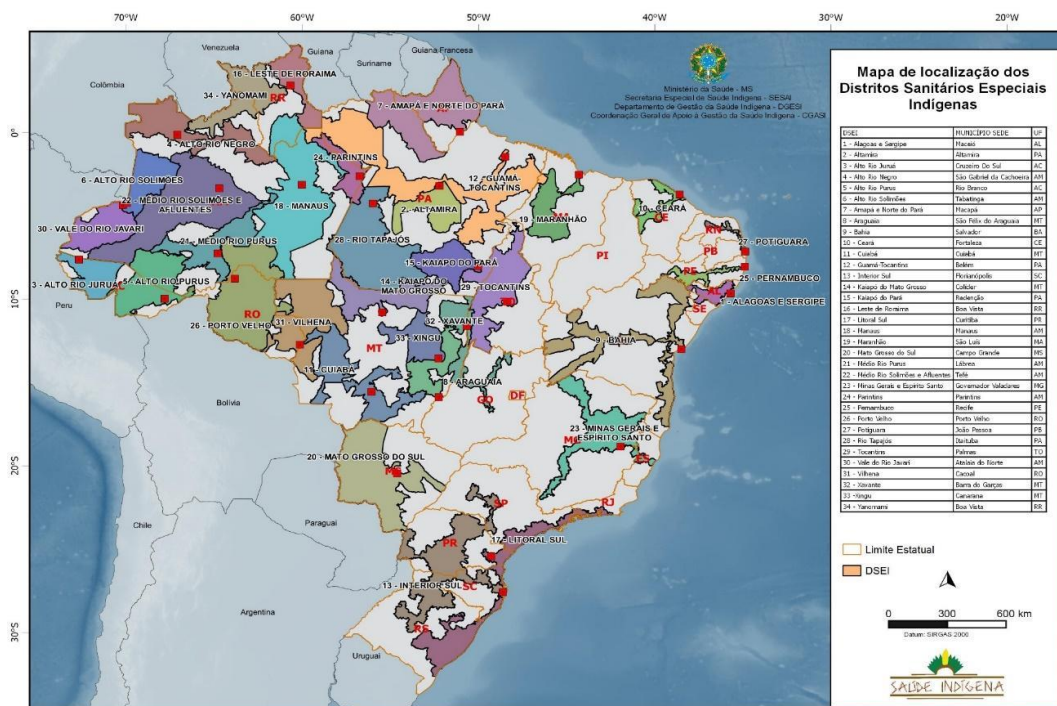
Para implementar o modelo assistencial adotado no SasiSUS (Figura 4), a SESAI executa suas ações por meio dos Distritos Sanitários Especiais Indígenas (DSEI), que se definem como espaços territoriais etnoculturais e populacionais dinâmicos.



Fonte: SESAI/MS, 2021.

**Figura 4** - Organização e modelo assistencial dos Distritos Sanitários Especiais Indígenas

As ações de atenção primária à saúde indígena e de saneamento básico são realizadas nas terras e territórios onde vivem os povos indígenas e são desenvolvidas respeitando os saberes e as práticas tradicionais de saúde, mediante a organização da rede de atenção integral, hierarquizada e articulada com o SUS. Os territórios sob a responsabilidade de cada DSEI podem abranger mais de um município e/ou estado (Figura 5) (BRASIL, 2019).



Fonte: SESAI/MS, 2021.

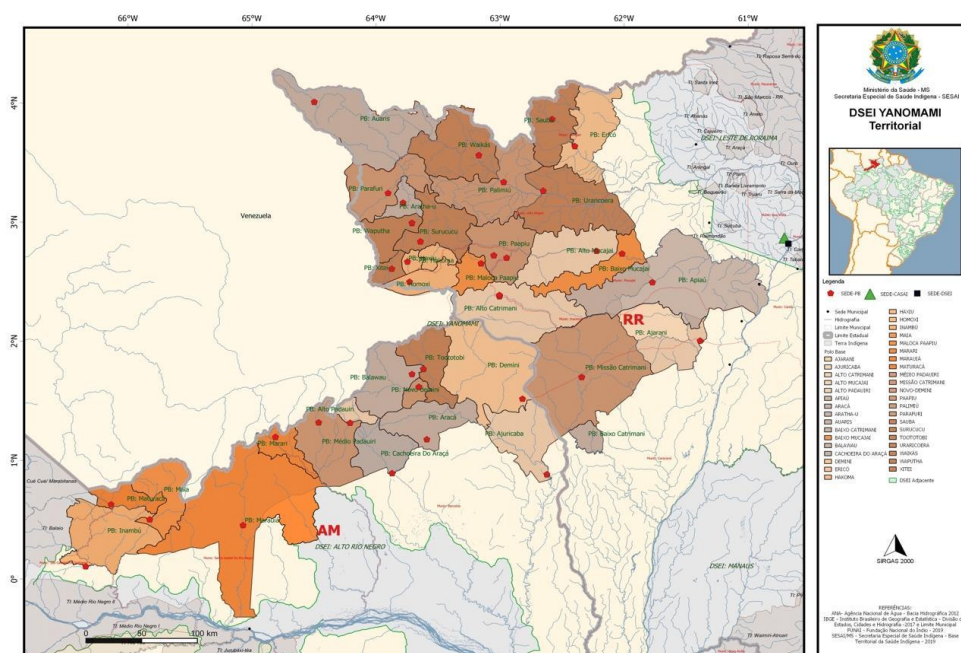
**Figura 5.** Distritos Sanitários Especiais Indígenas

Os serviços de saúde são prestados a 765.600 indígenas (SIASI, 2022) nas suas próprias comunidades, por intermédio das mais de 800 Equipes Multidisciplinares de Saúde Indígena (EMSI) vinculadas aos DSEI. Todas essas EMSI contam com Agentes Indígenas de Saúde (AIS) que, além de facilitar a interlocução com outros profissionais, são treinados para prestar serviços de atenção primária à saúde. Essa participação é extremamente relevante, considerando que a SESAI atua com 305 etnias, que falam 274 línguas diferentes e vivem em 5.614 aldeias (BRASIL, 2019).

### 1.2.1. DSEI YANOMAMI

O DSEI Yanomami está localizado na região norte do Brasil, com uma extensão territorial de 96.649,75 km<sup>2</sup>, abrangendo o extremo norte de Roraima, em divisa com o estado do Amazonas e fronteira com a Venezuela. A área de abrangência estende-se pelos municípios de Barcelos (AM), Santa Isabel do Rio Negro (AM), São Gabriel da cachoeira (AM), Alto Alegre (RR), Amajari (RR), Caracaraí (RR), Iracema (RR) e Mucajaí (RR), sendo o acesso às comunidades; 98% aéreo e 2% terrestre. A sede do DSEI localiza-se no município de Boa Vista (RR) (Figura 6). (SESAI, 2020 - Informações solicitadas via SIC).

O Distrito está estruturado em 37 Polos Base com 38 Unidades Básicas de Saúde Indígena (UBSI) que assistem 371 aldeias, além de uma Casa de Saúde Indígena (CASAI) em Boa Vista. A população está subdividida em 05 troncos linguísticos (Yanomami, Sanumá, Ninan, Yawari/Xamathari e Ye'kuana). O termo Yanomami é uma designação genérica utilizada para um conjunto de subgrupos, cada qual com sua autodenominação, a saber: Yaroamë, Yanomamö/Yanonami, Yanomami/Yanomam, Yanomae, Yanomama, Ninam ou Yanam (Xiriana e Xirixana) e Sanöma (SESAI, 2020).



Fonte: SESA/MS.

Figura 6 - Mapa do território Yanomami, 2018

Em 2020 a população assistida pelo DSEI Yanomami era de 28.579 indígenas; destes, 24.334 (85,1%) são da etnia Yanomami. A população masculina é ligeiramente maior que a população feminina, 51,2% e 48,8% respectivamente (Tabela 1).

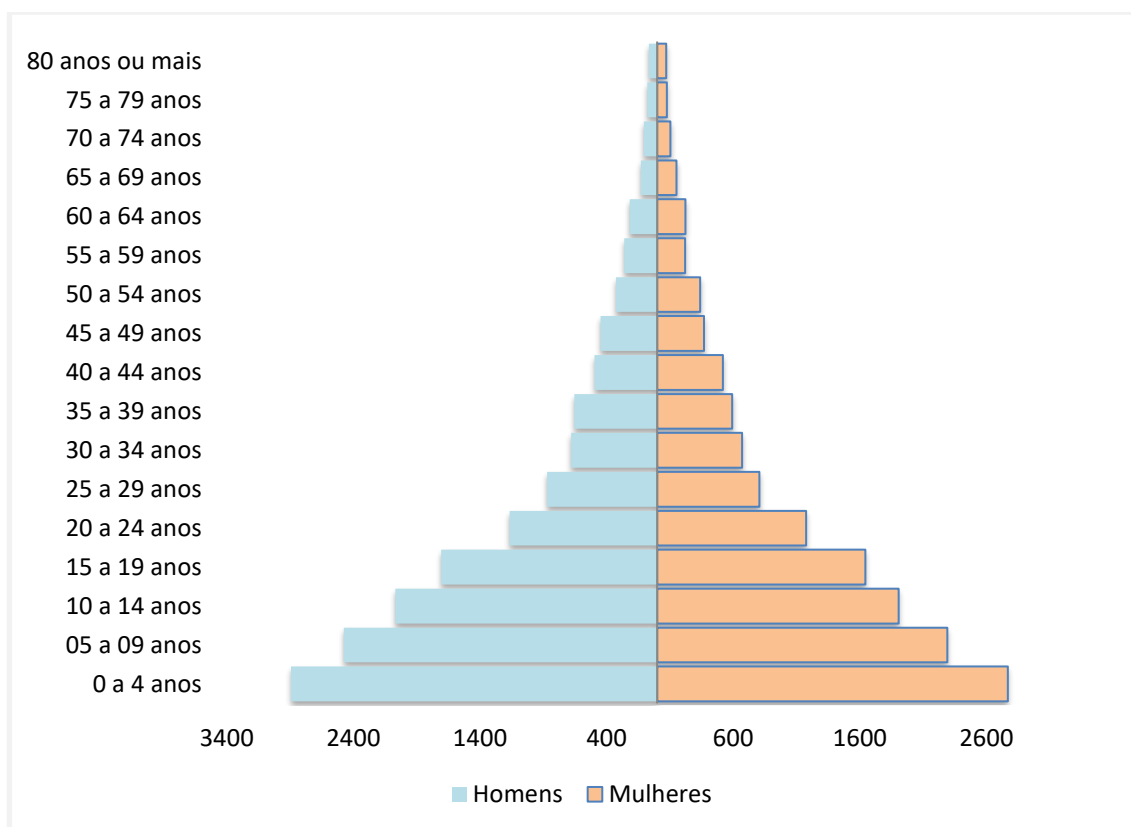
**Tabela 1.** Distribuição da população indígena do DSEI Yanomami por sexo e faixa etária, 2020

