

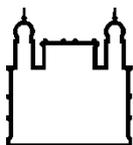
MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado em Programa de Pós-Graduação Medicina Tropical

ESTUDO EPIDEMIOLOGICO PARA A AVALIAÇÃO DA ELIMINAÇÃO  
DA ONCOCERCOSE EM ÁREAS SENTINELAS DA REGIÃO  
AMAZÔNICA, BRASIL

VERÔNICA MARCHON DA SILVA

Rio de Janeiro  
Novembro de 2015



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

*VERÔNICA MARCHON DA SILVA*

Estudo Epidemiológico para a Avaliação da Eliminação da Oncocercose em Áreas Sentinelas da Região Amazônica, Brasil

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz  
como parte dos requisitos para obtenção do título  
de Doutor em Medicina Tropical

**Orientador:** Prof. Dra. Marilza Maia Herzog

**RIO DE JANEIRO**

Novembro de 2015

S586 Silva, Verônica Marchon da

Estudo epidemiológico para a avaliação da eliminação da oncocercose em áreas sentinelas da Região Amazônica, Brasil / Verônica Marchon da Silva. – Rio de Janeiro, 2015.

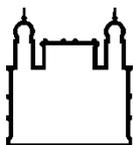
xxi, 152 f. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2015.

Bibliografia: f. 110-128

1. Oncocercose. 2. Amazônia. 3. *Onchocerca volvulus*. 4. Simulídeo. 5. Diagnóstico molecular. 6. Epidemiologia. I. Título.

CDD 616.9652



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**AUTOR: VERÔNICA MARCHON DA SILVA**

**ESTUDO EPIDEMIOLOGICO PARA A AVALIAÇÃO DA ELIMINAÇÃO DA  
ONCOCERCOSE EM ÁREAS SENTINELAS DA REGIÃO AMAZÔNICA, BRASIL**

**ORIENTADOR: Dra. Marilza Maia Herzog**

**Aprovada em: 13/11/2015**

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. Octavio Fernandes (DASA) – Presidente**

**Prof. Dr. Carlos José Pereira da Cunha de Araújo Coutinho (SUCEN)**

**Prof. Dra. Maria José Conceição (UFRJ)**

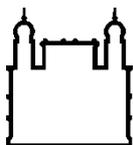
**Prof. Dra. Maria Regina Amendoeira (IOC)**

**Prof. Dr. Jerônimo Augusto Fonseca Alencar (IOC)**

**Prof. Dr. Reginaldo Peçanha Brazil (IOC)**

**Prof. Dra. Patricia Cuervo Escobar (IOC)**

Rio de Janeiro, 13 de novembro de 2015.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

Esta tese foi desenvolvida com o apoio financeiro e logístico do Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz, Secretaria de Vigilância em Saúde/MS, Distrito Sanitário de Saúde Indígena-Yanomami e da Organização para Eliminação da Oncocercose nas Américas.

Aos Yanomami e a minha família “não-índia”  
porque por eles e para eles tudo vale a pena!!!

A meu pai Clésio Antônio (*in memoriam*)  
que sua nova vida seja plena...

## **AGRADECIMENTOS**

No desenvolvimento desse estudo tiveram muitas pessoas importantes e algumas foram essenciais, a todos meu profundo agradecimento.

A cada um dos Yanomami com os quais pude conviver ao longo desses anos, meu eterno agradecimento e contentamento pela acolhida e por todos os momentos inesquecíveis e mágicos...

A Dra. Marilza Maia Herzog pela oportunidade de iniciar os estudos com os simulídeos e a oncocercose e por todo aprendizado e experiência que me propiciou nos últimos dezesseis anos.

A equipe do Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose pela participação direta ou indireta durante esses estudos, em especial a Raquel Cesario e Ana Carolina Valente.

A todos os estudantes do LSO que colaboraram com o processamento do material entomológico, Edgar dos Santos, Iara Ribeiro, Diana Rocha, Vanessa Vaz e em especial ao Diego Svoboda, orientando e colaborador nesse estudo, pela dedicação e companheirismo.

À Nedra Saad Neheme pela colaboração na realização de testes moleculares, mas principalmente por, com sua amizade, conseguir tornar doce, leve e agradável os intermináveis dias “trancadas” no laboratório.

Ao Dr Thomas Unnash, biólogo molecular da Universidade da Flórida e consultor da OEPA, pelos ensinamentos para a realização do diagnóstico molecular da oncocercose.

A equipe da OEPA, em especial ao Dr. Alfredo Dominguez e Alba Lucia Morales pelos enriquecedores e agradáveis momentos compartilhados durante as ações para o PBEO.

A todas as equipes do DSEI-Yanomami que participaram nos trabalhos de campo em especial a querida Maria de Jesus do Nascimento, Osimar José de Souza e Seu Egidio Saraiva de Alencar, não só pelo excelente trabalho, mas principalmente pelo companheirismo, ao Pedro Galdino, companheiro de trabalho desde os tempos do mestrado.

A todas as pessoas que convivi nos trabalhos de campo e com quem troquei experiências, em especial ao Richard por me ensinar um pouco da língua Yanomami.

A todos os professores e em especial ao professor Dr. José Rodrigues Coura e aos coordenadores do curso “Epidemiologia Clínica das Doenças Infecciosas e Parasitárias” pelos ensinamentos que foram essenciais para meu ingresso no doutorado em Medicina Tropical.

A amiga Dra. Martha Mutis e ao Dr. José Rodriguez Coura, todo meu carinho, admiração e agradecimento por permitirem dar continuidade às análises e finalização desse estudo no Laboratório de Doenças Parasitárias (LABDP/IOC).

Aos amigos e colegas do LABDP que me apoiaram e incentivaram em especial a Patricia Zauza, Paulo Peiter, Angela Junqueira, José Borges Pereira e Simone Santos. Sem contar com a boa energia e vibração da Vivian, Monica, Jessica, Ligia, Amanda, Tayane, Tamara... A Laura e Ronaldo pelo apoio.

A tia Penha, Soninha, Viviane e Carlos pelo carinho constante.

As amigas Patricia Zauza (Pati), Patricia Cuervo (Paty) e Magaly Dolsan pelas infindáveis conversas e pelo apoio imprescindível nesse caminhar.

As minhas amigas-irmãs, Cida (estrela) e Cláudia (lua) por toda uma vida de amizade incondicional e por estarem perto mesmo quando o sol ficou sem energia.

As minhas primas-irmãs, Rachel e Aline por estarem sempre perto mesmo longe, amor que não tem fronteiras.

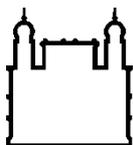
A minha família Viviane, Valéria, Seu Arlindo e Aba por todo amor recebido.

A Bella, Manu e Vini nunca desistirem dos seus sonhos.

A meus pais Clésio Antônio (*in memoriam*) e Maria Nazareth que me passaram os princípios básicos de ética e respeito a tudo e a todos e sempre me incentivaram a seguir com meus estudos.

Ao meu amor, Arlindo Serpa Filho, por cada momento vivido ao seu lado e por me ajudar a manter a mente quieta, a espinha ereta e o coração tranquilo...

“Porque tudo é uma questão de manter a mente quieta, a espinha ereta e o coração tranquilo...” (Walter Franco)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

### ESTUDO EPIDEMIOLOGICO PARA A AVALIAÇÃO DA ELIMINAÇÃO DA ONCOCERCOSE EM ÁREAS SENTINELAS DA REGIÃO AMAZÔNICA, BRASIL

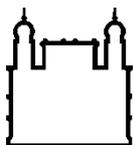
#### RESUMO

#### TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

**Verônica Marchon da Silva**

No Brasil, a área endêmica para oncocercose está restrita a Amazônia, em Terra Indígena Yanomami. O Programa Brasileiro de Eliminação da Oncocercose (PBEO) adota como principal estratégia de controle o tratamento em massa dessa população com Ivermectina, estando em consonância com o Programa para Eliminação da Oncocercose nas Américas (OEPA) e os outros cinco países endêmicos na América Latina – México, Guatemala, Equador, Colômbia e Venezuela. De acordo com estratégias de monitoramento definidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), foi realizado esse estudo visando à disponibilização de ferramentas para avaliação do estado epidemiológico da oncocercose baseadas em análises de parâmetros entomológicos, fornecendo subsídios para medidas e as ações efetivas de controle. Foram realizadas, de 2009 a 2011, avaliações entomológicas, moleculares e epidemiológicas nos três polos base sentinelas para o PBEO – Xitei (subpolo Ketaa e Watatase), Balawau (subpolo Maxapapi e Wanapiu) e Toototobi (subpolo Xiroxiropiu) para o monitoramento do impacto das estratégias de controle do PBEO/OEPA na transmissão da oncocercose no Brasil. Para análise dos parâmetros entomológicos foram realizadas capturas sistemáticas mensais de simúlideos, de 4-8 dias consecutivos de 7-18h. Para análise molecular, grupos de até 50 fêmeas foram organizados de acordo com a espécie e outros parâmetros, separados em cabeças e corpos e cada grupo foi testado para a presença de DNA do parasito por PCR-ELISA. Do total de 74.397 simúlideos capturados (54% *S. guianense*; 40% *S. incrustatum*; 6% *S. oyapockense*), 16.971 foram coletados em Xitei/Watatase, 22.910 em Xitei/Ketaa, 2.301 em Balawaú/Maxapapi, 10.986 em Balawaú/Wanapiu e 21.229 de Toototobi. Do total de 1559 pools examinados (821 de Xitei, 302 de

Balawaú e 436 de Toototobi), a prevalência estimada de *S. guianense* infectado foi de 1,0/2.000 simulídeos (95% LSIC – 2,2) no polo base Toototobi e 0,5/2.000 simulídeos (95% LSIC – 1,4) no polo base Balawaú. *Simulim incrustatum* e *S. oyapockense* não apresentaram nenhum pool considerado positivo. Neste estudo, o uso de diagnóstico molecular combinado com a identificação e aspectos bionômicos das espécies vetores e análises epidemiológicas possibilitou avaliar as informações sobre o estado da transmissão da oncocercose após a intervenção de 15 anos de tratamento com ivermectina. Com base nos parâmetros entomológicos de prevalência da infectividade (TI) e o potencial de transmissão anual (PTA) detectado abaixo do preconizado para as áreas sentinela foi possível verificar para período estudado a supressão da transmissão da oncocercose nas três áreas sentinela – Xitei, Balawaú e Toototobi.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

### EPIDEMIOLOGICAL STUDY FOR ASSESSMENTS OF ONCHOCERCIASIS ELIMINATION IN SENTINELS AREAS, AMAZONIA REGION, BRAZIL

#### ABSTRACT

#### PHD THESIS IN MEDICINA TROPICAL

Verônica Marchon da Silva

In Brazil, the onchocerciasis endemic area is restricted to the Amazon region, in the Yanomami area. The Brazilian Program to Eliminate Onchocerciasis (PBE0) adopts as the most important strategy to control the mass treatment of this population with Ivermectina, and so does the Onchocerciasis Elimination Program for the Americas (OEPA), as well as the other five endemic countries in Latin America - Mexico, Guatemala, Equador, Colombia and Venezuela. According to the strategies defined by the World Health Organization (WHO) this study was done aiming the availability of tools for the evaluation of the epidemiological status onchocerciasis based on entomologic parameters, offering subsidies for the study and effective controlling actions. Were conducted, from 2009 to 2011, entomological, molecular and epidemiological evaluations in three sentinels areas under surveillance of PBE0 – Xitei (Ketaa and Watatase), Balawau (Maxapapi and Wanapiu) and Toototobi (Xiroxiropiu) to monitor the PBE0/OEPA controlling strategies impact in the onchocerciasis transmission in Brazil. To analyze the entomological parameters, monthly, simuliids captures from 4-8 consecutive days, between the hours of 7am–6pm were done. For the molecular analysis, groups of up to 50 females were organized according to species and other parameters, separated in heads and bodies and each group was tested through PCR-ELISA, for the presence of the DNA parasite. From a total of 74,397 captured simuliids (54% *S. guianense*, 40% *S. incrustatum*; 3% *S. oyapockense*); 16,971 were captured from Xitei/ Watatase, 22,910 from Xitei/Ketaa, 2,301 from Balawau/Maxapapi, 10,986 from Balawau/Wanapiu and 21,229 from Toototobi. In a total of 1,559 pools examined (821 from Xitei, 302 from Balawau and 436 from Toototobi), the estimated prevalence of infected *S. guianense* was 1.0/2,000 simuliids (95% L SIC–2.2) in the

Toototobi area, and 0.5/2,000, simuliids (95% L SIC – 1.4) in the Balawau area. *Simulium incrustatum* and *S. oyapockense* did not present any pool considered positive. In this study, the use of molecular diagnostic combined with the identification and bionomic aspects of the vector species, and epidemiologic analysis, assisted in the evaluation of the Onchocerciasis transmission after 15 years of Ivermectina treatment, there are presenting an updated epidemiological profile of the disease in the Brazilian Amazon. Based on entomological parameters of prevalence of infectivity (IT) and the potential for transmission (PTA) detected below levels considered the sentinel areas was verified for the period studied the suppression of onchocerciasis transmission in the three sentinel areas– Xitei, Balawaú e Toototobi

# ÍNDICE

<b>RESUMO</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XI</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>4</b>
Objetivo Geral .....	4
Objetivos Específicos.....	4
<b>3 MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
Oncocercose .....	5
Epidemiologia da Oncocercose.....	6
Estratificação da Endemicidade .....	7
Oncocercose nas Américas .....	7
Oncocercose na Amazônia – Foco Binacional Brasil-Venezuela .....	11
Oncocercose no Brasil .....	12
A etnia Yanomami .....	15
Aspectos Históricos .....	17
Os vetores da Oncocercose.....	19
Os Vetores da Oncocercose na Amazônia Brasileira .....	22
A Doença - Manifestações clínico-patológicas .....	23
Programas de Controle da Oncocercose.....	26
Programa Brasileiro de Eliminação da Oncocercose .....	30
Métodos de diagnóstico para detecção de <i>Onchocerca volvulus</i> .....	32
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>36</b>
Área de Estudo.....	36
Terra Indígena Yanomami .....	36
Capacitação da Equipe de Campo .....	40
Estudo Entomológico .....	41
Captura de simulídeos adultos .....	41
Contabilização e Identificação de simulídeos .....	42
Aspectos Binômicos .....	44
Análise de dados Entomológicos.....	44

	<b>Estudo do Parasito .....</b>	<b>45</b>
	Diagnóstico molecular .....	45
	<b>Análise de Dados Moleculares .....</b>	<b>53</b>
	<b>Ética em Pesquisa .....</b>	<b>54</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>55</b>
	<b>Estudo Entomológico.....</b>	<b>55</b>
	Contabilização e Identificação de simúlideos .....	55
	<b>Aspectos Binômicos.....</b>	<b>57</b>
	Periodicidade Mensal das espécies vetores.....	57
	Periodicidade horária diária das espécies vetores .....	65
	Taxa Mensal de Picada (TMP) .....	85
	<b>Estudo do Parasito .....</b>	<b>91</b>
	Diagnóstico molecular .....	91
	<b>Análise de Dados .....</b>	<b>93</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>97</b>
	<b>Estudos Entomológicos.....</b>	<b>99</b>
	<b>Estudos do Parasito .....</b>	<b>103</b>
	<b>Análise de Dados – Dinâmica da Transmissão .....</b>	<b>105</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>107</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>109</b>
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>110</b>
<b>10</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>129</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa com a distribuição global da oncocercose segundo o grau de endemicidade em 2014. Fonte: WHO, 2014.....	6
Figura 2. Distribuição geográfica e situação da transmissão da oncocercose na América Latina em 2014, com informação dos 13 focos endêmicos. Fonte: WHO, 2014.....	8
Figura 3. Identificação dos polos base na área endêmica para oncocercose na Terra Indígena Yanomami, Brasil. Fonte: Adaptado do BRASIL, 2012.....	12
Figura 4. Localização geográfica da Terra Indígena Yanomami. Fonte: DSEI-Yanomami. ....	36
Figura 5. Área de estudo – pontos de coleta em cada polo base - Xitei, Balawaú e Toototobi.....	38
Figura 6. Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Xitei, subpolo Ketaa em agosto de 2009 e de agosto a novembro de 2010.....	59
Figura 7. Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Xitei – Watatase em agosto, outubro e novembro de 2009. ....	60
Figura 8. Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Balawaú, subpolo Maxapapi de agosto a novembro de 2009. ....	62
Figura 9. Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Balawaú na comunidade de Wanapiu de agosto de 2010 a março de 2011.....	63
Figura 10. Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu de agosto a novembro de 2009. ....	65
Figura 11. Flutuação horária pela média de Willians de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa vs. hora do dia para os meses de agosto/2009 (A), agosto/2010 (B), setembro/2010 (C), outubro/2010 (D) e novembro/2010 (E) no polo base Xitei, Watatase, Amazônica, Brasil. ....	67
Figura 12. Flutuação horária pela média de Williams por espécie - <i>S. guianense</i> (A), <i>S. incrustatum</i> (B) e <i>S. oyapockense</i> (C) por pessoa vs. hora do dia para os	

meses de coleta (agosto/09, agosto a novembro de 2010) realizados no polo base Xitei, Ketaa no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil. ....	69
Figura 13. Flutuação horária pela média de Williams de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa vs. hora do dia (hora-coleta) para os meses de agosto (A), outubro (B) e novembro de 2009 (C) no polo base Xitei, Watatase, Amazônica, Brasil. ....	71
Figura 14. Flutuação horária pela média de Williams por espécie - <i>S. guianense</i> (A), <i>S. incrustatum</i> (B) e <i>S. oyapockense</i> (C) por pessoa para hora do dia para os meses de coleta (agosto, outubro e novembro de 2009) realizados no polo base Xitei, Watatase no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil. ....	73
Figura 15. Flutuação horária pela média de Williams de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa vs. hora do dia (hora-coleta) para os meses de agosto/2010 (A), setembro/2010 (B), outubro/2010; (C) novembro/2010 (D); dezembro/2010 (E), janeiro/2011 (F), fevereiro/2011 (G) e março/2011 (H) no polo base Balawaú, Amazônica, Brasil. ....	77
Figura 16. Flutuação horária pela média de Williams por espécie - <i>S. guianense</i> por hora do dia para os meses de coleta de agosto a novembro de 2010 (A) e de dezembro de 2010 a março de 2011 (B) e espécie - <i>S. incrustatum</i> por hora do dia para os meses de coleta de agosto a novembro de 2010 (C) e de dezembro de 2010 a março de 2011 (D), realizados no polo base Balawaú, Wanapiu no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil.....	79
Figura 17. Flutuação horária pela média de Williams de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa por hora do dia para os meses de agosto (A), setembro (B) outubro (C) e novembro de 2009 (D) no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, Amazônica, Brasil. ....	82
Figura 18. Flutuação horária pela média de Williams por espécie - <i>S. guianense</i> (A), <i>S. incrustatum</i> (B) e <i>S. oyapockense</i> (C) por pessoa para hora do dia para os meses de coleta (agosto, outubro e novembro de 2009) realizados no polo base Toototobi, Xiroxiropiu no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil. ....	84
Figura 19. Taxa de picada mensal de <i>S. guianense</i> (A), <i>S. incrustatum</i> (B) e <i>S. oyapockense</i> (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Xitei,subpolo Ketaa (D) nos meses de coleta.....	86

Figura 20. Taxa de picada mensal de <i>S. guianense</i> (A), <i>S. incrustatum</i> (B) e <i>S. oyapockense</i> (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Xitei, comunidade de Wanapiu (D) nos meses de coleta. ....	87
Figura 21. Taxa de picada mensal de <i>S. guianense</i> (A), <i>S. incrustatum</i> (B) e <i>S. oyapockense</i> (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Balawaú (D) nos meses de coleta. ....	89
Figura 22. Taxa de picada mensal de <i>S. guianense</i> (A), <i>S. incrustatum</i> (B) e <i>S. oyapockense</i> (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Toototobi (D) nos meses de coleta. ....	90

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Coordenada geográficas dos pontos de coleta por polo base e subpolo para as coletas realizadas em 2009, 2010 e 2011 nas áreas sentinelas para o PBEO. ....	40
Tabela 2. Iniciadores utilizados para PCR diagnóstica de <i>Onchocerca</i> sp.....	50
Tabela 3. Reagentes usados na PCR para uma reação de 50 µL gênero-específica para <i>Onchocerca</i> .....	51
Tabela 4. Perfil térmico usado na PCR diagnóstica .....	51
Tabela 5. Frequência absoluta e relativa de simúldeos potenciais vetores da oncocercose coletados nos polos base sentinelas Xitei, Balawaú e Toototobi nos anos 2009, 2010 e 2011.....	57
Tabela 6. Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Xitei, subpolo Ketaa em agosto de 2009 e de agosto a novembro de 2010.....	58
Tabela 7. Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Xitei – comunidade Watatase em agosto, outubro e novembro de 2009. ....	60
Tabela 8. Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Balawaú, subpolo Maxapapi de agosto a novembro de 2009.....	61
Tabela 9. Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Balawaú na comunidade de Wanapiu de agosto de 2010 a março de 2011.....	63
Tabela 10. Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu de agosto a novembro de 2009. ....	64
Tabela 11. Distribuição dos simúldeos registrados nos períodos de coleta no polo base Xitei, subpolo Ketaa em agosto de 2009 e de agosto a novembro de 2010. ....	65
Tabela 12. Distribuição do total de simúldeos registrados nos períodos de coleta no polo base Xitei, Watatase em agosto, outubro e novembro de 2009. ....	70
Tabela 13. Distribuição do total de simúldeos registrados nos períodos de coleta no polo base Balawaú, Wanapiu de agosto de 2010 a março de 2011....	74

Tabela 14. Distribuição do total de simúlídeos registrados nos períodos de coleta no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu de agosto a novembro de 2009. ....	80
Tabela 15. Total (N) e <i>pool</i> (P) de simúlídeos potenciais vetores da oncocercose coletados e formatados dos polos base sentinelas Xitei, Balawaú e Toototobi nos anos 2009, 2010 e 2011. ....	91
Tabela 16. Dados do processamento molecular para as espécies de simúlídeos potenciais vetores da oncocercose por polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, comunidades e ano de coleta. ....	92
Tabela 17. Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI) e Taxa de Picada (TP) de <i>Simulium guianense</i> nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.....	94
Tabela 18. Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI), Taxa de Picada (TP) de <i>Simulium incrustatum</i> nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.....	95
Tabela 19. Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI), Taxa de Picada (TP) de <i>Simulium oyapockense</i> nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.....	95
Tabela 20. Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI), Taxa de Picada (TP) de <i>S. guianense</i> , <i>S. incrustatum</i> e <i>S. oyapockense</i> nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.....	96

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AIS	Agentes Indígenas de Saúde
APOC	Programa Africano de Controle da Oncocercose ( <i>African Programme for Onchocerciasis Control</i> )
CDTi	Tratamento com Ivermectina direcionado para a comunidade ( <i>Community-Directed Treatment with ivermectin</i> )
CENEPI	Centro Nacional de Epidemiologia
CGHDE	Coordenação Geral de Hanseníase e Doenças em Eliminação
DEOPE	Departamento de Operações
DSEI-Y	Departamento Sanitário Especial Indígena-Yanomami
DSY	Distritos Sanitários Yanomami
DTN	Doenças Tropicais Negligenciadas
ELISA	Ensaio Imunoenzimático ( <i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i> )
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
MDA	Distribuição da Medicação em Massa ( <i>Mass Drug Administration</i> )
OCP	Programa de Controle da Oncocercose ( <i>Onchocerciasis Control Programme</i> )
OEPA	Programa para Eliminação da Oncocercose nas Américas ( <i>Onchocerciasis Elimination Program for the Americas</i> )
OMS	Organização Mundial da Saúde ( <i>WHO-World Health Organization</i> )
ONGs	Organizações Não Governamentais
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde (PAHO – <i>Pan American Health Organization</i> )
PBEO	Programa Brasileiro de Eliminação da Oncocercose.
PCC-OEPA	Comissão Coordenadora do Programa da OEPA ( <i>Program Coordinating Committee-OEPA</i> )
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> )
PENDA	Programa para a Eliminação das Doenças Tropicais Negligenciadas na África ( <i>Programme for the Elimination of Neglected Diseases in Africa</i> )
PTA	Potencial de Transmissão Anual
REMO	Mapeamento Epidemiológico Rápido da Oncocercose ( <i>Rapid Epidemiological Mapping of Onchocerciasis</i> )
SESAI	Secretaria Especial de Saúde Indígena

SPI	Serviço de Proteção aos Índios
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
USAID	Agência dos Estados Unidos para o Desenvolvimento Internacional ( <i>United States Agency for International Development</i> )
VEPT	Vigilância Epidemiológica Pós-Tratamento

# 1 INTRODUÇÃO

Desde o final dos anos 1960, quando o primeiro caso de oncocercose foi descrito no Brasil, iniciaram-se diversos estudos que foram conduzidos principalmente pelo grupo do Dr. Mario Moraes (parasitologista) e Dr. Anthony Shelley (entomologista). Sendo assim, no início da década de 1970 já se sabia que a área endêmica estava restrita à floresta Amazônica e que, apesar de ter o seu primeiro caso descrito em uma menina não-índia, filha de salesianos que viviam na região do Toototobi, a população em risco e realmente afetada pela doença são indígenas e na sua grande maioria da etnia Yanomami. Desde então, outros estudos acadêmicos e/ou por demanda do Ministério da Saúde foram realizados, principalmente para delimitação do foco e estratificação da endemicidade por polos base de assistência à saúde.

Com a liberação do uso da ivermectina para uso em humanos no final dos anos 1980, mais especificamente para o tratamento da oncocercose, e com o incentivo dado pelo programa de doação do medicamento pelo laboratório farmacêutico Merck, com distribuição medicamentosa para toda a população em área de risco, foi criada a Organização para Eliminação da Oncocercose (OEPA), com suporte da Organização Mundial da Saúde (OMS). No início dos anos 1990, o Brasil e os outros seis países endêmicos da América Latina passaram a atuar junto com a OEPA para alcançar a eliminação da oncocercose, usando como estratégia principal a redução da transmissão através do uso da ivermectina, medicamento com ação microfilaricida e que, portanto, precisaria ser utilizado em massa por cerca de 14 anos, até que supostamente não houvesse mais filárias adultas na população. Partindo desse princípio, o Programa Brasileiro para Eliminação da Oncocercose (PBEO) adota, desde 1995, o tratamento em massa da população em risco como principal estratégia para a eliminação da doença e muito se tem avançado desde então. Entretanto, diversos são os entraves que vêm postergando alcançar essa meta, entre eles o difícil acesso à área endêmica, por estar localizada em plena floresta amazônica, e a própria condição seminômade e hábitos culturais dos Yanomami, que podem por vezes favorecer o ciclo parasita-vetor-homem. Por sua vez, ações políticas e governamentais, como a municipalização da assistência à saúde, que desestruturou várias ações que vinham sendo realizadas com êxito,

principalmente deslocando equipes que vinham participando do PBE0, corroboraram com o atraso do cumprimento das metas para alcançar a eliminação da oncocercose.

Vários esforços vêm sendo empregados para o controle e possível eliminação da oncocercose nos países endêmicos. A OEPA, de acordo com resoluções do Conselho Diretor da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) - CD48.R12 e CD49.R19 (PAHO, 2008; 2009), tem como objetivo interromper a transmissão da oncocercose na América Latina até o ano de 2015 (WHO, 2013b) e tem feito progressos substanciais, tendo sido a transmissão eliminada em sete focos e interrompida em quatro dos 13 focos na América Latina (OEPA, 2013).

Nas primeiras estimativas realizadas na América Latina pela OMS, foi relatado que mais de 140.000 pessoas foram infectadas e 4,7 milhões estavam sob o risco de serem infectados (WHO 1995a). Análises mais recentes realizadas pela OEPA sugerem que, como resultado das medidas de controle eficazes ao longo de quinze anos, a população em situação de risco é de 470.022 habitantes, apresentando, assim, uma redução em aproximadamente 90% da relatada anteriormente (Sauerbrey, 2008; WHO, 2009; 2010; 2011). Atualmente, estima-se que, nas Américas, das 379.234 pessoas em situação de risco, 354.207 estão sob vigilância epidemiológica pós-tratamento (VEPT), quando não é oferecida medicação em massa para população, e apenas 25.027 estão incluídos em programas de distribuição da medicação em massa para a população elegível nas áreas de risco. Os indivíduos elegíveis para tratamento em 2013 (20.495) estão agora restritos à Venezuela e ao Brasil. No Brasil, são 13.600 indivíduos em situação de risco, sendo 10.880 elegíveis para o tratamento, dispersos nas Terras Indígenas Yanomami nos Estados do Amazonas e Roraima (OEPA, 2013), fazendo fronteira com o foco sul da Venezuela.

Em 2014, a população regional em comunidades endêmicas e anteriormente endêmicas da oncocercose foi calculada em 565.232, onde 428.565 (75,82%) residem em áreas onde a VEPT foi concluída com sucesso e, portanto, não está mais em risco de infecção e 109.952 (19,45%) residem em áreas que não estão sendo oferecidos MDA, mas estão ainda sob VEPT. A população restante de 26.715 (4,73%), alvo de programas MDA ativos, é da etnia Yanomami, indígenas que vivem nas profundezas da floresta amazônica, em uma zona de transmissão, que fica na fronteira do Brasil com a Venezuela (WHO, 2014).

Na América Latina, devido ao sucesso dos programas de distribuição de ivermectina na redução das cargas de microfilárias na pele, os métodos de diagnóstico parasitológico não são mais utilizados para a determinação das taxas de infecção, sendo os retalhos cutâneos utilizados apenas para investigar o estado de infecção em indivíduos que têm resultados sorológicos positivos limítrofes.

No Brasil, Marchon-Silva et al (2007) realizaram estudo em áreas sentinelas para detecção de *Onchocerca volvulus*, através da reação em cadeia da polimerase (PCR) em populações de *Simulium*, para avaliação da eficácia do programa de controle da oncocercose. Tal metodologia molecular mostrou ser bastante sensível e específico para a detecção da simulídeos infectados e/ou infectantes.

Atualmente, utilizam-se métodos com maior sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da oncocercose, como os imunológicos e, principalmente, os moleculares para a vigilância da infecção por *O. volvulus*. A metodologia com base na PCR-ELISA é empregada como uma abordagem confiável para estimar os níveis de transmissão do parasita em alguns países da África e nos seis países afetados na América Latina.

Uma recente revisão sobre as interações *Onchocerca-Simulium* concluiu que o parasito e o vetor exercem efeitos recíprocos de sobrevivência em cada um dos vários estádios do ciclo de vida do parasita no simulídeo, e eles podem ter se adaptado para minimizar os efeitos deletérios sobre a competência e maximizado a transmissão (Basañez et al., 2009). No entanto, o papel que estas adaptações podem desempenhar na transmissão do parasita em condições naturais ainda não está claro, sendo necessária ainda a realização de estudos.

Neste estudo, a utilização do diagnóstico molecular combinada com a identificação e bionomia das espécies-vetores possibilitou avaliar o estado de transmissão da doença após a intervenção de 18 anos de tratamento com Ivermectina da população nas áreas sentinela do Programa Brasileiro para Eliminação da Oncocercose (PBEO), sendo apresentado assim um perfil epidemiológico atual deste agravo na Amazônia brasileira. Estes dados permitiram observar o estado da transmissão desta doença no Brasil e apontar ações que viabilizem o sucesso da estratégia de eliminação. Acredito que as atividades de intervenção oriundas dessas investigações beneficiarão principalmente as comunidades indígenas - Yanomami, por serem as mais afetadas pela oncocercose no País.

## 2 OBJETIVOS

### ***Objetivo Geral***

Avaliar o estado da eliminação da oncocercose em áreas sentinela da região amazônica brasileira – Xitei, Balawau, Toototobi - através de indicadores entomológicos e moleculares.

### ***Objetivos Específicos***

- Investigar as espécies potencialmente transmissoras de oncocercose nas áreas estudadas;
- Analisar a periodicidade mensal das espécies de simuliídeos encontradas nas áreas estudadas;
- Verificar a periodicidade diária das espécies de simuliídeos encontradas nas áreas estudadas;
- Definir taxas de prevalência da infecção por *O. volvulus* nos simuliídeos através do diagnóstico molecular (PCR);
- Apresentar um quadro atual da transmissão de *O. volvulus* na área endêmica no Brasil.

### 3 MARCO TEÓRICO

#### ***Oncocercose***

A oncocercose é uma doença infecto-parasitária, endêmica em países das regiões Afrotropical e Neotropical, entre os trópicos de Câncer e Capricórnio, na África, Península Arábica (Iêmen) e na América Latina. Na África subsaariana, especialmente na África Ocidental, a oncocercose é assinalada como endêmica em 31 países, onde está situada a maior parte da população afetada (99%).

É considerada de alta morbidade, apresentando ampla distribuição que se estende por regiões contínuas (WHO, 2014), podendo ser também encontrada em focos mais isolados ao leste e sudeste da África Central e no Iêmen, país do Oriente Médio. Na América Latina, os focos registrados são relativamente pequenos e dispersos em seis países: México, Guatemala, Equador, Colômbia, Venezuela e Brasil.

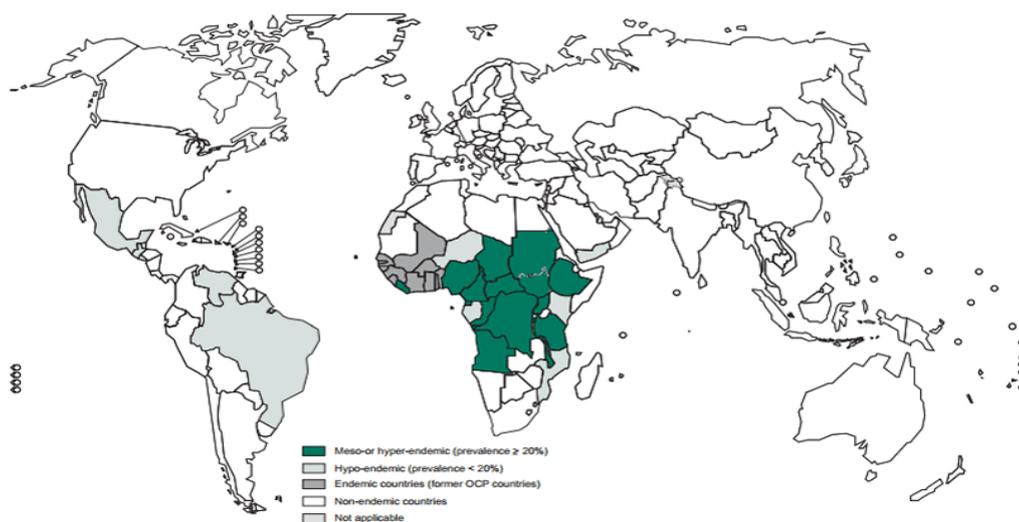
Esta parasitose de evolução crônica tem como agente etiológico o filarídeo *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) Railliet & Henry, 1910, que parasita o tecido subcutâneo do homem, onde, na fase adulta, provocam a formação de nódulos fibrosos onde vivem enovelados e são capazes de produzir milhares de microfilárias que, ao migrarem podem causar lesões de pele e invadir o globo ocular acarretando graves alterações na retina e no cristalino que, frequentemente, conduzem à cegueira irreversível. O parasito não tem outro reservatório ambiental ou hospedeiro natural que não seja o homem.

A transmissão para o homem ocorre através da picada de várias espécies de insetos do gênero *Simulium* Latreille, 1802. A oncocercose também é conhecida como “cegueira dos rios”, por causa do ambiente onde vivem as fases imaturas dos simulídeos, que habitam rios geralmente de águas correntes e bem oxigenadas até o amadurecimento para fase adulta (Crosskey, 1973).

## ***Epidemiologia da Oncocercose***

Estimativas sobre a prevalência da oncocercose realizadas em meados dos anos 1990s indicavam que aproximadamente 123 milhões de pessoas no mundo estavam sob o risco de infecção, com mais de 17,6 milhões já infectadas. Destas, 500.000 apresentam problemas visuais graves e 270.000 estavam cegos, sendo a grande maioria na África (WHO, 1995a). Mais recentemente, Crump et al. (2012) confirmaram tal estimativa de que cerca de 123 milhões de pessoas estavam sob risco de infecção em 38 países endêmicos, mas o número de infectados passou para, pelo menos, 25,7 milhões e 1 milhão com cegueira ou apresentando deficiência visual grave.

Atualmente, informações da Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2014) referentes à prevalência da oncocercose nos países endêmicos revelam que mais de 99% das pessoas infectadas vivem em 31 países da África subsaariana (Angola, Benin, Burkina Faso, Burundi, Camarões, República Centro Africano, Chade, República do Congo, Costa do Marfim, República Democrática do Congo, Guiné Equatorial, Etiópia, Gabão, Gana, Guiné, Guiné-Bissau, Quênia, Libéria, Malawi, Mali, Moçambique, Níger, Nigéria, Ruanda, Senegal, Serra Leoa, Sudão do Sul, Sudão, Togo, Uganda e República Unida da Tanzânia), e 1% estaria no Iêmen e em seis países da América Latina - México, Guatemala, Equador, Colômbia, Venezuela e Brasil (Fig. 1).



**Figura 1.** Mapa com a distribuição global da oncocercose segundo o grau de endemidade em 2014. Fonte: WHO, 2014.

A prevalência e a intensidade da microfilaremia aumentam significativamente com a idade, mas não foi encontrada uma associação com a identidade de gênero das pessoas afetadas (Vivas-Martínez et al., 1998; 2000<sup>a</sup>, b).