Faixa etária	Feminino		Masculino		Total
	n	%	n	%	
Menor de 1 ano	515	49,3%	530	50,7%	1045
1-4 anos	2255	48,8%	2363	51,2%	4618
5-9 anos	2292	48,1%	2476	51,9%	4768
10-14 anos	1908	48,0%	2069	52,0%	3977
15-19 anos	1645	49,1%	1706	50,9%	3351
20-24 anos	1176	50,2%	1166	49,8%	2342
25-29 anos	808	48,2%	870	51,8%	1678
30-34 anos	671	49,7%	679	50,3%	1350
35-39 anos	593	47,5%	655	52,5%	1248
40-44 anos	519	51,2%	495	48,8%	1014
45-49 anos	371	45,4%	446	54,6%	817
50-54 anos	341	51,3%	324	48,7%	665
55-59 anos	221	45,9%	260	54,1%	481
60-64 anos	224	50,9%	216	49,1%	440
65-69 anos	154	54,6%	128	45,4%	282
70-74 anos	104	49,5%	106	50,5%	210
75-79 anos	78	50,0%	78	50,0%	156
80 anos ou mais	73	53,3%	64	46,7%	137
<b>Total</b>	<b>13.948</b>	<b>48,8%</b>	<b>14.631</b>	<b>51,2%</b>	<b>28579</b>

Fonte: SESAI/MS, 2020.

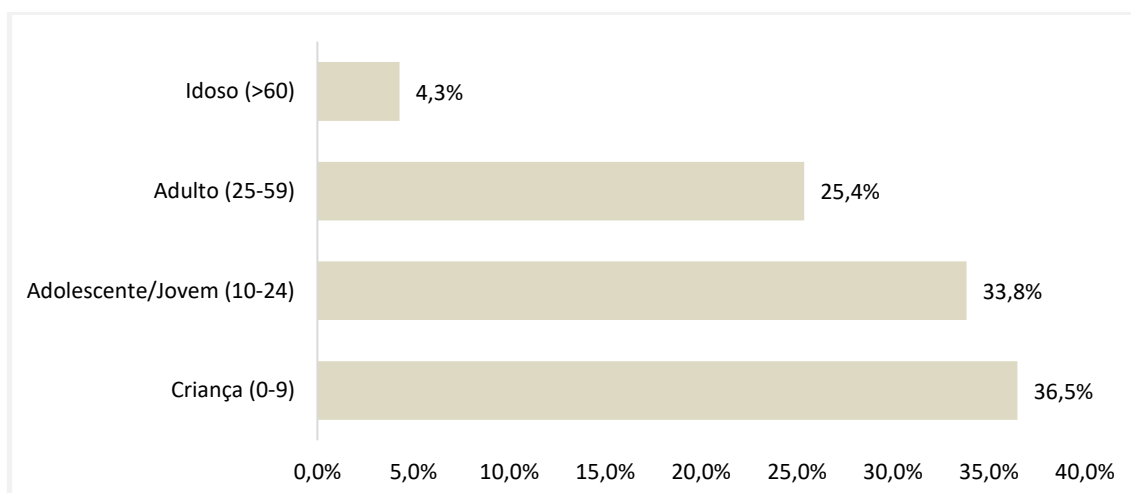
Em relação à pirâmide etária e aos ciclos de vida (Figuras 7 e 8), observa-se que as crianças (0 a 9 anos) são mais numerosas (36,5%) seguida dos jovens (33,8%), adultos (25,4%) e idosos (4,3%).

A pirâmide etária, que representa a distribuição da população por sexo e faixa etária, indica, a partir da base larga e do topo estreito, a alta taxa de natalidade e a baixa expectativa de vida da população do DSEI Yanomami.



Fonte: SESAI/MS, 2020.

**Figura 7** - Pirâmide etária do DSEI Yanomami, 2020



Fonte: SIASI/SESAI/MS.

**Figura 8** - Distribuição da população por ciclos de vida no DSEI Yanomami, 2020

### 1.2.1.1. Aspectos epidemiológicos

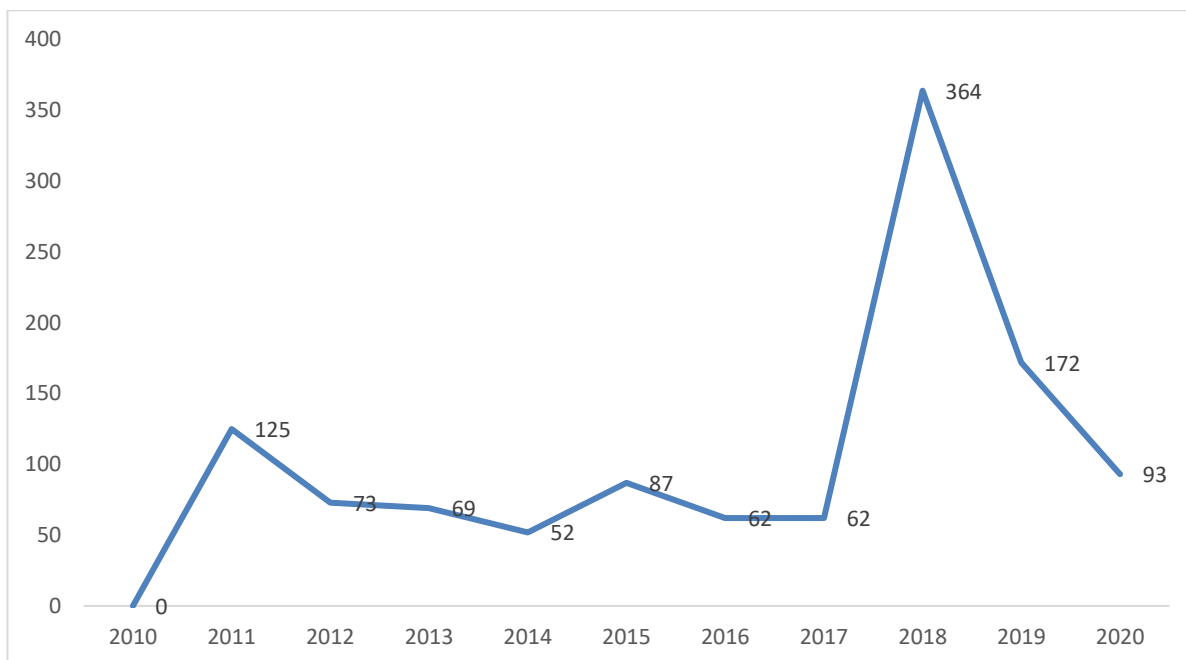
No SasiSUS, no período de 2010 a 2020 foram notificados 1.873 casos de tungíase, sendo registrado pelo DSEI Yanomami 62% (n= 1.159) dos casos, seguido pelo DSEI Xavante que registrou 22% (n= 404) e pelo DSEI Alto Rio Negro que registrou 6,78% (n=127) e os outros 20 DSEI registraram 10% dos casos notificados (n=183) (Tabela 2).

No tocante ao DSEI Yanomami, que apresentou no período de 2010 a 2020 o maior número de registos (1.159 casos de tungíase), observa-se que dos 37 Polos base do DSEI, 30 apresentam casos de tungíase (Figura 9).

**Tabela 2.** Distribuição dos casos de tungíase no SasiSUS, de 2010 a 2020

DSEI	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	Total Geral
ALAGOAS E SERGIPE									1		1	2
ALTO RIO NEGRO								11	4	70	42	127
ALTO RIO SOLIMÕES										1		1
AMAPÁ E NORTE DO PARÁ								1				1
CUIABÁ								1		5	6	12
GUAMÁ-TOCANTINS									5	6	2	13
INTERIOR SUL									1	2	3	6
KAIAPÓ DO MATO GROSSO									1			1
KAIAPÓ DO PARÁ										1	1	2
LESTE DE RORAIMA	1										4	5
LITORAL SUL								1			4	5
MANAUS									5		2	7
MATO GROSSO DO SUL							4	2	9	11	3	29
MINAS GERAIS E ESPÍRITO SANTO		1		2		1	4	2	2	5	4	21
PERNAMBUCO						2						2
PORTO VELHO		2	1							23	14	40
POTIGUARA							2	2				4
RIO TAPAJÓS							1					1
VALE DO JAVARI											1	1
VILHENA		1		4	1		5	2		9	7	29
XAVANTE			1			2		2	161	103	135	404
XINGU											1	1
YANOMAMI		125	73	69	52	87	62	62	364	172	93	1.159
<b>Total Geral</b>	<b>1</b>	<b>129</b>	<b>75</b>	<b>75</b>	<b>53</b>	<b>92</b>	<b>78</b>	<b>86</b>	<b>553</b>	<b>408</b>	<b>323</b>	<b>1.873</b>

Fonte: SESAI/MS, 2021.