### ***Estratificação da Endemicidade***

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2001a), a estratificação da endemicidade não foi padronizada em todos os programas de controle, sendo que na América Latina, esses níveis foram definidos da seguinte forma:

Hipoendêmica - Termo usado para área com baixa transmissão, que corresponde a comunidades onde a taxa de biópsia positiva realizada em adultos que tenham vivido na comunidade por pelo menos cinco anos seja igual ou menor que 20% ( $\leq 20\%$ ).

Mesoendêmica - Termo usado para área com moderada transmissão, que corresponde a comunidades onde a taxa de biópsia positiva seja maior que 20% e menor que 60% ( $>20\%$  e  $<60\%$ ).

Hiperendêmica - Termo usado para área com alta transmissão do parasito, que corresponde a comunidades onde a taxa de biópsia positiva seja igual ou maior que 60% ( $\geq 60\%$ ).

O estabelecimento destes níveis proporciona uma melhor visão e acuidade para as tomadas de decisão para o entendimento da epidemiologia e controle da oncocercose na América Latina.

### ***Oncocercose nas Américas***

Para a América Latina, a primeira estimativa apresentada era de que 4,7 milhões de pessoas estariam sob o risco de serem infectados por *O. volvulus*, e 150 mil a 200 mil já infectadas (WHO, 1995a). Entretanto, no final dos anos 1990s, com a caracterização epidemiológica realizada no foco norte da Venezuela e a reavaliação no foco da Guatemala, o total estimado da população em risco na América Latina, reduziu para 660 mil pessoas vivendo em 2773 comunidades onde apenas 200 eram consideradas hiperendêmicas e com alto risco de evoluírem para doença ocular (WHO, 2001b).

Atualmente, dos 13 focos identificados nos seis países endêmicos na América Latina, estima-se que do total de mais de 560 mil pessoas que vivem nessas áreas, 122.282 estão em situação de risco, entre estas, 95.567 estão sob a vigilância epidemiológica pós-tratamento (VEPT), quando não é oferecida medicação em massa para população, e 22.046 estão incluídas em programas de distribuição da medicação em massa (MDA - *Mass Drug Administration*) para população elegível nas áreas que ainda estão sob o risco de infecção (OEPA, 2014) (Fig. 2).



**Figura 2.** Distribuição geográfica e situação da transmissão da oncocercose na América Latina em 2014, com informação dos 13 focos endêmicos. Fonte: WHO, 2014.

Em relação ao processo de eliminação da oncocercose, a **Colômbia** foi o primeiro país das Américas e do mundo a eliminar a transmissão da oncocercose, tendo recebido em julho de 2013 a certificação oficial emitida pela Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) (WHO, 2013a).

Em 1996, estudos realizados na Colômbia mostraram que todos os casos do país estavam localizados no município de López de Micay, no Estado de Cauca, com uma população de cerca de 1.500 pessoas, acessível apenas por longa viagem de barco. O programa de distribuição medicamentosa em massa teve início nesse

mesmo ano pelo Instituto Nacional da Saúde e da Secretaria Estadual de Saúde Cauca, com o apoio da OEPA e, principalmente, de líderes comunitários, trabalhadores de saúde locais e voluntários. Periodicamente, nos anos que se seguiram, foram realizados levantamentos epidemiológicos a fim de acompanhar o impacto do programa sobre a transmissão da oncocercose. No ano de 2007, os indicadores epidemiológicos foram suficientes para declarar a interrupção da transmissão de acordo com as orientações da OMS (WHO, 2001a) e os tratamentos com Mectizan® foram interrompidos, seguidos de três anos de VEPT (2008-2010). Em 2011, após avaliação técnica da Comissão Coordenadora do Programa da OEPA (*PCC-Program Coordinating Committee-OEPA*) foi confirmada a interrupção da transmissão. A Colômbia encaminhou então a solicitação formal à OMS para verificação da eliminação da oncocercose do seu território nacional, o que foi confirmada em 5 de abril de 2013 (WHO, 2013a).

Sobre a distribuição geográfica da oncocercose no **Equador**, essa é endêmica nas províncias de Esmeraldas e Pichincha, com focos localizados nas proximidades de três rios - Rio Santiago, Rio Cayapas e Rio Canande (Guderian & Shelley, 1992; Guderian et al, 1997a, c; OEPA, 2014). No início dos anos 1990s, iniciaram-se os esforços para eliminar a oncocercose através da distribuição da ivermectina nestes focos. Além do foco principal chamado Esmeraldas/Pichincha, haviam seis subfocos chamados satélites, sendo que das 119 comunidades endêmicas, 99 (83%) estão no foco principal e 20 comunidades estão divididas nos subfocos (OEPA, 2014). Em 1997, o subfoco satélite da área do rio Santiago foi considerada com nível de transmissão abaixo do necessário para manter a infecção (Guderian et al., 1997b), tendo sido o tratamento em massa da população suspenso desde 2008 (OEPA, 2014). No período de 2010 a 2012, o Equador realizou a fase de VEPT, seguindo recomendação da PCC-OEPA para interromper o tratamento. No final desse período foram avaliados indicadores epidemiológicos pela PCC-OEPA que considerou que a transmissão havia sido interrompida declarando, então, a oncocercose como eliminada no país (OEPA, 2014). O Programa de Eliminação da Oncocercose do Equador já iniciou os procedimentos necessários dentro do Ministério da Saúde e enviou o pedido de verificação pela OPAS/OMS. No ano de 2014, a equipe internacional de verificação, enviada pela OMS/OPAS, visitou a área endêmica do Equador e, no momento se aguarda a avaliação do relatório e as

recomendações da visita dessa equipe para que se confirme a eliminação da transmissão nesse país (WHO, 2014).

Na **Guatemala** os focos endêmicos estão concentrados nas encostas ocidentais da cordilheira vulcânica, sendo que um foco está situado a nordeste, na fronteira com o México. A localização desses focos é quase exclusivamente em comunidades localizadas entre 500 e 1.500 metros de altitude e a maioria deles têm o cultivo do café como a atividade econômica predominante. A área endêmica compreende 24 municípios em sete departamentos, sendo o foco Central o de mais alta endemicidade, apresentando 30% das comunidades hiperendêmicas, localizadas na região de fronteira entre os departamentos de Chimaltenango, Sololá e Suchitepequez (WHO, 1995a). Ochoa et al (1997) apresentaram resultados positivos na redução da prevalência da oncocercose, obtidos pelo programa de controle químico de larvas do vetor em comunidade da Guatemala. Entretanto, foram as medidas adotadas de distribuição da medicação em massa, como recomendado pela OEPA, que possibilitaram que um por um os focos endêmicos da Guatemala alcançassem a eliminação da doença - foco Santa Rosa e foco Escuintla em 2011; Foco Cuilco, Huehuetenango em 2011 e foco Central em 2014 (OEPA, 2014). Atualmente, após os três anos de VEPT e de terem sido considerados os seus focos eliminados pela PCC-OEPA, o Programa de Guatemala prepara a documentação necessária para solicitar a OPAS/OMS que se verifique a eliminação da oncocercose nos focos do país.

No **México**, há três focos endêmicos para oncocercose localizados em regiões montanhosas ao sul, sendo um em Oaxaca e dois em Chiapas (WHO, 1995a). Em ambos os estados, a oncocercose ocorre em comunidades onde o cultivo do café tem sido a atividade econômica predominante. Nos anos 1990s, diversos estudos realizados no México demonstraram que as medidas de controle já vinham conseguindo reduzir a prevalência e a incidência da oncocercose como consequência do decréscimo da intensidade da transmissão, prevenindo, assim, a cegueira e as lesões dérmicas nos indivíduos infectados por esta parasitose (Rodríguez-Pérez & Rivas-Alcalá, 1991; Rodríguez-Pérez & Rodríguez-López, 1994; Rodríguez-Pérez et al., 1995, 1999a, b). Atualmente, nos focos do México, já não é administrado o Mectizan devido sua transmissão se encontrar interrompida ou eliminada. Os focos do Norte de Chiapas e de Oaxaca já concluíram o período de VEPT, tendo sido a transmissão considerada eliminada em 2010 e 2011,

respectivamente. O foco Sul de Chiapas começou os três anos VEPT em 2012 e em 2014 o PCC recomendou que a México alterasse o status desse foco de interrompido para eliminado. Uma vez que todos os focos do México já estão classificados como eliminados, o PCC-OEPA recomendou que fosse finalizado e apresentado um pedido formal à OPAS/OMS para verificação de eliminação da oncocercose no país (WHO, 2014) e que segundo a OEPA (2014) já foram encaminhados.

Na **Venezuela** existem três focos endêmicos para oncocercose, dois ao norte do país e um ao sul, com uma população que vive nessas áreas de risco de 113.704, distribuídas em 520 comunidades endêmicas. Dos focos ao norte, o foco Norte-Oriental é o maior. São 465 (89,42%) comunidades endêmicas da Venezuela (OEPA, 2014), onde vivem 91.689 (80,64%) das pessoas que constituem a população em risco no país. São 465 (89,42%) comunidades endêmicas da Venezuela, onde vivem 91.689 (80,64%) das pessoas que constituem a população em risco no país (OEPA, 2014). Ao Sul está o foco compartilhado com o foco amazônico brasileiro, designado foco Amazônico Binacional – Brasil e Venezuela. Dos três focos na Venezuela, a transmissão do parasito foi interrompida nos dois focos do Norte (Norte-Oriental e Norte-Central) e o tratamento suspenso nessas áreas. No foco Norte-oriental a VEPT foi iniciada em 2013 e, no foco Norte-Central, o período após três anos de VEPT foi concluída no mesmo ano, sendo considerada a transmissão eliminada nesse último foco (OEPA, 2014). Entretanto, segundo a OMS (WHO, 2014), os resultados da avaliação entomológica conduzida no foco Norte-Central ainda estão sendo processados.

### ***Oncocercose na Amazônia – Foco Binacional Brasil-Venezuela***

Dois focos nacionais compreendem o foco amazônico da oncocercose, o foco do Sul da Venezuela e o foco da Amazônia do Brasil, que se estende por uma área de cerca de 192mil Km<sup>2</sup> e onde vivem indígenas da etnia Yanomami. Na Venezuela, os Yanomami vivem em parte do estado do Amazonas e do estado de Bolívar, e, no Brasil, a noroeste dos estados do Amazonas e de Roraima, com uma extensa região de fronteira compartilhada entre os dois países.

A população Yanomami atualmente é de 26.715 indivíduos, que corresponde a 4,73% do total da população das áreas endêmicas na América Latina que



No Brasil, o primeiro caso de oncocercose foi registrado por Bearzoti *et al.* (1967) em uma filha de missionários que viveram na Serra do Parima no Estado de Roraima e que apresentava dois nódulos oncocercóticos na cabeça. No início dos anos 1970, três novos casos foram descritos em missionárias estrangeiras que haviam vivido por muitos anos entre o grupo Yanomami, sendo duas procedentes de uma localidade próxima ao rio Toototobi, no Estado do Amazonas, e uma da Serra do Surucucu, Estado de Roraima (Moraes & Dias, 1972; Moraes & Chaves, 1974a, b; Moraes e Shelley, 1974).

A doença, sob forma endêmica entre os Yanomami, foi constatada por Moraes *et al.* (1973) através de estudos realizados ao longo do rio Toototobi, afluente do rio Demini, no Norte do Estado do Amazonas.

Nos primeiros inquéritos sobre a prevalência da doença entre os Yanomami realizados por Moraes *et al.* (1973, 1974), foram registradas maiores taxas na Serra do Parima, na divisa com a Venezuela. Contudo, a prevalência da oncocercose diminuía em populações que viviam nas terras baixas tanto em terras brasileiras dos sistemas hídricos dos Rios Branco e Negro quanto venezuelanas, na região do médio Orinoco (Moraes *et al.*, 1973; Yarzabal *et al.*, 1985). Nesses inquéritos iniciais, foi registrada a prevalência de 62,6% em Toototobi (Moraes *et al.*, 1974), 47% em Surucucus (Moraes & Chaves, 1974b), 19,5% em Auaris (Moraes *et al.*, 1977a) e 10,3% em Mucajaí e 51,4% em Catrimani (Moraes *et al.*, 1977b). Entretanto, em algumas áreas da Terra Indígena Yanomami é registrada também a ocorrência de *Mansonella ozzardi* (Manson, 1897), outro filarídeo, considerado não patogênico, que apresenta morfologia similar a *O. volvulus*, e, por essa razão, algumas estimativas apresentadas na literatura podem não corresponder à realidade atual da distribuição dos focos endêmicos para oncocercose.

Com a finalidade de obtenção de dados basais para o início das atividades do Programa Brasileiro para Eliminação da Oncocercose (PBEO), foi realizado, no período de 1993 a 1995, inquérito epidemiológico em 26 comunidades indígenas. Nos exames parasitológicos realizados em retalhos cutâneos de 3.958 indivíduos, os polos base que apresentaram os maiores índices de prevalência foram Tukuxim (83,1%), Homoxi (78,3%), Balawaú (75,8%), Surucucu (63,4%), Xitei (62,7%) e Toototobi (56,3%) (Py-Daniel, 1997). Segundo Shelley *et al.* (1997), as áreas hiperendêmicas se localizam em altitudes superiores a 600m e, abaixo deste nível, estão as áreas mesoendêmica e hipoendêmicas.

Coelho *et al.* (1998), através de exames parasitológicos em retalho cutâneo realizado em 3.974 indivíduos de 27 dos 28 polos-base Yanomami, apresentam a distribuição dos estratos segundo níveis de endemicidade nos polos base, onde cinco foram hiperendêmicos, prevalência média de 72,7% (Xitei, Tukuxim, Surucucu, Homoxi e Balawaú - 78 comunidades); seis mesoendêmicos, prevalência média de 41,6% (Novo Demini, Paapiú, Palimiu, Parafuri, Toototobi e Alto Catrimani - 37 comunidades); sete hipoendêmicos, prevalência média de 4,7% (Aracá, Auaris, Demini, Ericó, São Gabriel, Waikás e Missão Catrimani - 57 comunidades) e nove pólos-base não endêmicos (Ajarani, Barcelos, Alto Mucajaí, Baixo Catrimani, Baixo Mucajaí, Marari, Santa Izabel, Uraricoera e Padauari - 28 comunidades).

Em fato isolado, Gerais & Ribeiro (1986), descrevem um caso autóctone de oncocercose, em uma jovem de 18 anos de idade na Região Centro-Oeste do Brasil e, com base em dados epidemiológicos, infere que a infecção tenha ocorrido próximo ao seu local de residência junto ao ribeirão Bonito, Município de Minaçú, Goiás, onde foram registrados garimpeiros provenientes da serra do Surucucu, Roraima. Maia-Herzog *et al.* (1999), ao realizarem inquérito sorológico e molecular em biópsias de pele em indivíduos nos arredores de Minaçú, Goiás encontraram positividade para *O. volvulus*. Entretanto, nenhum outro caso da doença foi registrado nessa região até o momento.

Py-Daniel *et al.* (2000) registraram que as áreas de maior prevalência de oncocercose na Terra Indígena Yanomami são as que abrangem os pólos base de Xitei (97,9%), Homoxi (88,7%), Tukuxim (85,3%), Balawaú (82,6%), Surucucu (80,6%) e Toototobi (68,9%).

No período de 2000 a 2012, não foram registrados novos casos de oncocercose no Brasil, sendo detectada apenas uma proporção de portadores assintomáticos de microfilárias na pele, com baixa densidade de parasitemia nas áreas sentinela (média de 20% em 2003, 15% em 2007 e 4% em 2012) (Brasil, 2014). O percentual de casos positivos detectados durante a avaliação em 2012 por polo base sentinela foi de 6,6% (41/621) no Xitei, 1,2% (5/394) em Toototobi e 0,6% (1/145) em Balawaú (BRASIL, 2014).

Atualmente, considerando-se a classificação proposta pela OMS (WHO, 2001a, b), dos 28 polos base na Terra Indígena Yanomami, sete foram classificados como hiperendêmicos, com 102 comunidades; nove como mesoendêmicos, com 61

comunidades; seis como hipoendêmicos, com 57 comunidades, e seis como não endêmicos (CDC, 2013; OEPA, 2014).

### ***A etnia Yanomami***

Os Yanomami constituem um dos maiores grupos indígenas da América do Sul que ainda vive, em sua maioria, de acordo com os padrões culturais desenvolvidos ao longo dos anos habitando a floresta amazônica. Compartilham muitas características culturais com outras etnias da bacia amazônica, vivendo da caça, da pesca, da coleta de produtos nativos da floresta e como agricultores de coivara<sup>1</sup> (Albert & Gomez, 1997; Good, 2004; Albert & Miliken, 2009). Organizam-se em aldeias e normalmente habitam em uma grande casa coletiva, as malocas, chamadas de *yano* ou *xapono*. Essas habitações são, em geral, circulares ou elipsoides, em forma de cone truncado ou de cone aberto, e abrigam várias famílias, com um total aproximado de 30 a 100 indivíduos e, mais raramente, um conjunto de pequenas casas retangulares bem característica da região dos Sanöma (Albert, 1997; Good, 2004; Albert & Miliken, 2009).

A construção da maloca é tarefa masculina e sua estrutura é de madeira roliça, geralmente amarrada com cipó-titica ou ambé-coroa, coberta com folhas de palmeiras e sem paredes divisórias, onde podem existir duas a três entradas principais e outras menores para o uso familiar (Brasil, 2014). Cada comunidade tem autonomia política e econômica de forma igualitária entre os seus membros. A organização social consiste, geralmente, de dois ou mais clãs patrilineares e os casamentos são realizados preferencialmente entre os membros da mesma comunidade e desde que não sejam do mesmo grupo parental (Good, 2004). Geralmente, entre quatro e oito anos após a construção da maloca, os grupos deslocam-se de 10 a 30 km, por consequência do esgotamento da terra, da caça ou da pesca, e essa prática pode ocorrer ainda por causa de epidemias ou conflitos entre as comunidades. Entretanto, após um período de recuperação, a área pode ser novamente ocupada (Brasil, 2014).

---

<sup>1</sup>Coivara - também conhecido como 'cultivo de corte e queima', essa forma itinerante de agricultura, usada há milênios, baseia-se na abertura de clareiras na floresta para serem cultivadas por períodos mais curtos do que aqueles destinados ao descanso e à regeneração da terra.

Os Yanomami vivem em regime seminômade, com um intenso intercâmbio socioeconômico entre as comunidades, caracterizado por longas distâncias percorridas a pé pela floresta, podendo atingir um raio de 150 km. Estabelecem, assim, uma malha de aldeias interligadas que formam vários conjuntos multicomunitários com os grupos que são considerados aliados, apresentando inter-relação com comunidades circunvizinhas, através da troca matrimonial, econômica e de realizações cerimoniais como, por exemplo, os ritos funerários. Estas inter-relações podem ser ainda de forma hostil com os grupos considerados inimigos, através de guerras e do xamanismo agressivo<sup>2</sup>. Os grupos de comunidades aliadas se interligam e se sobrepõem parcialmente formando uma teia sócio-política com todas as aldeias Yanomami, de uma ponta a outra da terra indígena, que transpassa a divisão política entre o território brasileiro e venezuelano (Good, 2004; Albert & Miliken, 2009).

O nome Yanomami designa vários grupos étnicos indígenas relacionados. Segundo classificação de Migliazza (1972), Yanomami apresenta um conjunto linguístico composto de quatro grupos – Yanomam, Yanõmami, Yanan/Ninan e Sanima. Ramirez (1994a-c), mantém a composição de quatro grupos linguísticos, cada um deles dividido em subgrupos adjacentes que falam dialetos da mesma família. Entretanto, propõe uma reorganização dos grupos linguísticos apresentados por Migliazza (1972) com a junção de Yanomam e Yanimami e separação de Yanan/Ninan (Albert & Gómez, 1997). Ferreira (2011) apresenta um mapa das línguas faladas pelo Yanomami e sua distribuição geográfica, onde mantém a divisão dos quatro grupos linguísticos propostos na classificação de Migliazza (1972) e confirma o grupo linguístico no extremo sudeste da Terra Indígena Yanomami como proposto por Ramirez (1974a) que nomeia de *Yaromamë*.

Recentemente, Ferreira (2011) publicou um Dicionário de Verbos Português-Yanomami que apresenta um compilado de neologismos da língua Yanomami. Segundo o Yanomami Alfredo Himotoma, da região do Papiú, esse dicionário tem por finalidade impedir a substituição da língua Yanomami pelo número crescente de palavras da língua portuguesa que estão sendo incorporadas ao seu vocabulário, e que teve início desde os primeiros contatos com os brancos que trouxeram junto com eles muitos materiais e suas designações em português. Algumas palavras

---

<sup>2</sup>Xamanismo agressivo: atribui-se aos grandes xamas de aldeias remotas o poder de mandar espíritos auxiliares agressivos (*xapiri huu*) para matar pessoas da comunidade, principalmente, crianças (Albert & Gomez, 1997).

apresentadas nesse dicionário são nomes que seus antepassados já haviam usado para nomear todas as coisas referentes ao contato com os não índios e outras foram criadas, em grande parte pela observação na fala das mulheres que são capazes de nomear cada uma dessas coisas criando um nome em Yanomami, uma vez que elas não costumam usar as palavras em português (Ferreira, 2011).

Estudos realizados por geneticistas e linguistas mostraram que os Yanomami não possuem afinidade genética, antropométrica ou linguística com outros grupos indígenas vizinhos atuais. Acredita-se que seriam descendentes de um grupo indígena que permaneceu relativamente isolado desde épocas remotas (“proto-Yanomami”) (Holmes, 1995). Alguns estudiosos acham que eles descendem da segunda leva de Paleo-índios que atravessou a ponte terrestre de Bering há 20 mil anos, seguindo então para o sul até alcançarem a bacia amazônica há 15 mil anos (Good, 2004).

Atualmente a população Yanomami - Brasil e Venezuela - é de aproximadamente 26.715 indivíduos (WHO, 2014), sendo estimada em 12.800 vivendo em 224 comunidades na Venezuela e de 13.915 no Brasil, distribuídos em aproximadamente 250 comunidades por toda a reserva. No Brasil, os Yanomami ocidentais (Yanōmami) representam a maioria desta população (59%), seguidos pelos Yanomami orientais (Yanomae) (21%), os Sanima (17%) e os Ninam/Yanam (3%) (Albert & Miliken, 2009).

### **Aspectos Históricos**

Com base em documentos históricos do final do século XVIII e informações passada oralmente pelos Yanomami, o centro histórico dessa etnia e seu habitat estaria situado na Serra Parima, um maciço montanhoso bastante acentuado com cerca de 1.700m de altitude, entre o alto do rio Orinoco, na Venezuela, e o alto do rio Parima, Roraima, Brasil. Essas terras demarcam o centro de dispersão e ocupação da Terra Indígena Yanomami em direção às terras circunvizinhas e, até os dias atuais, a área mais densamente povoada de seu território. Segundo Albert (1997), esse movimento de dispersão do povo Yanomami teve início, provavelmente, nos primeiros anos do século XIX, após a penetração da colônia espanhola na bacia do alto Orinoco e dos rios Negro e Branco, na segunda metade do século XVIII, e progrediu até meados do século XX. Esse vigoroso dinamismo demográfico é atribuído por vários estudiosos à adoção de novos tipos de cultivos e à aquisição de

ferramentas de metal conseguidas por meio de permuta ou pela guerra com ou contra os povos vizinhos. Essa relação entre os Yanomami no Brasil e os grupos indígenas circunvizinhos perdurou até o final do século XX (Albert, 1997; Albert & Milliken, 2009).

No Brasil, os primeiros contatos, esporádicos, de Yanomami com a sociedade não indígena ocorreram nos limites do seu território entre as décadas de 1910 e 1940, e essas pessoas eram na sua maioria coletores e produtores florestais de balata (goma não elástica) e piaçaba, militares das expedições de demarcação de fronteiras ou viajantes estrangeiros. Também mantiveram contato com os Yanomami os sertanistas do Serviço de Proteção aos Índios (SPI), criado em 1910 com o objetivo de prestar assistência a todos os índios do território nacional. Entre os anos 1940 e meados de 1960, a abertura de alguns postos do SPI e, em seguida, a chegada de várias missões católicas italianas (Salesianos, Consolata) e evangélicas americanas (Novas Tribos do Brasil, Missão Evangélica da Amazônia), estabeleceram os primeiros pontos fixos de contato permanente na terra indígena. Estes postos rapidamente constituíam uma rede de polos de concentração populacional e de sedentarização, fonte de objetos manufaturados e de alguma assistência paramédica (Albert & Gómez, 1997; Albert & Milliken, 2009), sendo também a porta de entrada de muitas epidemias devastadoras às quais os Yanomami, devido ao seu isolamento, estavam vulneráveis, como, sarampo, coqueluche, gripe e a tuberculose (Albert & Milliken, 2009).

A partir de 1973, os Yanomami foram submetidos a formas de contato mais intenso devido aos projetos de desenvolvimento do Estado, principalmente no oeste de Roraima, com a construção de estradas (Perimetral Norte, BR-210) e projetos de colonização (Polamazônica). Nesse mesmo período, foi realizado também um inventário sistemático dos recursos naturais da região pelo Projeto Radam, que revelou grande potencial minerário nas Serra do Parima. Conseqüentemente, em 1975, teve início, no Alto Rio Parima na Serra do Surucucu, a invasão da terra indígena Yanomami por garimpeiros para exploração desses minérios. No período de 1987 a 1990, cerca de 90 pistas de pouso clandestinas foram abertas na região da Serra do Parima e estima-se que aproximadamente 40.000 garimpeiros invadiram o território Yanomami (Chaves, 1994; Albert & Milliken, 2009), mas, como a atuação dos garimpeiros é ilegal, não se conhece o seu movimento migratório. A partir de 1990, operações realizadas pela Fundação Nacional do Índio (FUNAI) e

pela Polícia Federal expulsaram os garimpeiros da Terra Indígena Yanomami. Entretanto, alguns grupos de garimpeiros permaneceram dentro do território ou retornaram, continuando com as atividades extrativistas.

Somente em novembro de 1991 as terras Yanomami foram demarcadas, sendo homologadas em maio de 1992 pela Portaria 580 de 15/11/91 e Decreto s/n 25/05/92 (BRASIL, 1992).

A situação de contato do grupo Yanomami com a sociedade não indígena apresenta aspectos complexos e regionalmente heterogêneos, devido às sucessivas fronteiras socioeconômicas que penetraram em seu território desde o início do século XX e continuam coexistindo em combinações regionais bastante diversas. Desde o final da década de 1970, o isolamento da Terra Indígena Yanomami vem reduzindo gradativamente, onde os missionários já não são os únicos coabitantes oficiais com os Yanomami. Hoje existe a presença do Exército Brasileiro, dos Distritos Sanitários Yanomami (DSY) e de várias Organizações Não Governamentais (ONGs) entre outras. Atualmente, além dos garimpeiros continuarem interessados pelo minério da região central da Terra Indígena Yanomami, outras atividades econômicas como a agricultura, pecuária, exploração florestal e mineração industrial constituem e poderão continuar constituindo sérias ameaças para a preservação social e ambiental dessa área e desse grupo (Albert & Milliken, 2009).

### **Os vetores da Oncocercose**

A oncocercose é transmitida através da picada da fêmea de um inseto de importância médico-veterinária da ordem Diptera, subordem Nematocera, família Simuliidae, do gênero *Simulium*. Esses podem receber várias denominações em diferentes países ou regiões, como “mosca do café” na Guatemala, “jején” na Venezuela e “borrachudo”, “casaquinho de couro” ou “pium” no Brasil.

Os representantes da família Simuliidae, têm hábitos diurnos e as fêmeas da maioria das espécies necessitam da alimentação por repasto sanguíneo em um vertebrado de sangue quente para a maturação das gônadas e oviposição, processo que se repete a cada ciclo ovariano. Contudo, os simulídeos geralmente se alimentam em mamíferos e, mais raramente, nas aves, sendo a antropofilia considerada acidental para a grande maioria das espécies (Crosskey, 1990). A atividade hematofágica das fêmeas de simulídeos é geralmente exofílica. Além

disso, fêmeas e machos de *Simulium* se alimentam de seiva vegetal, a fim de obter energia para as atividades de dispersão e procura de abrigo.

A postura dos ovos dos simulídeos geralmente ocorre ao entardecer e parece estar regulada com a luz, mas algumas espécies ovipõem em dias nublados. Segundo Smith (1973), a coloração do substrato parece ser fator específico para determinar o local de postura, sendo que a maioria das espécies é encontrada em substratos na cor verde ou amarelo. Os ovos são colocados em grupos de geralmente 100 a 1.000 ovos e amadurecem em até dois dias, eclodindo uma larva filtradora que permanecerá fixa ao substrato por 5 - 10 dias, passando por 8 estádios de muda, atingindo o estágio de pupa que se tornará adulto em mais 2 a 5 dias. A longevidade dos simulídeos pode variar de 15 - 70 dias (Crosskey, 1990).

Os estádios imaturos dos simulídeos necessitam de ambiente aquático para seu desenvolvimento, que apresentem águas cristalinas ou barrentas, frias ou tépidas. A velocidade da água é fator limitante e específico para os simulídeos, algumas espécies se criam em água lenta (remanso), outras em cachoeiras e outras em partes mais agitadas dos rios. As larvas têm um papel importante como principais degradadores de matéria orgânica existente nos rios, ocupando habitats que vão desde aqueles com fluxo temporário de água corrente até grandes rios (McCreadie e Adler, 2012).

A diversidade e distribuição dos simulídeos podem ser influenciadas por diversos fatores ambientais, como temperatura, pH, turbidez e concentração de oxigênio dissolvido na água, dimensão e vazão dos cursos d'água, altitude, composição da vegetação ripária, disponibilidade de alimento e de substratos para fixação das formas imaturas, bem como, ação antrópica nas áreas limítrofes (Hamada e McCreadie, 1999; Figueiró et al, 2006; Landeiro et al, 2009; Santos et al, 2010; Rabha et al., 2013; Srisuka, 2015). As formas imaturas dos simulídeos podem se fixar a vários tipos de substratos naturais disponíveis, como folhas caídas, superfícies de rocha, gramíneas, raízes de árvores ou a substratos artificiais como latas, vidros, plástico entre outros.

Alterações ambientais associadas com ao desenvolvimento, como a construção de grandes empreendimentos, podem causar mudanças no regime de escoamento e na vegetação ciliar, que também influenciam na distribuição e abundância dos simulídeos (Pachón e Walton, 2011).

Os adultos da maioria das espécies de simúlídeos apresentam aparelho bucal do tipo sugador cortador com uma probóscita curta e robusta, diferente da maioria dos insetos vetores, não apresentam aparelho pungitivo (Coscarón e Arias, 2007). Sendo assim, durante a hematofagia raspam e dilaceram a epiderme com seus dentes apicais, fazendo extravasar o sangue para poder absorvê-lo. A saliva evita a coagulação enquanto se alimenta e, caso esteja infectante, liberam microfilárias de *Onchocerca* que passam para o hospedeiro favorecendo, desta forma, a transmissão desse e de diversos outros patógenos que pode causar uma grande variedade de doenças tanto nos seres humanos quanto em outros vertebrados (Gaona & Andrade, 1999; Choochote et al., 2005).

A relativa eficiência das espécies de *Simulium* como vetor de *O. volvulus* depende, entre outros fatores, do grau de antropofilia e da forma do cibário (Reid, 1994). Esta peça bucal da hipofaringe, em algumas espécies de simúlídeo, apresenta dentes que podem dilacerar as microfilárias ao passarem para o estômago, diminuindo a carga de larvas que passariam para as próximas mudas. Esta característica pode ter importante repercussão sob a dinâmica de transmissão (Shelley, 1998a, 1991; 1994). Geralmente, a capacidade vetora das espécies que possuem dentes no cibário depende do grau de antropofilia, da frequência dos repastos sanguíneos e da disponibilidade de fontes de infecção com alto grau de parasitemia (Basañez, 1996; Rodriguez-Pérez, 1999).

Atualmente, 2.177 espécies vivas e válidas de simúlídeos foram registradas em todo o mundo (Adler e Crosskey, 2015a) apresentando distribuição cosmopolita na região neotropical, não tendo sido registrado no continente Antártico, no extremo Polo Norte e em ilhas oceânicas (Crosskey, 1990; Shelley, 1994).

Nos países africanos e no lêmên, *O. volvulus* é transmitido pelo complexo de espécies *Simulium damnosum* Theobald, 1903, pelo complexo de espécies *Simulium neavei* Roubaud, 1915, e pela espécie *Simulium albivirgulatum* Wanson & Henrard, 1944 (WHO, 1995b). Na América Latina, as espécies registradas como vetores variam de acordo com o país e com a área endêmica. *Simulium ochraceum* Walker, 1861, é o principal vetor na Guatemala e México; *Simulium metallicum* Bellardi, 1859, na Venezuela; *Simulium exiguum* Roubaud, 1906, no Equador, Colômbia e Brasil; *Simulium guianense* Wise, 1911, Venezuela e Brasil; *Simulium oyapockense* Floch & Abonnenc, 1946, e *Simulium incrustatum* Lutz, 1910, no Brasil (WHO, 1995a; Marchon-Silva et al., 2007; Rodriguez-Perez et al., 2011).

Em uma revisão sobre as interações entre *Onchocerca* e *Simulium* foi concluído que o parasito e o vetor exercem efeitos recíprocos de sobrevivência em cada um dos vários estádios do ciclo de vida do parasito no simulídeo, e eles podem ter se adaptado para minimizar os efeitos deletérios sobre a competência e maximizado a transmissão (Basañez et al., 2009). No entanto, o papel que estas adaptações podem desempenhar na transmissão do parasito em condições naturais ainda não está claro, sendo necessária ainda a realização de estudos.

Em condições de campo, apenas uma pequena percentagem das populações de *Simulium* estão infectados com *O. volvulus*, representando em média 1% para *S. ochraceum* s.l. no México e na Guatemala (Rodriguez-Peres & Reyes-Villanueva, 1994), *S. guianense* s.l. e *S. oyapockense* s.l. na Venezuela (Basañez et al., 1988, Botto et al. 2007), *S. exiguum* s.l. e *S. quadrivittatum* no Equador (Vieira et al., 2005) e *S. guianense* s.l., *S. oyapockense* s.l. e *S. exiguum* s.l. no Brasil (Marchon-Silva et al., 2007) (Rodriguez-Perez et al, 2011).

### **Os Vetores da Oncocercose na Amazônia Brasileira**

Na Amazônia brasileira foi registrada a presença de quatorze morfoespécies de simulídeos, sendo quatro delas naturalmente infectadas com *O. volvulus* - *S. guianense*, *S. oyapockense*, *S. incrustatum* e *S. exiguum*. A distribuição e densidade populacional dessas espécies variam, mas no geral, *S. guianense* é considerado vetor primário em regiões altas e *S. oyapockense* em regiões de altitudes mais baixas. De forma semelhante, *S. exiguum* e o *S. incrustatum* também apresentaram capacidade vetorial (Shelley et al 1997; Py-Daniel, 1997; Marchon-Silva et al., 2007). Shelley (1988b), afirma que *S. guianense* e *S. incrustatum* estariam presentes em áreas hiperendêmicas, enquanto *S. oyapockense* s.l. e *S. roraimense* nas áreas hipoendêmicas. Estudos realizados mostram ainda que *S. exiguum* também atua como vetor nas áreas hiperendêmicas (Py-Daniel, 1997; Marchon-Silva et al., 2007).

Estudos entomológicos na Amazônia brasileira apresentam a compilação de dados bio sistemáticos realizados desde os anos 1970s, e constata que algumas espécies vetores são de difícil identificação morfológica por apresentarem alto grau de polimorfismo e similaridade com outras, formando, na sua maioria, complexos de espécies (Shelley et al., 1997).

Medeiros (1998) cita que os padrões de picadas dos simulídeos durante o dia são variáveis conforme a temperatura, umidade relativa do ar, pressão atmosférica, intensidade de luz, velocidade do vento e cobertura de nuvens.

Shelley et al. (1987a, b) consideram que as espécies de simulídeos com dente cibarial são hospedeiros pouco eficientes para o parasito, enquanto *S. guianense*, que não possui dentes cibarais, se mostra um vetor tão eficiente quanto *S. damnosum*, na África, e *S. exiguum*, no Equador.

Nas áreas de altitude elevada no foco Amazônico, *S. guianense*, apresenta alto grau de antropofilia e com grande capacidade vetorial. Entretanto, já foram registradas também populações zoofílicas dessa espécie nos pólos Catrimani e Mucajaí na Amazônia brasileira e em áreas de baixa altitude do foco da Venezuela (Shelley et al., 1997). Contudo, *S. guianense* s.l. é importante vetor no foco amazônico devido a sua competência vetorial e a intensa transmissão com que está associado (Takaoka e Suzuki, 1984; Basanez et al., 1988, 1995; Rodriguez-Perez, 2011).

### ***A Doença - Manifestações clínico-patológicas***

A oncocercose, uma doença parasitária, que tem com agente etiológico, o filarídeo *Onchocerca volvulus*, pertencente à Classe Nematoda, Ordem Spirurida, Superfamília Filarioidea, Família Onchocercidae, pode desencadear um grande espectro de manifestações clínico-patológicas. Apenas um sintoma não é suficiente para se distinguir a doença. Os mais característicos desta patologia são: presença de nódulo subcutâneo, erupção cutânea, prurido intenso, despigmentação da pele, gerodermia e cegueira (WHO, 1995a). Suspeita-se, ainda, que possa ser a causa de um tipo de epilepsia (Hopkins, 2005).