Fonte: SESAI/MS, 2021.

**Figura 9** - Distribuição dos casos de Tungíase, DSEI Yanomami, 2010 a 2020

Observa-se uma redução no registro de casos de tungíase a partir de 2012, mantendo-se constante até 2017. Em 2018, o pico dos casos de tungíase foi registrado, 364 casos com redução a partir de 2019 (SESAI/MS, 2021).

Ressalta-se que a partir de 2018, a SESAI iniciou uma nova estratégia para o controle da tungíase na população indígena Yanomami, onde ações foram realizadas no polo base Auris, o que resultou na redução dos casos no ano de 2019 e em 2020. Este Polo base registou o maior número de casos do agravo, sendo responsável por 48,6% notificados no território Yanomami. (Tabela 3).



**Tabela 3.** Distribuição de casos de tungíase, DSEI Yanomami, 2011 a 2020.

Polo Base	Ano										Total Geral
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Auaris	50	23	20	25	41	20	26	281	49	28	563
Palimiú	11	7	2	2	4	3	3	7	9	36	84
Balawau	18	3	3		2	1	3	4	17	1	52
Toototobi		3	4	2		2	3	4	33		51
Xitei		4	9	5	3	6	3	19			49
Surucucu	1	1	3	3	5	2	1	9	11	7	43
Médio Padauri							1	4	20	11	36
Waputha	9	1	2	3		4	1	5		2	27
Paapiu	4	4	3	3	3	7		2			26
Alto Mucajai	1		1	1	1	1	3	3	14		25
Haxiu	4	1	11	1	1	1	2		1	1	23
Marauiá	4	5			2		9	3			23
Missão Catrimani		8		1	3		1	1	7		21
Novo-Demini	7	1			1		1	4	2	2	18
Homoxi	2	4	3		1	4		1		1	16
Alto Catrimani	1		4	3	2		2		2		14
Maloca Paapiu	1							5	5		11
Alto Padauri					2	8					10
Hakoma	1		1		4			1	1	2	10
Uraricoera		2			1	2	1	4			10
Ajuricaba					6					2	8
Baixo Mucajai					2			5	1		8
Inambú	1	6									7
Marari	2		2	2	1						7
Sauba				1	1	1	1	1			5
Aratha-U	3		1								4
Apiáú	2						1				3
Aracá	1				1						2
Parafuri	2										2
Ajarani								1			1
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>73</b>	<b>69</b>	<b>52</b>	<b>87</b>	<b>62</b>	<b>62</b>	<b>364</b>	<b>172</b>	<b>93</b>	<b>1.159</b>

Fonte: SESAI/MS, 2021.

No Brasil, observa-se um movimento para controlar as infestações por tungíase por meio de vários interventores pontuais incluindo a extração manual das pulgas e borrifação das casas. No início de 2018, a SESAI solicitou apoio à Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS/OMS) para atender a um aumento incomum nos casos de infecção grave por tungíase nas comunidades indígenas Yanomami e Ye'kuana na região de Boa Vista, no Estado de Roraima.

Nesse sentido, foi realizado um intercâmbio de conhecimentos com profissionais da Colômbia que estavam realizando ações exitosas de enfrentamento da doença. Nessa área se replicou a estratégia implementada na Colômbia, baseada na abordagem “*One Health*” ou saúde única (OPAS, 2021), que orienta;

- 1) Tratamento individual das pessoas afetadas por tungíase com um produto a base de dimeticona a 92 %, de uso tópico e com ação mecânica;
- 2) Tratamento dos animais domésticos afetados;
- 3) Intervenções no solo intra e peridomicílio; e
- 4) Educação em saúde.

Em geral, as intervenções foram bem aceitas pelas comunidades e o uso da dimeticona a 92% foi simples e eficaz na resolução das infestações em animais e humanos. A redução do número de casos e gravidade foi notada imediatamente após implementação das atividades de controle. Reinfestações ocorreram ao longo do tempo em todas as comunidades tratadas, porém com um grau de gravidade menor, necessitando repetição das ações de controle (OPAS, 2021).

As causas das reinfestações estavam relacionadas à dificuldade de realizar ações integradas no ambiente e nos animais, a permanência limitada e alta rotatividade dos profissionais que compõem as EMSI nos territórios indígenas, a baixa implementação de atividades de educação em saúde, e participação limitada dos Agentes Indígenas de Saúde (AIS) e lideranças e membros das comunidades na manutenção das intervenções intra e peridomiciliares, fatores contribuintes (OPAS, 2021).

Conversas exploratórias sobre a tungíase em área indígena são esclarecedoras: as infestações são atribuídas a um problema de sedentarismo e higiene que pode ser evitada por meio da varrição e umidificação dos solos das residências, quando não há infestação severa. A organização familiar e os costumes dos indígenas daquela região também são considerados como fator contribuinte (OPAS, 2021).

Destarte, a Saúde Única é uma abordagem multidisciplinar para o enfrentamento às enfermidades no homem, entendendo que a aplicação de ações no componente humano do ciclo de doenças infecciosas não é suficiente para o controle desta, havendo assim a necessidade da execução de atividades nos componentes animal e meio-ambiente. Para algumas enfermidades, apenas a realização de atividades e medidas intersetoriais no homem, no animal e no meio-ambiente poderiam gerar resultados no controle. A tungíase como exemplo de enfermidade cujo conceito Saúde Única seria adequado, no que referes-se tratar o componente humano exclusivamente, sem realizar ação de tratamento no meio-ambiente e no animal, não seria suficiente para controlar a enfermidade (OPAS, 2021).

Tal constatação se deve ao fato de que, mesmo com a infestação de pulgas na pele de um indivíduo seja tratada e controlada, o ambiente e os animais do entorno permaneceram infestados, e eventualmente, novas pulgas adultas voltariam a infestar este mesmo indivíduo em um prazo de até 4 semanas (OPAS, 2021).

## 2. JUSTIFICATIVA

A tungíase é uma doença tropical negligenciada que atinge populações em condições de vulnerabilidade socioeconômica, e os povos indígenas em altos níveis de infestação, causando estigmas sociais e sérios problemas de saúde adjacentes. Apesar de sua prevalência, a situação epidemiológica da tungíase nessas áreas permanece desconhecida, o que exige o desenvolvimento de métodos epidemiológicos para coleta e avaliação de informações confiáveis e oportunas sobre a distribuição da doença.

Visto que métodos capazes de abordar e que podem avaliar rapidamente e fornecer uma visão geral da distribuição de uma doença em um curto período de tempo são essenciais para a efetividade de uma ação. Projetar avaliações para tungíase seria benéfico para delimitar áreas endêmicas e determinar a gravidade da doença.

Ao obter essas informações cruciais, torna-se possível implementar e avaliar programas de controle eficazes, especialmente em áreas onde há falta de dados e os recursos, humanos e financeiros, são escassos. Neste contexto, a aplicação bem-sucedida em protocolo testados e validado podem coletar dados importantes sobre a prevalência, distribuição e impacto da doença nas comunidades afetadas.

No geral, o desenvolvimento e a utilização de protocolos para avaliação da tungíase podem contribuir para melhorar nossa compreensão da doença, facilitar intervenções direcionadas e otimizar a alocação de recursos em áreas onde a tungíase é um problema significativo de saúde pública.

A falta de evidências científicas acerca das ações coordenadas realizadas pelo Ministério da Saúde, tem impactado no avanço da incorporação das tecnologias utilizadas para o enfrentamento da tungíase e para a publicação de um protocolo.

O presente projeto tem como finalidade apresentar um protocolo para avaliar a presença de *T. penetrans* no solo, que ajudará no planejamento e execução das ações de controle da tungíase em territórios indígenas.

### 3. HIPÓTESE DO ESTUDO

O controle da *T. penetrans* no solo é uma estratégia essencial para o controle da tungíase em humanos, principalmente em áreas com baixo desenvolvimento econômico? Acredita-se que uso de técnicas moleculares quantitativas e de comprovada relação custo-efetiva possam ser ferramentas úteis para monitorar a infestação do solo pela *T. penetrans*.

## **OBJETIVOS**

## 4. OBJETIVOS

Diante da escassez de pesquisas conclusivas anteriores com dados da Secretaria de Saúde Indígena (SESAI) e Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), que nos oferecessem informações básicas sobre epidemiologia na temática da Tungüase, optou-se por elaborar um estudo no DSEI Yanomami, com informações destas Instituições, abordando os seguintes objetivos;

### 4.1. Objetivo geral

- Desenvolver ferramentas moleculares para monitorar a infestação por *T. penetrans* em solo indígena brasileiro.

### 4.2. Objetivos específicos

- Desenvolver iniciadores para amplificação de genes da *T. Penetrans*;
- Clonar genes específicos e que possam atuar como controle positivo da reação molecular;
- Padronizar reação em cadeia da polimerase em tempo real para detecção quantitativa da *T. penetrans*;
- Quantificar genes da *T. penetrans* no solo de terras indígenas Yanomami.

## **INDIVÍDUOS ESTUDADOS E MÉTODO**



## 5. METODOLOGIA

O estudo foi realizado em comunidades Sanumá, um subgrupo linguístico da etnia Yanomami, no horizonte temporal de 10 meses (março a dezembro de 2022). O critério mínimo de inclusão, para o presente estudo, foi a presença de indivíduos diagnosticados com tungíase.

O projeto foi desenvolvido no estado de Roraima (RR), próximo à fronteira com a Venezuela, no percurso do rio Auaris. O local é uma região montanhosa, localizada nos principais afluentes da margem direita do Rio Branco (Rio Branco), da margem esquerda do Rio Negro (Rio Negro) e das nascentes do Orinoco ao norte. O território Auaris e a comunidade Sanumás estão localizados próximos aos efluentes superiores na margem direita do Rio Branco.

O presente trabalho contemplou um estudo transversal (Bordalo, 2006) com análise ambiental e laboratorial. O estudo observacional foi desenhado para monitorar ações assistenciais conjuntas para o controle de tungíase na Floresta Amazônica Brasileira. As ações foram realizadas pelo DSEI Yanomami, SESAI em parceria com a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde. Essas ações assistenciais foram realizadas com base na abordagem “*One health*” (saúde única) e incluíram três medidas realizadas no mesmo dia;

### 5.1. Medidas humanas

Todos os indivíduos diagnosticados com tungíase receberam a aplicação tópica de dimeticona a 92% na forma de NYDA® (Pohl- Boskamp GmbH & Co. KG, Hohenlockstedt, Alemanha) (NORDIN *et al.*, 2017; THIELECKE *et al.*, 2014).

Segundo o fabricante, o NYDA® é composto por dois compostos principais, um volátil e outro viscoso. O dimeticona volátil facilita a aplicação do produto, enquanto o composto viscoso obstrui as aberturas respiratórias dos parasitas (NORDIN *et al.*, 2017; THIELECKE *et al.*, 2014).

Após a limpeza suave das lesões com água e sabão, o profissional treinado aplicou de 3 a 6 gotas do medicamento em cada área afetada. A medicação foi espalhada com o auxílio de um dedo enluvado, sendo que o participante recebeu três aplicações iguais com intervalo de 10 minutos entre cada aplicação. A equipe de intervenção utilizou curativos

oclusivos por 24 horas após a aplicação tópica nos pés dos indivíduos da pesquisa que aderiram e concordaram com este procedimento.

## **5.2. Medidas Animais**

Durante as visitas domiciliares realizadas nas aldeias, os indígenas foram questionados sobre a presença de animais domésticos, e todos os cães domésticos com peso entre 4 e 10 kg receberam uma dose única de 1,25 g de afoxolaner (NexGard®, Boehringer Ingelheim, Paulínia, São Paulo).

Após a limpeza da casa com vassouras adequadas e a implementação das medidas de proteção humana, o piso da casa, de terra, foi fumigado com 800 g/kg de carbonitrila (FIPRONIL) 80% m/m (UPL do Brasil Indústria e Comércio de Insumos Agropecuários SA, Ituverava, Brasil) diluído (1 g/L) em água limpa na dose máxima recomendada de 100g por hectare.

## **5.3. Métodos observacionais**

Nesta seção são descritos os procedimentos de pesquisa que visam monitorar o impacto das ações coordenadas em saúde única na infestação ambiental pela *T. penetrans*.

### **5.3.1. Procedimentos de geolocalização e monitoramento**

Para registrar geolocalização, dos casos de tungíase, das comunidades e de cada residência foi utilizado um celular Mi 10T PRO versão global (Xiaomi, Pequim, China). Este dispositivo foi escolhido por ser de fácil manuseio, relativamente preciso e ter acesso a futuras redes 5G, facilitando a transmissão de dados. Uma empresa externa especializada gerou imagens de satélite espacial de alta resolução da área de interesse com 55 km<sup>2</sup> (Dimensuri Assessoria Técnica, Brasília, Brasil).

### 5.3.2. Avaliação molecular e direta de infestações de solo

Na avaliação de infestações de solo de áreas internas das casas, foram utilizados dois métodos: 1) métodos de exame direto e microscópico, e 2) exames moleculares quantitativos e qualitativos baseados na reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR). Todos os procedimentos são explicados em detalhes;

#### 5.3.2.1. Método: exame direto e microscópico do solo

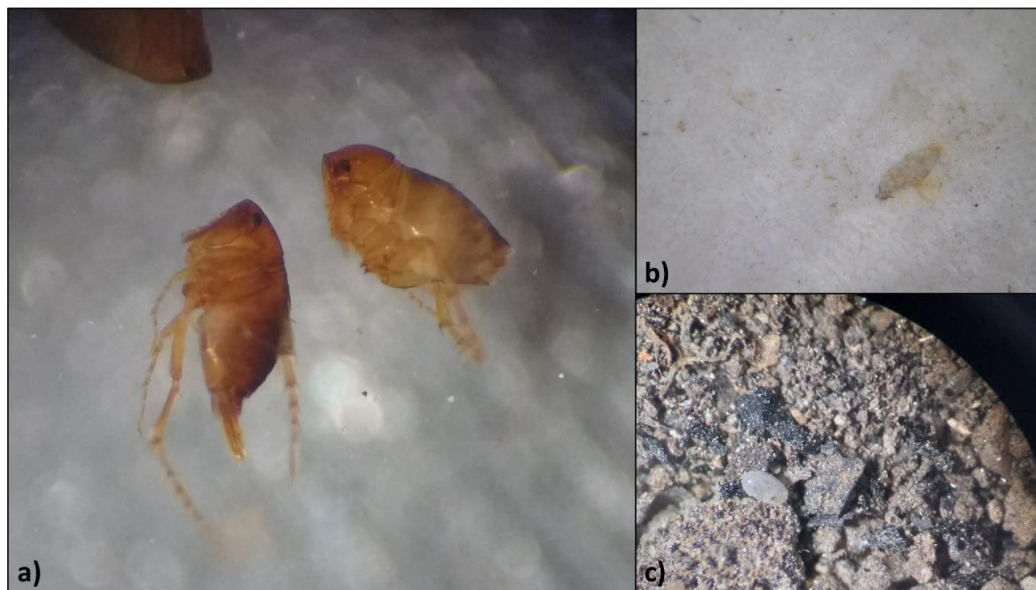
Um entomologista certificado colocou de 3 a 5 folhas de ofício A4 em branco no solo da residência de interesse, com distância equivalente entre as folhas. O número de folhas foi dependente do tamanho da residência. Foi realizada raspagem leve do solo com um instrumento pontiagudo (caneta) ao redor de cada folha. Após 3 minutos, o entomologista realizou uma contagem visual usando um dermoscópico Dermlite 2 Hybrid (Dermlite, San Juan Capistrano, EUA).

Um método quantitativo para avaliação direta foi utilizado, onde a infestação foi quantificada da seguinte forma:

- 0 = sem infestação (sem folha com parasitas),
- 1 = infestação leve (apenas 1 folha com parasitas),
- 2 = infestação média (2 folhas com parasitas), e
- 3 = infestação intensa (3 ou mais folhas com parasitas).

A análise microscópica de cada amostra de solo de 30g foi realizada no Laboratório de Dermatologicologia, UnB, Brasil, para fins de descrição qualitativa (Figura 10).

Na Figura 10, observa-se três situações: a) Pulgas de areia macho e fêmea; b) uma pulga de areia detectada na folha branca e fotografada com o auxílio um dermoscópico Dermlite 2 Hybrid dermoscope (Dermlite, San Juan Capistrano, USA); c) imagem microscópica de um ovo eclodido coletado de uma amostra de solo intradomiciliar.



Fonte: Elaboração própria, 2022.

**Figura 10** - Imagens de exame direto de amostras de solo

#### 5.3.2.2. Exame molecular do solo

##### 5.3.2.2.1. Padronização da reação de PCR em tempo real

Sequências genéticas de *T. penetrans* foram obtidas do banco de dados GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) usando os números de acesso EU169194, EU169196 e EU169197, estas sequências representam as sequências repetitivas na região do espaçador transcrito interna (ITS1) do DNA ribossomal de *T. penetrans* (ZURITA *et al.*, 2018). Usando a ferramenta Primer BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/howto/design-pcr-primers/>), os pares de iniciadores foram projetados para a amplificação do DNA de *T. penetrans*, levando em consideração características de efetividade da PCR em tempo real como temperatura de anelamento em torno de 62°C e porcentagem das bases nitrogenadas Citosina e Guanina em torno de 50%.

A reação foi validada com a utilização do par de iniciadores 5'-TAATCCCGGTAACGGGTGCT-3' e 5'-CCACCAGTGATCCACCGTTC-3'. Para a confecção de um controle positivo, o gene alvo da *T. penetrans* foi clonado pelo uso de uma cepa de *Escherichia coli* com o auxílio da ferramenta Geneart (ThermoFisher, Waltham, EUA) (Figura 11).