Os nódulos são provenientes do encapsulamento dos parasitos adultos no tecido subcutâneo do homem e geralmente são indolores e causam pouco ou nenhum incomodo, porém podem ocasionar reação inflamatória relativamente benigna e de pouca importância clínica (Ruiz-Reyes, 1979; Rodriguez-Pérez, 1999). Segundo Fuglsang & Anderson (1977), a ocorrência de nódulos cefálicos pode contribuir com o desenvolvimento de danos visuais. Localizados principalmente sobre ossos, os nódulos aparecem como proeminências na cabeça, escápulas,

cintura pélvica, costelas, joelhos, tornozelos e, menos frequentemente, causam pressão nas articulações (Rodríguez-Pérez, 1999; Rodríguez-Pérez et al., 2011).

Estudo realizado para relacionar a quantidade de parasito adulto estimados no corpo com a carga total de microfilária na pele sugeriu que um número considerável de fêmeas deve estar em nódulos localizados em regiões profundas e não visíveis (Schulz-Key, 1990). Segundo Duke (1990), esses nódulos profundos podem ser suficientes para manter uma grande população de microfilárias na pele e olhos, e que variações na sua forma indicam a sua idade, o estado de formação de manchas na pele e de degeneração da filária. Em estudo realizado na região Amazônica por Herzog-Neto et al. (2009) foi registrada a prevalência de 35% de nódulo oncocercótico na população Yanomami do polo base Arathá por faixa etária: 0-20 anos (12,1%); 21-40 anos (14,5%) e 41-60 anos (8,4%).

As dermatites ou patologia dérmica da oncocercose são quase exclusivamente associadas à presença e especialmente à morte das microfilárias na pele do hospedeiro, onde podem causar danos devido a mecanismos imunológicos próprios do hospedeiro, que desencadeiam desde reação inflamatória leve até reações mais severas, que dependem de fatores relativos ao hospedeiro e à densidade de microfilárias. O efeito acumulativo de repetidos pequenos focos de inflamação é gradual (Hopkins, 2005).

Na fase aguda da infecção o sintoma mais frequente é o prurido, que pode ser bastante intenso. Sendo possível observar também a fibrose, que é uma anomalia precoce que persiste durante todo o curso da infecção e caracteriza-se pelo aumento dos fibroblastos, entre as fibras do colágeno e as fibras reticulares da derme e o aparecimento de tecido cicatrizado nas papilas dérmicas. Na fase crônica as lesões deixam a pele com aparência de envelhecimento prematuro, conhecido como gerodermia, devido à alteração liquenóide, hiperqueratose e exagerado enrugamento da pele, atrofia da epiderme, com a pele fina e brilhante e despigmentação (Rodríguez-Pérez et al., 2011).

Murdoch et al. (1993) desenvolveram um sistema de classificação para as alterações cutâneas da oncocercose na África, mas que não é aplicável para a América Latina devido a algumas diferenças observadas, como por exemplo a prevalência de casos com despigmentação da pele.

Além de induzirem à patologia dermatológicas características da oncocercose como a dermatite e atrofia da pele, as microfilárias causam também lesões oculares

que podem evoluir até à cegueira (Hoerauf et al., 2003). Os danos oculares por oncocercose geralmente ocorrem após a morte da microfilária, seja por causa natural ou por tratamento quimioterápico, o que desencadeia uma resposta inflamatória mediada pelo hospedeiro e que é responsável por vários problemas oculares característicos (Pearlman e Hall, 1999; Soboslay et al, 1999). O processo é lento e cumulativo e só se observa patologia significativa quando infecções maciças persistem por vários anos.

As microfírias podem invadir o olho pela conjuntiva bulbar e penetram no globo ocular ao nível do limbo, provocando inflamação a princípio no segmento anterior. Em seguida, podem invadir a córnea, o humor aquoso e a íris, podendo chegar também ao segmento posterior do olho, passando pelos vasos e nervos ciliares anteriores até as porções periféricas da coróide e da retina (Chaves, 1994).

Os sintomas da oncocercose ocular se iniciam com a fotofobia, passando por opacidade gradual da córnea podendo levar a perda da visão. As lesões oculares mais características são a ceratite punctata, ceratite esclerosante e a irite. As ceratites punctatas ou puntiformes são pontos de opacidade na córnea, relativamente assintomáticos, apenas dificultando a visão e desaparecendo sem deixar sequelas. A ceratite esclerosante, lesão mais grave da parte anterior do olho, consistiu uma nebulosidade que aparece na forma de um segmento branco e resulta na formação de tecido cicatricial permanente. Está caracterizada por uma reação fibrótica irreversível, que se inicia na periferia da córnea, perto do limbo, estendendo-se para dentro, com dano visual progressivo, e possivelmente, com o tempo, chegue a cobrir a pupila causando cegueira. No humor aquoso, as microfilárias podem ser vistas mesmo em infecções relativamente recentes e, quando morrem, desencadeiam uma reação inflamatória na base da câmara anterior que evolui, progressivamente, para a parte inferior da íris, causando a irite (Rodriguez-Pérez & Rodriguez-López, 1994; Herzog-Neto et al, 2009 e 2014).

Estudos mostram que episódios de irite aguda ocorrem frequentemente, levando à sinéquia posterior, irites crônicas e por vezes glaucoma e catarata secundária, apresentando infecção intensa, com grau variado, desde precipitado escasso e ausência de sinéquia anterior até uma inflamação grave com infecção intensa e precipitado sobre o endotélio da córnea, na cápsula do cristalino e na base da câmara anterior. É possível também que se complique com glaucoma secundário e, eventualmente, ocorra a destruição do globo ocular (Chester et al., 1988; Chaves,

1994; Rodriguez-Pérez & Rodriguez-López, 1994; Hopkins, 2005; Herzog-Neto et al, 2009 e 2014).

Chester et al. (1988) relatam que a maior parte das manifestações clínicas da oncocercose se observa na pele e nos olhos, embora possam existir lesões linfáticas e sistêmicas.

### ***Programas de Controle da Oncocercose***

Desde o início dos anos 1970s, vários esforços vêm sendo empregados para o controle com possível eliminação da oncocercose nos países endêmicos e, tanto na África quanto nas Américas, foram criados alguns programas com esse objetivo.

Na África Ocidental, foi instituído em 1974 o Programa de Controle da Oncocercose (OCP) na bacia hidrográfica do rio Volta, que iniciou abrangendo sete países do Oeste Africano: Benin, Burkina Faso, Costa do Marfim, Gana, Mali, Níger e Togo. Posteriormente, foram inseridos mais quatro países, a sudoeste da área, elevando para onze o total de países incluídos no programa, que passou a ser denominado Programa de Controle da Oncocercose (OCP) na África Ocidental (Ba et al., 1987; Hougard et al., 2001). A principal estratégia de controle adotado pelo OCP foi através da aplicação de larvicida nos rios criadouros de simuliídeos, quebrando assim o ciclo de transmissão e controlando a densidade populacional dos vetores do complexo *Simulium damnosum*. Essa estratégia permaneceu até 1987, quando foi adotado o tratamento em massa da população da área endêmica com o medicamento, a ivermectina, de ação contra os parasitos na fase juvenil, fase que causam os vários sintomas associados à doença. Como resultado da doação desse fármaco pela Merck & Co. Inc. ao OCP instituiu-se uma nova estratégia de quimioterapia em combinação com o controle dos vetores. Essa estratégia adotada pelo OCP praticamente eliminou a transmissão da oncocercose de sua área original como um problema de saúde pública e, também como um obstáculo ao desenvolvimento socioeconômico (Ba et al., 1987; Hougard et al., 2001), levando à resolução de que a doença deveria ser controlada em todos os países endêmicos na África.

Em 1995, foi criado, então, o Programa Africano de Controle da Oncocercose (APOC), visando controlar a oncocercose nos países da África subsaariana (WHO, 1995a; APOC, 2001; Boatman, 2008). O APOC, além de atuar nos países da África

subsaariana, passou a agrupar também os países que pertenciam ao OCP após este ter sido extinto em 2002 (Boatin, 2008). O Mapeamento Epidemiológico Rápido da Oncocercose (REMO- *Rapid epidemiological mapping of onchocerciasis*) foi utilizado para delinear áreas de meso e hiperendemicidade e para estimar a população com alto risco de contrair a oncocercose (Noma et al., 2002). Com base nos dados desse programa, foram incluídos no APOC os seguintes países - Angola, Burundi, Camarões, República Centro Africano, Chade, Congo, República Democrática do Congo, Guiné Equatorial, Etiópia, Gabão, Quênia, Libéria, Malawi, Moçambique, Nigéria, Ruanda, Sudão do Sul, Sudão, Uganda e Tanzânia (WHO, 2014). O REMO revelou ainda que 102 milhões de pessoas do APOC estavam em área de risco, sendo necessário o tratamento com ivermectina, e que um número estimado de 37 milhões de pessoas já havia sido infectado com a doença (Noma et al., 2002).

Em 1997, o APOC adoptou o tratamento com ivermectina direcionado para a comunidade (CDTi- *Community-Directed Treatment with ivermectin*) como sua estratégia principal de controle e o número de pessoas que se beneficiam dessa estratégia de controle aumentou de 1,5 milhões nesse ano para 100,79 milhões em 2013 (Fobi et al., 2015). Avaliações do impacto de operações de longo prazo do APOC revelaram ainda uma diminuição no número de pessoas infectadas, de 37,9 milhões em 1995 para 15,1 milhões em 2011. Estima-se que 9,5 milhões de casos de coceira intensa foram prevenidos, 400.000 pessoas foram protegidas de problemas visuais e 200 mil da cegueira, estando a prevalência da infecção já próximo de zero na maioria dos projetos avançados do APOC (WHO, 2013a; Fobi et al., 2015). Em suma, o APOC é sustentado por quatro pilares principais: (i) tratamento em massa com ivermectina doado pela Merck; (ii) compromisso com a estratégia de CDTi; (iii) uma parceria única entre as comunidades afetadas, governos, doadores, organizações não governamentais de desenvolvimento, e Secretaria APOC; e (iv) a continuidade da investigação científica básica e operacional, cujos resultados têm sido implementados visando a melhoria do desempenho do programa (Roungou et al., 2015).

Com base em estudos que demonstraram a viabilidade da eliminação da infecção oncocercose e interrupção da transmissão com o tratamento em massa com ivermectina (Diawara et al., 2009; Tekle et al., 2012), o APOC modificou seu escopo de controle para eliminação da oncocercose. Entretanto, em 2011, o órgão

dirigente do APOC considerou prematuro o encerramento o programa previamente estimado para 2015, e reafirmou o seu apoio para prosseguir com ações para a eliminação da oncocercose na África, bem como instituiu a implementação concomitante de intervenções de quimioterapia preventiva para outras doenças tropicais negligenciadas (DTN) selecionados visando um maior apoio as comunidades e fortalecimento dos sistemas de saúde (Fobi et al., 2015). Para atingir esse objetivo, estão em curso planos para a transição do APOC em uma nova entidade regional DTN, provisoriamente denominada Programa para a Eliminação das Doenças Tropicais Negligenciadas na África (PENDA), em 2016. Esta nova entidade terá, a princípio, um mandato para coordenar a implementação da eliminação da oncocercose e filariose linfática, e intervenções de apoio para outros DTN na África (Fobi et al., 2015; ROUNGOU et al., 2015).

Nas Américas, em 1991, o Conselho Diretor da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) aprovou a Resolução CD35.R14, referente à eliminação da oncocercose nas Américas com a contribuição da doação da ivermectina na quantidade exigida e pelo tempo necessário, anunciada em 1987 pelo programa de doação da Merck & Co. Inc.

Em 1992, com o apoio da OPAS, foi lançado o Programa de Eliminação da Oncocercose nas Américas (OEPA) com vistas a alcançar da meta de eliminação em colaboração com parceiros e organismos aliados, assim como para prestar assistência técnica e financeira aos programas nacionais endêmicos para oncocercose nas Américas. A parceria da OEPA inclui os governos desses países, a OPAS, o Centro Carter, a Agência dos Estados Unidos para o Desenvolvimento Internacional (USAID- *United States Agency for International Development*), a Fundação de Lions Clubs International e Lions Clubes locais, os Centros dos Estados Unidos para Controle e Prevenção de Doenças, a Fundação Bill & Melinda Gates, o Programa de Doação Merck/Mectizan e várias universidades e institutos (Sauerbrey, 2008; WHO, 2014).

Em 2001, a OMS estabeleceu um conjunto de orientações técnicas para ajudar os programas de oncocercose a determinar se a interrupção da transmissão ocorreu e se o MDA com ivermectina poderia ser interrompido (WHO, 2001a). O processo até a eliminação da transmissão da oncocercose incluía, portanto, três etapas principais: (1) supressão da transmissão - quando larvas infectantes não são introduzidas na população humana pelos vetores, mas a população de parasitos no

reservatório humano mantém a capacidade de se recuperar se os tratamentos fossem interrompidos; (2) interrupção da transmissão - quando se acredita que a população de parasitos é incapaz de se recuperar e os tratamentos podem ser interrompidos; e (3) a eliminação da transmissão - quando um período de vigilância epidemiológica pós-tratamento (VEPT) de pelo menos três anos confirma que a população de parasitos não foi recuperada na ausência de intervenções (OEPA, 2012). Segundo Lindblade et al. (2007), a morbidade ocular é considerada eliminada quando a prevalência de lesões oculares agudas atribuíveis à oncocercose fica abaixo de 1%. Sendo assim, quando todos os focos atingem à fase de eliminação, a verificação final do país pode ser considerada por uma equipe internacional de especialistas independentes convocadas à OMS (WHO, 2001a; CDC, 2013).

Na Resolução CD48.R12 (PAHO, 2008), referente a eliminação da oncocercose, ficou estabelecido como meta que em 2012 seria o ano para alcançar a eliminação da morbidade ocular e interrupção da transmissão nas Américas. Seguindo os objetivos e metas, a Colômbia, em 2007, e Equador, em 2009, tornaram-se os primeiros países do mundo a interromper a transmissão da oncocercose através da educação sanitária e distribuição semestral de Mectizan (OEPA, 2013). Como reforço, nova revisão da OPAS sobre Resolução CD49.R19 (PAHO, 2009), referente a eliminação de doenças negligenciadas e outras infecções ligadas a pobreza, a meta foi reafirmada e ficou estabelecido o comprometimento de eliminar ou reduzir até 2015 as doenças negligenciadas e outras infecções relacionadas à pobreza para as quais existem ferramentas a níveis tais que essas doenças não sejam consideradas problemas de saúde pública nas Américas (WHO, 2012).

Entretanto, com base na análise da situação em 2013, o Conselho Diretor da OPAS aprovou nova Resolução CD52.INF4-G, indicando a necessidade de definir um plano operacional para os próximos cinco anos e oferecer tratamento e atenção integral para que se consiga cumprir as metas de interrupção da transmissão em 2015 e da eliminação da oncocercose em 2019, nas áreas em que a meta não havia sido alcançada (WHO, 2013a, b).

Para a OEPA, a principal estratégia adotada é a administração em massa da ivermectina (Mectizan™) em período semestral e, em algumas situações trimestralmente a cada ano, atingindo  $\geq 85\%$  de cobertura de tratamento de populações elegíveis (Rodriguez-Perez et al. 2011, WHO 2013a, WHO, 2014).

Periodicamente são analisados três componentes - Oftalmológico, Epidemiológico e Entomológico - para todos os seis países participantes: Brasil, Colômbia, Equador, Guatemala, México, Venezuela. Os indivíduos elegíveis para tratamento a partir de 2013 (20.495) ficaram restritos a Venezuela e ao Brasil. No Brasil, são 13.600 indivíduos em situação de risco, sendo 10.880 elegíveis para o tratamento, dispersos nas terras indígenas Yanomami nos Estados do Amazonas e Roraima (OEPA, 2013), fazendo fronteira com o foco sul da Venezuela.

### **Programa Brasileiro de Eliminação da Oncocercose**

Desde 1993, quando a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) assumiu a coordenação do Programa Brasileiro de Eliminação da Oncocercose (PBEO), procurou caracterizar sua forma de atuação na busca de uma integração efetiva com o Projeto de Saúde Yanomami, integrando-se às demais ações de saúde desenvolvidas na área e pelo fortalecimento da articulação com as diversas instituições governamentais e não governamentais que prestavam assistência aos Yanomami (Coelho et al, 1997; Py-Daniel, 1997; Brasil, 2014). Desde então, tornou-se responsável pelo controle da oncocercose, através da distribuição da ivermectina para a população indígena afetada e pela execução da caracterização epidemiológica do foco Yanomami, além de planejar e programar ações com vista à eliminação da doença (Py-Daniel, 1997; Brasil, 2014).

Devido a grande mobilidade dos Yanomami, o registro individual de cada comunidade sempre foi muito difícil. Assim, foi instituído o conceito de polo base, objetivando contar com um núcleo de operações estáveis ao qual se integraram um conjunto de malocas, que representam núcleos de populações dispersas que antes eram avaliadas individualmente (Brasil, 2014). Cada polo base cobre um conjunto de aldeias/comunidades, e sua equipe além de prestar assistência à saúde, realiza a capacitação e supervisão dos agentes indígenas de saúde (AIS). Esses polos base estão estruturados como Unidade Básica de Saúde e geralmente contam com atuação de equipe multidisciplinar de saúde indígena, composta por médico, enfermeiro, dentista e auxiliar de enfermagem (BRASIL, 2004).

Em 1999 a FUNASA estabeleceu que as atividades de vigilância epidemiológica que eram, até o momento, executadas pelo Departamento de Operações (DEOPE), incluindo a oncocercose, passassem a integrar as atividades do Centro Nacional de Epidemiologia (CENEPI) (Portaria Funasa nº 125, de

18.2.1999) e criou os Distritos Sanitários Especiais Indígenas (DSEI), estabelecendo competências e instituindo sua estrutura e organização (Portaria Funasa nº 852, de 30.9.1999) (BRASIL, 2004). Os DSEIs foram criados com a atribuição de atuar como unidade de execução das ações destinadas à promoção, proteção e recuperação da saúde do índio, objetivando o alcance do equilíbrio biopsicossocial, com o reconhecimento do valor e complementariedade das práticas da medicina indígena, segundo peculiaridades e o perfil epidemiológico de cada comunidade. Porém, grande parte da execução e gerência da assistência à saúde ficou a cargo de ONGs conveniadas (BRASIL, 2010).

A FUNASA atuou até 2002 no Programa de Controle de Doenças Endêmicas, incluindo o PBEO. Entretanto, em 2003, com a reestruturação do Ministério da Saúde, que entre outras transformações, absorveu as atribuições até então de competência do CENEPI, passando a FUNASA, a partir desse momento, a cuidar exclusivamente da Saúde dos Povos Indígenas e do Saneamento Ambiental, sendo o controle de endemias municipalizado e descentralizado (BRASIL, 2006).

Em 19 de outubro de 2010, foi criada a Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI) para coordenar e executar o processo de gestão do Subsistema de Atenção à Saúde Indígena em todo Território Nacional. A equipe do Distrito Sanitário Especial Indígena Yanomami (DSEI-Y) que atuava junto ao PBEO migrou para a SESAI e continua operando no PBEO.

O Ministério da Saúde, em 2011, definiu um conjunto de doenças negligenciadas e outras relacionadas com a pobreza (OPAS: CD49. R19/2009) que demandam ações estratégicas para eliminação como problema de saúde pública ou para redução drástica da carga dessas doenças. Nesse mesmo ano, a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS) criou a Coordenação Geral de Hanseníase e Doenças em Eliminação (CGHDE) (Decreto nº 7.530, de 21 de julho de 2011) com o objetivo de fortalecer a resposta dos programas nacionais para esse grupo de doenças - hanseníase, esquistossomose, filariose linfática, geohelmintíases, oncocercose e tracoma – em que os resultados foram considerados insuficientes e incompatíveis com a capacidade do Sistema Único de Saúde (SUS) de solucionar os problemas de saúde da população (BRASIL, 2012; BRASIL-SESAI, 2013).

Atualmente o PBEO está sob a coordenação do CGHDE/SVS/MS e execução do DSEI-Y com sede em Roraima e conta com uma gerente no DSEI-Y, que

organiza os ciclos de tratamento anuais, aos quais são efetivados nos respectivos polos base pelas equipes multidisciplinares (BRASIL-FUNASA, 2010).

O PBEO em articulação com a OEPA adotou como metodologia de controle e interrupção da transmissão, a quimioprofilaxia, iniciando os tratamentos em massa com Mectzan, nos Yanomami, no segundo semestre de 1995, numa estratégia conjunta com países latinos americanos de eliminação dos focos da doença a partir da implantação de dois ciclos anuais de tratamento. No período de 1999 a 2001, o tratamento teve um incremento considerável alcançando e mantendo taxas de cobertura satisfatória ( $\geq 85\%$ ). No ano de 2009 foram realizadas duas rondas com cobertura de 91,6% no primeiro semestre e 92,1 % no segundo semestre. E em 2010 foi implantado um projeto piloto de quatro rondas anuais de tratamento para oncocercose nos polos-base de Homoxi e Kitau, este último com baixa adesão principalmente por problemas de logística, como falta de helicóptero e recursos humanos (BRASIL-FUNASA, 2010; OEPA, 2014). O programa começou a administrar tratamentos MDA trimestral para sete polos base hiperendêmicos e três polos bases mesoendêmicos em 2011 (CDC, 2013), enquanto mantém o esquema tradicional de tratamento (duas vezes ao ano) no restante das comunidades.

### ***Métodos de diagnóstico para detecção de *Onchocerca volvulus****

#### **Diagnóstico parasitológico**

Por muito tempo métodos parasitológicos foram usados para avaliar a prevalência na população e o estado de transmissão da oncocercose.

O exame parasitológico em retalhos cutâneos foi o método considerado como padrão ouro para o diagnóstico da oncocercose, sendo o mais utilizado em estudos e avaliações epidemiológicas (WHO, 1987). Em comunidades com alta intensidade de infecção e prevalência, este método é tão sensível quanto específico. No entanto, a sensibilidade está diretamente relacionada com a intensidade da infecção na comunidade (Taylor et al., 1987). Sendo assim, um fator que influenciou no uso deste método foi o impacto de programas de controle que se baseiam principalmente na redução das cargas microfilárias, podendo, a adoção desse método para avaliar a prevalência nessas áreas, levar a superestimação da eficácia destas medidas de controle. Por conseguinte, na América Latina, devido ao sucesso

dos programas de distribuição de ivermectina na redução das cargas de microfilárias na pele, essa técnica deixou de ser útil para a determinação das taxas de infecção. Atualmente, retalhos cutâneos são apenas utilizados para investigar o estado de infecção em indivíduos que apresentam resultados sorológicos positivos limítrofes (Rodriguez-Perez et al, 2011).

Nos simulídeos, o método parasitológico clássico de diagnóstico para oncocercose era realizado pela dissecação e identificação de estádios larvais do parasito em cada um dos exemplares de *Simulium* sp coletado em área endêmica (Davies e Crosskey, 1991). Entretanto, esse método, além de consumir muito tempo com o protocolo de dissecação de cada exemplar de simulídeos, requer identificação morfológica acurada das formas larvais do parasito, principalmente em regiões onde circulam outras filárias como, por exemplo, *Mansonella ozzardi*, devido à semelhança entre estas espécies (Post et al., 2003; Marchon-Silva, 2004).

### **Diagnóstico imunológico e molecular**

Devido há necessidade de monitoramento com mais precisão do impacto de programas de controle da oncocercose, tornou-se imprescindível à aplicação de técnicas imunológicas e moleculares mais sensíveis e específicas. Sendo necessário o desenvolvimento de metodologia capaz de detectar tanto infecções pré-patente quanto em área sob o controle e, portanto, com baixa infectividade. Estudos que buscavam uma maior sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da oncocercose foram então sendo desenvolvidos.

Nos anos 1980s foram isoladas várias sondas de DNA genômico de *Onchocerca*, sendo que a maioria reconhecia todos os parasitos desse gênero (Perler e Karam, 1986; Shah et al., 1987), mas duas foram específicas para *O. volvulus* (Harnett et al., 1989; Meredith et al., 1989), uma para a cepa da floresta africana (Erttmann et al., 1987) e outra para cepa da savana africana (Erttmann et al., 1990). Todas estas sondas de DNA consistiram de membros específicos de uma família sequência de DNA repetidos em tandem no genoma de *Onchocerca* com uma unidade de comprimento de 150 pares de base, sendo a sonda pOVS134, específica para *O. volvulus*, designada como a família O-150 (Meredith et al., 1989).

Com base nestes resultados, foi possível desenvolver uma metodologia baseada na reação em cadeia da polimerase (PCR) capaz de diferenciar os parasitos do gênero *Onchocerca* (Meredith et al., 1991; Zimmerman et al., 1993).

Esse método, descrito por Meredith et al. (1991), possibilitava o diagnóstico de *O. volvulus* tanto na fase adulta quanto de filária, podendo ser aplicado tanto nas biopsias de pele quanto nos simulídeos. Vários estudos mostraram que os iniciadores propostos não amplificavam segmentos de DNA de outras espécies do gênero *Onchocerca*, de outras filárias, de *Simulium* spp, nem de humanos (Meredith et al., 1991 e 1994; Merriweather e Unnasch, 1996; Fischer et al., 1996; Unnasch e Meredith, 1996).

O diagnóstico com base na sonda O-150 DNA por PCR foi aplicado principalmente na vigilância da infecção por *O. volvulus*. Na África, foi usado para classificar, ao nível de espécie e cepa, as larvas do parasito isoladas de simulídeos coletados e dissecados pelas equipes de campo em toda a área do OCP, o que permitiu estimativas muito mais precisas dos níveis de transmissão de cegueira por oncocercose em toda a área do programa (Toe et al., 1994, 1997a, b). Posteriormente, foi adaptado para detectar um único *O. volvulus* infectando *S. damnosum* sl em pools de 100 simulídeos não infectados, e um algoritmo foi desenvolvido por Katholi et al. (1995) para calcular o ponto estimado de prevalência da infecção nos vetores, a partir dos resultados obtidos de pool examinados. Os resultados deste monitoramento também foram usados para obter uma estimativa precisa do potencial de transmissão anual (PTA) e para orientar as medidas de controle em áreas onde o potencial de transmissão *O. volvulus* foi alto (Barker, 1994).

A metodologia com base na PCR O-150 foi utilizada na África e México para comparar com o método tradicional de detecção de *O. volvulus* pela dissecação de um grande número de simulídeos (Rodriguez-Perez et al., 1999b; Yameogo et al., 1999). Os resultados obtidos demonstraram que as estimativas da prevalência de infecção nas populações dos vetores produzidas pelos dois métodos não foram significativamente diferentes (Rodriguez-Perez et al, 2011). A PCR O-150 foi empregado também no Equador e no Brasil, a fim de monitorar o impacto dos programas de controle da oncocercose, avaliando a prevalência da infecção de *O. volvulus* em populações de vetores (Guevara et al., 2003; Marchon-Silva et al, 2007). Como resultado do monitoramento no Brasil, foram apresentadas também estimativas dos potenciais de transmissão anual (PTA) de cada vetor e, indicado o melhor período do ano para serem adotadas as medidas de ação de controle nas áreas estudadas (Marchon-Silva, 2004; Marchon-Silva et al, 2007).

Em paralelo, Rodriguez-Perez et al. (2004, 2006a) realizaram, no México, um amplo estudo entomológico utilizando a PCR em pool de vetores e os produtos desta técnica foram detectados por ELISA (Unnasch e Meredith, 1996). Katholi e Unnash (2006) disponibilizaram outra versão do programa de algoritmo que possibilita a análise de pools de tamanhos variados e o cálculo das estimativas de prevalência e intervalos de confiança mesmo quando não há pools positivos. Atualmente, a metodologia do PCR-ELISA está sendo empregado como uma abordagem confiável para estimar os níveis de transmissão do parasito em alguns países da África e nos seis países afetados na América Latina (Adjami et al. 2004, Lindblade et al. 2007; Rodriguez-Perez et al. 2006b, 2008a, b, 2010a, b; Vieira et al. 2007). Assim, o O-150 PCR acoplado a ELISA tem sido uma abordagem usada para monitorar o progresso do controle da oncocercose na América Latina.

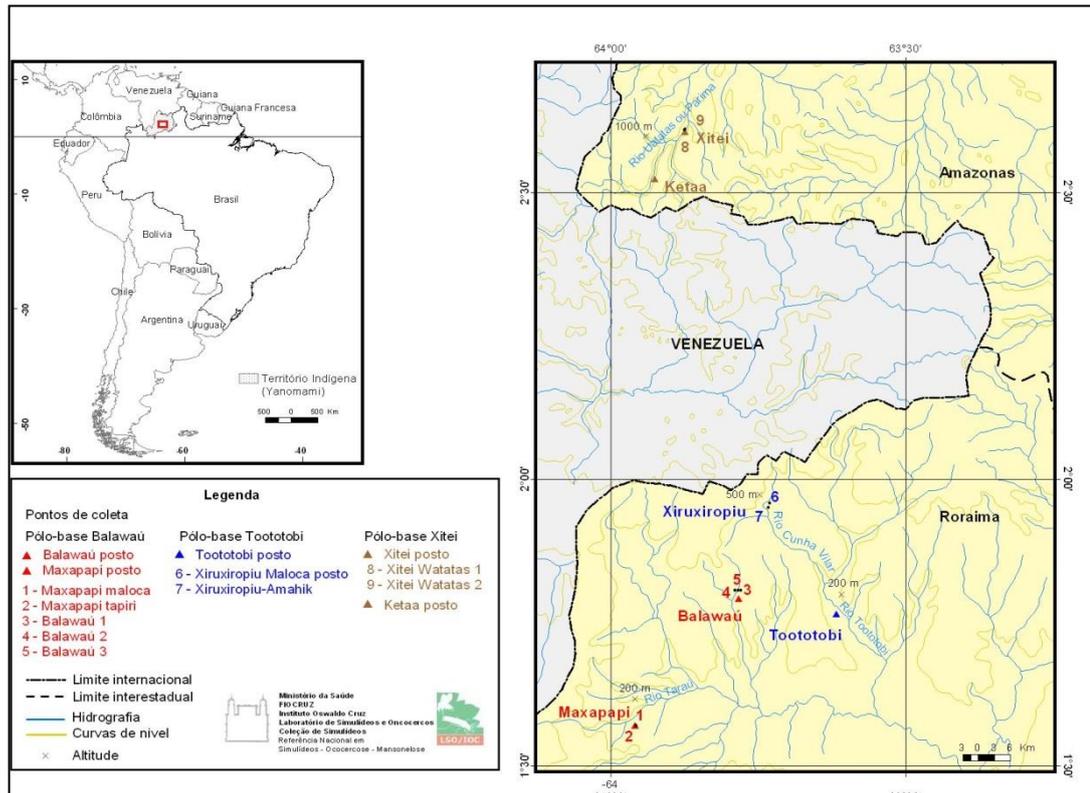


No Brasil, os Yanomami vivem em aproximadamente 253 comunidades, espalhadas por uma área contínua de 9.419.108 hectares, compreendida entre os paralelos 0,20S e 5N e os meridianos 61,15 W e 66,30 W (Coelho *et al.*, 1998, BRASIL, 2010).

A cobertura vegetal predominante no noroeste do estado de Roraima, nas regiões das nascentes dos rios Uraricoera e Mucajaí, na Serra do Parima e Paracaraima e Formação Roraima é de floresta ombrófila montana. As árvores mais robustas e mais altas encontram seu melhor habitat acima de 1000 metros de altitude, diminuindo de porte à medida que o relevo diminui de elevação, na direção do interior do estado, mas mantendo a mesma composição florística até cerca de 600 metros. Já a floresta ombrófila de média e baixa altitude, que está localizada aproximadamente na Serra do Apiaú e região do rio Mucajaí, apresenta uma submata relativamente aberta e é banhada por uma infinidade de igarapés de várias extensões. Menos homogênea que o tipo anterior, essa floresta pode apresentar algumas manchas de mata de cipós e palmeiras, que se torna de fácil penetração principalmente na parte que se estende até a planície do rio Branco (Silva, 1997).

A distribuição de chuvas na Amazônia tem uma estreita relação com o tipo de vegetação e o relevo local. De modo geral, a precipitação anual cresce do nordeste para o sudoeste, saindo das formações de savana (1100 a 1400 mm/ano) e atravessando a faixa de transição savana-floresta para floresta de altitude (1700 a 2000 mm/ano), até alcançar as florestas úmidas de baixo relevo (2000 a 2300 mm/ano) mais ao sul. Na parte norte e nordeste, que apresentam altos relevos de floresta e onde estão as Serras do Parima e Pacaraima, não se têm dados suficientes para traçar curvas de chuvas confiáveis, mas é provável que a média fique próxima dos 2000 mm/ano. Para a maior parte da região, acima da linha do Equador, os meses de maio, junho e julho são geralmente os de maior precipitação. Esses meses correspondem à primavera - verão do hemisfério norte, mas são conhecidos como “inverno” na linguagem popular local devido aos dias chuvosos. Nesta região este período é responsável por 55 a 60% do volume total de chuvas anuais (Barbosa *et al.*, 1997).

Neste estudo foram avaliadas as três áreas sentinelas para o PBEO - os polos base Xitei, Balawaú e Toototobi. Estes polos base estão situados em área de densa floresta, na terra indígena Yanomami, numa região próxima à fronteira com a Venezuela (Fig. 5).



**Figura 5.** Área de estudo – pontos de coleta em cada polo base - Xitei, Balawaú e Toototobi.

O polo base Balawaú (01°48'39"N 63°47'10"W), hiperendêmico para oncocercose, localiza-se a noroeste do estado do Amazonas, a uma altitude de 340 metros, possui uma população de 427 indígenas, dividida em sete comunidades (censo FUNASA, 2010) está localizado a 44,46Km da Venezuela (Goharibos Untuan) próxima a divisa com o Brasil (tabela 1). O subpolo Maxapapi (01°34'15.8"N 63°57'30.3"W) está localizado a 32,51Km da sede do polo e a 21,03Km da Venezuela (Siapa) (Tabela 1). Essa região é cercada pela Serra do Urucuzero, mas apresenta características de planície, sendo seu terreno bastante irregular, com pequenas elevações entremeadas por depressões de tamanhos variáveis que favorecem a formação de coleções de água durante a estação das chuvas. Entretanto, o curso dos igarapés é estreito, o que dificulta e muitas vezes impossibilita o acesso fluvial às comunidades, mesmo durante o período de chuvas, sendo o percurso entre as comunidades realizado a pé (URIHI, 2000). O deslocamento terrestre no período de seca se faz através de caminhadas que podem levar de 8 a 10 horas até o subpolo Maxapapi (apresentação DSEI-Y,

Reunião Anual PBEO, 2011). No período de chuva algumas malocas ficam acessíveis por via fluvial com viagens de duas horas até a maloca Uxiximapiu a sete horas para a comunidade Atabai. A sede do polo base, onde está localizado o posto de saúde, possui pista de pouso para aeronaves de pequeno porte e fica a cerca de 2 horas de voo desde Boa Vista. O subpolo Maxapapi também tem uma pista de pouso e fica a cerca de 20 minutos de voo saindo da sede do polo base.

O polo base Toototobi ( $01^{\circ}45'51''N$   $63^{\circ}37'28''W$ ), mesoendêmico para oncocercose, está situado a noroeste do estado do Amazonas ao longo do rio Toototobi a uma altitude de 180 metros, possui uma população de 575 indígenas, dividida em oito comunidades (censo FUNASA, 2010). O subpolo Xiroxiropiu ( $01^{\circ}57'02,1''N$   $63^{\circ}44'00,5''W$ ) está localizado a 24,67Km da sede do polo base e a 19 km da Venezuela (Chalbaud-Hamixu) (tabela 1). O polo base Toototobi é uma região típica de planície, com lagos naturais permanentes e temporários que se formam durante os períodos de chuva que causam o transbordamento das margens do rio Toototobi (URIHI, 2000). O subpolo Xiroxiropiu fica a cerca de três horas e meia de caminhada a partir da sede e a 30 minutos da divisa com a Venezuela (apresentação DSEI-Y, Reunião Anual PBEO, 2011), possui também uma pista de para aviões de pequeno porte e fica a cerca de 20 minutos de voo desde a sede do polo base.

O polo base Xitei ( $02^{\circ}36'25,8''N$   $63^{\circ}52'26,1''W$ ), hiperendêmico para oncocercose, está situado no estado de Roraima é composto atualmente por 22 comunidades com uma população total de 1402 indígenas (censo FUNASA, 2010). A comunidade Watatase localiza-se próxima a sede do polo base a uma altitude de 750m. Já o sub-polo Ketaa ( $02^{\circ}31'15''N$   $63^{\circ}55'08''W$ ) está a uma altitude de 870 metros, a 11 km a sudeste do polo base Xitei e a 11,27 Km, próximo à divisa com a Venezuela (Chalbaud-Hamixu) (tabela 1). Esse polo base possui a segunda maior pista de pouso, depois de Surucucu e fica a cerca de 2 horas de Boa Vista. A comunidade de Watatase fica próxima à sede do polo base a cerca de 30 minutos de caminhada. Já o subpolo Ketaa fica no alto de uma serra a oito horas de caminhada (apresentação DSEI-Y, Reunião Anual PBEO, 2011), mas quando necessário são feitas viagem de helicóptero para esse ponto devido à dificuldade de acesso.

**Tabela 1.** Coordenada geográficas dos pontos de coleta por polo base e subpolo para as coletas realizadas em 2009, 2010 e 2011 nas áreas sentinelas para o PBEO.

Polo Base (subpolo)	Ponto de Coleta	Latitude	Longitude
Balawaú	Balawau 1	01°48'23,1"N	63°47'05,9"W
	Balawau 2	01°48'21,6"N	63°47'24,0"W
	Balawau 3	01°48'20,8"N	63°47'4,2"W
Balawau (Maxpapi)	Maloca	01°34'11,5"N	63°57'28,4"W
	Tapiri	01°34'10,4"N	63°57'29,1"W
Toototobi (Xiroxiropiu)	Maloca posto	01°57'02,1"N	63°44'00,5"W
	Amahik	01°57'27,0"N	63°43'50,5"W
Xitei	Watatas1	02°36'33,8"N	63°52'31,0"W
	Watatas2	02°36'36,7"N	63°52'26,6"W
Xitei	Ketaa	02°31'12,0"N	63°55'30,0"W

### **Capacitação da Equipe de Campo**

A capacitação das equipes de campo, para as coletas de dados e de simulídeos, faz parte do apoio institucional ao PBEO, e foi realizado através do projeto intitulado “Fortalecimento do Programa de Eliminação da Oncocercose do Brasil com vistas a obtenção da interrupção da transmissão de *Onchocerca volvulus* em 2012” (FIOTEC/IOC-013-LIV-10), através de subsídios financeiros e assessoria técnico/científica da OEPA (Relatório Técnico IOC-013-LIV-10-2-3).

Para a capacitação das equipes de técnicos, agentes de saúde e biólogos do DSEIY/SESAI-RR, que atuaram nesse estudo, foi elaborado um plano de atividades de curta duração e de conteúdo específico para a sensibilização e/ou capacitação contendo toda metodologia de trabalho que pode ser reaplicado a qualquer momento, sempre que for necessária nova capacitação ou atualização. Toda a atividade foi planejada com aulas teóricas e prática que englobaram os seguintes temas: (i) metodologias de campo para a captura de simulídeos adultos, armazenagem e transporte de material; (ii) morfotipagem de exemplares de simulídeos dessa região endêmica para oncocercose; (iii) princípios básicos de biossegurança, qualidade e confidencialidade.

Foi elaborada também, pela equipe do LSO/IOC, uma chave dicotômica ilustrada simplificada para facilitar a identificação de fêmeas adultas de hábito antropofílico com possível ocorrência nessa área endêmica. Os caracteres de diferenciação específica utilizados foram os aspectos de coloração do escudo e das

pernas tendo como base a literatura pertinente (Ramirez-Pérez et al, 1982; Ramirez-Pérez, 1983; Jesus & Maia-Herzog, 1995; Shelley et al, 1997, 2000, 2004, 2006; Py-Daniel et al, 2000; Peppinelli et al, 2006; Hernandez et al 2007, 2008).

O LSO/IOC adotou firmou como exigência, que cada um dos participantes da SESAI-RR inseridos curso de capacitação para a atuação nas capturas de simulídeos do projeto de fortalecimento do PBEO assinasse os seguintes termos como documentação de certificação, garantia da qualidade e confiabilidade dos resultados: (i) Termo de confidencialidade-LSO/IOC-Fiocruz; (ii) Termo de compromisso-Fiocruz e Declaração de Biossegurança-LSO/IOC-Fiocruz.

### ***Estudo Entomológico***

Os locais de coleta nos polos base sentinela – Balawaú, Toototobi e Xitei, foram selecionados para este estudo pela análise de três fatores entre as áreas indicadas pela equipe do DSEI-Y/SESAI/RR que relataram (i) alta densidade de simulídeos nestas comunidades, (ii) boa logística para realização destas coletas por vários meses e (iii) a localização na proximidade da fronteira com a Venezuela.

### **Captura de simulídeos adultos**

Seguindo o protocolo da OMS (WHO, 2001a), toda a equipe que participou do trabalho de campo, sem exceção, foi medicada com Ivermectina uma semana antes da realização da coleta. A cada dia de coleta era preenchida uma Ficha de Campo (Anexo 2) que continha todas as informações referentes à coleta. Todo material coletado era enviado mensalmente junto com as Fichas de Campo preenchidas para o LSO-IOC/Fiocruz.

A equipe de coletores consistiu de um coletor e um atraente, sendo o coletor uma pessoa capacitada do DSEI-Y e o atraente um residente na comunidade endêmica, também foram medicados com ivermectina pelo menos uma semana antes da coleta. O coletor ficava responsável por aspirar todos os simulídeos que pousavam na pele do atraente antes que começassem a picar. As capturas foram realizadas por estas equipes, das 7 às 18 horas, durante 50 minutos/hora, com intervalo de 10 minutos. No período de 12 às 13 horas não eram realizadas coletas. A cada intervalo efetuava-se a etiquetagem do tubo de coleta utilizado naquele

período e procedia-se a substituição do tubo para o próximo intervalo de captura. Todos os exemplares obtidos foram conservados em etanol absoluto e armazenados em tubos de microcentrífuga por intervalo de captura (Post *et al.* 1993; Toe *et al.* 1997a), etiquetados com a o nome da comunidade, ponto de coleta, data, horário da coleta e equipe de coletores (WHO, 2001a; Marchon-Silva 2004).

Para cada área foram definidos dois pontos de coleta com uma equipe de coletores em cada um desses pontos. As coletas foram realizadas em quatro a treze dias consecutivos, mensalmente, pelo período de maior densidade populacional das espécies vetores em cada área, conforme descrito abaixo.

No polo base Balawaú as coletas foram realizadas no subpolo Maxapapi em dois pontos de coleta por oito dias consecutivos de agosto a novembro de 2009, exceto em setembro de 2009, quando a coleta foi realizada por uma equipe em apenas um dos pontos. Na sede do polo base Balawaú as coletas foram realizadas em dois pontos de coleta por oito dias consecutivos de agosto a dezembro de 2010 e por treze dias consecutivos de janeiro a março de 2011.

Para o polo base Toototobi as coletas foram realizadas no subpolo Xiroxiropiu em dois pontos de coleta por cinco dias consecutivos de agosto a novembro de 2009, exceto em outubro de 2009, quando a coleta foi realizada por uma equipe em apenas um dos pontos.

No polo base Xitei as coletas foram realizadas na sede do polo base em dois pontos de coleta na comunidade de Watatase por cinco dias consecutivos em agosto, outubro e novembro de 2009. No subpolo Ketaa as coletas foram realizadas em dois pontos de coleta por cinco dias consecutivos em agosto de 2009 e de agosto a novembro de 2010, exceto em outubro de 2010, quando a coleta foi realizada por uma equipe em apenas um dos pontos.

Vale ressaltar que todo o material obtido nas capturas foi remetido para o LSO/IOC-Fiocruz para identificação e processamento dos exemplares, seguindo o protocolo adotado pelo laboratório.

### **Contabilização e Identificação de simulídeos**

Toda parte laboratorial desse trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose/Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

No LSO/IOC todos os exemplares recebidos foram inicialmente conferidos com os dados das fichas de campo e posteriormente contabilizados.

Cada microtubo com os exemplares simulídeos recebidos do campo foi agrupado por seus respectivos pontos de coleta e os dados das suas etiquetas conferidos com os dados das respectivas fichas de campo. Durante a quantificação dos exemplares os que se apresentavam danificados, principalmente sem cabeças, ou que não fosse de exemplares de simulídeos foram colocados em outros microtubos e identificados com os mesmos dados do tubo original e com a informação de danificados ou entomofauna, respectivamente. Os tubos de microcentrifuga tinham o nível de etanol absoluto completado sempre que necessário visando a preservação da amostra e eram organizados em ordem sequencial por dia/hora de coleta em suportes para microtubos, além de etiquetados por cada ponto de coleta/mês/ano com o propósito de facilitar o processamento posterior. Todo material após a contabilização foi armazenado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior identificação.

Os dados referentes aos valores da quantificação dos exemplares contidos em cada tubo de microcentrifuga foram registrados nas fichas de contagem e nas Fichas de Campo na parte destinada as observações. Posteriormente, esses dados foram digitalizados em planilhas de contagem, no Microsoft Excel.

A identificação das espécies foi realizada através da observação de seus caracteres morfológicos e uso de chave simplificada de identificação desenvolvida pelo LSO, de acordo com a metodologia de observação ao microscópio estereoscópico convencionada no *Workshop on the Taxonomy of South América Simulidae of Medical Importance* (1982). Na identificação das espécies foram considerados os seguintes caracteres das fêmeas: padrão do escudo do tórax e marcação da coloração das pernas. Os simulídeos foram agrupados em microtubos com etanol absoluto por morfotipo e rotulados com etiquetas com os dados de coleta do microtubo original. Os tubos foram organizados em ordem sequencial por dia/hora de coleta/morfotipos em suportes etiquetados para cada ponto de coleta/mês/ano. Este material foi armazenado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior conformação dos pools.

Os resultados da morfotipagem das amostras foram digitalizados em planilhas de identificação do LSO/IOC, onde foram registradas todas as espécies encontradas

e em planilhas padronizadas pela OEPA onde foram registrados os dados referentes às espécies vetores potenciais da área endêmica.

Com relação à densidade relativa das espécies, foi calculada a frequência relativa de cada espécie potencialmente vetor, expressada como uma proporção ou percentual do número total de exemplares de todas as espécies coletadas em todo o período na área estudada. Assim como, a frequência relativa de cada espécie com relação ao total de todas as espécies coletadas em cada localidade de cada polo base sentinela para o PBEO.

### **Aspectos Binômicos**

Para as espécies de simuliídeos capturadas, foram analisados os seguintes parâmetros:

- (1) periodicidade mensal das espécies vetores, onde se avalia o ritmo periódico de ocorrência e densidade para cada um dos polos base sentinela estudadas;
- (2) periodicidade horária diária das espécies vetores, que corresponde à flutuação de cada espécie de simuliídeo capturados durante os períodos de captura indicando os horários com maior densidade de potenciais vetores da oncocercose;
- (3) Taxa de Picada (TP), que corresponde a taxa de picadas por hora que cada indivíduo está exposto durante o período determinado – dia, mês, período ou ano.

### **Análise de dados Entomológicos**

A quantificação dos exemplares referente ao número de simuliídeos coletados durante o estudo foi analisado para cada subpolo e/ou comunidade de cada polo base sentinela – Xitei, Balawaú e Toototobi para cada ano de captura - 2009, 2010 e 2011.

A frequência dos vetores foi calculada na forma de frequência absoluta, representada pela letra maiúscula F, para cada espécie coletada em cada subpolo e/ou comunidade de cada polo base sentinela e para cada ano de captura. Foram também calculadas as frequências relativas, representada pela letra minúscula f, para cada espécie sobre as frequências absolutas registradas para cada subpolo e/ou comunidade de cada polo base sentinela e para cada ano de captura. As frequências observadas foram expressas na forma de porcentagem.

Para a análise da periodicidade mensal das espécies vetores, foi calculada a frequência relativa de cada espécie, expressada em percentual em relação ao número total de exemplares coletados para cada mês de coleta para cada polo base na área estudada – Xitej, Balawaú e Toototobi. Assim como, a frequência relativa do total de cada espécie potencialmente vetor com relação ao total das espécies coletadas e do total de todas as espécies coletadas para cada mês de coleta com relação ao total de exemplares coletados em todo o período para cada polo base sentinela para o PBEO.

A análise da periodicidade diária para cada espécie potencialmente vetor da oncocercose foi feita com base na taxa de picada (TI) que corresponde à média geométrica da taxa de vezes que um inseto pousa na pele por hora calculada sobre cada período – hora, dia e mês. Essa média geométrica de vetores capturados por hora foi calculada como  $[\exp(\sum \log(\chi+1)/\eta)-1]/0,833$ , onde  $\chi + 1$  é o número de simúleios coletados durante um período de 50 minutos mais 1 [para evitar o logaritmo [0], baseada média geométrica de Williams (1937)],  $\eta$  é o número de períodos de coleta e 0,833 é o fator de conversão para converter o período de coleta de 50 minutos em 1 hora (60 minutos).

A taxa de picada mensal (TPM) foi calculada como a média geométrica da taxa de picada por hora (TP), multiplicada por 10 horas correspondentes ao número de períodos de coleta realizada ao dia e o número de dias correspondente a cada mês.

## ***Estudo do Parasito***

### **Diagnóstico molecular**

O procedimento para diagnóstico molecular seguido neste estudo foi o mesmo adotado pelos outros cinco países da América Latina endêmicos para oncocercose. O protocolo está baseado na amplificação, pela reação em cadeia da polimerase (PCR), de regiões específicas do DNA genômico de *O. volvulus* e consiste basicamente na análise separadamente de pools cabeças e corpos dos simúleios para avaliação da taxa de infectividade e infecção dos vetores nas áreas endêmicas em que foram capturados. Dessa forma, para cada grupo de simúleios original, foram gerados dois subgrupos. Inicialmente foram examinados os pools de corpos e sempre que foi encontrado um pool de corpos positivo, evidenciando qualquer

contato vetor-parasito, todos os pools de cabeças do polo base correspondente foram processados.

A metodologia utilizada, para esse diagnóstico, foi baseada na proposta por Unnasch e Hassan (2011) que consiste das seguintes etapas: (i) o agrupamento dos simulídeos em pools; (ii) separação das cabeças dos corpos dos simulídeos nestes pools; (iii) preparação dos pools de cabeças ou corpos para a extração do DNA; (iv) extração do DNA; (v) purificação do DNA; (vi) PCR; (vii) Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e leitura dos resultados.

### **Agrupamento dos simulídeos em pools**

Para atender a exigência do protocolo molecular, os simulídeos foram agrupados em “pools” de até 50 exemplares pertencentes à mesma espécie de simulídeos capturados no mesmo ponto de coleta, na mesma época do ano, mesmo dia e por proximidade de período 50-minutos de coleta.

Durante todo o processo com os pools de simulídeos foi seguido o protocolo laboratorial, que exigiu todo o cuidado e atenção para manter a mesma identificação em todos os tubos gerados.

### **Separação das cabeças dos corpos nos pools de simulídeos**

Essa etapa da metodologia descrita abaixo esta detalhada no POP-LSO-T055 no LSO/IOC.

Para a separação das cabeças dos corpos dos simulídeos (tórax e abdômen) foi retirado todo isopropanol ou etanol absoluto de cada microtubo com o pool de simulídeos analisado. A esses microtubos foram adicionados então etanol a 95% para lavagem dos exemplares e retirada de todo resíduo de isopropanol. O pool de simulídeos foi transferido para outro criotubo com a mesma numeração do pool original e o etanol a 95% foi retirado com auxílio de pipetador. Para retirar todo o etanol, o criotubo foi vertido com o pool de simulídeos ainda úmido sobre um barco de pesagem pequeno, e depois sobre papel absorvente e este foi deixado aberto sobre um suporte até que o etanol evaporasse e os simulídeos secassem. Porém sem deixar que os simulídeos desidratassem completamente. Depois de secos os criotubos foram fechados e colocados em um tubo de centrifuga (50 ml) limpo e seco e colocados submersos no nitrogênio líquido por 5 minutos para que

congelassem. Após o tempo estipulado as amostras foram tiradas do nitrogênio líquido e com o auxílio de EPIs (máscara facial e luvas para criogenia) os criotubos foram batidos vigorosamente sobre a bancada protegida com um suporte emborrachado para separar as cabeças dos corpos dos simulídeos. Os criotubos foram retirados de dentro do tubo de centrifuga e colocados em um suporte para serem processados um a um, mantendo a ordem de numeração para identificação de cada criotubo. As amostras foram ressuspensas com etanol a 95% e com o auxílio de uma pipeta de plástico descartável ou ponteira de 1000µl passada por uma peneira encaixada ao seu suporte. Os corpos dos simulídeos ficavam recolhidos na peneira, e as cabeças passavam para o suporte. As peneiras têm malha 25 ou 30 ou 40 e foram usadas dependendo do tamanho da espécie. Peneiras de malha 25 são mais apropriadas para espécies maiores como *S. guianense* e de malha 30 e 40, para espécies menores como *S. oyapockense* e *S. incrustatum*. Os simulídeos coletados na peneira eram lavados com etanol a 95% para garantir que todas as cabeças passassem para o suporte. As cabeças e os corpos dos simulídeos foram então colocados em microtubos separados e recebiam a mesma numeração anterior acrescido de H (*head*) para os pools de cabeça e de B (*body*) para os pools de corpos. Todos os pools foram armazenados com etanol 95% a 4°C para a continuidade do processo.

### **Preparação de pools de cabeças ou corpos para extração de DNA**

Essa e as próximas etapas da metodologia referentes à extração e purificação do DNA descritas a seguir estão detalhadas no POP-LSO-T056 no LSO/IOC.

O maior tamanho de pool que pode ser processado por esse protocolo é de 50 cabeças ou corpos e por essa razão os pools foram organizados com esse limite na etapa anterior.

Nessa etapa foram processados até 20 pools por cada vez para que todos coubessem no termobloco. Cada pool acondicionado em microtubos de 1,5ml foi lavado três vezes com etanol 95%. Caso a amostra já estivesse armazenada em etanol a 95% esta etapa de lavagem era descartada e passava-se direto para a etapa seguinte de secagem da amostra. Após a retirada de todo o etanol, os microtubos com as amostras ficavam abertos por cerca de 10 minutos em temperatura ambiente para que todo o resíduo de etanol evaporasse. Foram

adicionados 300ul de tampão de homogeneização (100mM NaCl, 10mM Tris-HCl (pH 8,0), 1mM EDTA, SDS 0,1%) e 2µl de solução DNA carreador (250ng/µl de DNA de esperma de salmão-Invitrogen) em cada microtubo com as cabeças ou corpos dos simulídeos e em um microtubo vazio para controle negativo da extração. Cada pool foi macerado com homogeneizadores de plástico individuais (pistilo para microtubo) até as estruturas dos simulídeos ficarem completamente quebradas. [Depois de usados, os pistilos foram colocados em hipoclorito de sódio a 2,5%, lavados e esterilizados em autoclave para serem usados numa próxima extração]. Foram adicionados 100ul de solução de proteinase K preparada no dia do procedimento (400ug/ml preparado em tampão de homogeneização) em cada microtubo, incluindo o controle negativo. As amostras foram homogeneizadas em agitador tipo vortex e incubadas a 55°C durante uma hora em banho-maria. Na cabine de segurança química foram adicionados 4ul de 1M DTT em criotubos identificados com a numeração de cada amostra que estava sendo processada incluindo o controle negativo. Os extratos dos microtubos que estavam em banho-maria foram transferidos para os criotubos correspondentes e em seguida homogeneizados em vortex e fervidos por 30 min no termobloco a 100°C. As amostras foram então submetidas a dois ciclos de congelamento e descongelamento, por 5 min no nitrogênio líquido seguido de 3 min no termobloco. Depois de descongelar pela segunda vez, os extratos foram transferidos para microtubos previamente identificados com a mesma numeração da amostra correspondente, colocados em uma estante e armazenados no freezer a -20°C até a etapa seguinte.

## **Extração do DNA**

### **Extração com fenol-clorofórmio**

O DNA das amostras foi extraído usando fenol-clorofórmio. Uma mistura 1:1 de fenol:clorofórmio (400 µl) foi adicionada a cada amostra; em seguida, as mesmas foram homogenizadas em vortex e centrifugadas por 3 min a 13.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para outro tubo com identificação correspondente e extraído duas vezes com 1:1 fenol:clorofórmio, homogeneizando no vortex e centrifugando a 13.000 rpm por 3 min. Uma extração adicional com clorofórmio foi feita, adicionando 400 µl de clorofórmio em cada microtubo previamente identificado

e transferindo o sobrenadante da etapa anterior para o microtubo correspondente . Os tubos foram centrifugados por 3 min a 13.000 rpm e o sobrenadante foi transferido para outro microtubo com identificação correspondente ao pool. O DNA extraído foi mantido a 4°C até o início das etapas de purificação.

### **Purificação do DNA**

A etapa de purificação do DNA foi feita em placa de 96 poços, portanto, para otimização do tempo e do material era preciso que já houvesse DNA suficiente extraído para preencher toda a placa. Para cada vez que essa etapa foi realizada foi definido previamente o desenho da placa com a sequência das amostras que foram processadas.

A cada amostra foi adicionado 3X seu volume de NaI (Anexo 1.1), homogeneizado no agitador tipo vortex e incubado a 4°C por 15 min. A placa de 96 poços unifilter (Whatman GF/B) foi colocada sobre a unidade de bomba de vácuo e todo o homegeinado da etapa anterior foi pipetado em cada poço da placa correspondente ao desenho feito para as amostras que estavam sendo processadas. Adicionaram-se 500 µl de etanol em cada poço para lavagem, repetindo essa etapa duas vezes. A placa com filtro foi colocada sobre a placa coletora de 96 poços e 50 µl de água livre de nucleasse previamente aquecida a 55°C foram adicionados em cada poço da placa com filtro. A unidade (placa com filtro com a placa coletora) foi centrifugada a 3000 rpm por 1 min. Após centrifugação a placa com filtro foi descartada e 150 µl de solução de NaI foram adicionados a cada poço da placa coletora. As amostras foram incubadas a 4°C por 15 min e após este período, uma nova placa de filtro de 96 poços unifilter (Whatman GF/B) foi colocada sobre a unidade de bomba de vácuo e toda a solução da etapa anterior foi aplicada em cada poço correspondente. Após filtração, foram feitas duas lavagens com 500 µl de etanol e a placa coletora, contendo o DNA de interesse foi coberta com parafilm ou plástico selante de placas, identificada com data, nome de quem realizou a extração, nº da amostra e poços onde estão as amostras na placa. A placa com DNA foi armazenada na geladeira (4°C) para ser usada em seguida ou no freezer (-20°C) se a PCR fosse realizada posteriormente.

## Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Essa etapa da metodologia referentes a reação da cadeia em polimerase (PCR) descrita a seguir está detalhada no POP-LSO-T057 no LSO/IOC.

A PCR foi realizada segundo o protocolo de Unnasch e Hassam (2011). Assim como na etapa anterior, cada vez que essa etapa de amplificação do DNA de *O. volvulus* em pools de simulídeos foi realizada, desenhou-se previamente a configuração da placa de PCR, com registro de dados referentes à identificação de cada amostra e sua localização nos poços da placa.

Na reação PCR O-150 foram utilizados iniciadores (Tabela 2) que são específicos para o gênero *Onchocerca* sp e que tem como alvo uma sequência não codificante repetida em tandem que ocorre em cerca de 4000 cópias por célula de *O. volvulus*. Esse elevado número de repetições aumenta a sensibilidade do ensaio e permite diminuir o número de ciclos durante a PCR, e, portanto, diminui a suscetibilidade à contaminação. A unidade repetitiva é de apenas 154 pb de comprimento representando, portanto, um bom alvo de amplificação. Na Tabela 3 são apresentados os reagentes para o preparo de Master Mix usados na PCR para uma reação de 50 µL gênero-específica. Todas as reações foram preparadas no gelo. A placa de PCR identificada com data, nome de quem realizou a técnica, nº da placa e poços onde estão as amostras na placa (p.ex. B1-H11) foi coberta com parafilm ou plástico selante e levada para a sala de PCR-ELISA onde foram adicionados nos controles negativos da reação, 2,5 µL de água livre de nuclease nos poços A1 a A10. Para o teste de inibição de reação, como controle positivo foram adicionados 2,5 µL de DNA controle positivo (p-Ov134) mais 2,5 µL de DNA de um pool negativo (testado previamente) no poço A11. Como controle positivo foram adicionados 2,5 µL de DNA controle positivo no poço A12. A placa de PCR foi vedada com parafilm ou fita seladora e colocada no termociclador e o programa utilizado para esta PCR esta apresentado na Tabela 4. Os resultados obtidos da PCR serão detectados por ELISA como descrito a seguir.

**Tabela 2.** Iniciadores utilizados para PCR diagnóstica de *Onchocerca* sp.

Iniciador	Sequencia
1632	5' GATTYTTCCGRCGAANARCGC 3'
1633 biotina	5' biotina-GCNRTRTAAATNTGNAAATTC 3'

N = A, G, C ou T      Y = C ou T      R = A ou G

**Tabela 3.** Reagentes usados na PCR para uma reação de 50 µL gênero-específica para *Onchocerca*.

Reagente	Concentração/50µL	Volume (µL)
H2O		34,5
Tampão F 5X (Anexo 1.2)	1X	5,0
dNTP mix 2 mM	0,2mM	5,0
Iniciador 1632 20 µM	0,5µM	1,25
Iniciador 1633 biotina 20 µM	0,5µM	1,25
Taq polimerase 5U/µL	2,5U/µL	0,5
DNA		2,5

**Tabela 4.** Perfil térmico usado na PCR diagnóstica

Temperatura °C	Tempo	Número de ciclos
94°C	1 min	
37°C	2 min	5 ciclos
72°C	30 seg	
94°C	30 seg	
37°C	30 seg	35 ciclos
72°C	30 seg	
72°C	6 min	1
4°C		α

### **Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e leitura dos resultados**

Nessa etapa os produtos de amplificação de PCR foram detectados por Ensaio de imunoabsorção enzimática (*ELISA*, sigla em inglês para Enzyme-linked immunosorbent assay).

Inicialmente, para determinar o limite de detecção do ensaio para o estoque do controle positivo que seria adotado, foi realizada uma série de 10 diluições do controle positivo de DNA. Foram realizadas reações de 50 µL da PCR padrão contendo 1 µL da diluição em série do controle positivo de DNA mais 1,5 µL de água PCR. Depois de determinar a maior diluição do controle positivo de DNA de O.

*volvulus* que produz o melhor e mais confiável resultado positivo da PCR O-150, foi usado 2.5 µL desta diluição como o controle positivo em todos os experimentos subsequentes.

Para cada placa de ELISA que foi processada foi definida previamente a configuração da Placa com os dados referentes à identificação de cada amostra e sua localização nos poços desta placa. Nessa metodologia, cada placa de ELISA (Immulon) completa pode processar até 83 reações de PCR de amostras e controles negativos das extrações de DNA.

Para cada placa de ELISA completa, foram colocados sempre duas reações de controle positivo, nos poços A11 e A12 da placa, e 10 reações de controles negativos nos poços A1 a A10. Nas reações do controle negativo (poços A1 ao A10) foi acrescentado 2,5 µL de água no lugar do DNA do controle positivo. Em um dos controles positivos da PCR (poço A12), foi adicionado 2,5 µL do DNA do controle positivo. Na segunda reação de controle positivo da PCR (poço A11), foi adicionado 1,5 µL do DNA do controle positivo mais 1,0 µL de DNA de uma preparação de um pool que foi previamente testado com resultado negativo, ou DNA preparado a partir de um pool de 50 simulídeos que não estejam infectados. O primeiro controle positivo é para avaliar se a reação está funcionando tão eficientemente quanto possível. Enquanto o segundo controle positivo, o que continha DNA de simulídeos, era para demonstrar que as preparações de DNA dos simulídeos não estão inibindo a reação da PCR. Ambos os controles positivos (poços A11 e A12) devem ser positivos e todos os controles internos de extração de DNA (poços A1-A10) devem ser negativos.

Resumidamente, 5 µL de cada reação de amplificação por PCR (10% do produto da PCR) foram adsorvidos à placa de ELISA revestida com estreptavidina (1µg/mL), e o DNA foi desnaturado por tratamento com álcali. Os produtos de PCR adsorvidos foram então hibridizados com uma sonda de oligonucleotídeos específica para *O. volvulus* marcada com fluoresceína (OVS2-FL: 5' AATCTCAAAAACGGGTACATA-fl 3'). A sonda ligada foi detectada com um anticorpo anti-fluoresceína marcado com fosfatase alcalina (fragmento Fab anti-flourescein; Roche Diagnostics). A reação de hibridação foi revelada usando o substrato específico Blue Phos® (KPL), seguido da adição de solução APstop (BRL). As placas foram colocadas no leitor de ELISA e a leitura foi feita a 650 nm. O resultado de cada placa foi salvo no computador e impresso para registro. O ponto

de corte para a classificação de uma amostra como presumidamente positiva foi fixado com a média dos 10 controles internos negativos (A1-A10) mais três desvios-padrão, ou 0,1, conforme o que foi maior. Um segundo PCR e ELISA independentes foram realizados nas amostras supostamente positivas e apenas as amostras classificadas como positivas em ambas as reações PCR-ELISA independentes foram classificadas como positivos confirmados.

### ***Análise de Dados Moleculares***

O Programa de software Poolscreen 2.0 (Poolscreen™) foi usado para determinar a frequência de simúlideos infectados com intervalo de confiança de 95% (Katholi *et al.*, 1995). Este programa permite calcular a prevalência da infecção nas populações a partir do diagnóstico molecular realizado em pool de simúlideos. Na versão 2.0, são requeridos três campos de dados: simúlideos coletados por unidade de tempo (pools), unidade de tempo (em horas) em que foram coletados os simúlideos, e os resultados da PCR dos pools. Tanto as unidades de tempo quanto o tamanho dos pools não precisam ser iguais, ao contrário, os pools podem conter zero exemplares e esses dados são valiosos e devem ser registrados. Para o processamento desses dados são necessárias duas planilhas do Excel preenchidas da seguinte forma para que possam ser inseridas no programa. A primeira sem nenhum título com uma coluna com os dados do número de simúlideos em cada pool e a segunda com o tempo (em horas) durante o qual o pool foi coletado. A segunda planilha também sem nenhum título com número de simúlideos em cada pool na primeira coluna e os resultados da PCR desses pools na segunda coluna salvos como valores separados por vírgulas.

As análises feitas com este programa permitiram obter: (i) a Taxa de Infectividade (TI), (ii) a Taxa de Infecção Parasitária (TIP) e (iii) o Potencial de Transmissão Mensal (PTM) a partir dos resultados obtidos nos estudos moleculares realizados com os grupos de simúlideos de cada espécie capturada.

A TI corresponde a taxa de larvas infectantes (L3) e é calculada sobre a proporção de cabeças de simúlideos positivos. A TIP corresponde a taxa de simúlideos parasitados e é calculada sobre a proporção de corpos de simúlideos positivos. A taxa de infectividade para cada polo base sentinela e os IC 95%

associados foi expressa como o número de simuliídeos positivos por 2.000 exemplares examinadas (Katholi et al, 1995).

O PTA é calculado pela estimativa do número de simuliídeos que sugam uma pessoa por ano (TPA=Taxa de picada anual) e prevalência de larvas infectantes (TI) na população vetor e corresponde ao número de L3 que uma pessoa que vive nesta área está exposta durante o ano. Taxa de Infectividade (TI) e Potencial de Transmissão Anual (PTA) são indicadores usados na avaliação do impacto causado pela medicação da Ivermectina na transmissão da oncocercose.

### ***Ética em Pesquisa***

Este trabalho faz parte de uma linha de serviço do Laboratório de Referência Nacional em Simuliídeos e Oncocercose que responde pelo diagnóstico molecular da oncocercose nas áreas endêmicas, denominada “Verificação do impacto do Programa Brasileiro para a Eliminação da Oncocercose através da avaliação epidemiológica em áreas sentinelas indicadas pela OEPA/SVS”, Fiotec nº VPPLR-001-LIV-09-2-2 e que foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Fundação Oswaldo Cruz/Fiocruz (CEP1186/00, CEP638/11).

## 5 RESULTADOS

### *Estudo Entomológico*

#### **Contabilização e Identificação de simúldeos**

Para investigar as espécies transmissoras de oncocercose nas áreas estudadas, dentre todos os exemplares capturados nos anos de 2009 a 2011 nos polos base sentinela Xitei, Balawaú e Toototobi foi identificado um total de 74.397 simúldeos das espécies potenciais vetores da oncocercose – *S. guianense*, *S. incrustatum* e *S. oyapockense*. Com relação ao total de exemplares coletados dessas espécies em todo o período de coleta, *S. guianense* e *S. incrustatum* foram as espécies que apresentaram maiores frequências relativas com 54,2% e 39,8% dos exemplares registrados, respectivamente. *Simulium oyapockense* foi a espécie menos frequente, representando apenas 6,0% do total de exemplares coletados em todo o período (Tabela 6).

No polo base Xitei foram identificados 39.881 exemplares, sendo 16.971 (42,6%) de Watatase coletados em 2009 e 22.910 (57,4%) do subpolo Ketaa coletados em 2009 e 2010. Com relação ao total de exemplares de cada espécie identificada durante todo o período de coleta no polo base Xitei, a que apresentou maior frequência relativa foi *S. guianense* (74,2%), seguida de *S. incrustatum* (24,2%), sendo *S. oyapockense* a menos frequente, representando apenas 1,6% dos exemplares coletados nesse polo base. Entretanto, quando analisado separadamente os exemplares coletados em Watatase e os do subpolo Ketaa, observou-se que em Watatase *S. guianense* e *S. incrustatum* foram bastante frequentes, representando respectivamente 54,9% e 42,4%. Enquanto que em Ketaa, *S. guianense* foi a espécie predominante, representando 88,5% e *S. incrustatum* representou apenas 10,7%, das espécies coletadas nesse subpolo de Xitei. *Simulium oyapockense* foi a espécie com menor frequência relativa tanto na comunidade de Watatase quanto no subpolo Ketaa, representando respectivamente 2,7% e 0,8% do total de exemplares coletados em cada uma dessas localidades (Tabela 6).

No polo base Balawaú foram identificados 13.287 exemplares, sendo 2.301 no subpolo Maxapapi coletados em 2009 e 10.986 em Wanapiu/Balawau, coletados

em 2010 e 2011. Com relação ao total de exemplares de cada espécie identificada durante todo o período de coleta no polo base Balawaú, apesar de *S. guianense* ser a mais frequente com 42,6%, *S. incrustatum* e *S. oyapockense* também foram proporcionalmente frequentes, representando respectivamente 33,3% e 24,1% dessa amostra. Entretanto, quando analisado separadamente os exemplares coletados no subpolo Maxapapi e os de Wanapiu/Balawaú, temos que no subpolo Maxapapi, *S. oyapockense* foi a espécie que apresentou maior frequência relativa, com 69,2% seguida de *S. guianense* com 30,7%, sendo que *S. incrustatum* teve representatividade < 0,1%, entre as espécies coletadas nesse subpolo de Balawaú. No entanto, em Wanapiu/Balawaú, tanto *S. guianense* quanto *S. incrustatum* foram frequentes, registrando respectivamente 45,1% e 40,2% das espécies coletadas, enquanto *S. oyapockense* representou apenas 14,7% da amostra dessa localidade (Tabela 6). No polo base Balawaú foram coletados ainda exemplares de *S. exiguum*, espécie também potencialmente vetor da oncocercose nessa área. Contudo, como sua frequência relativa foi <0,2%, com apenas 16 exemplares coletados (9 no subpolo Maxapapi e 7 em Wanapiu/Balawaú), não foi incluído nas análises.

No polo base Toototobi foram identificados 21.229 exemplares, todos coletados no subpolo Xiroxiropiu, sendo *S. incrustatum* a espécie mais frequente com 73,0%, seguida de *S. guianense* com 24,0% e *S. oyapockense* representando apenas 3% dos exemplares coletados nessa área sentinela (Tabela 6).

Outras espécies de simulídeos, que não são consideradas vetores potenciais da oncocercose nessas áreas endêmicas, foram registradas totalizando 473 exemplares: 369 *Simulium ochraceum*, 69 *Simulium limbatum*, 34 *Simulium metalium* e um *Simulium rorotaense*. Entre essas espécies, *Simulium ochraceum* foi a mais frequente, representando <0,5% do total de exemplares coletados em todas as localidades e <0,9% do total de exemplares do polo base Xitei.

**Tabela 5.** Frequência absoluta e relativa de simúlideos potenciais vetores da oncocercose coletados nos polos base sentinelas Xitei, Balawaú e Toototobi nos anos 2009, 2010 e 2011.

Polos-Base	Pontos de Coleta	Ano Coleta	Espécies vetores potenciais						Total	
			<i>S. guianense</i>		<i>S. incrustatum</i>		<i>S. oyapockense</i>		F	f (%)
			F	f (%)	F	f (%)	F	f (%)		
Xitei	Watatase	2009	9311	54,9	7199	42,4	461	2,7	16971	42,6
		2009	4759	80,9	954	16,2	172	2,9	5885	14,8
	Ketaa	2010	15512	91,1	1506	8,8	7	0,04	17025	42,7
Sub-total Xitei			29582	74,2	9659	24,2	640	1,6	39881	<b>53,6</b>
Balawaú	Maxapapi	2009	707	30,7	1	0,04	1593	69,2	2301	17,3
		2010	3566	65,4	1624	29,8	259	4,8	5449	41,0
	Balawaú	2011	1384	25,0	2798	50,5	1355	24,5	5537	41,7
Sub-total Balawaú			5657	42,6	4423	33,3	3207	24,1	13287	<b>17,9</b>
Toototobi	Xiruxixopiu	2009	5101	24,0	15485	73,0	643	3,0	21229	100,0
Sub-total Toototobi			5101	24,0	15485	73,0	643	3,0	21229	<b>28,5</b>
<b>Total</b>			<b>40340</b>	<b>54,2</b>	<b>29567</b>	<b>39,8</b>	<b>4490</b>	<b>6,0</b>	<b>74397</b>	<b>100,0</b>

F=frequência absoluta; f=frequência relativa

### **Aspectos Binômicos**

#### **Periodicidade Mensal das espécies vetores**

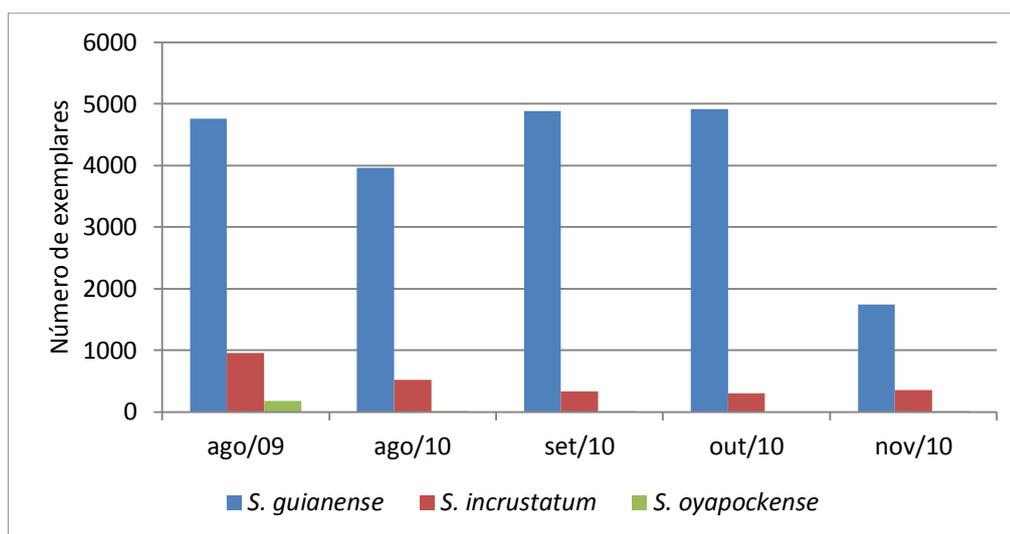
A frequência relativa das espécies variou durante o período de coleta, com registro de ocorrência mensal de forma permanente ou esporádica, dependendo da espécie e do local de coleta. Esses dados de densidade populacional referente a cada espécie potencialmente vetor registrada por mês de coleta são apresentados a seguir para cada polo base sentinela estudados.