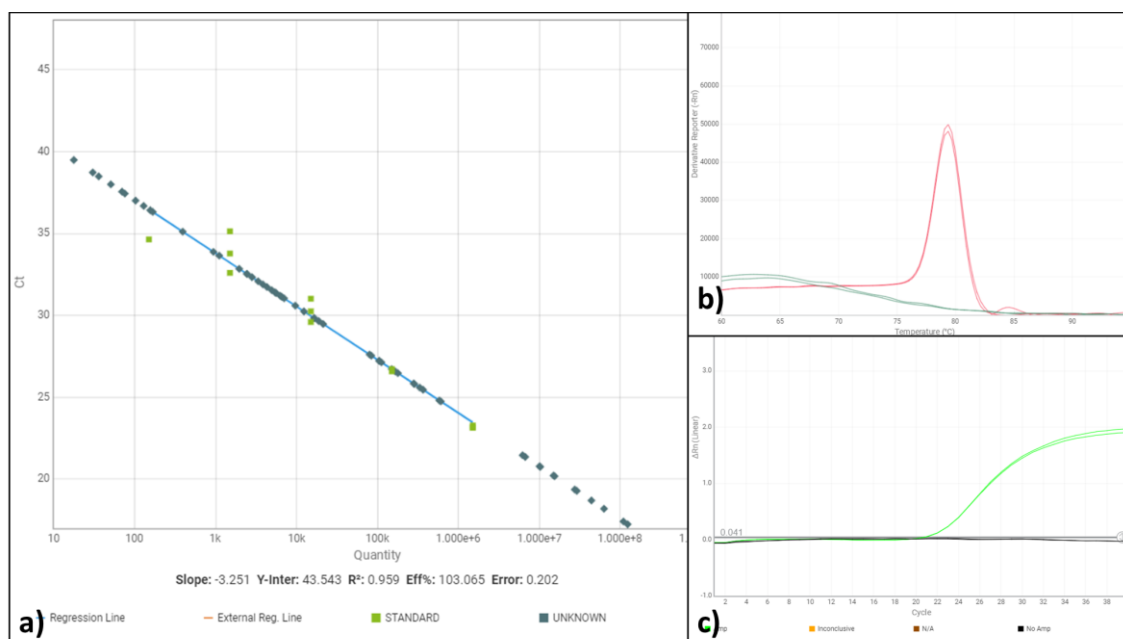


### 5.3.2.3. Curva padrão

Para quantificação com os *primers*/iniciadores desenhados, uma curva padrão foi estabelecida usando o seguinte protocolo ( $R^2 = 0,959$ ;  $sole = -3.251$ ; eficiência = 103,065) (Figura 12).

As reações foram realizadas em instrumento QuantStudio 1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) utilizando PowerUp SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), com volume final de 15  $\mu$ L; cada reação continha 1X Universal SYBR Green PCR master mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), ambos primers de 10  $\mu$ M (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) e 3  $\mu$ L de água ultrapura para o volume final.

As amplificações foram realizadas da seguinte forma: uma etapa inicial a 50°C por 2 min, 95°C por 2 min, 45 ciclos a 95°C por 15 se 60°C por 1 min. A curva de fusão foi construída usando incrementos de 0,3°C de 55°C a 95°C (Figura 13).



Fonte: Elaboração própria, 2022.

**Figura 13.** Resultados de validação da análise molecular de infestações de solo

Na figura 13, pode-se verificar: a) curva de quantificação padrão mostrando que a maioria das amostras estava dentro da faixa dos controles positivos (inclinação: -3,251;  $R^2$ : 0,959; eficiência: 103,065); b) análise da curva de fusão mostrando resultados positivos (vermelho) e controles negativos (verde); c) curvas de amplificação linear mostrando um resultado positivo (verde) e um resultado negativo (preto).

#### 5.3.2.4. Análise molecular do solo

A análise molecular do solo ocorreu dentro do domicílio avaliado pelo entomologista. O profissional, coletou amostras de terra seca e mais próximas às fogueiras, estas localizações são ideais para a perpetuação da *T. penetrans*.

Todas as casas foram avaliadas pelo método direto com o uso de folhas brancas de papel A4. O número de solos avaliados por biologia molecular (qPCR) de cada aldeia se deu por amostragem, pois a avaliação de todas as casas poderia configurar um custo desnecessário, uma vez que a técnica ainda não foi validada.

Foram avaliados de 1 a 3 casas decididas por sorteio simples a depender do tamanho de cada comunidade. Dados mais detalhados de cada comunidade são mantidos, aqui em sigilo, respeitando-se a privacidade dos indivíduos envolvidos apesar de todas as liberações éticas aprovadas.

As terras da região Sanumá, das aldeias Karanaú, Kolapoipú, Kiripassipú, Caixa D'Água, Pscicultura e Katarrinha foram avaliadas conforme dados de georreferenciamento, a extração de DNA do solo coletado foi realizada usando 200 mg de solo com o PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit (Thermo Fisher, Waltham, MA, EUA).

As amostras foram transportadas em temperatura ambiente em um tubo plástico de 50ml até a cidade de Brasília de 2 a 10 dias após coleta. As amostras foram mantidas em temperaturas ultra baixas (-80° C até extração do DNA por até 7 dias).

### 5.4. Análise Estatística

Os achados moleculares e parasitológicos da infestação do solo foram cruzados com dados secundários de infestação humana gerados pela ação coordenada da SESAI com apoio da Universidade de Brasília. Por trata-se de uma estratégia de monitoramento ambiental de uma ação humana, os achados do solo foram comparados com os achados de cada indivíduo (presença de tungíase ou não). Neste caso, cada indivíduo recebia uma classificação condizente com a infestação do solo (infestado ou não infestado) tanto pelo critério de exame direto, tanto pelo critério de exame molecular.

As comparações univariadas das variáveis categóricas foram realizadas por meio do teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher, dependendo da frequência de cada

ocorrência. Realizamos o teste t ou o teste de Wilcoxon para variáveis numéricas dependendo da natureza e distribuição dos dados.

As características ambientais incluíram número da casa, estado das paredes da casa, nível de infestação do solo da casa de acordo com métodos de detecção direta e molecular, número de casas na comunidade, número de habitantes na mesma. O número de casas foi calculado de acordo com a proximidade do ponto de acesso da comunidade, representando o acesso mais fácil pelos animais responsáveis pela transmissão do *T. penetrans*.

A presença de paredes em cada galpão foi considerada representativa no acesso dos animais à parte interna do galpão. Os resultados numéricos e qualitativos da detecção de infestação de solo intradomiciliar também foram considerados uma variável de cada indivíduo incluído e utilizados para cálculos de sensibilidade, especificidade e acurácia.

A sensibilidade da análise do solo foi calculada com a seguinte fórmula;

#### Número de indivíduos que tiveram o solo da casa infestado

Total de indivíduos diagnosticados com tungíase

A especificidade considerou o número de indivíduos que não tiveram o solo da casa infestado, dividido pelo total de indivíduos sem tungíase. A acurácia foi calculada dividindo-se o número total de verdadeiro positivos e verdadeiro negativos sobre o número total de indivíduos avaliados na ação e que tiveram o solo da casa avaliado.

A análise estatística foi realizada usando o programa R versão 4.1.2 (R Core Team (2021). R: Uma linguagem e ambiente para computação estatística, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria. URL (<https://www.R-project.org/>)).

A regressão logística foi realizada usando as funções glm e or\_glm e os pacotes “stats” e “oddsratio”, respectivamente (SCHRATZ, 2017): pacote R 'oddsratio': cálculo da razão de chances para GAM(M)s & GLM(M)s, versão: 1.0.2, doi : 10.5281/zenodo.1095472). A significância estatística foi definida como um valor de  $p < 0,05$  e um intervalo de confiança de 95% (IC).



### **5.5. Aspectos éticos**

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina (UnB), pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), com protocolo CAAE: 29134820.0.0000.5558 (Anexo 1), e pelo Conselho Distrito de Saúde Indígena (CONDISI).

O acesso da equipe de pesquisa à área restrita do DSEI Yanomami foi viabilizado mediante autorização da SESAI, onde a equipe acessou a comunidade usando um Cessna 208 “Caravan” (Cessna, Wichita, EUA) a partir da cidade de Boa Vista, Brasil.

A equipe de pesquisa, composta por pesquisadores do Serviço de Dermatologia da UnB não teve relação, influência ou conflito de interesse que pudesse afetar qualquer decisão ou procedimento realizado pela equipe assistencial.

## **RESULTADOS**

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Avaliações demográficas, ambientais e de saneamento

O presente estudo contemplou a avaliação de 555 indivíduos de ambos os sexos, em comunidades Sanumá, residentes em 78 domicílios.

Ao caracterizar os indivíduos por gênero, observou-se que, do total da amostra estudada, houve predomínio do gênero masculino, que representa aproximadamente metade da amostra 295 (53,15%), Tabela 4.

No tocante a idade, as crianças constituíram 280 (50,45%) da amostra, e em relação ao acometimento, dos 555 indivíduos analisados, 45 apresentavam tungíase ativa (5,38% do gênero feminino e 10,51% do gênero masculino) e 510 indivíduos eram controle, com predomínio do sexo feminino (94,62%), Tabela 4.

A tungíase foi duas vezes mais prevalente em homens do que em mulheres ( $p = 0,040$ ).

As condições ambientais e estratégias de avaliação do solo foram comparadas com a ocorrência da tungíase no nível individual.

**Tabela 4.** Comparações univariadas das principais características demográficas, animais e ambientais entre pacientes com e sem tungíase.

Variável	Indivíduos com tungíase	Controle	p value	OR (95% CI)
<b>Sexo</b>				
Feminino	14(5.38%)	246(94.62%)	0.040	0.49 (0.25-0.93)
Masculino	31(10.51%)	264(89.49%)		
<b>Idade</b>				
Adulto	3(1.09%)	272(98.91%)	<0.001	0.07 (0.02-0.18)
Criança	42(15.00%)	238(85%)		
<b>Animais</b>				
Número de animais domésticos vivendo na casa	1.00(1.00)	1.00(2.00)	0.121	---
Número de cachorros vivendo na casa	1.00(1.00)	1.00(2.00)	0.113	---
Número e gatos vivendo na casa	0.00(0.00)	0.00(0.00)	0.454	---
Número médio de cópias de genes em 200 mg de solo (SD)	128.14(79.94)	5582.58(25231.92)	0.009	---

Legenda: OR = univariate odds ratio (razão de chance univariada); IQR = interquartile range (intervalo interquartil); SD = standard deviation (desvio padrão).