No polo base Xitei, subpolo Ketaa, do total de 22.910 simúlideos potenciais vetores da oncocercose identificados, *S. guianense* foi a espécie mais abundante com 20.271 exemplares coletados (88,5%), predominando em todos os meses, representando mais de 80% do total de espécimes coletados em cada mês (Tabela 7, Fig. 6) e com densidade populacional relativa ao total de exemplares coletados dessa espécie constante de 23,5% (ago/2009), 19,6% (ago/2010), 24,1% (set/2010) e 24,3% (out/2010), com exceção de novembro de 2010 quando foi registrado

apenas 8,6% (1746/20271) desse total. *Simulium incrustatum*, apesar de também ter sido coletado em todos os meses apresentou baixa frequência relativa para cada mês de coleta, entre 5,9% (out/2010) e 16,6% (nov/2010) (Tabela 7, Fig. 6), tendo sido registrado maior densidade populacional com relação ao total de exemplares coletados para essa espécie nos meses de agosto de 2009 (38,8%) e agosto de 2010 (21,0%). *Simulium oyapockense* foi a espécie menos frequente, representando apenas 0,8% do total de exemplares coletados em todo o período, não tendo sido registrado em outubro de 2010 e apenas em agosto de 2009 representou cerca de 3% dos exemplares coletados nesse mês, nos outros meses a frequência foi <1% (Tabela 7, Fig. 6), tendo apresentado a maior densidade populacional com relação ao total coletado dessa espécie em agosto de 2009 (96,1%). Com relação à frequência relativa do total de exemplares coletados de todas as espécies em cada mês, novembro de 2010 foi o que registrou menor densidade populacional, representando apenas 9,1% do total de exemplares coletados em todo o período para essa área (Tabela 7).

**Tabela 6.** Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Xitei, subpolo Ketaa em agosto de 2009 e de agosto a novembro de 2010.

Espécies	Meses de Coleta										Total	
	Ago/2009		Ago/2010		Set/2010		Out/2010		Nov/2010		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
<i>S. guianense</i>	4759	80,9	3964	88,4	4886	93,5	4916	94,1	1746	83,3	20271	88,5
<i>S. incrustatum</i>	954	16,2	517	11,5	334	6,4	306	5,9	349	16,6	2460	10,7
<i>S. oyapockense</i>	172	2,9	2	0,0	3	0,1	0	0,0	2	0,1	179	0,8
<b>Total (N - %)</b>	<b>5885</b>	<b>25,7</b>	<b>4483</b>	<b>19,6</b>	<b>5223</b>	<b>22,8</b>	<b>5222</b>	<b>22,8</b>	<b>2097</b>	<b>9,1</b>	<b>22910</b>	<b>100,0</b>



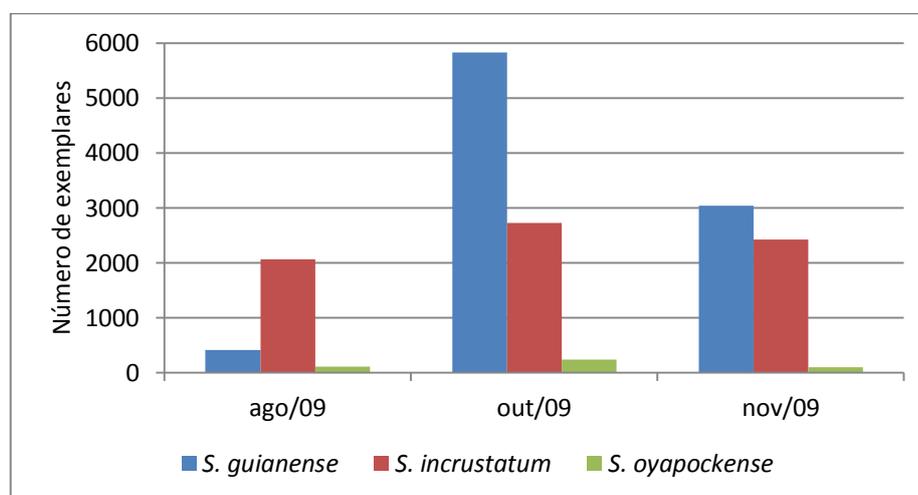
**Figura 6.** Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Xitei, subpolo Ketaa em agosto de 2009 e de agosto a novembro de 2010.

No polo base Xitei, nos pontos de coleta próximos a sede na comunidade de Watatase, do total de 16.971 exemplares de simulídeos potenciais vetores da oncocercose identificados, tanto *S. guianense* quanto *S. incrustatum* foram abundantes, representando, respectivamente, 54,7% e 42,6% das espécies coletadas durante todo o período de coleta. Entretanto, apresentaram aumento na frequência relativa em diferentes meses, sendo *S. guianense* a espécie mais frequente em outubro de 2009 e *S. incrustatum* em agosto de 2009, representando respectivamente 66,2% (5830) e 79,6% (2065) dos exemplares coletados em cada um dos meses correspondentes (Tabela 8, Figura 7). *Simulium guianense* apresentou pico populacional em outubro de 2009, registrando 62,8% (5830/9286), apresentando em agosto de 2009 a menor densidade populacional com apenas 4,5% (419/9286) do total dessa espécie nessa área durante todo o período de coleta. *Simulium incrustatum* apresentou densidade populacional constante em todos os meses com relação ao total coletado dessa espécie nessa localidade, registrando 28,6% (2065/7224) em agosto de 2009, 37,8% (2733/7224) em outubro de 2009 e 33,6% (2426/7224) em novembro de 2009. *Simulium oyapockense* foi registrada em todos os meses, mas apresentou densidade muito baixa, com apenas 461 exemplares capturados, representando <3% do total de exemplares (Tabela 8, Figura 7), tendo apresentado maior densidade populacional com relação ao total

coletado dessa espécie em outubro de 2009 (53,6%). Com relação ao total de exemplares coletados de todas as espécies em cada mês, outubro de 2009 foi o que apresentou maior abundância, com frequência relativa de 51,9% sobre o total de exemplares coletados nessa área (Tabela 8).

**Tabela 7.** Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Xitei – comunidade Watatase em agosto, outubro e novembro de 2009.

Espécies	Meses de Coleta						Total	
	Agosto/2009		Outubro/2009		Novembro/2009		N	%
	N	%	N	%	N	%		
<i>S. guianense</i>	419	16,2	5830	66,2	3037	54,5	9286	54,7
<i>S. incrustatum</i>	2065	79,6	2733	31,0	2426	43,6	7224	42,6
<i>S. oyapockense</i>	109	4,2	247	2,8	105	1,9	461	2,7
<b>Total</b>	2593	<b>15,3</b>	8810	<b>51,9</b>	5568	<b>32,8</b>	16971	<b>100,0</b>



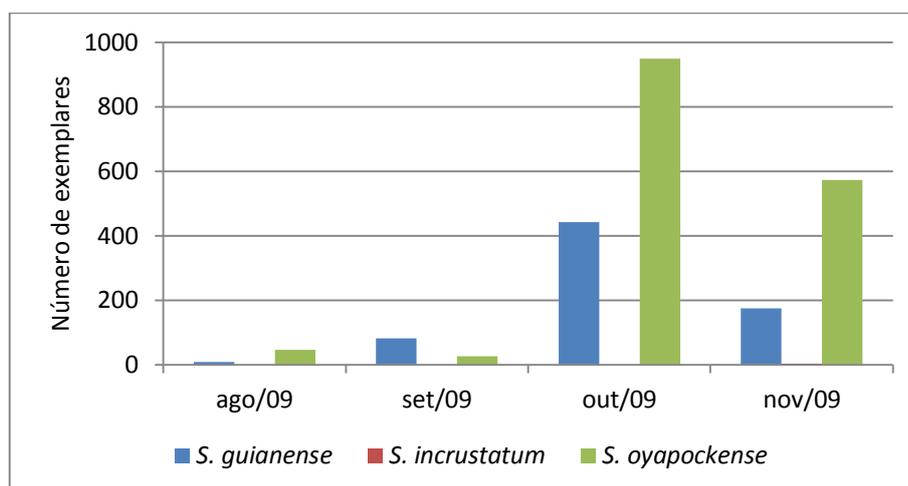
**Figura 7.** Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Xitei – Watatase em agosto, outubro e novembro de 2009.

No polo base Balawau subpolo Maxapapi do total de 2.301 exemplares de simulídeos potenciais vetores da oncocercose coletados durante quatro meses de coleta - agosto a novembro de 2009, *S. oyapockense* foi a espécie mais abundante com 1.593 exemplares e frequência relativa de 69,2% sobre o total de exemplares

coletados em todo o período, sendo também a espécie mais abundante em quase todos os meses de captura, apresentando frequência relativa de 68,2% a 84,9%, com exceção de setembro de 2009, quando apresentou apenas 24,1% do total de exemplares coletados nesse mês (Tabela 9, Fig. 8). *Simulium oyapockense* apresentou pico populacional no mês de outubro de 2009 com 950 exemplares, perfazendo 59,6% dos exemplares coletados desta espécie em todo o período, tendo sido registrada densidade populacional de apenas 4,4% na soma dos meses de agosto e setembro de 2009, com 2,8% (45/1593) e 1,6% (26/1593), respectivamente. *Simulium guianense* representou 30,7% de todos exemplares capturados no período, sendo a espécie mais frequente apenas no mês de setembro de 2009 (75,9%) (Tabela 9, Fig. 8) e apresentando um pico populacional no mês de outubro com a captura de 442 exemplares que correspondeu a 62,5% (442/707) dos exemplares desta espécie coletados em todo o período. Apenas um exemplar de *S. incrustatum* foi registrado no mês de novembro de 2009. Com relação a frequência relativa do total de exemplares coletados de todas as espécies em cada mês, temos que o total coletado nos meses de agosto e setembro de 2009 correspondem a apenas 7% (2,3% e 4,7%) e que outubro de 2009 foi o que apresentou maior densidade populacional, representando 60,5% desse total em todo o período de coleta para essa área (Tabela 9).

**Tabela 8.** Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Balawaú, subpolo Maxapapi de agosto a novembro de 2009.

Espécies	Meses de Coleta								Total	
	Ago/2009		Set/2009		Out/2009		Nov/2009		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%		
<i>S. guianense</i>	8	15,1	82	75,9	442	31,8	175	23,4	707	30,7
<i>S. incrustatum</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,1	1	0,1
<i>S. oyapockense</i>	45	84,9	26	24,1	950	68,2	572	76,5	1593	69,2
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>2,3</b>	<b>108</b>	<b>4,7</b>	<b>1392</b>	<b>60,5</b>	<b>748</b>	<b>32,5</b>	<b>2301</b>	<b>100,0</b>

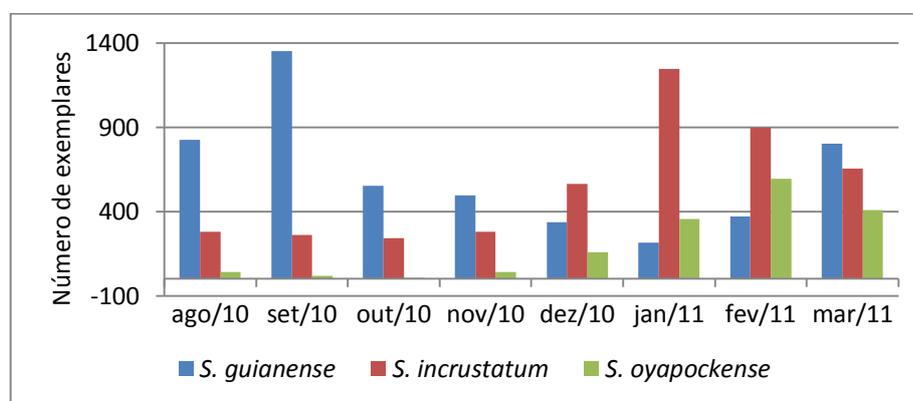


**Figura 8.** Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Balawaú, subpolo Maxapapi de agosto a novembro de 2009.

Para o polo base Balawau, nas coletas realizadas ao redor da sede, na comunidade Wanapiu, do total de 10.986 exemplares de simúlídeos potenciais vetores capturados de agosto de 2010 a março de 2011, *Simulium guianense* foi a espécie mais abundante de agosto a novembro de 2010 e em março de 2011 (Tabela 10, Fig. 9), apresentando um pico populacional em setembro de 2010, representando 83% dos exemplares coletados nesse mês e 27,3% (1353/4950) dos exemplares coletados dessa espécie em todo o período. *Simulium incrustatum* foi a espécie mais abundante nos meses de dezembro de 2010, janeiro e fevereiro de 2011, com 53,1%, 68,7% e 48,3%, respectivamente (Tabela 10, Fig. 9), tendo sido registrada maior densidade populacional em janeiro de 2011, representando 28,2% dos exemplares coletados dessa espécie em todo o período. *Simulium oyapockense* também foi registrada em todos os meses, mas apresentou a menor densidade populacional representando 14,7% dos exemplares coletados em todo período (Tabela 10, Fig. 9), apresentando densidade populacional maior nos três primeiros meses de 2011, onde foram contabilizados 1.355 exemplares, o que correspondeu a 84% (1355/1614) dos exemplares dessa espécie em relação ao seu total coletado no período nessa localidade. Com relação a frequência relativa do total de exemplares coletados de todas as espécies em cada mês, temos que o total coletado nos meses de janeiro a março de 2011 foram os que apresentaram maior densidade populacional, representando 50,4% do total de exemplares em todo o período de coleta para essa área (Tabela 10).

**Tabela 9.** Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletadas no polo base Balawaú na comunidade de Wanapiu de agosto de 2010 a março de 2011.

ESPÉCIES	Meses de Coleta																TOTAL	
	Ago/2010		Set/2010		Out/2010		Nov/2010		Dez/2010		Jan/2010		Fev/2010		Mar/2010		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%				
<i>S. guianense</i>	825	72	1353	83,0	554	69,3	496	60,9	338	31,9	214	11,8	369	19,9	801	43,0	4950	45,1
<i>S. incrustatum</i>	280	24,4	262	16,1	241	30,1	279	34,3	562	53,1	1246	68,7	897	48,3	655	35,1	4422	40,3
<i>S. oyapockense</i>	41	3,6	16	1,0	5	0,6	39	4,8	158	14,9	355	19,6	592	31,9	408	21,9	1614	14,7
<b>TOTAL</b>	<b>1146</b>	<b>10,4</b>	<b>1631</b>	<b>14,9</b>	<b>800</b>	<b>7,3</b>	<b>814</b>	<b>7,4</b>	<b>1058</b>	<b>9,6</b>	<b>1815</b>	<b>16,5</b>	<b>1858</b>	<b>16,9</b>	<b>1864</b>	<b>17,0</b>	<b>10986</b>	<b>100,0</b>



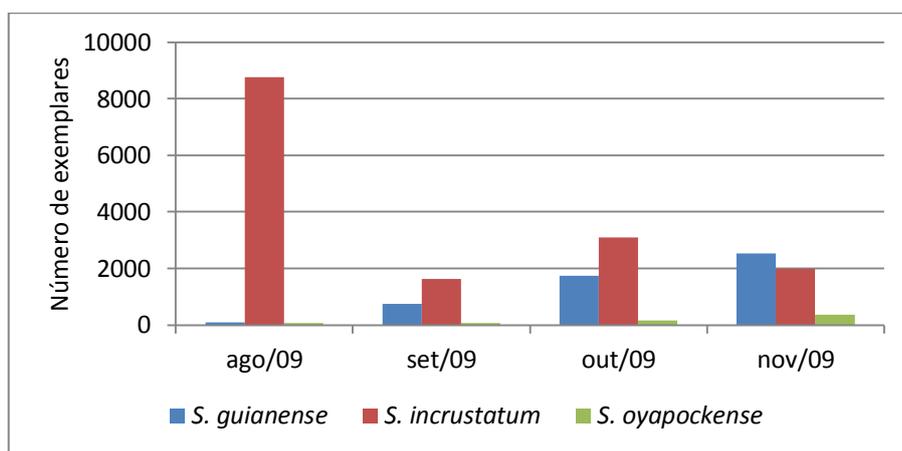
**Figura 9.** Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Balawaú na comunidade de Wanapiu de agosto de 2010 a março de 2011.

No polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, do total de 21.229 exemplares de simúlideos potenciais vetores da oncocercose coletados de agosto a novembro de 2009, *S. incrustatum* foi a espécie mais abundante, totalizando 15.485 exemplares (72,9%) desta espécie capturada em todo período, sendo a espécie mais abundante nos meses de agosto, setembro e outubro de 2009, representando 98,3%, 66,6% e 62,3% sobre o total de exemplares coletados em cada um desses meses, respectivamente (Tabela 11, Fig. 10), tendo sido registrada maior densidade populacional em agosto de 2009 com 56,6% (8764/15485) dos exemplares coletados dessa espécie para o período. *Simulium guianense* apresentou um padrão crescente da densidade populacional de setembro a novembro de 2009 representando 24% do total de espécies coletadas nesse período, sendo a espécie

mais frequente em novembro, representando 51,8% do total de exemplares coletados nesse mês (Tabela 11, Fig. 10), tendo sido registrada maior densidade populacional com relação ao total de exemplares coletados para essa espécie nos meses de outubro e novembro de 2009, com 33,9% (1730/5101) e 49,6% (2532/5101), respectivamente. *Simulium oyapockense* correspondeu a apenas 3% dos exemplares coletados em todo o período, com maior frequência em novembro, mas representando apenas 7,5% dos exemplares coletados nesse mês (Tabela 11, Fig. 10), e sobre a densidade populacional registrada para o total de exemplares coletados dessa espécie, 56,8% (365/643) foram registrados no mês novembro de 2009. Com relação a frequência relativa do total de exemplares coletados de todas as espécies em cada mês, agosto de 2009 foi o que apresentou maior densidade populacional, representando 42% do total de exemplares em todo o período de coleta para essa área (Tabela 11).

**Tabela 10.** Total (N) e frequência relativa (%) das espécies potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu de agosto a novembro de 2009.

Espécies	Meses de Coleta								Total	
	Ago/2009		Set/2009		Out/2009		Nov/2009		N	%
	N	%	N	%	N	%	N	%		
<i>S. guianense</i>	82	0,9	757	30,9	1730	34,7	2532	51,8	5101	24,0
<i>S. incrustatum</i>	8764	98,3	1631	66,6	3101	62,3	1989	40,7	15485	72,9
<i>S. oyapockense</i>	66	0,7	62	2,5	150	3,0	365	7,5	643	3,0
<b>Total</b>	<b>8912</b>	<b>42,0</b>	<b>2450</b>	<b>11,5</b>	<b>4981</b>	<b>23,5</b>	<b>4886</b>	<b>23,0</b>	<b>21229</b>	<b>100,0</b>



**Figura 10.** Total de exemplares por espécie potenciais vetores da oncocercose coletados no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu de agosto a novembro de 2009.

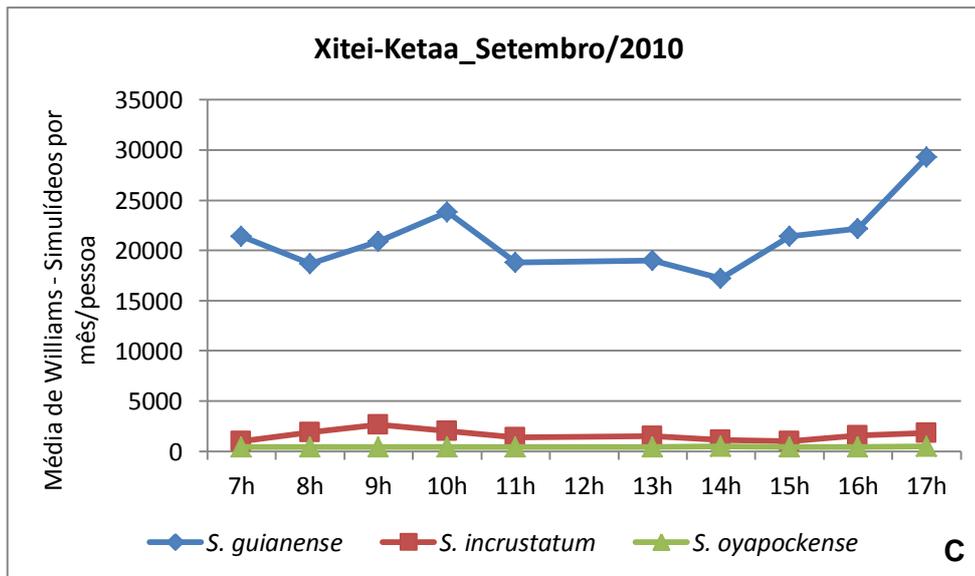
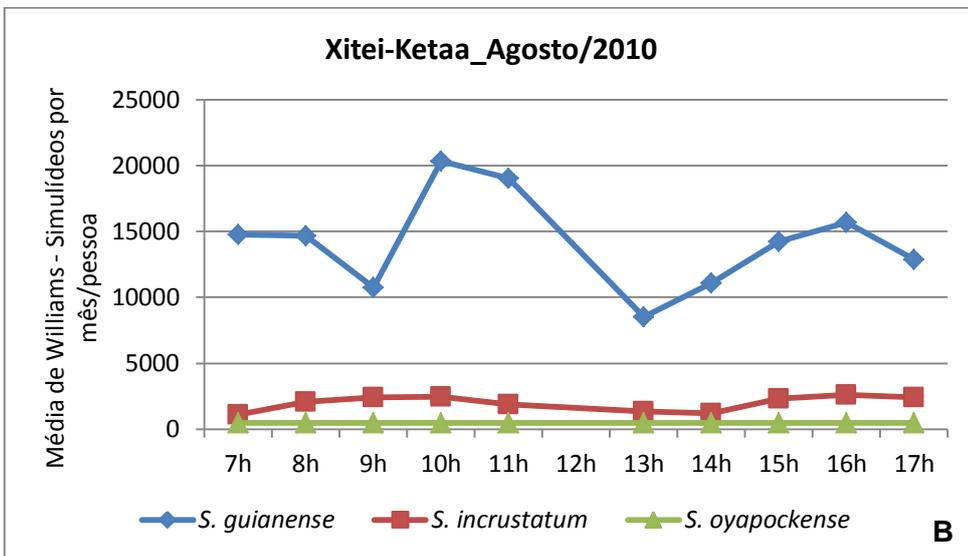
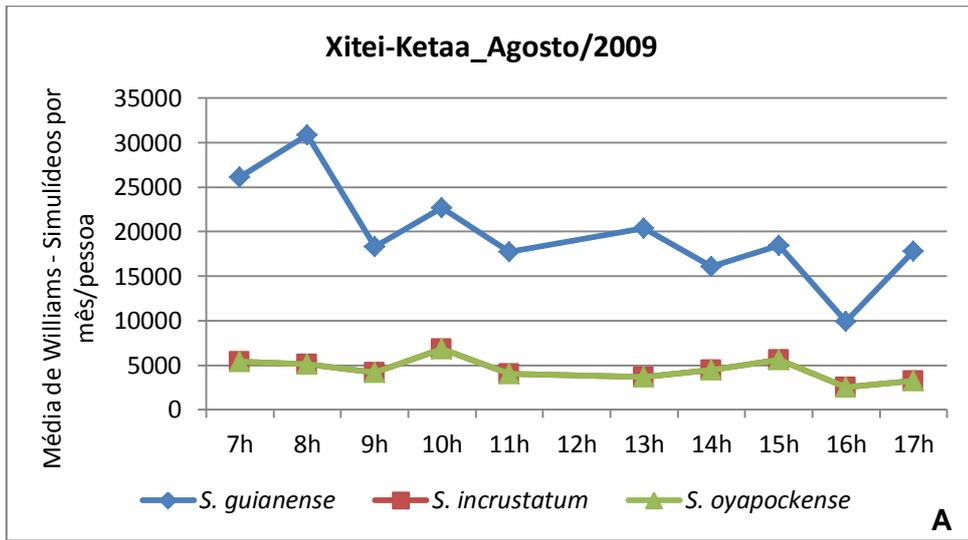
### Periodicidade horária diária das espécies vetores

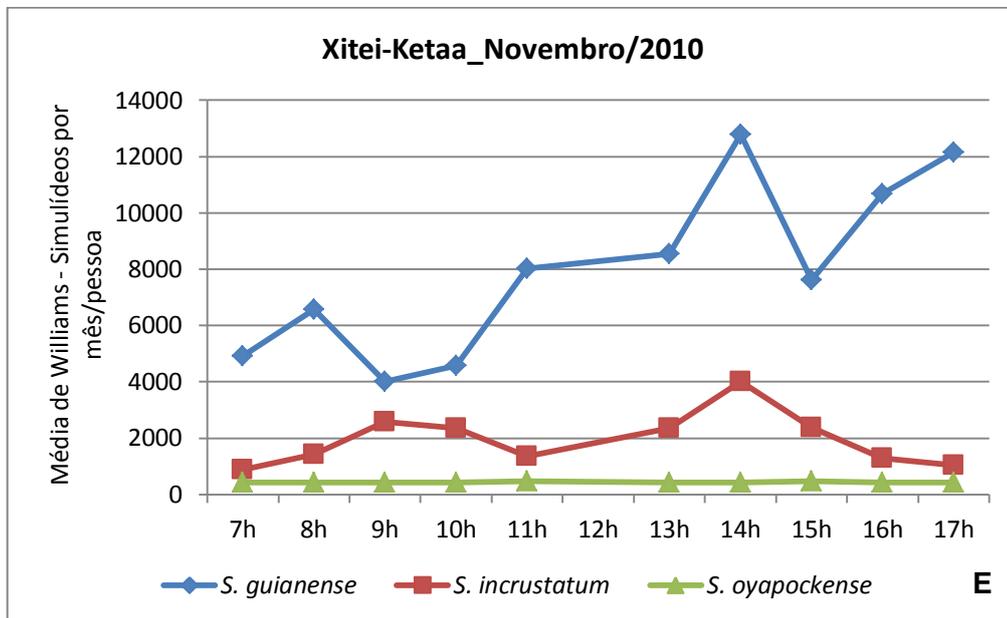
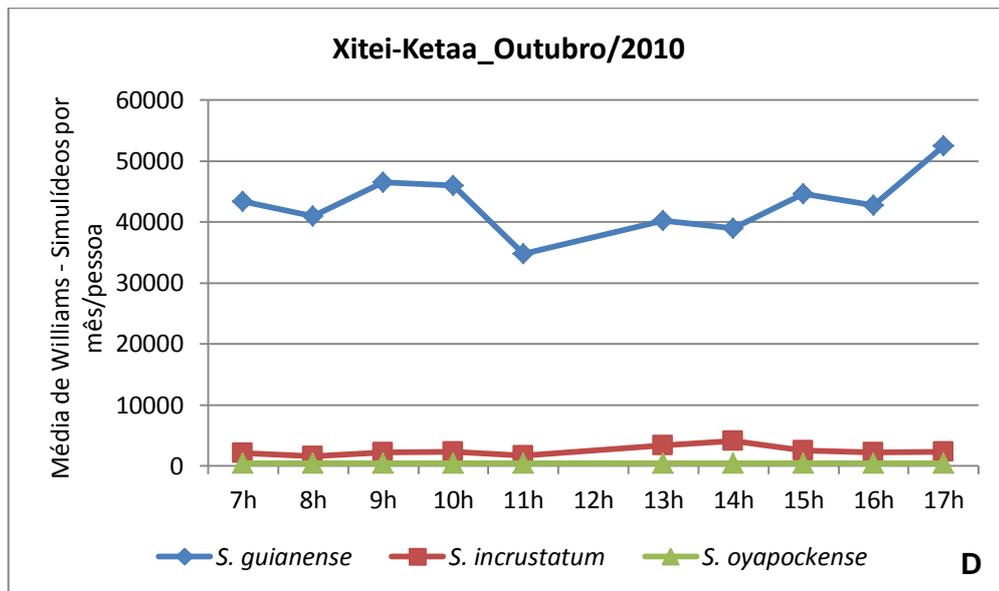
As análises sobre a flutuação horária foram realizadas por polo base, subpolo, por mês de coleta para todas as espécies vetores – *S. guianense*, *S. incrustatum* e *S. oyapockense* processados para cada período de captura.

No polo base Xitei, subpolo Ketaa, do total de exemplares coletados em todos os meses (agosto de 2009, agosto a novembro de 2010), *S. guianense* foi registrado em maior número em todos os períodos. Tanto *S. incrustatum* quanto *S. oyapockense* apesar de terem sido coletados em todos os períodos, apresentaram baixas taxas quando comparadas com *S. guianense* (Figs. 11A-E, Tabela 12).

**Tabela 11.** Distribuição dos simulídeos registrados nos períodos de coleta no polo base Xitei, subpolo Ketaa em agosto de 2009 e de agosto a novembro de 2010.

ESPÉCIES	PERÍODOS DE COLETA										Total
	7-8h	8-9h	9-10h	10-11h	11-12h	13-14h	14-15h	15-16h	16-17h	17-18h	
<i>S. guianense</i>	2000	2100	1888	2227	1818	1969	1966	1952	1937	2414	20271
<i>S. incrustatum</i>	161	227	276	336	191	240	282	289	213	245	2460
<i>S. oyapockense</i>	7	5	12	10	14	35	27	30	28	11	179
<b>Total</b>	<b>2168</b>	<b>2332</b>	<b>2176</b>	<b>2573</b>	<b>2023</b>	<b>2244</b>	<b>2275</b>	<b>2271</b>	<b>2178</b>	<b>2670</b>	<b>22910</b>





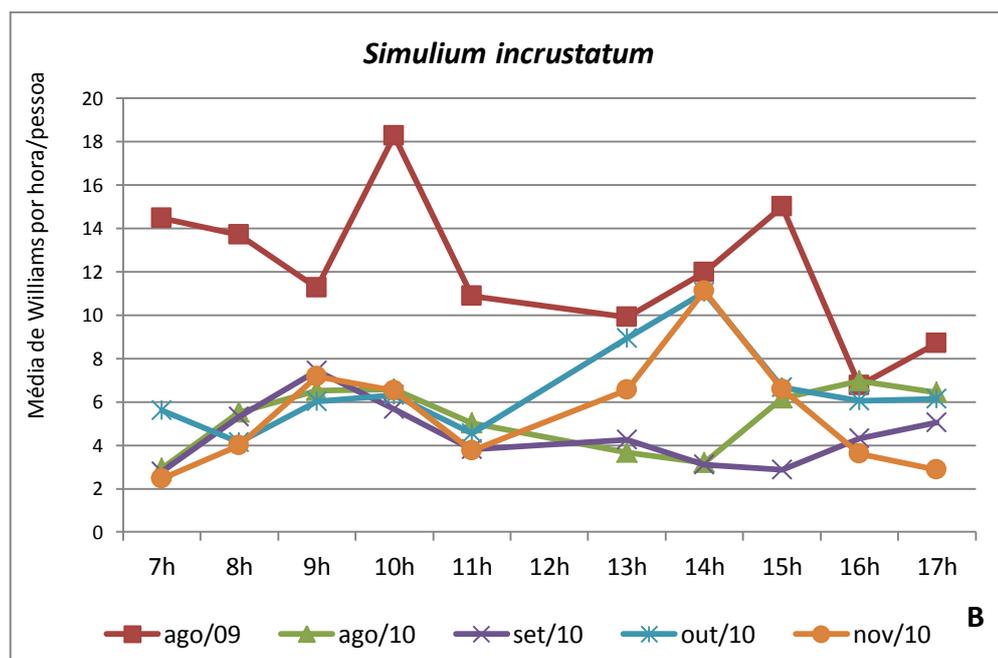
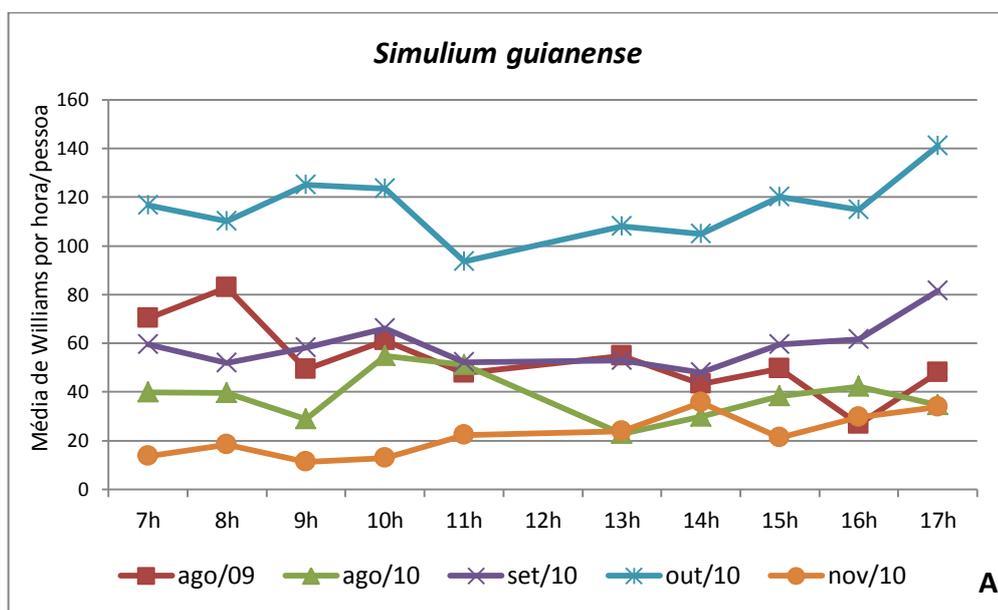
**Figura 11.** Flutuação horária pela média de Williams de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa vs. hora do dia para os meses de agosto/2009 (A), agosto/2010 (B), setembro/2010 (C), outubro/2010 (D) e novembro/2010 (E) no polo base Xitei, Watatase, Amazônica, Brasil.

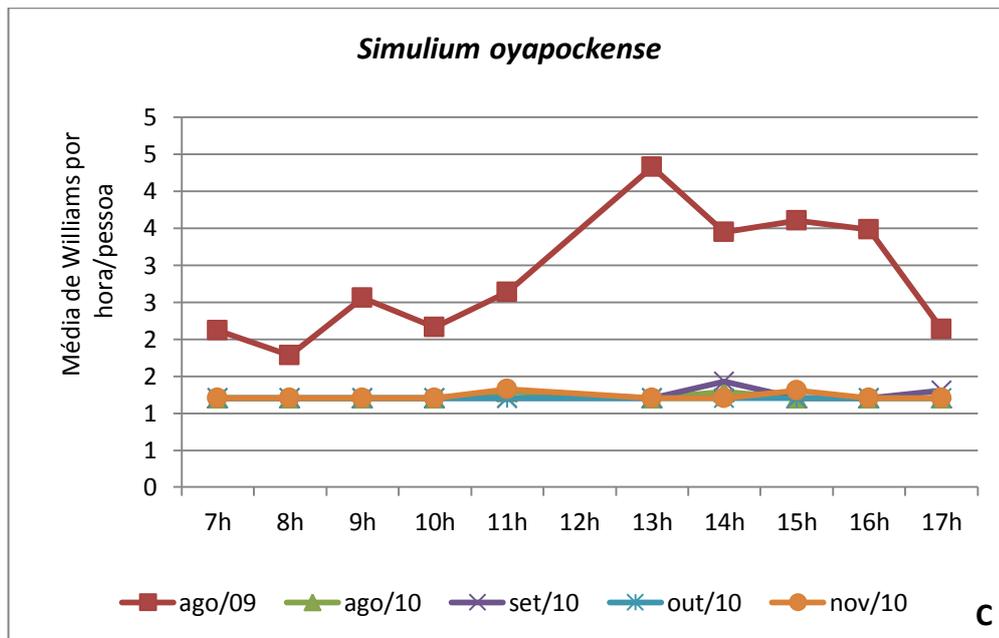
*Simulium guianense* não apresentou um padrão de atividade para o polo base Xitei, subpolo Ketaa. No mês de outubro de 2010 foram registradas as maiores taxas de picada com pouca variação entre elas, sendo a maior taxa de picada ocorrido no período das 17 as 18 horas com 141,11 (95% IC, 107,55 – 185,01) e a menor das 11 as 12 horas com 93,57 (95% IC, 70,69 – 123,75). No mês de novembro de 2010 foram registradas as menores taxas de picada para todo o período, sendo a maior

taxa de picada ocorrido no período das 14 as 15 horas com 35,49 (95% IC, 21,29 – 58,66) e a menor das 9 as 10 horas com 11,14 (95% IC, 5,69 – 20,90) (Figura 12A).

*Simulium incrustatum* também não apresentou padrão de atividade para essa região, tendo sido registrada a maior taxa em agosto de 2009 no período da manhã de 10-11 horas com 18,28 (95% IC, 13,15 – 25,24) e a tarde com 15,02 (95% IC, 11,95 – 18,79) (Figura 12B).

*Simulium oyapockense* foi a espécie capturada em menor número do total de exemplares coletados por equipe em todos os meses e apresentou baixa atividade em todo o período de coleta (Figura 12C).



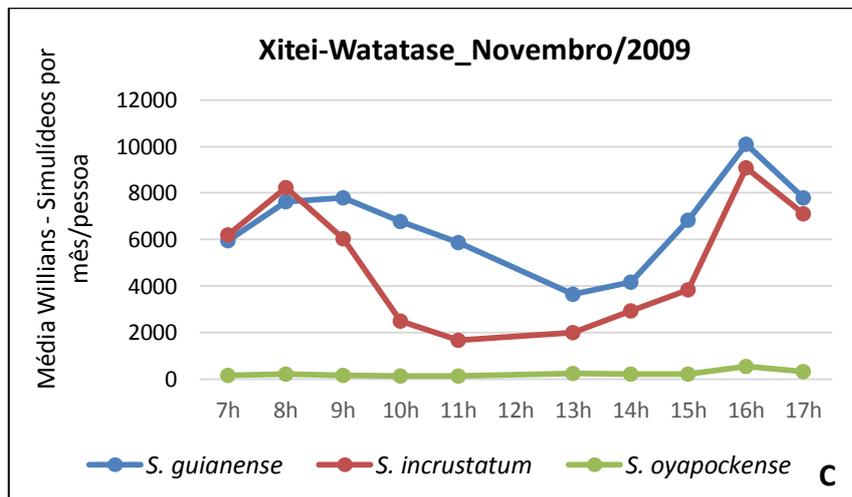
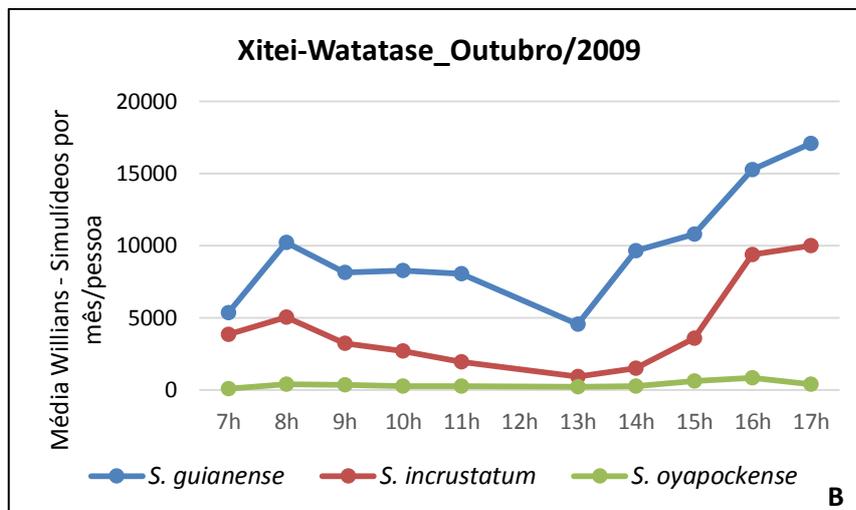
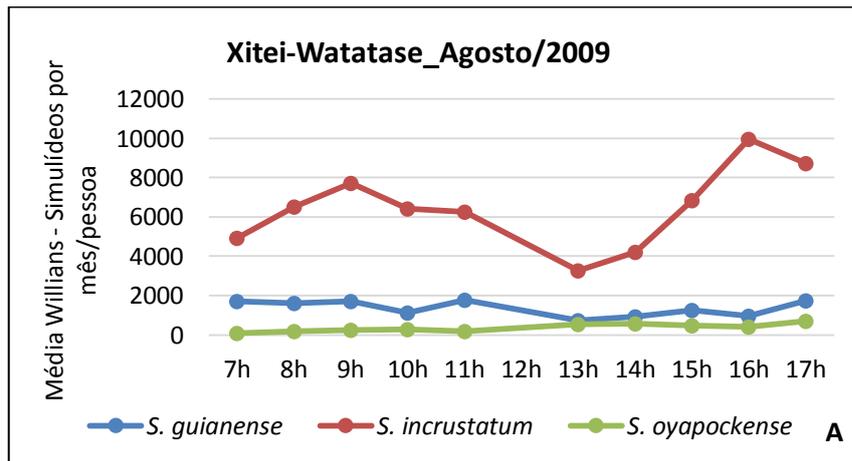


**Figura 12.** Flutuação horária pela média de Williams por espécie - *S. guianense* (A), *S. incrustatum* (B) e *S. oyapockense* (C) por pessoa vs. hora do dia para os meses de coleta (agosto/09, agosto a novembro de 2010) realizados no polo base Xitei, Ketaa no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil.

No polo base Xitei, na comunidade de Watatase, do total de exemplares coletados em todos os meses (agosto, outubro e novembro de 2009), *S. guianense* foi registrado em maior número em todos os períodos de coleta, com pouca diferença para a espécie *S. incrustatum* tanto no primeiro intervalo de coleta (7-8h) quanto nos últimos (16-17h) (Tabela 13). Entretanto, na análise por mês de coleta, no mês de agosto de 2009 *S. incrustatum* foi a espécie predominante em todos os períodos de coleta (Figura 13A), já em outubro de 2009 *S. guianense* foi a que apresentou maiores taxas de picada para todos os períodos de captura (Figura 13B). No mês de novembro de 2009 tanto *S. guianense* quanto *S. incrustatum* apresentaram altas taxas de picada para a maioria dos períodos de coleta, com pouca variação entre essas espécies (Figura 13C).

**Tabela 12.** Distribuição do total de simúlídeos registrados nos períodos de coleta no polo base Xitei, Watatase em agosto, outubro e novembro de 2009.

ESPÉCIES	PERÍODOS DE COLETA									Total
	7-8h	8-9h	9-10h	10-11h	11-12h	14-15h	15-16h	16-17h	17-18h	
<i>S. guianense</i>	745	1045	968	841	852	790	912	1294	1367	9311
<i>S. incrustatum</i>	717	864	786	562	459	457	654	1254	1184	7199
<i>S. oyapockense</i>	18	42	37	34	33	45	66	84	58	461
Total	1480	1951	1791	1437	1344	1292	1632	2632	2609	16971

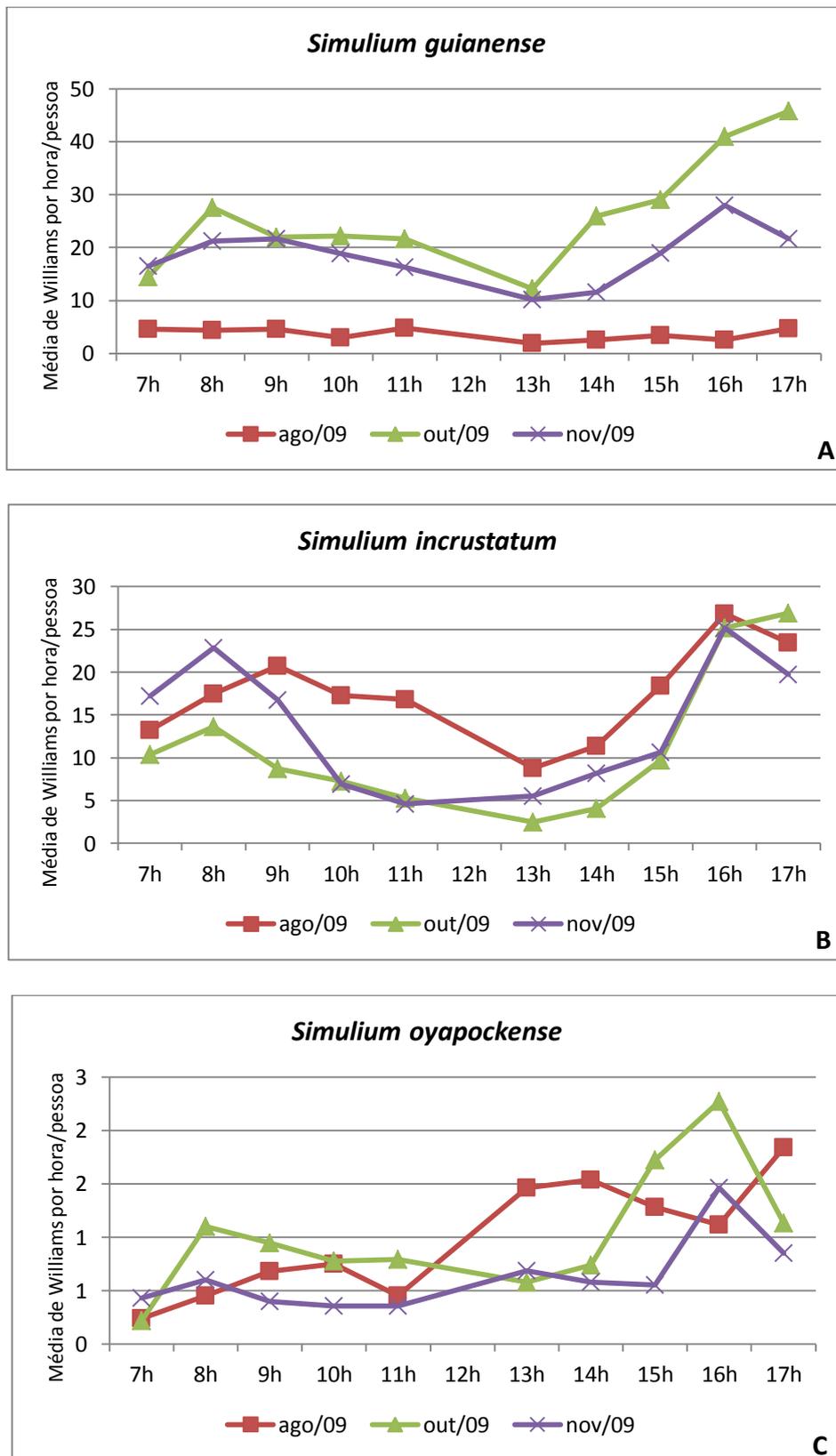


**Figura 13.** Flutuação horária pela média de Willians de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa vs. hora do dia (hora-coleta) para os meses de agosto (A), outubro (B) e novembro de 2009 (C) no polo base Xitei, Watatase, Amazônica, Brasil.

*Simulium guianense* apresentou um padrão bimodal de atividade tanto em outubro quanto em novembro de 2009. No mês de outubro foi registrada alta atividade no período da manhã, das 8 às 9 horas com taxa de picada diária de 27,53 (95% IC, 17,76 – 42,33), mas principalmente a tarde, com uma curva ascendente registrando no período das 15-16 horas taxa de picada de 29,06 (95% IC, 21,45 – 39,23) até o período das 17-18 horas com 45,85 (95% IC, 33,81 – 62,02). No mês de agosto de 2009 a densidade populacional de *S. guianense* foi relativamente baixa e o padrão de atividade horária teve pouca variação entre os períodos de coleta com a menor taxa de atividade registrada das 13-14 horas com 1,93 (95% IC, 1,01 – 3,23) e as maiores de 11-12h com 4,79 (95% IC, 2,62 – 8,15) e de 17-18 horas com 4,65 (95% IC, 1,67 – 10,70) (Figura 14A).

*Simulium incrustatum* também apresentou padrão bimodal de flutuação horária, com alta atividade pela manhã das 8 às 12 horas em agosto de 2009 com maior taxa registrada das 9-10 horas de 20,71 (95% IC, 12,21 – 34,60) e a tarde das 15-18 horas com 26,81 (95% IC, 11,22 – 61,96) das 16-17 horas. Nos meses de outubro e novembro de 2009 a maior atividade no período da manhã foi registrada de 7 as 11 horas e a tarde das 16 às 18 horas, com pico pela manhã de 8-9 horas e taxa de picada de 13,61 (95% IC, 8,62 – 21,16) e 22,86 (95% IC, 15,12 – 34,26), respectivamente e a tarde de 17-18 horas com taxa de picada de 26,90 (95% IC, 17,92 – 40,11) em outubro e 16-17 horas com taxa de picada de 25,21 (95% IC, 19,79 – 32,02) em novembro (Figura 14B).

*Simulium oyapockense* foi a espécie capturada em menor número do total de exemplares coletados por equipe em todos os meses e apresentou baixa atividade em todo o período de coleta. Entretanto, pode ser observado que sua maior atividade foi no período da tarde com as maiores taxas de picada registradas das 17-18 horas com 1,84 (95% IC, 0,87 – 3,26) em agosto, das 16-17 horas com 2,27 (95% IC, 1,64 – 3,05) em outubro e 1,46 (95% IC, 0,69 – 2,55) em novembro de 2009 (Figura 14C).



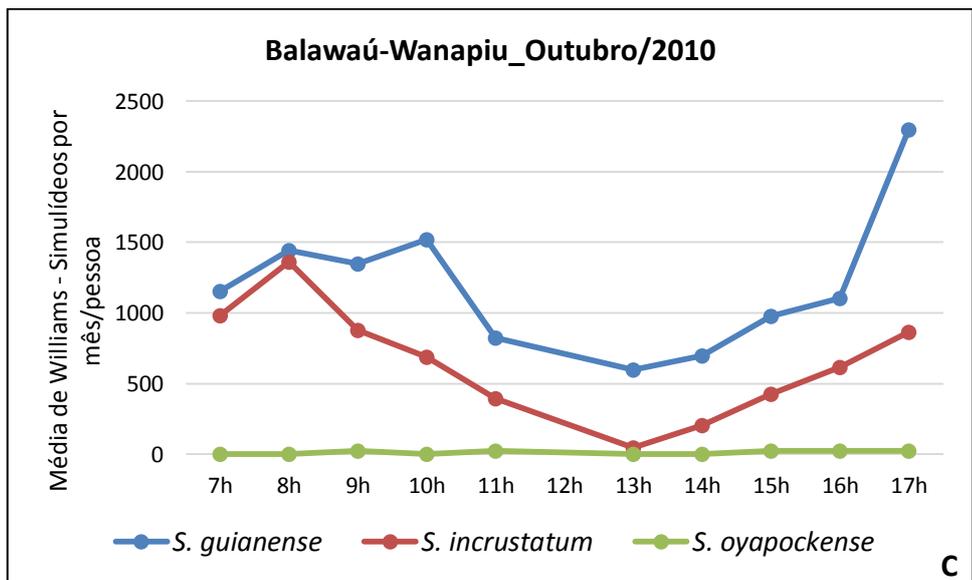
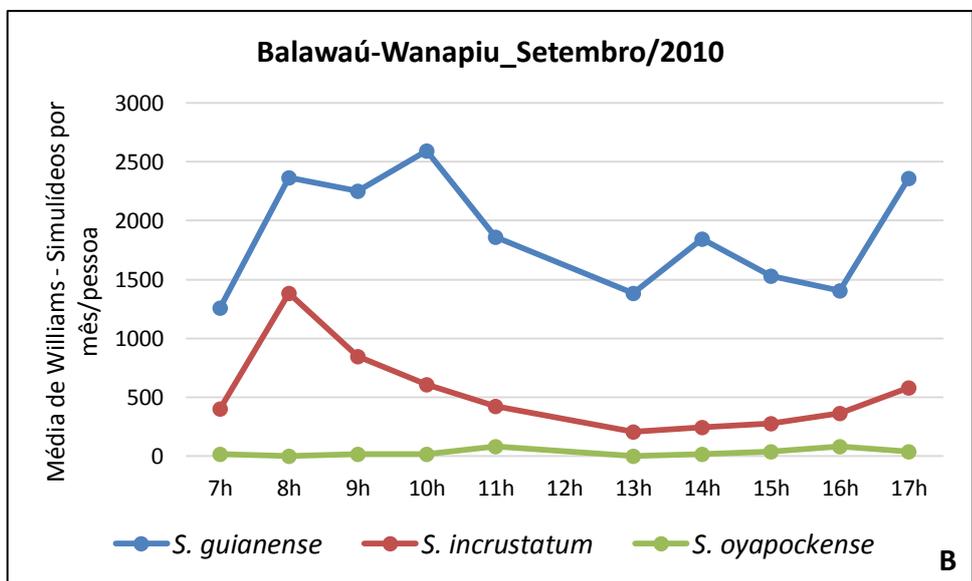
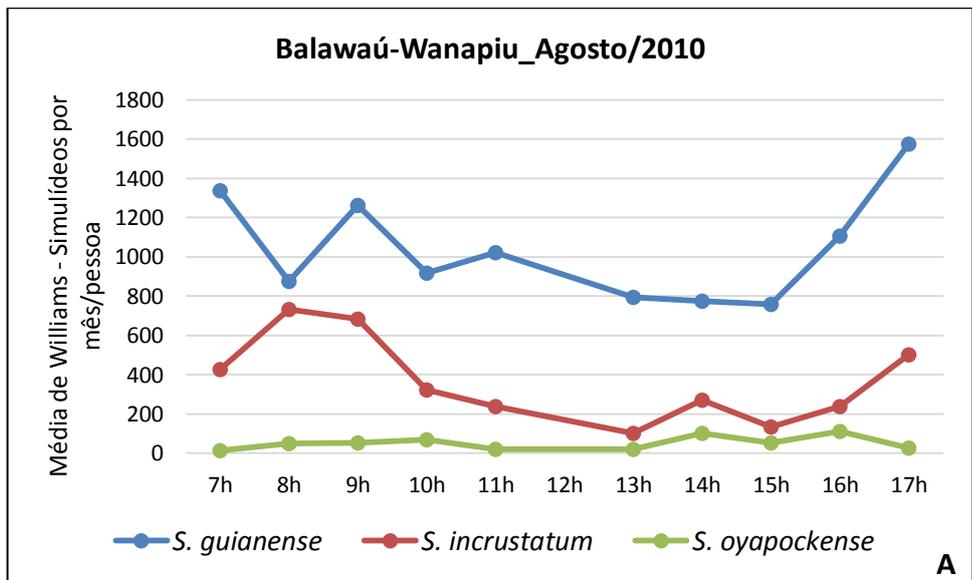
**Figura 14.** Flutuação horária pela média de Williams por espécie - *S. guianense* (A), *S. incrustatum* (B) e *S. oyapockense* (C) por pessoa para hora do dia para os meses de coleta (agosto, outubro e novembro de 2009) realizados no polo base Xitei, Watatase no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil.

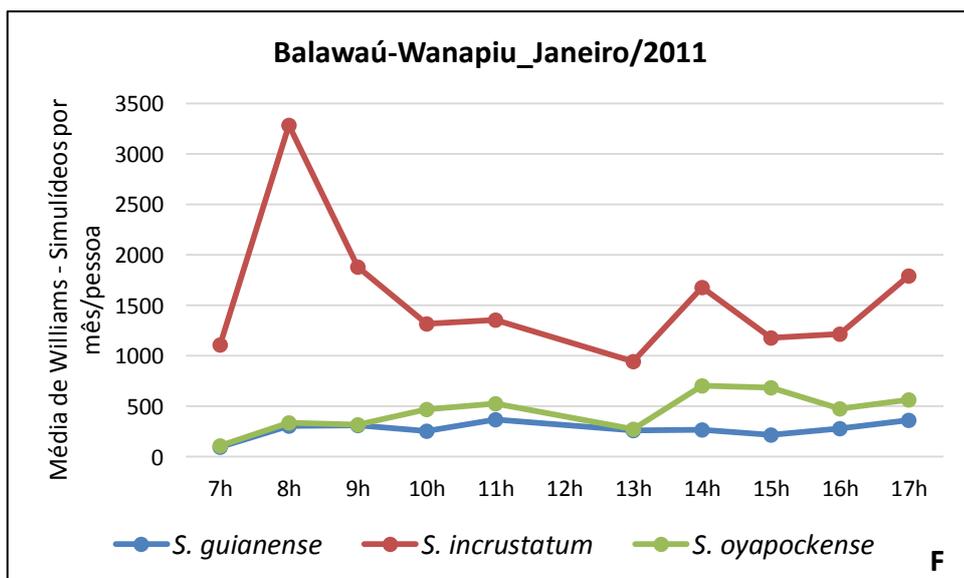
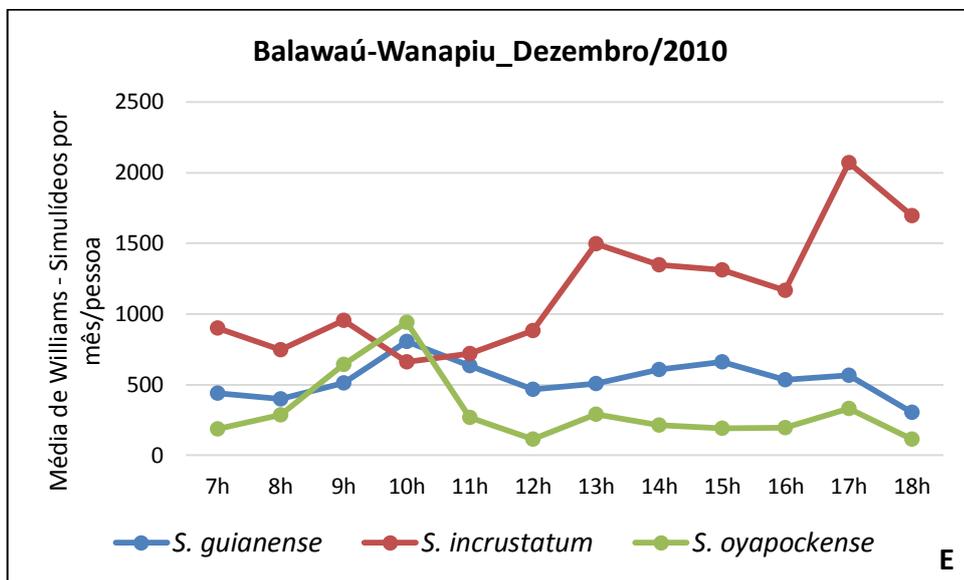
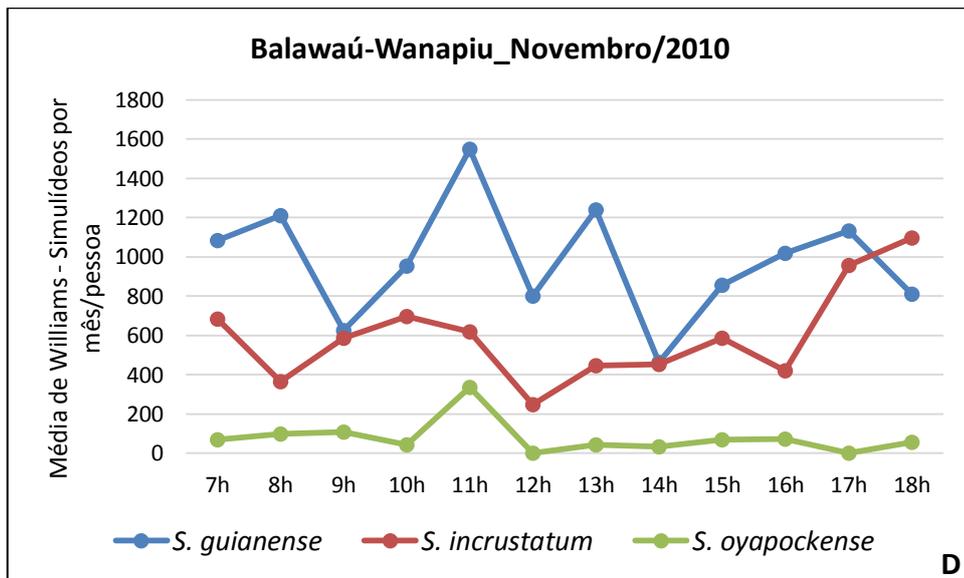
No polo base Balawau, na comunidade de Wanapiu/Balawau, com relação ao número de exemplares de cada espécie coletados a cada em cada período de coleta, *S. guianense* foi registrado em maior número em quase todos os períodos de coleta, com pouca diferença para a espécie *S. incrustatum* que nos intervalos das 8-9 horas e 9-10 horas foi a mais prevalente (Tabela 14).

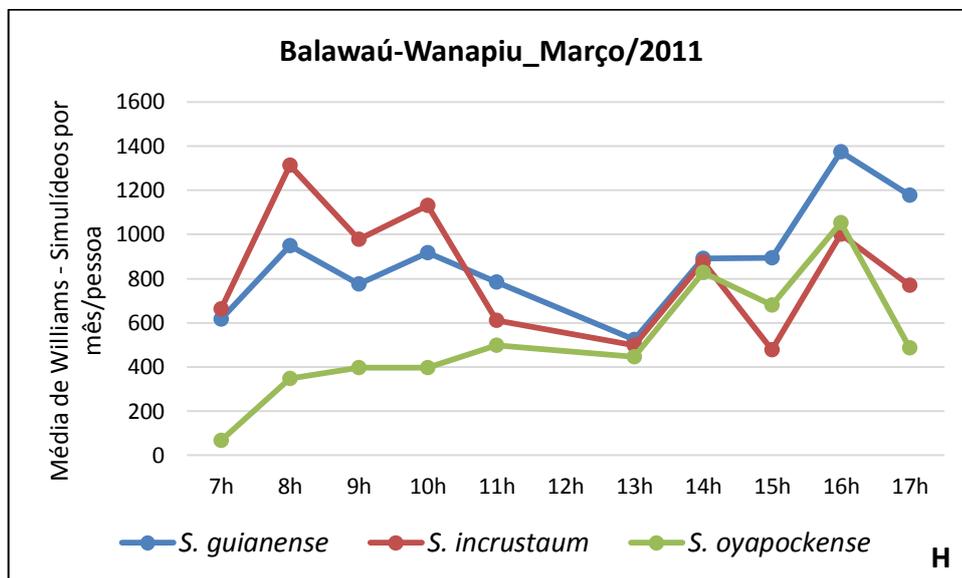
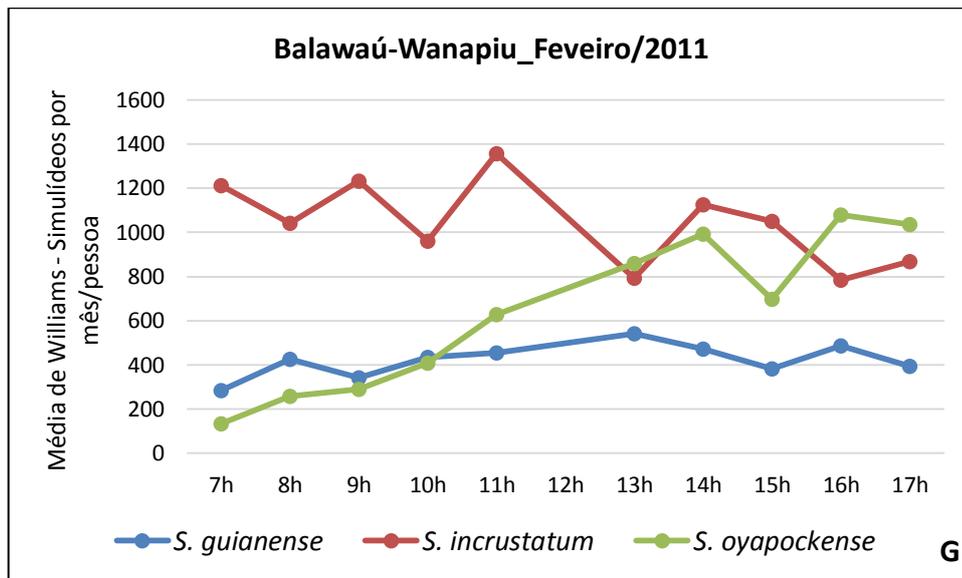
Na análise por mês de coleta, nos meses de agosto a novembro de 2010, *S. guianense* foi a que apresentou maiores taxas de picada para todos os períodos de captura, principalmente para os dois primeiros meses. No entanto, *S. incrustatum* também foi registrado em todos os períodos de coleta e com taxas de picada altas em alguns e *S. oyapockense* não foi coletado em muitos desses períodos ou apresentou baixas taxas de picada (Figura 15A-D). No mês de dezembro de 2010 todas as espécies foram registradas em todos os períodos de coleta, sendo que já se observa aumento das taxas de picada de *S. oyapockense* e *S. incrustatum* com relação ao *S. guianense* (Figura 15E). Nos meses de janeiro e fevereiro de 2011 *S. incrustatum* apresentou taxas de picadas maiores que *S. guianense* em todos os períodos de coleta e *S. oyapockense* também registrou taxas maiores que essa espécie em na maioria dos períodos (Figura 15F, G). No mês de março de 2011 *S. guianense* registra um aumento nas suas taxas de picas, sendo que tanto *S. incrustatum* quanto *S. oyapockense* também se mantem com altas taxas de picada para a maioria dos períodos de coleta, com pouca variação entre essas espécies, principalmente no período da tarde (Figura 15H).

**Tabela 13.** Distribuição do total de simúlideos registrados nos períodos de coleta no polo base Balawaú, Wanapiu de agosto de 2010 a março de 2011.

ESPÉCIES	PERÍODOS DE COLETA										
	7-8h	8-9h	9-10h	10-11h	11-12h	13-14h	14-15h	15-16h	16-17h	17-18h	Total
<i>S. guianense</i>	413	552	493	521	448	330	458	432	568	735	4950
<i>S. incrustatum</i>	407	730	559	436	410	237	426	326	411	480	4422
<i>S. oyapockense</i>	29	80	96	142	172	151	232	226	265	221	1614
<i>Total</i>	849	1362	1148	1099	1030	718	1116	984	1244	1436	10986







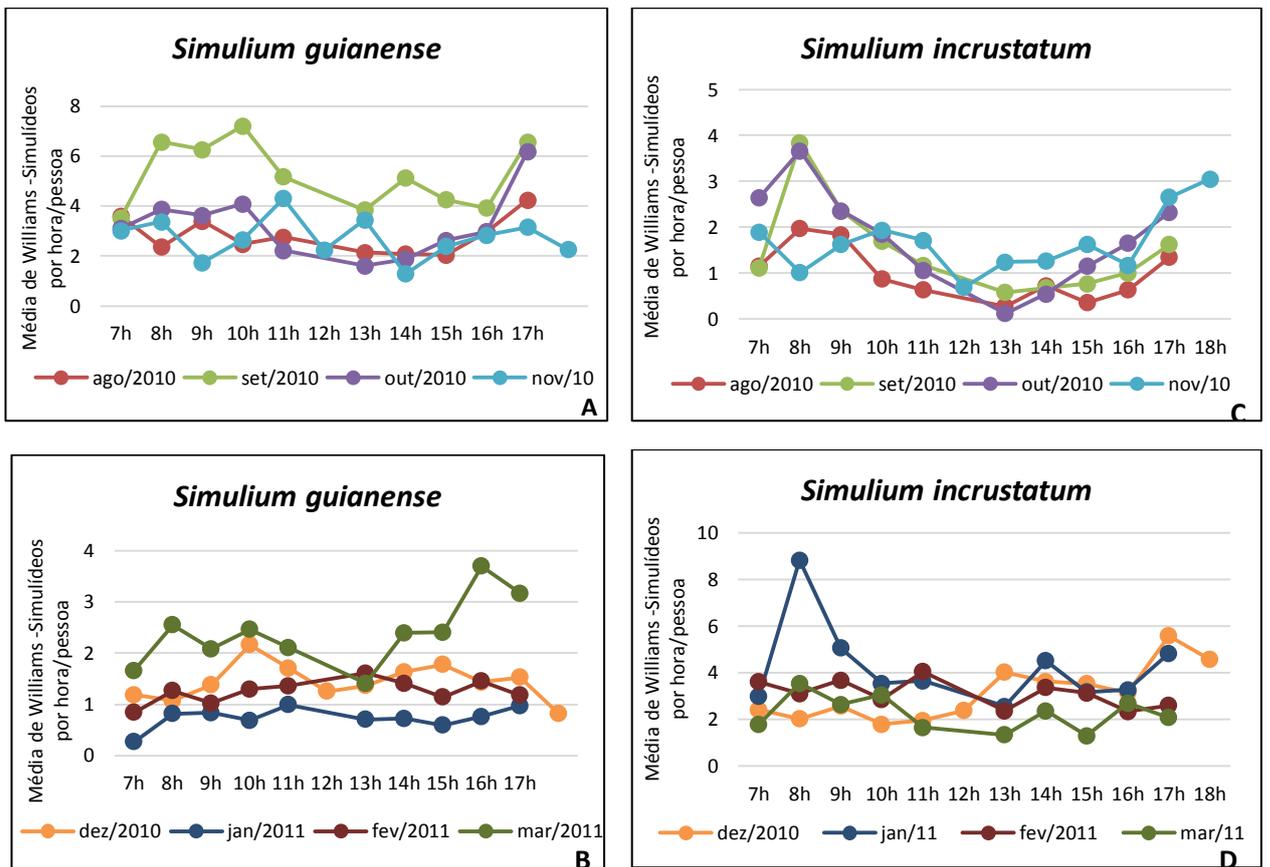
**Figura 15.** Flutuação horária pela média de Williams de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa vs. hora do dia (hora-coleta) para os meses de agosto/2010 (A), setembro/2010 (B), outubro/2010; (C) novembro/2010 (D); dezembro/2010 (E), janeiro/2011 (F), fevereiro/2011 (G) e março/2011 (H) no polo base Balawaú, Amazônica, Brasil.

Para as análises da flutuação horária referente a cada espécie as taxas de picada média por hora foi separado em dois períodos de acordo com os resultados observados nas análises referentes aos meses de captura: o primeiro período corresponde aos meses de agosto a novembro de 2010 e o segundo período de dezembro de 2010 a março de 2011.

*Simulium guianense* não apresentou para esse polo base um padrão bimodal de atividade característico dessa espécie em nenhum dos dois períodos. No primeiro período (agosto a novembro de 2010), no mês de setembro foram registrados os maiores taxas, mas com máxima de apenas 7,20 (IC 95%, 3,75 – 13,07) das 10 às 11 horas (Figura 16B). No segundo período (dezembro/2010, janeiro a março de 2011), no mês de março foram registrados os maiores taxas, mas assim como no período anterior com máxima de picada muito baixa, de apenas 3,70 (IC 95%, 2,37 – 5,52) das 16 as 17 horas (Figura 16 B).

*Simulium incrustatum*, assim como *S. guianense*, apesar da baixa taxa de picada registrada, apresentou diferença entre as taxas para os dois períodos, mas ao contrário dessa registrou maiores índices de atividade no segundo período de dezembro de 2010 a março de 2011. No primeiro período, apresentou um padrão bimodal de atividade com dois picos distintos de atividade de picada, um maior nas primeiras horas da manhã e um mais baixo nos últimos períodos da tarde. Os índices de maior atividade foram das 8 às 9 horas e de menor atividade foi das 17 às 18 horas. No segundo período, não foi observado padrão de picada para essa espécie (Figura 16C, D).

*Simulium oyapockense*, assim como *S. incrustatum* apresentou apesar dos baixos índices, registrou maiores taxa de picada no segundo período (dezembro/2010, janeiro a março de 2011).



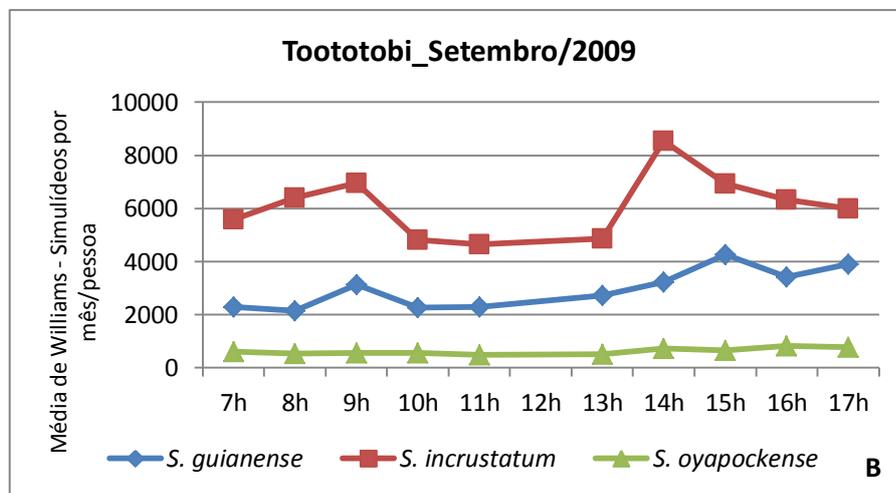
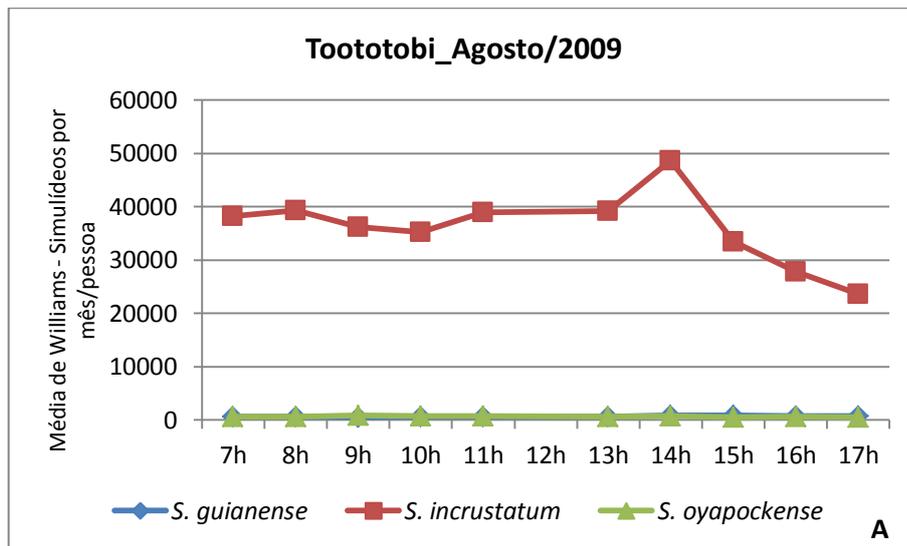
**Figura 16.** Flutuação horária pela média de Williams por espécie - *S. guianense* por hora do dia para os meses de coleta de agosto a novembro de 2010 (A) e de dezembro de 2010 a março de 2011 (B) e espécie - *S. incrustatum* por hora do dia para os meses de coleta de agosto a novembro de 2010 (C) e de dezembro de 2010 a março de 2011 (D), realizados no polo base Balawaú, Wanapiu no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil.