## 6.2. Condições de moradia

O número de moradores em cada casa varia de 2 a 16 indivíduos. Nenhuma das casas avaliadas possuía banheiro ou era dividida internamente por paredes. Todas as casas foram construídas no formato quadrado ou retangular, com área de 5 a 9 metros quadrados (Figura 14).

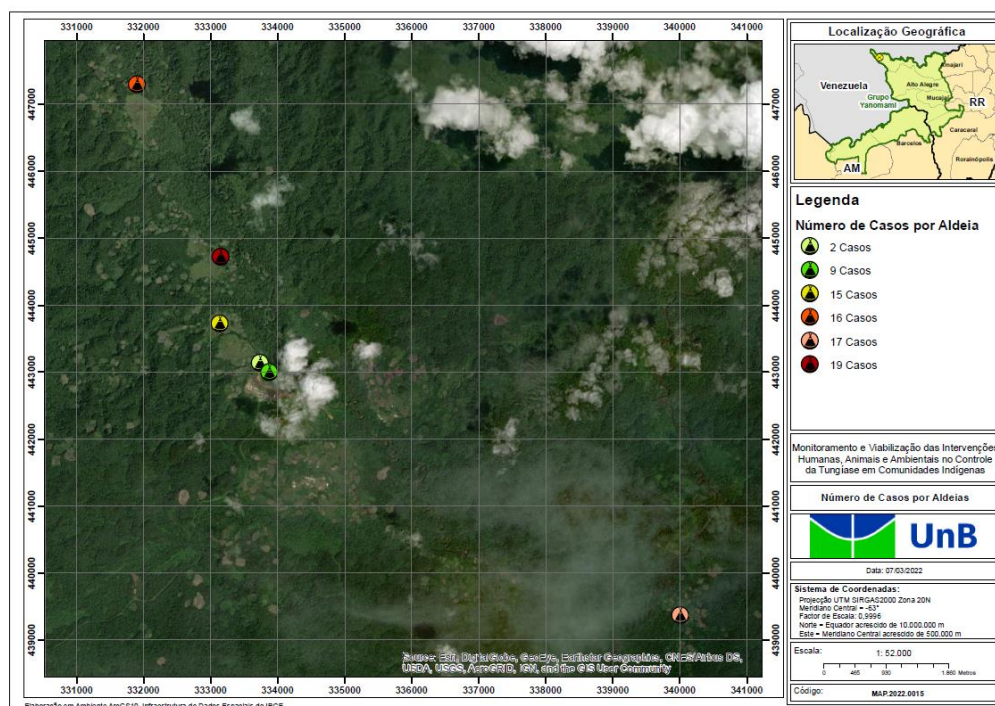
Do total de 78 casas avaliadas, 54 casas (69,23%) continham paredes em todos os lados e uma porta, 5 casas (6,41%) tinham pelo menos um lado sem parede e 19 (24,36%) não tinham paredes.



Fonte: Elaboração própria, 2022.

**Figura 14** - Domicílios locais nas comunidades visitadas.

A geolocalização da área de 55 km<sup>2</sup> estudada é apresentada na Figura 15, que também mostra a dificuldade de acesso às comunidades onde o estudo foi realizado. O acesso ao local de pesquisa foi feito por via terrestre, sem necessidade de veículos em 3 comunidades: Caixa D'Água, Kiripassipu e Psicultura. Para o acesso às demais comunidades, foi necessário transporte fluvial para navegar pelo rio Auaris.



Fonte: Elaboração própria, 2022

**Figura 15 - Geolocalização dos casos de tungíase diagnosticados durante o estudo**

### 6.3. Análise de infestação direta do solo

Para análise direta da infestação por papéis brancos, todas as 78 casas foram avaliadas. De forma descritiva e qualitativa, a análise proposta do solo demonstrou-se possível. Pela análise microscópica direta, observou-se a possibilidade da contagem de pulgas e de ovos, mesmo com uma quantidade pequena de solo intra ou extra-domiciliar. A coleta de solo em pequenas quantidades (até 30g) tornou possível a análise direta. O achado de parasitos foi possível, bem como a classificação e contagem deles por microscopia. Os resultados mostram que a coleta, transporte por longas distâncias (do estado de RR ao DF) é possível.

#### **6.4. Análise de infestação molecular do solo**

Para análise molecular, a amostragem aleatória foi feita de 18 casas (23,08%) das 78 avaliadas, sendo 4 em Karanaú, 1 em Piscicultura, 3 em Kiripassipu, 3 em Katarrinha, 4 em Caixa D'Água e 3 em Kolapoipu. Nestas casas em que foram avaliados os solos moravam 165 indivíduos e os dados de acurácia e de ocorrência de tungíase são válidos apenas para estes 165 indivíduos. Deste total, 17 indivíduos apresentavam tungíase ativa (10,30%).

A análise molecular do solo demonstrou resultados interessantes e demonstrou também a viabilidade desta proposta para informações valiosas no controle ambiental da tungíase. Primeiramente, conseguiu-se simular a positividade da PCR em laboratório com alvos genéticos sintéticos e clonados. Posteriormente, o alvo desenhado mostrou boa performance na curva padrão. Este resultado comprova que o achado, além de fornecer dados qualitativos (positivo e negativo), também é adequado para a análise quantitativa do DNA de parasitos no solo. Trata-se da aplicação de técnica molecular reconhecida para outras doenças como covid-19, leucemias, dentre outros, para o solo de território indígena. Nenhum parasito foi motivo de análise descritiva ou qualitativa, uma vez que o solo era o alvo deste estudo.

Além do exposto, o método molecular demonstrou adequabilidade *in loco*. As amostras identificadas diretamente como pertencentes à *T. Penetrans* mostraram-se positivas para parasitas e ovos, demonstrando a adequabilidade da técnica. Além disso positividade em solos sem a identificação direta do parasito demonstram que a técnica é, provavelmente, mais sensível do que o exame direto e que pode detectar rastros da pulga, mesmo em quantidades muito pequenas de solo.

#### **6.5. Comparação analítica do solo**

O DNA de 70 ovos coletados do solo foi extraído e o número médio de cópias do gene foi usado para comparar o número de cópias do gene com o número esperado de ovos por 200 mg de solo (Tabela 5).

**Tabela 5.** Quantificação microscópica e molecular de parasitas em amostras de solo de casas nas seis comunidades de Auaris avaliadas

Comunidade	Casa (n)	Casas avaliadas (n)	Larvas (n)	Ovos (n)	Pulgas (n)	Número da cópias do gene	Número equivalente de ovos
KARANAÚ	2		0	4	0	143.92	$7.20 \times 10^{-4}$
KARANAÚ	8	4	0	0	0	127769.97	$6.47 \times 10^{-1}$
KARANAÚ	10		0	0	0	0	0
KARANAÚ	15		0	0	0	0	0
PSICULTURA	1	1	0	0	0	0	0
KIRIPASSIPU	1		0	1	0	0	0
KIRIPASSIPU	10	3	0	0	0	0	0
KIRIPASSIPU	11		1	0	8	0	0
KATARRINHA	2		0	17	0	0	0
KATARRINHA	4	3	0	4	0	220.78	$1.12 \times 10^{-3}$
KATARRINHA	8		0	0	0	0	0
CAIXA D'ÁGUA	1		0	0	0	73.93	$3.75 \times 10^{-4}$
CAIXA D'ÁGUA	2	4	0	0	0	0	0
CAIXA D'ÁGUA	8		0	0	0	1031.69	$5.23 \times 10^{-3}$
CAIXAD'ÁGUA	9		0	0	0	0	0
KOLAPOIPÚ	1		0	0	0	0	0
KOLAPOIPÚ	14	3	0	0	0	0	0
KOLAPOIPÚ	15		0	0	0	4900.01	$2.48 \times 10^{-2}$

**Fonte:** Elaboração própria, 2022.

n = número da casa (números menores representavam a maior proximidade da casa ao principal ponto de acesso de cada comunidade e, portanto, representavam maior facilidade de acesso dos animais); n = número.

A relação da conformidade das paredes de cada moradia e a ocorrência de tungíase também foi avaliada (Tabela 6). Comparando o achado do solo com a ocorrência de tungíase, o nível de infestação do solo medido pelo método direto (número de parasitos e número de ovos) foi maior para a casa dos indivíduos com tungíase ativa ( $p < 0,001$ ).

A análise qualitativa do solo de todas as casas avaliadas pelo método direto, considerando a positividade ou negatividade do solo como preditor de tungíase nos



indivíduos infestados, resultou em uma sensibilidade de 86,67% (amostras de solo foram positivas nas casas de 39 de 45 indivíduos com tungíase; 95% IC = 73,82–93,74), uma especificidade de 23,14% (amostras de solo foram negativas nas casas de 118 de 510 indivíduos controle; IC 95% = 16,69–26,99) e uma acurácia de 28,29% (IC 95% = 24,70–32,17). Este resultado mostra a capacidade da avaliação do solo em detectar casos de tungíase.

O maior número de casas na comunidade e o maior número de habitantes da mesma casa estava relacionado à ocorrência de tungíase. A ocorrência parcial de paredes na casa avaliada estava relacionada positivamente com a ocorrência de tungíase (OR = 3.39; IC95% = 1.51-7.60).

**Tabela 6.** Comparação entre as características ambientais e a ocorrência reportada de tungiase

Condição ambiental	Casos com tungiase (n = 45)	Casos sem tungiase (n = 510)	p-valor	OR (IC95%)
Infestação do solo da casa pelo método direto: mediana(IQR)	3,00(1,00)	1,00(2,00)	<0,001	---
Número de casas na comunidade: mediana(IIQ)	17,00(2,00)	16,00(2,00)	<0,001	---
Número de habitantes na mesma casa: mediana(IIQ)	10,00(4,00)	8,00(4,00)	<0,001	---
<b>Paredes externas da casa</b>				
Completa: n(%)	31(68,88%)	342(67,06%)	0,003	1,09 (0,56-2,09)
Parcialmente completas: n(%)	9(20,00%)	35(6,86%)		3,39 (1,51-7,60)
Ausentes n(%)	5(11,11%)	133(26,08%)		0,35 (0,14-0,92)
Número de cópias do gene por 200 mg de solo: mediana(IIQ)	143,92(0,00)	0(73,93)	0,002	---

**Fonte:** Elaboração própria, 2022.

**Legenda:** OR: *odds ratio* (razão de chances); n: número de indivíduos; %: porcentagem de indivíduos do grupo; DP: desvio padrão; IIQ: intervalo interquartil.

A quantificação molecular da tungíase nos solos avaliados também demonstrou que maiores quantidades de DNA no solo infestado foram relacionadas com maior ocorrência de tungías ( $p = 0,009$ ) (Tabela 5).

A análise qualitativa de 18 amostras de solo avaliadas pelo método molecular, considerando sua positividade ou negatividade como preditor de tungíase, resultou em uma sensibilidade de 76,47% (positiva nas casas de 13 de 17 indivíduos com tungíase; IC 95% = 52,74–90,45), especificidade de 72,30% (negativo nas casas de 107 dos 148 indivíduos sem tungíase; IC 95% = 64,59–78,87) e acurácia de 72,73% (IC 95% = 65,47–78,95).

Não encontramos associação direta entre os níveis de infestação medidos por exame direto e quantificação molecular (teste de correlação de Kendall  $p = 0,820$ ). A associação entre resultado positivo do exame direto e resultado positivo da qPCR também mostrou que os resultados desses exames não eram concordantes (teste de McNemar  $p < 0,001$ ).

Ao comparar os dois métodos de medição de infestação do solo, observamos alta concordância positiva (porcentagem de concordância positiva = 81,48%; IC 95% = 69,16–89,62), enquanto o exame direto resultou em um número maior de resultados positivos do que o método molecular (porcentagem de concordância negativa = 24,32%; IC 95% = 17,29–33,08).

Finalmente, a concordância total entre os dois métodos foi muito baixa (concordância total = 43,03%; IC 95% = 35,72–50,66). O método molecular foi mais específico e preciso para a predição da tungíase.

## **DISCUSSÃO**

## 7. DISCUSSÃO

A tungíase é uma doença altamente negligenciada associada à extrema pobreza (NÁJERA VILLAGRANA; GARCÍA NARANJO SANTISTEBAN, 2019). A doença acomete ambientes rurais com baixo desenvolvimento econômico e social, principalmente nas suas formas mais graves, é prevalente em áreas densamente povoadas e com más condições de vida, campos de refugiados e comunidades nativas, sendo crianças e idosos com maior risco da doença e suas complicações (NSANZIMANA *et al.*, 2019).

O tratamento cirúrgico de lesões humanas, tarefa simples para lesões limitadas ou únicas, não é adequado para o controle da doença em áreas altamente infestadas ou para indivíduos com um número alto de lesões. Além disso, o tratamento cirúrgico da tungíase em crianças é naturalmente dificultado. A implantação complexa e simultânea de medidas de controle humano, animal e ambiental é necessária em locais onde o saneamento básico não é satisfatório.

O controle da tungíase em nível comunitário é complexo e não há um conjunto de intervenções universalmente aceito. A experiência na África sugere que a prevenção é possível através do uso de repelentes, distribuição de calçados de pé inteiro e construção de pisos cimentados; no entanto, isso pode não ser replicável em contextos indígenas no Brasil (THIELECKE *et al.*, 2013). No entanto, não há descrição sistematizada de condutas nem de quais são os principais produtos a serem utilizados, principalmente na necessidade do uso de substâncias que visam acabar com as pulgas no solo infestado.

O controle da tungíase com base em atividades coordenadas e complementares nas comunidades da Colômbia foi bem-sucedido (MILLER; RODRÍGUEZ, 2010; ORTEGA-NARVÁEZ *et al.*, 2021). As medidas de controle imediato incluem o tratamento das pessoas afetadas com dimeticona a 92% e, ao mesmo tempo, o estabelecimento de medidas comunitárias para controle de infestações nas residências, como umedecimento de pisos e remoção de matéria orgânica dos pisos. A aplicação de inseticidas piretróides residuais (KIESEWETTER *et al.*, 2013) e o tratamento de cães, porcos e outros mamíferos domésticos infestados é desejável (MUTEBI *et al.*, 2021).

Como não existe um protocolo formal publicado para o controle da tungíase, aplicamos um método de intervenção especializado coordenado pelo Ministério da Saúde do Brasil. Trata-se de um protocolo de saúde assistencial que conta com a supervisão constante de especialistas. Embora fossem necessários esforços substanciais, incluindo

transporte aéreo devido à dificuldade de acesso à região amazônica, a SESAI estabeleceu com sucesso um sistema descentralizado de atenção primária à saúde. Além disso, a estratégia contou com a participação da comunidade.

Como esperado, a infestação do solo medida pelos métodos diretos e moleculares foi significativamente relacionada à ocorrência de tungíase humana ( $p < 0,05$ ). Dados como o número de habitantes em uma determinada residência, número de casas em determinada aldeia e a conformidade das paredes das casas avaliadas teve relação com a ocorrência da tungíase no presente trabalho (Tabela 6). Estes dados mostram que a influência ambiental é grande na ocorrência da tungíase. Assim, é imperativo priorizar as medidas ambientais para a prevenção da tungíase.

Um número grande de habitantes por casas e um número maior de casas por aldeias pode estar relacionado a uma dificuldade em termos de controle ambiental da saúde. Geralmente, locais mais populosos tendem a sofrer mais com problemas relacionados ao saneamento básico. Além disso, um grande número de pessoas vivendo em uma mesma casa está classicamente associado ao problema de diversos agravos transmissíveis como a tuberculose, por exemplo. O fato parece ocorrer também no estudo da tungíase, uma ectoparasitose. Possivelmente, um número maior de pessoas vivendo na mesma moradia deixa mais difícil o controle de resultados da vida humana como o controle do descarte de fezes humanas e de animais.

A construção de cada casa foi avaliada conforme a situação das paredes das casas. Casas com paredes completamente ausentes aparentemente foi um fator protetor para a ocorrência de tungíase com uma razão de chances (OR) de 0,35. Casas com paredes completas aparentaram ter maior relação com a ocorrência da tungíase pois apresentaram um OR de 1,09, mas nenhuma dessas associações demonstrou significância estatística. Alternativamente, casas com construção parcial das paredes foram um fator protetor para a ocorrência da tungíase com um OR de 3,39 e com significância estatística demonstrada por um IC95% de 1,51-7,60.

Em um primeiro momento espera-se que em casas sem paredes a entrada de animais que possam perpetuar o ciclo da tungíase é maior, aumentando assim o risco da ocorrência deste agravo. No entanto, o contrário também pode ser verdadeiro na medida que a população faz mudanças frequentes de moradia a depender das condições de vida. Uma casa com paredes poderia refletir um tempo maior de vida naquele local representando um maior risco da infestação do solo, uma vez que a presença humana e de animais domésticos está relacionada com a ocorrência da tungíase.

Por problemas operacionais, apenas uma parcela das casas (18 casas) foi avaliada pelo método molecular. Avaliações mais abrangentes e o acompanhamento longitudinal dos casos de tungíase pode auxiliar na elucidação destes dados.

A melhor acurácia (72,73%; IC 95% = 65,47–78,95) para a detecção de tungíase foi alcançada pela positividade molecular das amostras de solo como variável de indivíduos. Este é um método econômico, pois a coleta pode ser realizada por agentes locais não especializados. A amostra é considerada não infecciosa de acordo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) e pode ser transportada com segurança por via aérea sem a necessidade de congelamento por 1 a 2 semanas (WHO, 2021).

As estratégias de intervenção foram amplamente aceitas pela comunidade, garantindo a continuidade. Além disso, o efeito da aplicação de dimeticona foi efetivo. É importante destacar que mesmo as lesões disseminadas e coccígeas foram completamente inativadas pelo produto e não houve necessidade de oclusão e não foram relatadas reações adversas.

A dimeticona é um método de tratamento econômico, seguro e aceitável para a tungíase, corroborando com dados anteriores (MILLER *et al.*, 2020; NORDIN *et al.*, 2017; THIELECKE *et al.*, 2014).

A única preocupação relacionada à dimeticona é sua natureza inflamável, mas esse problema foi mitigado neste projeto com educação em saúde nas comunidades. Além disso, o volume do medicamento aplicado (3 a 6 gotas) foi muito baixo, pois os compostos voláteis evaporaram rapidamente após a aplicação.

Medidas de segurança em relação à manipulação e armazenamento de medicamentos são importantes.