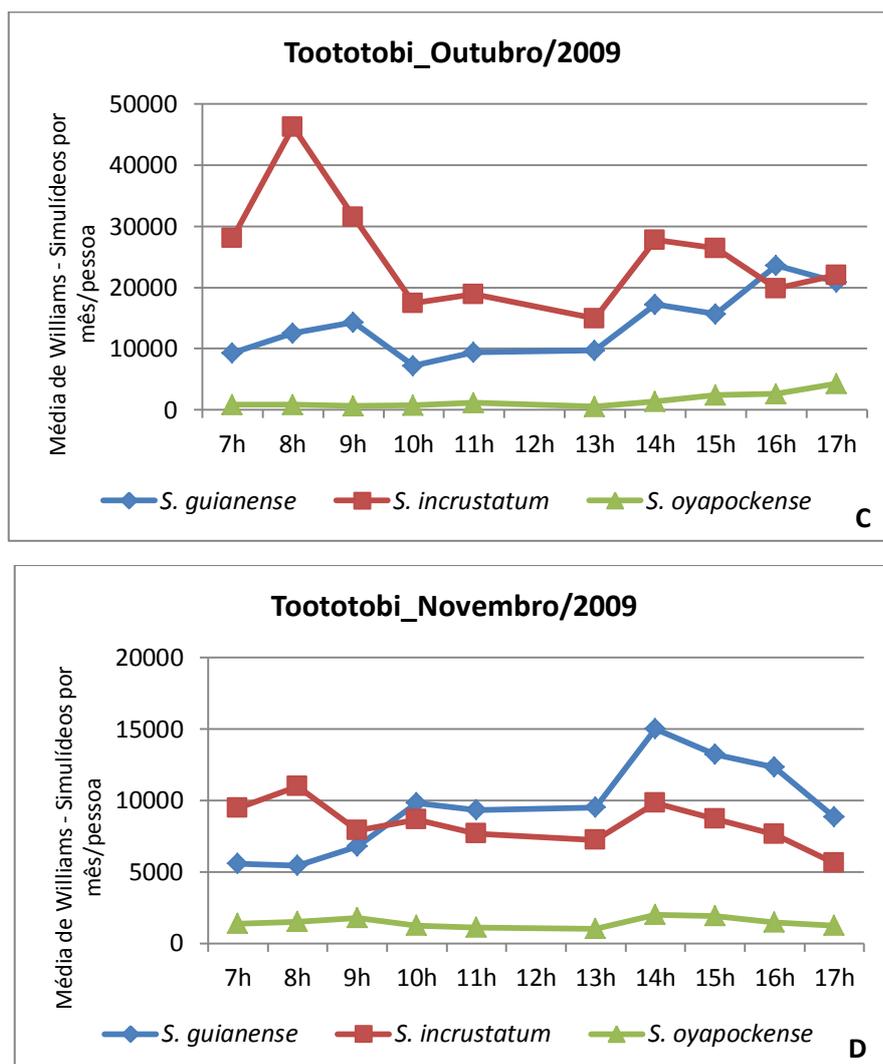
No polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, do somatório de exemplares coletados nos quatro meses de coleta (agosto a novembro de 2009) para cada período de coleta, *S. incrustatum* foi a que apresentou maior densidade populacional em todos os períodos, predominando com grande diferença para *S. guianense*, mas principalmente para *S. oyapockense* apesar de terem sido registradas em todos os períodos (Tabela 15).

Na análise por mês de coleta, observamos que *S. incrustatum* é predominante em três dos quatro os meses, principalmente no mês de agosto de 2009 (Figura 17A). Nos meses de setembro e outubro de 2009 registra-se um aumento ascendente de *S. guianense*, mas *S. incrustatum* se mantém predominante em praticamente todos os períodos de coleta, com exceção para o período de 16 as 17 horas de outubro de 2009 (Figuras 17B, C). Apenas no mês de novembro *S. guianense* registrou maiores taxas que *S. incrustatum* a partir das 10 horas (Figura 17D).

**Tabela 14.** Distribuição do total de simúlideos registrados nos períodos de coleta no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu de agosto a novembro de 2009.

ESPÉCIES	PERÍODOS DE COLETA										Total
	7-8h	8-9h	9-10h	10-11h	11-12h	13-14h	14-15h	15-16h	16-17h	17-18h	
<i>S. guianense</i>	310	345	485	443	424	443	693	637	741	580	5101
<i>S. incrustatum</i>	1715	1938	1859	1397	1478	1344	1869	1528	1244	1113	15485
<i>S. oyapockense</i>	61	65	66	46	40	24	77	84	84	96	643
<i>Total</i>	2086	2348	2410	1886	1942	1811	2639	2249	2069	1789	21229





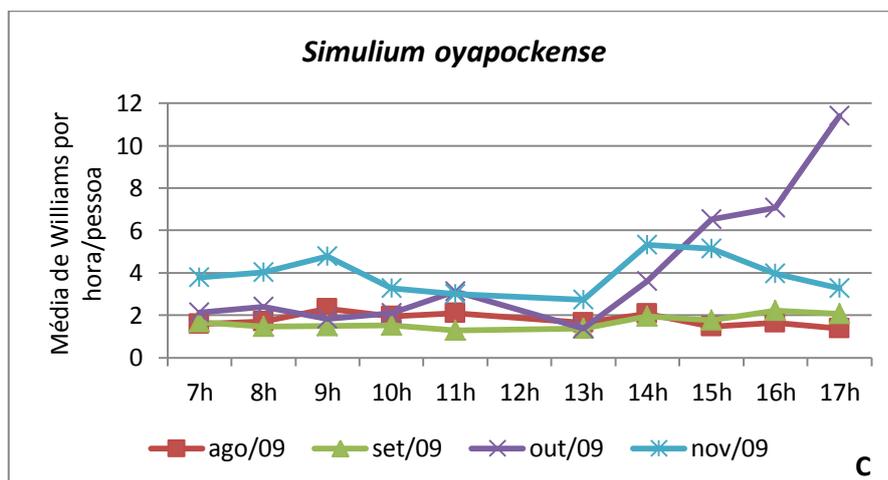
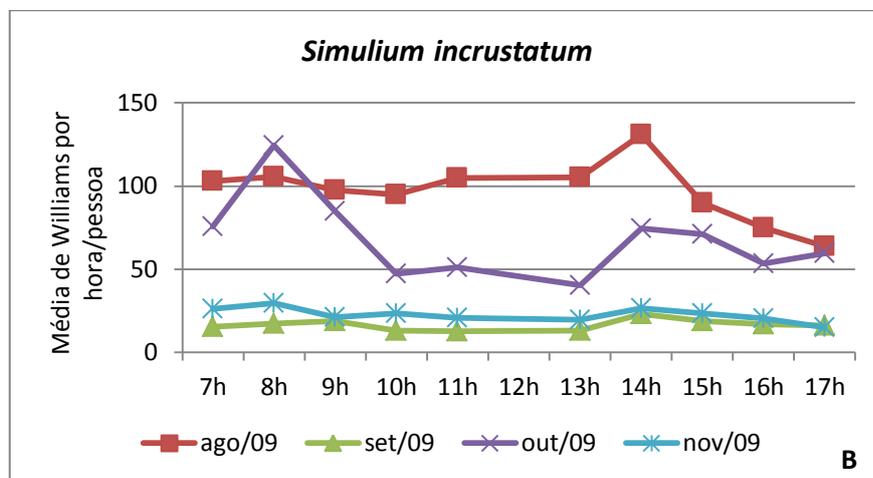
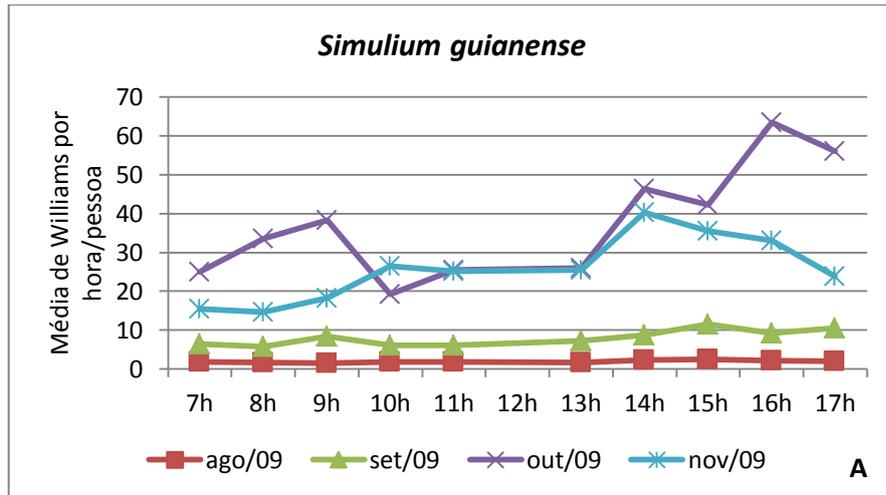
**Figura 17.** Flutuação horária pela média de Williams de cada uma das três espécies potencialmente vetores da oncocercose por pessoa por hora do dia para os meses de agosto (A), setembro (B) outubro (C) e novembro de 2009 (D) no polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, Amazônica, Brasil.

*Simulium guianense* não apresentou padrão de atividade característico nos meses de agosto e setembro de 2009. No mês de outubro apresentou padrão de atividade bimodal com predominância para a tarde com maior índice registrado no período da manhã, das 10 às 11 horas com taxa de picada de 38,37 (95% IC, 26,39 – 55,54), mas principalmente a tarde, com uma curva ascendente iniciando no período das 14-15 horas e pico de atividade das 16 as 17 horas de 63,40 (95% IC, 40,94 – 97,83). No mês de novembro de 2009 apresenta padrão unimodal de

atividade com maior atividade a tarde e pico registrado das 14 as 16 horas de 40,35 (95% IC, 29,26 – 55,47) (Figura 18A).

*Simulium incrustatum* apresentou padrão bimodal de flutuação horária apenas no mês de outubro de 2009, com alta atividade pela manhã das 7 às 10 com maior taxa registrada das 8-9 horas de 124,43 (95% IC, 77,90 – 198,32) e a tarde das 14-15 e das 15-16 horas com 74,61 (95% IC, 51,59 – 107,65) e 71,19 (95% IC, 48,45 – 104,34), respectivamente. Nos outros meses apresentou padrão mais linear de atividade, sendo que com maiores taxas em agosto de 2009 com maior índice das 14-15 horas 130,79 (95% IC, 96,25 – 177,56) (Figura 18B).

*Simulium oyapockense* foi a espécie capturada em menor número do total de exemplares coletados por equipe em todos os períodos de coleta apresentando, portanto, baixa atividade, com a maior atividade de picada registrada no mês de outubro de 2009 das 17 as 18 horas de 11,41 (95% IC, 6,58 – 19,25) (Figura 18C).

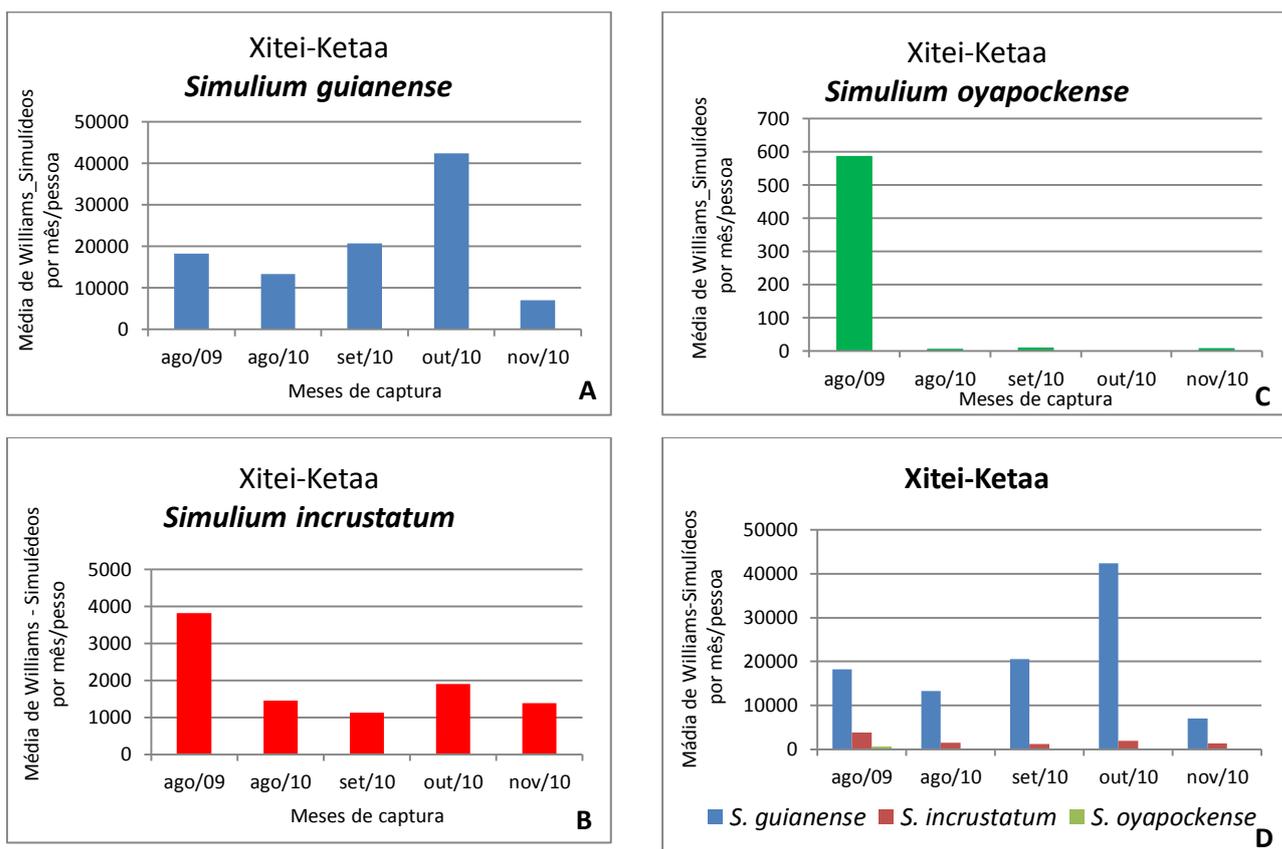


**Figura 18.** Flutuação horária pela média de Williams por espécie - *S. guianense* (A), *S. incrustatum* (B) e *S. oyapockense* (C) por pessoa para hora do dia para os meses de coleta (agosto, outubro e novembro de 2009) realizados no polo base Toototobi, Xiroxiropiu no foco de oncocercose, Amazônica, Brasil.

## **Taxa Mensal de Picada (TMP)**

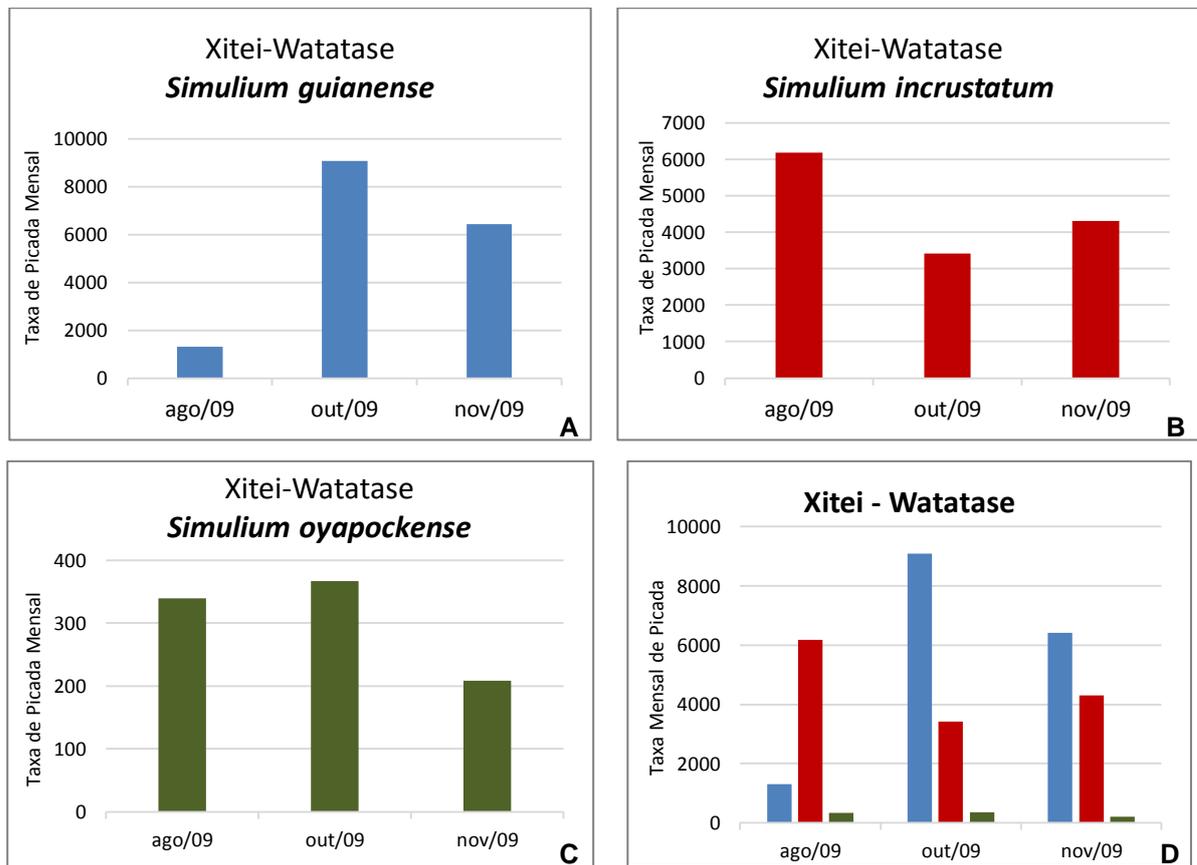
A análise da taxa mensal de picada está apresentada a seguir por polo base para cada espécie – *S. guianense*, *S. incrustatum* e *S. oyapockense*, sendo consideradas as taxas mínima e máxima para cada espécie e para todas as espécies registradas por mês e ano de captura no período do estudo.

No polo base Xitei, subpolo Ketaa, *S. guianense* apresentou TMP máxima de 42395,45 em outubro e mínima de 7.073,50 em novembro de 2010 (Figura 19A). *Simulium incrustatum* apresentou TMP máxima de 3.823,05 em agosto de 2009 e mínima de 1.122,71 em setembro de 2010 (Figura 19B). Para *S. oyapockense* foram registradas TMP baixas em todos os meses, com máxima de 588,47 em agosto de 2009 e mínima de 6,36 em agosto de 2010, sendo que no mês de outubro de 2010 não foram registrado nem exemplar dessa espécie (Figura 19C). Neste subpolo de Xitei, a TMP para as três espécies potenciais vetores, nos cinco meses de captura (agosto/2009, agosto a novembro/2010) teve máxima de 45.323,62 registrada em outubro e mínima de 9.084,60 em novembro de 2010 (Figura 19D).



**Figura 19.** Taxa de picada mensal de *S. guianense* (A), *S. incrustatum* (B) e *S. oyapockense* (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Xitei,subpolo Ketaa (D) nos meses de coleta.

No polo base Xitei, nas capturas realizadas em Watatase, *S. guianense* apresentou TMP máxima de 9.083,37 em outubro e mínima de 1.301,51 em agosto de 2009 (Figura 20A). *Simulium incrustatum* apresentou TMP máxima de 6.180,25 em agosto de 2009 e mínima de 3.415,65 em outubro de 2009 (Figura 20B). Para *S. oyapockense* foram registradas TMP baixas em todos os meses, sendo a máxima de 366,95 em outubro e mínima de 208,11 em novembro de 2009 (Figura 20C). Nesta comunidade, a TMP para as três espécies potenciais vetores, nos três meses de captura teve máxima de 14.003,41 registrada em outubro e mínima de 8647,71 em agosto de 2009 (Figura 20D).

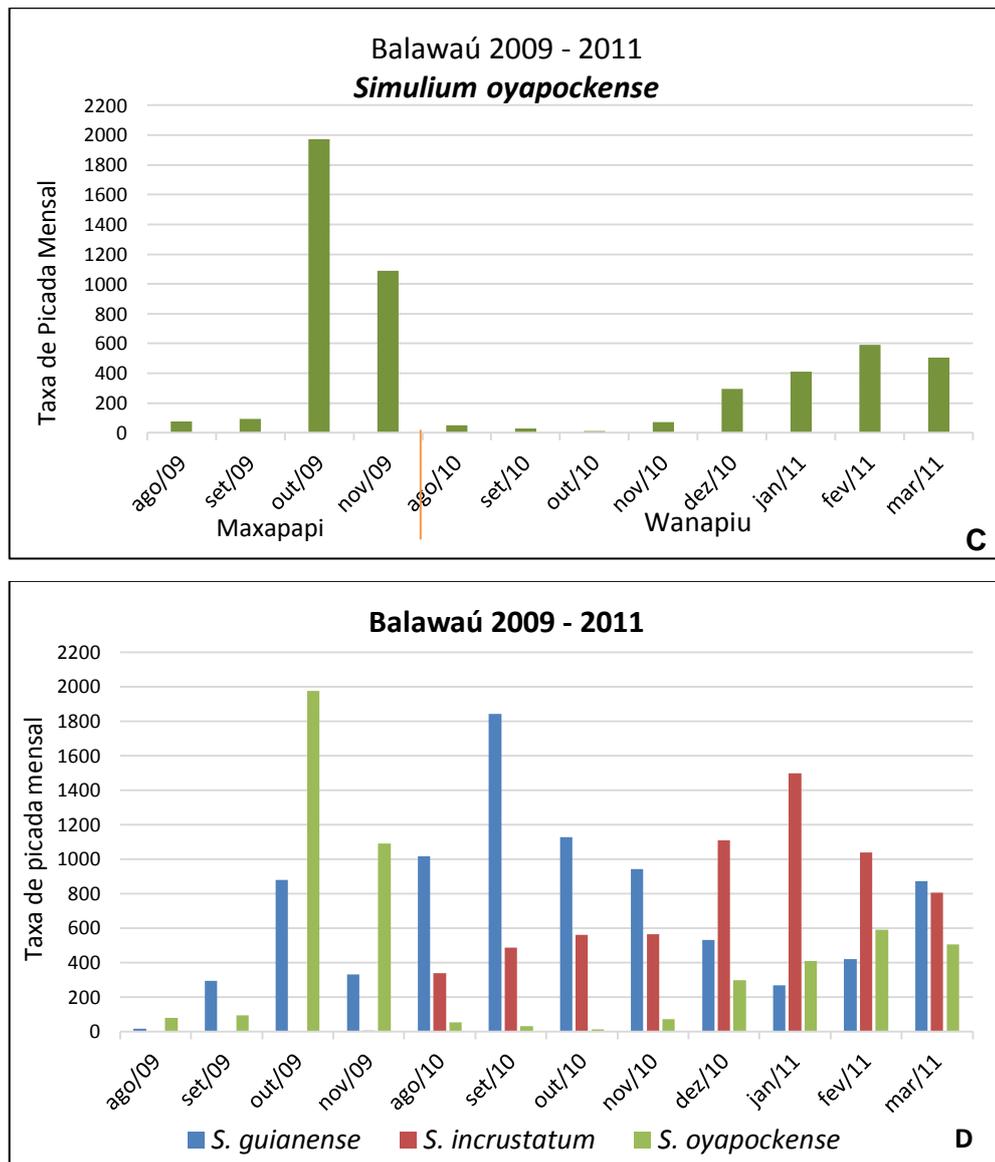


**Figura 20.** Taxa de picada mensal de *S. guianense* (A), *S. incrustatum* (B) e *S. oyapockense* (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Xitei, comunidade de Wanapiu (D) nos meses de coleta.

No polo base Balawau, subpolo Maxapapi, foi registrado para *S. guianense* uma TMP máxima de 879,09 em outubro e mínima de 16,5 em agosto de 2009 (Figura 21A). *Simulium incrustatum* foi registrada apenas em novembro de 2009 com TMP de 1,9. A TMP média para esta espécie pelos quatro meses de captura realizados neste subpolo foi de 0,6 (Figura 21B). Para a TMP de *S. oyapockense* foi registrada máxima de 1.974,34 em outubro e mínima de 77,98 em agosto de 2009 (Figura 21C). Neste subpolo, para as três espécies potenciais vetores, nos quatro meses de captura, a TMP máxima foi de 3.061,71 em outubro e mínima de 94,85 em agosto de 2009 (Figura 21D).

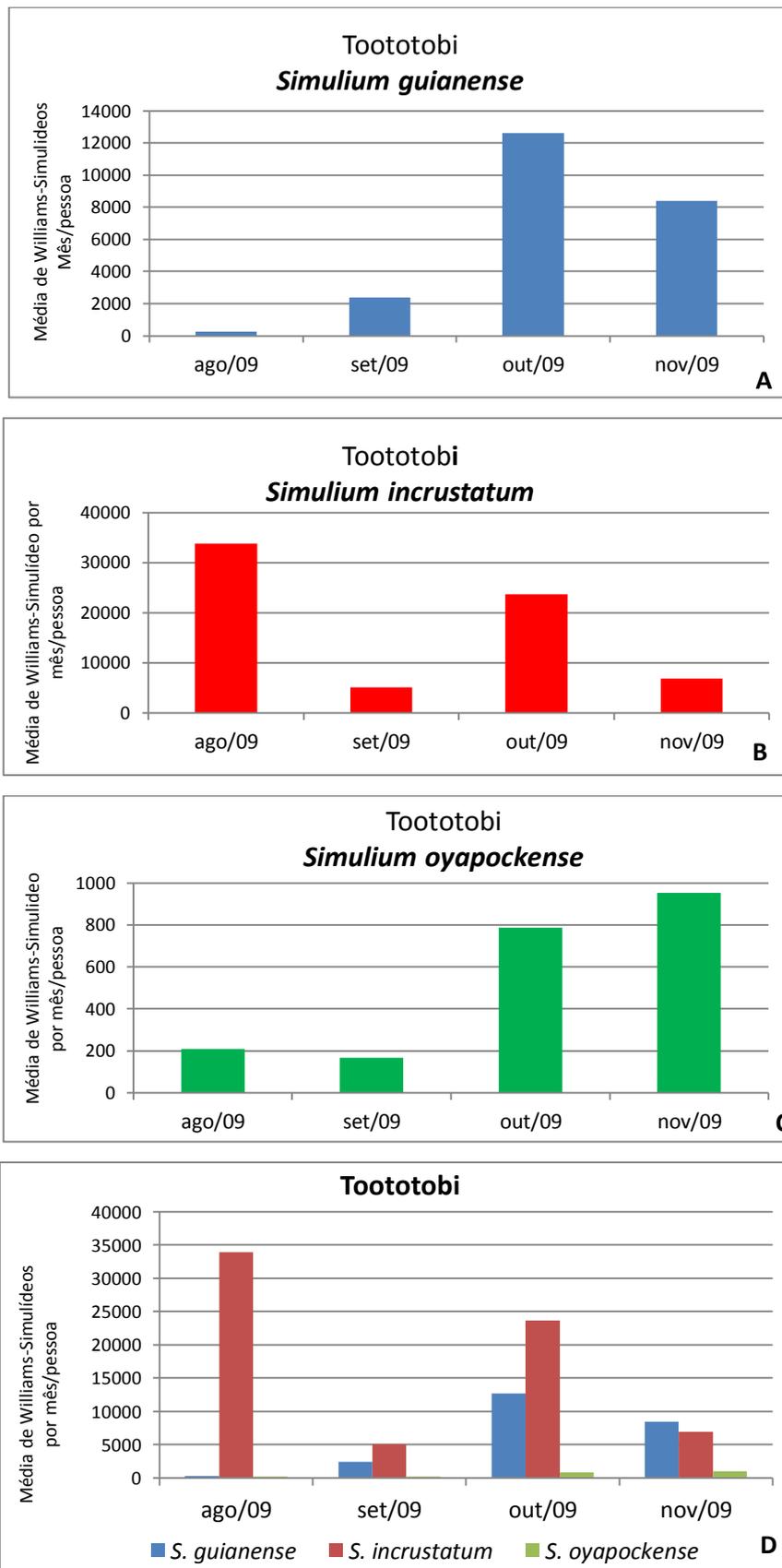
No polo base Balawau, na comunidade de Wanapiu/Balawau, foi registrada para *S. guianense* TMP máxima de 1.840,57 em setembro de 2010 e mínima de 269,29 em janeiro de 2011 (Figura 21A). *Simulium incrustatum* apresentou TMP máxima de 1.497,26 em janeiro de 2011 e mínima de 340,23 em outubro de 2010 (Figura 21B). A TMP máxima de *S. oyapockense* foi de 592,27 em fevereiro de 2011





**Figura 21.** Taxa de picada mensal de *S. guianense* (A), *S. incrustatum* (B) e *S. oyapockense* (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Balawaú (D) nos meses de coleta.

No polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, *S. guianense* apresentou TMP máxima de 12.624,33 em outubro e mínima de 244,42 em agosto de 2009 (Figura 22A). *Simulium incrustatum* apresentou TMP máxima de 33.866,17 em agosto e mínima de 5.082,34 em setembro de 2009 (Figura 22B). Para *S. oyapockense* foram registradas TMP baixas em todos os meses, com máxima de 952,19 em novembro e mínima de 167,32 em setembro de 2010 (Figura 22C). Neste subpolo de Toototobi, a TMP para as três espécies potenciais vetores, nos quatro meses de captura (agosto a novembro de 2009) teve máxima de 39.312,37 registrada em outubro e mínima de 7.812,52 em setembro de 2009 (Figura 22D).



**Figura 22.** Taxa de picada mensal de *S. guianense* (A), *S. incrustatum* (B) e *S. oyapockense* (C) e para as três espécies potenciais vetores da oncocercose no polo base Toototobi (D) nos meses de coleta.

## Estudo do Parasito

### Diagnóstico molecular

Para o diagnóstico molecular foram formatados pools de até 50 simúlideos agrupados por polo base, data e espécies. A Tabela 16 apresenta os totais de *pools* referentes a cada espécie potencialmente vetora por ano, nas comunidades de coleta em cada polo base sentinela. Do total do material capturado em todos os polos base durante todo o período de coleta foi formatados 1559 *pool* originais de exemplares de simúlideos, sendo 53,4% de *S. guianense*, 39,3% de *S. incrustatum* e 7,3% de *S. oyapockense*.

**Tabela 15.** Total (N) e *pool* (P) de simúlideos potenciais vetores da oncocercose coletados e formatados dos polos base sentinelas Xitei, Balawaú e Toototobi nos anos 2009, 2010 e 2011.

Polo Base	Comunidade	Ano Coleta	Espécies vetores potenciais						Total	
			<i>S. guianense</i>		<i>S. incrustatum</i>		<i>S. oyapockense</i>		N	P
			N	P	N	P	N	P		
Xitei	Watatase	2009	9286	191	7224	149	461	13	16971	353
		2009	4759	96	954	20	172	4	5885	120
	Ketaa	2010	15512	314	1506	33	7	1	17025	348
Sub-total Xitei			29557	601	9684	202	640	18	39881	821
Balawaú	Maxapapi	2009	707	19	1	1	1593	36	2301	56
		2010	3566	76	1624	37	259	13	5449	126
	Wanapiu	2011	1384	31	2798	59	1355	30	5537	120
Sub-total Balawaú			5657	126	4423	97	3207	79	13287	302
Toototobi	Xiruxixopiu	2009	5101	105	15485	314	643	17	21229	436
Sub-total Toototobi			5101	105	15485	314	643	17	21229	436
<b>Total</b>			<b>40315</b>	<b>832</b>	<b>29592</b>	<b>613</b>	<b>4490</b>	<b>114</b>	<b>74397</b>	<b>1559</b>

Para o diagnóstico diferencial de infecção e infectividade cada *pool* original de simúlideos apresentado na Tabela 14 foi separado em cabeça (H - do inglês *Head*) e corpo (B – do inglês *Body*), gerando de cada *pool* original, dois novos grupos, cada um contendo uma das respectivas partes dos simúlideos. Primeiramente foram processados por PCR-ELISA os *pools* de corpos para verificar a presença de DNA de *O. volvulus* (O-150) e sempre que diagnosticado um *pool* positivo o processamento foi interrompido e todos os *pools* de cabeças dessa mesma

comunidade foram então analisados, sendo que de um total de 1865 pools examinados, 1439 pools foram de corpos e 426 de cabeças. De *S. guianense* foi analisado um total de 1.134 pools, sendo 712 pools de corpos e 422 pools de cabeças; para *S. incrustatum* foram analisados um total de 617 pools, sendo 613 pools de corpos e quatro pools de cabeças; para *S. oyapockense* foram analisados um total de 114 pools, sendo todos pools de corpos e um pool de cabeças (Tabela 17).

**Tabela 16.** Dados do processamento molecular para as espécies de simulídeos potenciais vetores da oncocercose por polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, comunidades e ano de coleta.

Polo base	Comunidade	Ano	<i>S. guianense</i>		<i>S. incrustatum</i>		<i>S. oyapockense</i>	
			B+/pools	H+/pools	B+/pools	H+/pools	B+/pools	H+/pools
Xitei	Watatase	2009	2/71	0/191	0/149	NP	0/13	NP
	Ketaa	2009	0/96	NP	0/20	0/8	0/4	NP
		2010	0/314	NP	0/33	NP	0/1	NP
Subtotal Xitei			2/481	0/191	0/202	0/8	0/18	-
Balawaú	Maxapapi	2009	1/19	0/19	0/1	NP	0/36	NP
	Wanapiu	2010	0/76	1/76	0/37	NP	0/13	NP
		2011	1/31	0/31	0/59	NP	0/30	NP
Subtotal Balawaú			2/126	1/126	0/97	-	0/79	-
Toototobi	Xiroxiropiu	2009	1/105	2/105	0/314	NP	0/17	NP
Subtotal Toototobi			1/105	2/105	0/314	-	0/17	-
Total por espécie			5/712	3/422	0/613	0/8	0/114	NP

B+/pools=nº de pool de corpos (B) positivos/total de pools processados

H+/pools= nº de pool de cabeças (H) positivos/total de pools processados

Foram analisadas ainda todas as outras espécies coletadas na área de estudo: *S. exiguum* foram analisados quatro pools de corpos (de 16 exemplares); *S. limbatum* foram analisados quatro pools de corpos (de 68 exemplares); *S. ochraceum* foram analisados 16 pools de corpos (de 369 exemplares), de *S. metallicum* foram analisados oito pools de corpos (de 34 exemplares) e de *S. rorotaense* foi analisado um único pool de corpos (de 1 exemplar).

## **Análise de Dados**

### ***Simulium guianense***

No polo base Xitei, na comunidade de Watatase, nenhum *pool* de *S. guianense* coletados em 2009 (9.286 simulídeos), foram considerados positivos no diagnóstico pela PCR. Apresentando o limite superior associado do intervalo de confiança de 95% (95% LSIC) para a prevalência de simulídeos com larvas infectantes (L3) de *O. volvulus* de 0,4/2.000 simulídeos. Da mesma forma, os 20.271 simulídeos dessa espécie coletados no subpolo Ketaa também foram todos negativos para o DNA do parasito, com 95%-LSIC para a prevalência da L3 no vector de apenas de 0,2/2.000. O valor estimado para o PTA desse polo base foi zero e o 95%-LSIC foi de 3,3 e 7,6 L3/pessoa/período em Watatase e Ketaa, respectivamente (Tabela 18).

No polo base Balawaú, dos 5.657 exemplares de *S. guianense* processados de Maxapapi e Wanapiu, coletados de 2009 a 2011, um dos pools foi positivo (Tabela 14, 15), registrando prevalência de simulídeos infectantes de 0,5 e 95%-LSIC de 1,4/2.000 simulídeos, portanto acima do limiar de um 95%-LSIC de 1/2.000. O valor estimado para o PTA nesse polo base foi de 1,1 e 95%-LSIC de 3,0 L3/pessoa/período (Tabela 18).

No polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, dos 5.101 exemplares de *S. guianense* coletados em 2009, dois pools foram positivos (Tabela 14, 15), com taxa de infectividade de 1,0 e 95%-LSIC para a prevalência de simulídeos que infectantes de 2,2/2.000 simulídeos e, portanto acima do limiar de um 95%-LSIC de 1/2.000. O valor estimado para o PTA nesse polo base foi de 5,6 e 95%-LSIC de 12,4 L3/pessoa/período.