## **CONCLUSÕES**



## 8. CONCLUSÕES

Considerando a análise dos resultados obtidos, foi possível concluir que:

- Considerando o objetivo, desenvolver iniciadores para amplificação de genes da *T. penetrans*: foram desenvolvidos iniciadores para a detecção da *T. penetrans* no solo que se demonstraram sensíveis e específicos para análise;
- Considerando o objetivo, clonar genes específicos e que possam atuar como controle positivo da reação molecular: controles positivos foram clonados com sucesso. Não há necessidade do uso de amostras biológicas para o controle das reações;
- Considerando o objetivo, padronizar reação em cadeia da polimerase em tempo real para detecção quantitativa da *T. penetrans*: a padronização da quantificação molecular do solo foi realizada com sucesso;
- Considerando o objetivo, quantificar genes da *T. penetrans* no solo de terras indígenas Yanomami: a quantificação direta e molecular dos solos da terra avaliada foi relacionada à ocorrência de tungiase humana;
- Recomendamos no horizonte temporal prospectivo o uso de estratégias de detecção molecular para infestações de solo em áreas remotas onde o tratamento da população total é impraticável, em particular vulnerabilidade os indígenas nativos brasileiros.

## **REFERÊNCIAS**

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIZA, Liana *et al.* Tungíase: doença negligenciada causando patologia grave em uma favela de Fortaleza, Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 63–67, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822007000100013&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822007000100013&lng=pt&tlng=pt).

BELL, Ann; NEELY, Charles L.; PEEPLES, Jeanette. Tungiasis in Tennessee. **Southern Medical Journal**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 141–143, 1979. Disponível em: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00007611-197902000-00010>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA ESPECIAL DE SAÚDE INDÍGENA. **Saúde Indígena: Análise da Situação de Saúde no SasiSUS, 2019**. [S. l.: s. n.], 2019. *E-book*. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude\\_indigena\\_analise\\_situacao\\_sasisus.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_indigena_analise_situacao_sasisus.pdf).

BRASIL. **Lei nº 9.836, de 23 de setembro de 1999**. [S. l.], 1999. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/19836.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19836.htm). Acesso em: 24 jun. 2022.

BRASIL. Política Nacional de Atenção à Saúde dos Povos Indígenas. **Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde**, [s. l.], v. 2002, p. 40, 2002. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_saude\\_indigena.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_saude_indigena.pdf).

BUCKENDAHL, John *et al.* Control of Tungiasis through Intermittent Application of a Plant-Based Repellent: An Intervention Study in a Resource-Poor Community in Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 4, n. 11, p. e879, 2010. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0000879>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Tungiasis**. [S. l.], 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/tungiasis/>. Acesso em: 24 jun. 2022.

CHEN, Chieh-Wen; THONG, Haw-Yueh; JEE, Shiou-Hwa. Tungiasis: a case report and review of the literature. **Dermatologica Sinica**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 29–31, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S102781171100005X>.

DASSONI, Federica *et al.* Tungiasis in Northern Tanzania: a clinical report from Qameyu village, Babati District, Manyara Region. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [s. l.], v. 8, n. 11, p. 1456–1460, 2014. Disponível em: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/25390058>.

FELDMEIER, Hermann. Epidermal parasitic skin diseases: a neglected category of poverty-associated plagues. **Bulletin of the World Health Organization**, [s. l.], v. 87, n. 2, p. 152–159, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2636197/pdf/07-047308.pdf/>.

FELDMEIER, Hermann *et al.* Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil: IV. Clinical and histopathology. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 94, n. 4, p. 275–282, 2004. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00436-004-1197-2>.

GOLDMAN, L. Tungiasis in travelers from tropical Africa. **JAMA**, [s. l.], v. 236, n. 12, p. 1386, 1976. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/989099>.

GORDON, TM. Jigger flea. **The Lancet**, [s. l.], v. 47–49, 1941.

HEUKELBACH, J. *et al.* Topical treatment of tungiasis: a randomized, controlled trial. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, [s. l.], v. 97, n. 7, p. 743–749, 2003. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/000349803225002408>.

HEUKELBACH, J; FRANCK, S; FELDMIEIER, H. High attack rate of *Tunga penetrans* (Linnaeus 1758) infestation in an impoverished Brazilian community. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 98, n. 7, p. 431–434, 2004. Disponível em: <https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/j.trstmh.2003.12.004>.

HOEPPLI, R. Early references to the occurrence of *Tunga penetrans* in tropical Africa. **Acta tropica**, [s. l.], v. 20, p. 143–153, 1963. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13963854>.

JOSEPH, J. Keith *et al.* Tungiasis in rural Haiti: a community-based response. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 100, n. 10, p. 970–974, 2006. Disponível em: <https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/j.trstmh.2005.11.006>.

KIESEWETTER, Tim *et al.* In Vitro Efficacy of Four Insecticides Against Eggs of *Tunga penetrans* (Siphonaptera). **The Open Dermatology Journal**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 15–18, 2013. Disponível em: <https://opendermatologyjournal.com/VOLUME/7/PAGE/15/>.

MALMONTET, Thomas *et al.* Spectrum of skin diseases in Amerindian villages of the Upper Oyapock, French Guiana. **International Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 59, n. 5, p. 599–605, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijd.14848>.

MATIAS, Ricardo Soares. Epidemia de tungiase no Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 137–142, 1989. Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86821989000300005&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86821989000300005&lng=pt&tlng=pt).

MILLER, Hollman *et al.* Efficacy and safety of dimeticones in the treatment of epidermal parasitic skin diseases with special emphasis on tungiasis: an evidence-based critical review. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 170–177, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1413867020300180>.

MILLER, Hollman; RODRÍGUEZ, Gerzaín. [Tungiasis in native Amerindians in Vaupés province: epidemiology, clinical aspects, treatment, and prevention]. **Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 215–237, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20890569>.

MUTEBI, Francis *et al.* Clinical implications and treatment options of tungiasis in domestic animals. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 120, n. 12, p. 4113–4123, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s00436-021-07121-y>.

NÁJERA VILLAGRANA, Sandra Montserrat; GARCÍA NARANJO SANTISTEBAN, Alejandra. Tungiasis: a highly neglected disease among neglected diseases. Case series from Nduta refugee camp (Tanzania). **Oxford Medical Case Reports**, [s. l.], v. 2019, n. 6, 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/omcr/article/doi/10.1093/omcr/omz049/5521857>.

NORDIN, Per *et al.* Treatment of tungiasis with a two-component dimeticone: a comparison between moistening the whole foot and directly targeting the embedded sand fleas. **Tropical Medicine and Health**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 6, 2017. Disponível em: <http://tropmedhealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41182-017-0046-9>.

NSANZIMANA, Jerome *et al.* Factors associated with tungiasis among primary school children: a cross-sectional study in a rural district in Rwanda. **BMC Public Health**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 1192, 2019. Disponível em: <https://bmcpublikealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12889-019-7481-y>.

OLIVEIRA, Izabella Soares de *et al.* Tungíase Atualidades clínicas. **Jbm**, [s. l.], v. 102, p. 7–10, 2014.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA SAÚDE. Resolução CD59.R4 - Saúde Única: um enfoque integral para abordar as ameaças à saúde na interface homem-animal-ambiente. [s. l.], n. 6, p. 1–9, 2021.

ORTEGA-NARVÁEZ, Alicia *et al.* Tungiasis en el área urbana de Popayán, Colombia: reporte de caso. **Biomédica**, [s. l.], v. 41, n. Supl. 1, p. 8–16, 2021. Disponível em: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/5851>.

REISS, F. Tungiasis in New York City. **Archives of dermatology**, [s. l.], v. 93, n. 4, p. 404–

407, 1966. Disponible em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5862628>.

SABOYÁ-DÍAZ, Martha Idalí *et al.* Current status of the knowledge on the epidemiology of tungiasis in the Americas. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [s. l.], v. 46, p. 1, 2022. Disponible em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/56290>.

THIELECKE, Marlene *et al.* Prevention of Tungiasis and Tungiasis-Associated Morbidity Using the Plant-Based Repellent Zanzarin: A Randomized, Controlled Field Study in Rural Madagascar. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. e2426, 2013. Disponible em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002426>.

THIELECKE, Marlene *et al.* Treatment of Tungiasis with Dimeticone: A Proof-of-Principle Study in Rural Kenya. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 8, n. 7, p. e3058, 2014. Disponible em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003058>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances the Transport of Infectious Substances**. [S. l.: s. n.], 2021.

ZURITA, A. *et al.* Morphological, biometrical and molecular characterization of *Archaeopsylla erinacei* (Bouché, 1835). **Bulletin of Entomological Research**, [s. l.], v. 108, n. 6, p. 726–738, 2018. Disponible em: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007485317001274/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007485317001274/type/journal_article).

**ANEXO**





## ANEXO

COMISSÃO NACIONAL DE  
ÉTICA EM PESQUISA



**PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ESTUDO DE COORTE PROSPECTIVO SOBRE DESFECHOS RELACIONADOS ÀS INTERVENÇÕES HUMANAS, ANIMAIS E AMBIENTAIS NO CONTROLE DA TUNGÍASE EM COMUNIDADE INDÍGENA YANOMAMI.

**Pesquisador:** Ciro Martins Gomes

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

**Versão:** 3

**CAAE:** 29134820.0.0000.5558

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**Situação do Parecer:**

Aprovado

BRASILIA, 17 de Agosto de 2020

Assinado por:

**Jorge Alves de Almeida Venancio**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

**Bairro:** Asa Norte

**CEP:** 70.719-040

**UF:** DF

**Município:** BRASILIA

**Telefone:** (61)3315-5877

**E-mail:** conep@saude.gov.br