*Simulium guianense* apresentou para o total de simulídeos coletado nos polos base sentinela de 200 a 2011 (40.315 simulídeos) três pools positivos pela PCR, com taxa de infectividade de 0,2 e 95%-LSIC de 0,4/2.000 e PTA de 1,0 com 95%-LSIC de 2,1 L3/pessoa/período (Tabela 18).

**Tabela 17.** Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI) e Taxa de Picada (TP) de *Simulium guianense* nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.

Polo Base (subpolo ou comunidade)	Ano de Coleta	No. de simulídeos processadas	No. de Pools	Pools positivos CABEÇAS	TP (95% IC)	TI* (95% IC)	PTA (95% IC)
Xitei (Watatase)	2009	9.286	191	0	16.334 (14.654 - 18.192)	0 (0 - 0,4)	0 (0 - 3,3)
Xitei (Ketaa)	2009-2010	20.271	410	0	80.772 (73.748 - 88.445)	0 (0 - 0,2)	0 (0 - 7,6)
Balawaú (Maxapapi e Wanapiu)	2009-2011	5.657	126	1	4.365 (4.110 - 4.630)	0,5 (0,001 - 1,4)	1,1 (0 - 3,0)
Toototobi (Xiroxiropiu)	2009	5.101	105	2	11.271 (9.571 - 13.226)	1,0 (0,06 - 2,2)	5,6 (0,3 - 12,4)
Todos os Polos base	2009-2011	40.315	641	3	11.590 (10.930 - 12.282)	0,2 (0,02 - 0,4)	1,0 (0,1 - 2,1)

\*Taxa 1/2.000

### ***Simulium incrustatum***

No polo base Xitei, na comunidade de Watatase e no subpolo Ketaa, nenhum *pool* de *S. incrustatum* coletados de 2009 a 2011 (9.684 simulídeos), nenhum foi considerado positivo no diagnóstico pela PCR, apresentando 95%-LSIC de 0,4/2.000 simulídeos. O valor estimado para o PTA desse polo base foi zero e o 95%-LSIC foi de 3,9 L3/pessoa/período (Tabela 19).

No polo base Balawaú, do total de *S. incrustatum* processados de Maxapapi e Wanapiu, coletados de 2009 a 2011 (4.423), nenhum foi positivo (Tabela 17, 18), registrando 95%-LSIC de 1,5/2.000 simulídeos. O valor estimado para o PTA nesse polo base zero e 95%-LSIC de 1,5 L3/pessoa/período (Tabela 19).

No polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, dos 15.485 exemplares de *S. incrustatum* coletados em 2009, nenhum foi considerado positivo (Tabela 14, 15), apresentando 95%-LSIC de 0,2/2.000 simulídeos. O valor estimado para o PTA nesse polo base também foi zero e 95%-LSIC de 6,0 L3/pessoa/período.

*Simulium incrustatum* não apresentou para o total de simulídeos coletado nos polos base sentinela de 2009 a 2011 (29.592 simulídeos) nenhum *pool* considerado positivo e, portanto com TI e PTA também iguais a zero e 95%-LSIC de apenas 0,1/2.000 simulídeos para a TI e 95%-LSIC do PTA de 0,6 L3/pessoa/período (Tabela 19).

**Tabela 18.** Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI), Taxa de Picada (TP) de *Simulium incrustatum* nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.

Polo Base (subpolo ou comunidade)	Ano de Coleta	No. de simúlídeos procesadas	No. de Pools	Pools positivos CABEÇAS	TP (95% IC)	TI* (95% IC)	PTA (95% IC)
Xitei (Ketaa e Watatase)	2009-2010	9.684	202	0	19.847 (18.271 - 21.539)	0 (0 - 0,4)	0 (0 - 3,9)
Balawaú (Maxapapi e Wanapiu)	2009-2011	4.423	97	0	3.524 (3.306 - 3.750)	0 (0 - 0,9)	0 (0 - 1,5)
Toototobi (Xiroxiropiu)	2009	15.485	314	0	48.194 (42.966 - 54.034)	0 (0 - 0,2)	0 (0 - 6,0)
Todos os Polos base	2009-2011	29.592	613	0	8.804 (8.313 - 9.317)	0 (0 - 0,1)	0 (0 - 0,6)

\*Taxa 1/2.000

### ***Simulium oyapockense***

*Simulium oyapockense* apresentou para cada um dos polos base sentinelas e ainda para o total de exemplares coletados valores abaixo de 6.000 simúlídeos, e devido a metodologia nesse estudo não são considerado suficiente para serem analisados. Entretanto, apresento na Tabela 20 os resultados obtidos e destaco os registrados no subpolo Toototobi que apresentou 95%-LSIC de 5,9/2.000 simúlídeos e de 5,1 L3/pessoa/período para a TI e o PTA, respectivamente.

**Tabela 19.** Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI), Taxa de Picada (TP) de *Simulium oyapockense* nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.

Polo Base (subpolo ou comunidade)	Ano de Coleta	No. de simúlideos procesadas	No. de Pools	Pools positivos CABEÇAS	TP (95% IC)	TI* (95% IC)	PTA (95% IC)
Xitei (Ketaa e Watatase)	2009-2010	640	18	0	1.379 (1.218 - 1.547)	0 (0 - 5,9)	0 (0 - 4,1)
Balawaú (Maxapapi e Wanapiu)	2009-2011	3.207	79	0	2.390 (2.221 - 2.563)	0 (0 - 1,2)	0 (0 - 1,4)
Toototobi (Xiroxiropiu)	2009	643	17	0	1.716 (1.442 - 2.013)	0 (0 - 5,9)	0 (0 - 5,1)
Todos os Polos base	2009-2011	4.490	114	0	2.170 (2.046 - 2.297)	0 (0 - 0,9)	0 (0 - 0,9)

\*Taxa 1/2.000

Na compilação dos parâmetros entomológicos das espécies três espécies potencialmente vetores para os polos base sentinela podemos observar que Toototobi foi o que apresentou maior potencial de transmissão no período registrando 8,9 L3/pessoa/período e 95%-LSIC de 19,8 L3/pessoa/período (Tabela 21).

**Tabela 20.** Parâmetros Entomológicos - Potencial de Transmissão Anual (PTA), Taxa de Infectividade (TI), Taxa de Picada (TP) de *S. guianense*, *S. incrustatum* e *S. oyapockense* nos polos base sentinela - Xitei, Balawaú e Toototobi, área endêmica para oncocercose, no período de 2009-2011.

Polo Base (subpolo ou comunidade)	Ano de Coleta	No. de simúlideos procesadas	No. de Pools	Pools positivos CABEÇAS	TP (95% IC)	TI* (95% IC)	PTA (95% IC)
Xitei (Ketaa e Watatase)	2009-2010	39.881	821	0	104.079 (97.709 - 110.851)	0 (0 - 0,1)	0 (0 - 5,0)
Balawaú (Maxapapi e Wanapiu)	2009-2011	13.287	302	1	12.398 (11.829 - 12.989)	0,2 (0,001 - 0,6)	1,4 (0,01 - 3,6)
Toototobi (Xiroxiropiu)	2009	21.229	436	2	76.161 (68.881 - 84.191)	0,2 (0,01 - 0,5)	8,9 (0,4 - 19,8)
Todos os Polos base	2009-2011	74.397	1559	3	28.764 (27.404 - 30.184)	0,1 (0,01 - 0,2)	1,3 (0,1 - 2,7)

\*Taxa 1/2.000

## 6 DISCUSSÃO

A área endêmica para oncocercose no Brasil apresenta aspectos peculiares que interfere direta e/ou indiretamente em qualquer programa ou atividade que seja direcionado para esta população/região, não só nas ações de saúde como também de saneamento, educação e outros. Um dos amplos entraves e já bastante difundido é o fato da localização geográfica ser remota e de difícil acesso. A maioria dos polos base endêmicos só podem ser acessados por via aérea (avião e/ou helicóptero) e muitas vezes pode-se levar horas ou dias de caminhada por dentro da densa floresta amazônica. Em consequência, a logística necessária para acessar essas áreas implica um alto custo logístico e operacional. Além das questões relativas à execução do trabalho, somam-se outros fatores como a endemicidade e a prevalência das espécies potencialmente vetores para a oncocercose que são levados em consideração durante a seleção das áreas de coleta em cada polo base sentinela. Sendo assim, conforme apresentado nesse estudo, foram definidas duas áreas de coleta para os polos base sentinela hiperendêmicos – Xitei e Balawaú, e um para o polo base sentinela mesoendêmico – Toototobi. Entretanto, como o total de simulídeos coletados em Maxapapi (subpolo de Balawaú) foi muito baixo, não atingindo o limite mínimo para análise da transmissibilidade da oncocercose na região, a estratégia de campo foi repensada e essa área foi substituída por pontos próximos a sede do polo base Balawaú/Wanapiu. Outro fator importante foi definir o período com maior potencial de transmissão da oncocercose pela principal espécie vetora – *S. guianense*. Como que já havia sido registrado em estudo anterior para o polo base Balawaú (Marchon-Silva, 2004), o segundo semestre do ano (outubro de 1998) foi confirmado nesse estudo como o de maior potencial de transmissão da oncocercose por *S. guianense*.

Um fator primordial na epidemiologia da oncocercose no foco amazônico é a população afetada – população indígena da etnia Yanomami, que, apesar de em algumas áreas já existir algum contato com a população não indígena flutuante, tem sua própria cultura e, portanto, as ações devem ser sempre pensadas, repensadas e desenhadas ou adaptadas para que produza um resultado que seja benéfico para essa população. Assim, como parte primordial para esses estudos, foram realizadas, em cada polo base estudado, “reuniões” com os tuxaua (representantes e

responsáveis pela aldeia) e integrantes em geral para esclarecimento sobre os aspectos da doença e disseminação da importância da participação dos mesmos nas ações que seriam realizadas na comunidade – tratamento e inquéritos para avaliação da transmissibilidade. Nesses momentos, foi possível observar que, apesar das ações de tratamento em massa da oncocercose já estarem sendo realizadas, para a maioria dos Yanomami a oncocercose não era reconhecida como doença, uma vez que as suas morbidades podem estar relacionadas a outras causas comuns no seu dia a dia na floresta. Outro fator considerado e adotado para esse estudo foi a capacitação nessas ações dos agentes de saúde que participaram das atividades em campo e que se mostrou efetiva, demonstrado pela qualidade dos trabalhos realizados por eles.

Deve-se destacar que um item importante para a prevalência da oncocercose na área endêmica é a formação geológica e hidrográfica da região amazônica, com as áreas hiperendêmicas localizadas próximas aos rios Parima e Orinoco, no trecho de alto relevo amazônico. Esta formação do relevo e a presença de rios mais largos e caudalosos proporciona um habitat com condições favoráveis ao desenvolvimento e estabelecimento dos principais vetores da oncocercose, sendo também uma área de maior concentração da população, uma vez que estas regiões também são favoráveis para o plantio e propicia uma grande variedade de animais, grande fonte de proteína para o Yanomami (Albert e Gomes, 1997). Somando-se a isso, a forma de vida seminômade do Yanomami (Good, 2004; Albert e Miliken, 2009) por extensa área do foco amazônico para a oncocercose, que se estende para outros países fronteiriços como a Venezuela (WHO, 2014), favorece o contato vetor/parasito/Homem. A interação hospedeiro/vetor/ambiente, já foi registrada em diversos estudos como responsável pela manutenção da alta a prevalência da infecção na população de vetores, sendo uma variável importante na avaliação (Katholi et al., 1995) dos programas de controle das doenças. Esse paradigma foi confirmado e demonstrado nesse estudo com os resultados da prevalência da infecção registrada no polo base de Toototobi, subpolo Xiroxiropiu. Essa região, que está muito próxima a divisa com a Venezuela, favorece um fluxo frequente entre essas áreas, uma vez que grande parte da população Yanomami tem parentes, amigos ou roça do outro lado desta fronteira. Estão sempre transitando de um lado para o outro, uma vez que não reconhecem a fronteira política que existe entre estes países. Por muitos anos, este foi um dos grandes entraves para que o Programa de

Eliminação da Oncocercose no Brasil alcançasse algum êxito, uma vez que o Brasil já havia implantado o tratamento com o microfilaricida (ivermectina) em 1993 (Coelho et al., 1997; Py-Daniel, 1997), enquanto que a Venezuela que iniciou em 2010 o tratamento bianual em massa da população (CDC, 2013), não estava tendo o mesmo êxito devido a vários fatores. Pode-se dizer que muito já se conquistou na direção de ampliar as coberturas de tratamento e uma maior precisão na periodicidade dos mesmos, entretanto ainda há muito que pode ser feito para aperfeiçoar a implantação de ações que visam à eliminação da oncocercose em território nacional.

Desde o início dos anos 90, com a criação da OEPA e a participação do PBEO nas ações que visam à eliminação da doença no Brasil, muito já se tem alcançado. Como parte das medidas adotadas pelo PBEO e OEPA para monitoramento da eficácia do controle da oncocercose no Brasil, foram selecionados como áreas sentinelas os polos base – Xitei, Balawaú e Toototobi – levando-se em conta o nível de endemicidade e a localização destes dentro da área endêmica e sua proximidade com a fronteira com a Venezuela.

### ***Estudos Entomológicos***

Como parte da avaliação dos parâmetros entomológicos nas áreas sentinela para o PBEO, as espécies coletadas nessas áreas foram identificadas e analisadas influenciadas sob alguns aspectos bionômicos. Nesse estudo, em relação ao total das espécies coletadas nas áreas sentinela, *S. guianense*, principal vetor da oncocercose no Brasil, foi o mais abundante nos dois polos base hiperendêmicos – Xitei e Balawaú. Entretanto, no polo base Toototobi, classificado como mesoendêmico, a espécie predominante foi *S. incrustatum*, considerado o vetor secundário da oncocercose no Brasil. Essa espécie assim como *S. oyapockense* possuem cibarium armado e apresentam, geralmente, baixa infecção quando comparados com *S. guianense*, porque os dentes dessa estrutura danifica muitas filárias digeridas com o repasto sanguíneo e previne o desenvolvimento de larva infectante L3 de *O. volvulus* (Duke, 1970; Shelley, 1991). Ressalta-se, já tendo sido demonstrado, que, para *S. oyapockense* cerca de 2% de microfilárias se desenvolvem completamente enquanto que para *S. guianense*, espécie que não apresenta dentes no cibarium, mais de 60% das microfilária se desenvolve até L3

(Shelley, 1991). Os resultados obtidos com maior prevalência de *S. guianense* para os polos base Xitei e Balawaú corroboraram com os registros de estudos anteriores de Py-Daniel et al. (2000) e Marchon-Silva (2004), respectivamente.

Nas análises para o polo base Xitei, foram registradas três espécies potenciais vetores da oncocercose - *S. guianense*, *S. incrustatum*, *S. oyapockense*, que diferiram dos resultados de Py-Daniel et al (2000) que registrou também a presença de *S. exiguum* nesse polo base. Entretanto, apenas quatro exemplares de *S. exiguum* foram coletadas por Py-Daniel et al (2000), sendo três no mês de julho e uma no mês de junho, período de coleta diferente do que foi realizado nesse estudo – agosto a novembro de 2009.

No polo base de Balawaú foi registrada a presença de quatro espécies de simuliídeos com atividade antropofílica – *S. guianense*, *S. incrustatum*, *S. oyapockense* e *S. exiguum*. Corroborando com dados de Py-Daniel (1997), onde a presença de *S. incrustatum* já havia sido registrada neste polo base em captura realizada em mês de setembro de 1995. Entretanto, difere de resultados obtidos no levantamento realizado nesse polo base entre os meses de setembro de 1998 a outubro de 1999 quando não foi registrada a presença *S. incrustatum* (Marchon-Silva 2004).

No polo base de Toototobi, foram registradas quatro espécies com atividade antropofílica – *S. guianense*, *S. incrustatum*, *S. oyapockense*, *S. limbatum*, diferindo do resultado obtido anteriormente pelo grupo do Py-Daniel, quando não foi registrada a presença de *S. incrustatum* em levantamento efetuado no mês de setembro de 1995 (Py-Daniel, 1997), e contrapondo também aos resultados obtidos para este polo quando não foi registrada a presença de *S. limbatum*, mas sim de *S. exiguum* (Marchon-Silva, 2004). Todavia, cabe ressaltar que nesse neste estudo as coletas foram realizadas no subpolo Xiroxiropiu, enquanto no estudo realizado anteriormente (Marchon-Silva, 2004), as coletas ocorreram na sede do polo base e que apesar de estarem no mesmo polo base, distam um do outro em cerca de 25km (em linha reta) em área da floresta amazônica e apresentam características bastante distintas.

No levantamento efetuado para o presente estudo, foi possível observar que uma ou mais espécies de simuliídeos apresentaram atividade hematofágica em cada um dos polos base de Xitei, Balawaú e Toototobi, dependendo da época do ano, com a predominância de algumas espécies encontradas sobre outras e com

alternância de seus picos populacionais. Esta flutuação na densidade dos simulídeos, onde os picos de atividade de picada de uma espécie diferiram ou se sobrepuseram ao de outra espécie, esta direta ou indiretamente relacionada a fatores bióticos e abióticos, como a presença de material orgânico em suspensão e de diferentes tipos substratos para suas formas imaturas nos criadouros, que por sua vez, está diretamente relacionado às características do terreno e com fatores de dinâmica hídrica dos cursos d'água, que dependem das variações climáticas das regiões (Py-Daniel, 1997; Grillet et al, 2001). Quando comparados a outros trabalhos, as observações de flutuação estacional da densidade de simulídeos desse estudo corroboram com os já registrados por Py-Daniel (1997), Py-Daniel et al (2000), Andreazze et al (2002) e Marchon-Silva (2004).

Em Xitei, durante três meses de captura, foi registrado para *S. guianense* aumento na densidade populacional no mês de outubro e, tanto *S. incrustatum* quanto *S. oyapockense*, apresentaram pouca variação. O mesmo foi registrado por Py-Daniel et al (2000), quando *S. guianense* apresentou maior densidade populacional no mês de outubro, diminuindo no mês de novembro, quando aumenta a densidade de *S. incrustatum*, apresentando ambas, nesse último mês, frequências relativas muito semelhantes. Conforme observado por Py-Daniel (1997), a variação na densidade dessas espécies deve estar relacionada com a maior presença de substratos rochosos e Podostomaceae no mês de outubro, que corresponde ao final de período de chuvas e o início do período de seca para novembro, onde tanto o substrato rochoso, preferencial para *S. guianense*, quanto o substrato vegetal, preferencial para *S. incrustatum*, estão disponíveis nos criadouros.

No polo base Balawaú, subpolo Maxapapi a espécie predominante foi *S. oyapockense*, corroborando com Medeiros e Py-Daniel (1999), que observaram que, na área endêmica, nos setores dos rios mais alargados e com características mais lênticas, ocorre a maior disponibilidade de substratos como folhas e galhos pendentes, preferencial para formas imaturas dessa espécie. Em Balawaú, na comunidade de Wanapiu, assim como observado por Marchon-Silva (2004), os picos populacionais das espécies antropofílicas não se sobrepuseram, indicando alto potencial para transmissão durante todo o período.

Em Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, foi observada a maior frequência absoluta de *S. incrustatum* em relação às outras espécies, diferindo do registrado por Marchon-Silva (2004), onde *S. oyapockense* foi a mais frequente. Mas, como dito

anteriormente, esses resultados não podem ser comparados por se tratarem de pontos de coleta muito distintos entre si.

Com relação ao comportamento de busca do hospedeiro para alimentação foi possível observar que o padrão de atividade variou em cada polo base para cada espécie estudada. No polo base Xitei, subpolo Ketaa, nenhuma das três espécies apresentaram padrão de atividade característico. Entretanto, na comunidade de Watatase, *S. guianense* apresentou padrão de atividade bimodal com maior atividade no período da tarde no mês de outubro de 2009. Comportamento semelhante foi observado para essa espécie por Grillet *et al* (2005), com aumento da atividade no período vespertino na transição entre o período de chuva e seca. No polo base Balawaú, comunidade de Wanapiu, quando observamos o comportamento de *S. guianense* pela média acumulada registrada por período de coleta em todos os meses de captura, não é possível definir um padrão de atividade. *Simulium incrustatum* apresentou padrão de atividade unimodal característico com maior atividade em um dos períodos - manhã e tarde, diferentes para cada mês de coleta, corroborando com o padrão de atividade registrado para essa espécie por Grillet *et al* (2005). No polo base Toototobi, subpolo Xiroxiropiu, no mês de agosto foi possível observar o padrão de atividade bimodal para *S. guianense* e unimodal com predominância de atividades no período da manhã para *S. incrustatum*, semelhantes aos padrões de atividade registrados para essas espécies por Grillet *et al* (2005). No entanto, deve-se ressaltar que essas comparações são feitas entre períodos de coleta durante anos diferentes, e que, talvez, o mais importante sejam os padrões consistentes de atividade que surgem ao longo dos anos.

De acordo com a metodologia de coleta adotada pelos programas de controle na América Latina, os simulídeos foram coletados nesse estudo antes do repasto sanguíneo. Assim, o que definimos como taxa de picada na realidade refere a taxa de “pouso”. Desta forma, todas as análises são sempre a taxa de pouso medida nas coletas e foi tomado como uma estimativa da taxa de picada, estando esse procedimento em acordo com os utilizados em outros estudos de avaliação do estado de transmissão da oncocercose (Grillet *et al.*, 2001; Vieira *et al.*, 2005). Contudo, essa avaliação provavelmente superestimou a taxa de picada, uma vez que a proporção dos simulídeos que pousam em um cenário natural não obtém sucesso no repasto sanguíneo (Rodriguez-Perez *et al*, 2015). Desta forma, assim como registrado por Grillet *et al* (2005) e Rodriguez-Perez *et al* (2013) os cálculos

dos potenciais de transmissão apresentados nesse estudo são susceptíveis de estar sobrestimados por um fator proporcional ao número de simúldeos que pousam mas não realizam o repasto sanguíneo.

### ***Estudos do Parasito***

O emprego da metodologia, PCR-ELISA O-150 para detectar *O. volvulus* em simúldeos adotada pelos programas de controle da oncocercose, é especialmente importante para prevalência dessa doença, por ser espécie/específico, detectar baixa densidade do parasito e, possibilitar o exame de um grande número de simúldeos em curto espaço de tempo. Esta técnica otimiza o cálculo de indicadores como a taxa de infectividade e o potencial de transmissão anual, essenciais para o conhecimento dos índices de transmissão nas populações sob tratamento em massa com a ivermectina.

Com relação às informações de prevalência que podem ser obtidas a partir de dados de processamento dos pools, assim como para outros diagnósticos moleculares, temos que um pool positivo, por PCR-ELISA não pode confirmar se havia um ou mais simúldeos infectado ou infectante no pool, uma vez que os ensaios de PCR quantitativo, geralmente apresentam desempenho fraco quando usado para rastrear pools de insetos. Entretanto, como a metodologia utilizada é muito sensível, pode-se afirmar que a pool negativo não continha nenhum simúldeo infectante ou infectado.

A sequência O-150 repetida está presente em todas as fases do desenvolvimento de *O. volvulus*, e não pode ser usada para distinguir simúldeos infectados de simúldeos com larvas infectante a não ser que sejam separados as cabeças dos corpos, como na metodologia adotada. Portanto, o processamento dos pools começam com a análise dos pools de corpos dos simúldeos, pois apesar de não serem relevantes para a transmissão dos simúldeos infectados (mf e L2) são sensíveis medidas do contato parasito-vector.

No presente estudo são apresentados os resultados obtidos da análise de material coletado no período de 2009 a 2011, nos três polos base sentinela para o PBEO, sendo detectados pools de cabeças de *S. guianense* positivos nos polos base Balawaú e Toototobi. No polo base Balawaú, hiperendêmico para oncocercose, do total de 13.287 simúldeos processados (428 pools de cabeças e corpos) foi

detectado positividade na espécie *S. guianense* - um pool de cabeças positivo coletados em Wanapiu em setembro de 2010 no período de coleta 16 às 18 horas e, um pool de corpo positivos coletado no subpolo Maxapapi em outubro de 2009 no período das 16 às 18 horas. Esses resultados confirmam os resultados obtidos por Marchon-Silva (2004), que também registraram que o maior período de transmissibilidade no polo base Balawau ocorre preferencialmente no terceiro quadrimestre do ano. No polo base Toototobi, mesoendêmico para oncocercose, do total de 21.229 simúlideos processados (541 pools de cabeças e corpos) foi detectado positividade na espécie *S. guianense* - dois pools de cabeças positivo coletados em Xiroxiropiu, um em outubro de 2009 no período das 14 às 16 horas e outro em novembro de 2009 no período das 7 às 8 horas. Foram detectados também, no mês de novembro de 2009, dois pools de corpos positivos de *S. guianense* – sendo um no mesmo período de coleta do pool de cabeças positivo e outro das 16 às 17 horas. Durante estudo realizado para implantação do diagnóstico molecular da oncocercose no Brasil, também foi avaliada a transmissão nessas áreas sentinelas para o PBEO, e os resultados da prevalência de *S. guianense* infectados com *O. volvulus* no polo base Balawaú (Marchon-Silva, 2004; Marchon-Silva et al, 2007) corroboram com os registrados nesse estudo. Entretanto, para Toototobi os resultados diferem, tendo sido registrado naquele estudo infectividade para *S. oyapockense*. Esse resultado deve estar relacionado às diferentes áreas de coleta para os dois estudos, sede do polo base para aquele estudo e subpolo Xiroxiropiu nesse estudo. Apesar de fazer parte do polo base Toototobi, Xiroxiropiu fica mais próximo do ponto de coleta de Balawaú (2010-2011) (cerca de 18Km, de distancia entre esses dois pontos) do que do ponto de coleta de Toototobi (1998-1999 - Marchon-Silva, 2004) (cerca de 25km, de distancia entre esses dois pontos), o que justifica apresentar resultado semelhantes aos registrados em Balawaú. Naquele momento, o polo base Xitei não era considerado como sentinela para as avaliações moleculares e, portanto não foi investigado.

Para as análises de prevalência da infecção em simúlideos, nesse estudo foram utilizadas as já observadas por especialistas do OMS e preconizadas para os programas de eliminação da oncocercose. Foi estabelecido que a mensuração da prevalência de larvas de terceiro estágio (L3) em simúlideos (<0,05%) e o cálculo dos níveis potenciais de transmissão anual (<5-20 L3 inoculados por pessoa por ano) são indicadores confiáveis de interrupção da transmissão (WHO, 2001a, c;

2007). Com base nessa premissa, foi possível verificar a supressão da transmissão da oncocercose nas três áreas sentinela, uma vez que os índices de infectividade (TI) e também o potencial de transmissão que foram detectados estão abaixo do indicador para o polo base sentinela Xitei. Para os polos base Balawaú e Toototobi, que apresentaram índices de infectividade acima dos indicadores, a transmissão também é considerada suprimida, uma vez que, os potenciais de transmissão, incluindo o limite superior do intervalo de segurança, estão abaixo de 20 L3/pessoa/ano e, portanto abaixo limite preconizado.

Para *S. oyapockense*, devido ao número reduzido de exemplares coletados para cada polo base, o limite superior da taxa de infectividade está acima de 1 L3/pessoa/ano, apesar de não terem sido detectados pools positivos desta espécie. Isto ocorre devido ao total de exemplares coletados para cada polo base não ter alcançado o mínimo estabelecido de 6.000, afetando, assim, o índice de confiabilidade de 95% para a prevalência de infectividade de 1/2.000 simulídeos a serem analisados pelo programa Poolscreen 2.0 (WHO, 2007; Lindblade, 2007).

### ***Análise de Dados – Dinâmica da Transmissão***

Para a avaliação do estado de transmissão na área endêmica, é preciso levar em consideração a eficiência de transmissão, que, por sua vez, depende da competência vetorial, além de incluir, entre os fatores a serem avaliados, a intensidade de picada do vetor. Desta forma, estudos realizados por especialistas da OEPA estimaram, a princípio, um corte de <1/10.000 simulídeos infectantes. Já a OCP, que atua nas ações de controle e eliminação da oncocercose na África, definiu o ponto de corte em <1/1.000 simulídeos infectantes paridos, ou 1/2.000 simulídeos infectantes totais, levando em consideração estudos que mostram que cerca de metade da população total de simulídeos coletadas em antropofagia é párida. Durante as avaliações realizadas nos países da América Latina, foram encontrados problemas com o ponto de corte de 1/10.000 estimado pela OEPA, uma vez que devido aos algoritmos utilizados para calcular a prevalência da infecção na população de simulídeos para o limite superior do intervalo de confiança de 95%, seria necessária a análise de mais de 20.000 simulídeos para cada uma das comunidades, o que tornaria a análise difícil ou praticamente impossível devido ao alto número de simulídeos necessários para cada estação. Atualmente, o ponto de

corde definido pela comunidade internacional OMS/OEPA como sendo suficientes para declarar que a transmissão foi eliminada é de 1/2.000, sendo necessário ter pelo menos 6.000 simúleios testados a para cada foco.

Analisando o paradigma da transmissão de doenças vetoradas por insetos, observamos que a prevalência da infecção é apenas parte da história de transmissão, uma vez que essa ocorre pela interação de quatro fatores – parasito, vetor, homem e o ambiente. Com relação à oncocercose, uma medida mais completa para avaliação da transmissão é o potencial de transmissão mensal (PTM) ou estacional que é obtido através da taxa de picada anual pela prevalência de simúleios infectantes no mesmo período. Calcular o potencial de transmissão é possível, uma vez que as taxas de picada podem ser estimadas a partir de dados de captura de simúleios. Desta forma, calcular o de potencial de transmissão anual (PTA) ou o potencial sazonal de transmissão como uma estimativa de PTA, proporcionaria uma medida mais precisa do nível de transmissão.

De forma geral, a transmissão de doenças parasitárias só é considerada completamente interrompida quando não forem mais registrados a presença de novos parasitos adultos na população, ou seja, a incidência for igual a zero. No entanto, se a transmissão é levada a um nível em que, em média, cada fêmea adulta fértil apresente taxa mínima de reprodução ( $R_0$ ) produzindo menos do que uma nova fêmea adulta fértil durante a vida reprodutiva, a população de parasitos não será sustentável. Sendo assim, se a transmissão atingir um nível necessário para sustentar a  $R_0$ , a infecção será factível de ser eliminada, embora algumas novas infecções possam ocorrer durante um certo período de tempo. Portanto, é essencial o monitoramento nessa fase para manter a transmissão do parasito interrompido.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base em experiência anterior e em observações feitas durante esse estudo, foi possível constatar que a interação com a comunidade indígena que participou do estudo e a capacitação e suporte permanente das equipes de campo foram essenciais para a qualidade e confiabilidade dos dados obtidos.

A sistematização das coletas, associada a uma logística bem planejada com acompanhamento constante dos resultados obtidos permitiu otimizar os resultados dos trabalhos realizados na terra indígena Yanomami e intervir a tempo na substituição de áreas de coleta que não estavam apresentando quantidade suficiente de amostras para análise.

Nessa fase, após longo período de tratamento em massa com ivermectina na população em área de risco, ainda quando os vetores infectados são muitas vezes raro, é imprescindível o uso de metodologia adequada para detectar a infectividade nos simulídeos.

É preciso além de utilização de programas estatísticos adequados que detalhem e mensure os dados, uma avaliação acurada do potencial de transmissão com número reduzido de exemplares.

Nesse momento em que a oncocercose esta em processo adiantado visando sua eliminação, o monitoramento de vetores se mostrou ser uma opção vantajosa, pois é a indicação imediata dos níveis de transmissão, ao contrário do monitoramento de populações sentinela, que é um indicador de infecção humana tardia, precisando de um longo período pré-patente da oncocercose.

Fatores como imigração e emigração das comunidades Yanomami podem influenciar na dispersão do agente etiológico.

Com relação ao comportamento de busca do hospedeiro para o repasto sanguíneo foi possível demonstrar que a metodologia baseada na taxa de “pouso” é eficiente como padrão de atividade de determinação das taxas de infectividade.

A incriminação das espécies que atuam como vetores em cada polo base da área endêmica só foi possível através da escolha e indicação dos indicadores entomológicos – periodicidade mensal, preferência do horário de picada densidade populacional, taxa de infectividade e potencial de transmissão.

As técnicas moleculares, adotadas neste estudo, para detecção de *Onchocerca volvulus* nos vetores do foco amazônico brasileiro apresentaram-se bastante eficientes devendo ser utilizadas e/ou otimizadas, seguindo recomendação da OEPA, como ferramenta de monitoramento da prevalência da transmissão em áreas sob ação da ivermectina.

A continuidade e otimização das ações de controle e de avaliações epidemiológicas neste período, foram cruciais como uma forma de entender a dinâmica e o andamento da transmissão da doença.

## 8 CONCLUSÕES

Nos estudos entomológicos foram registradas para cada polo base sentinela as espécies potenciais vetores da oncocercose: Xitei - *S. guianense*, *S. incrustatum* e *S. exiguum*; Balawaú - *S. guianense*, *S. incrustatum*, *S. oyapockense* e *S. exiguum* e em Toototobi - *S. guianense*, *S. incrustatum*, *S. oyapockense*.

*Simulium guianense* se apresentou como principal vetor da oncocercose mesmo em Toototobi, onde sua densidade populacional foi reduzida em comparação com *S. incrustatum*.

Quanto ao período de transmissibilidade pode-se concluir que esse foi semelhante nos polos sentinelas - Balawaú e Toototobi, que registraram infectividade para *O. volvulus* nos meses de setembro a novembro.

Quanto à prevalência de infecção dos simúlídeos potenciais vetores da oncocercose, determinado pela análise dos pools de corpos positivos, pode-se concluir que, mesmo no polo base Xitei, onde não foram diagnosticados simúlídeos infectantes (L3), houve registros de infecção de simúlídeos nos meses de outubro e novembro, indicando contato parasito/vetor para o mesmo período registrado como de maior transmissibilidade para os outros polos base.

Com base nos parâmetros entomológicos de prevalência da infectividade (TI) e o potencial de transmissão (PTA) detectados abaixo do preconizado para as áreas sentinela, foi possível verificar para período estudado, a supressão da transmissão da oncocercose nas três áreas sentinela – Xitei, Balawaú e Toototobi.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjami AG, Toe L, Bissan Y, Bugri S, Yameogo L, Kone M, Katholi CR, Unnasch TR 2004. *Parasitology* 128(4):407-414.
- Adler PH, Crosskey RW 2015a. World blackflies (Diptera: Simuliidae): A comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory. <http://www.clemson.edu/cafls/biomia/pdfs/blackflyinventory.pdf> (accessed February 2015)
- Albert B 1997. Terra Ecologia e saúde indígena: o caso Yanomami. In Barbosa RI, Gondim EJ, Castellón EG(eds.). *Homem, Ambiente e Ecologia no estado de Roraima*, Inpa, Manaus AM Brasil. 65-83 pp.
- Albert B, Gómez GG 1997. *Saúde Yanomami: um manual etnolingüístico*. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 304p.
- Albert B, Milliken W 2009. *Urihi A: A Terra-Floresta Yanomami*. São Paulo: Instituto Sócio Ambiental; Paris, Fr: IRD – Institut de Recherche pour le Développement 207p.
- Andreazze R, Py-Daniel V, Medeiros JF. 2002. Influência de fatores climáticos na atividade hematofágica de *Psaroniocompsa incrustata* (Lutz, 1910) (Diptera, Simuliidae) vetor e *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) em Xitei/Xidea, área indígena Yanomami, Roraima, Brasil. *Entomologia y Vectores*, 9(4): 559-577.
- APOC 2001. Programme document for phase II (2002-2007) and the phasing-out period (2008-2010). WHO Geneva JAP7.8, 49.
- Ba O, Karam M, Remme J, Zerbo G 1987. Place des enfants dans l'évaluation du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'ouest. *Trop Med Parasitol* 38: 137–142.
- Barbosa RI, Ferreira EJG, Castellón EG 1997. *Homem, Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima*. INPA, Manaus, AM, 613pp.
- Barker RH, Jr. 1994. Use of PCR in the field. *Parasitol. Today* 10:117-119.
- Basañez MG, Takaoka H, Suzuki H, Noda S, Tada I. 1988. The vectorial of several blackfly species (Diptera: Simuliidae) in relation to human onchocerciasis in the

- Sierra Parima and upper Orinoco region of Venezuela. *Ann Trop Med Parasitol* 82:597-611.
- Basañez MG, Remme JHF, Alley ES, Bain O, Shelley AJ, Medley GF, Anderson, RM 1995. Density-dependent processes in the transmission of human onchocerciasis: Relationship between the numbers of microfilariae ingested and successful larval development in the simuliid vector. *Parasitology* 110: 409-427.
- Basanez MG 1996. Density-dependent processes in the onchocerciasis: relationship between microfilarial intake and mortality of the simuliid vector. *Parasitology* (Cambridge University Press) 113: 331-355.
- Basañez MG, Churcher TS, Grillet ME 2009. *Onchocerca-Simulium* Interactions and the Population and Evolutionary Biology of *Onchocerca volvulus*. *Adv. Parasitol.* 68, 263–313.
- Bearzoti P, Lane E, Menezes Filho J 1967. Relato de um caso de oncocercose adquirida no Brasil. *Rev. Paul. Med.* 70: 102.
- Boatin B 2008. The Onchocerciasis Control Programme in West Africa (OCP). *Ann Trop Med. Parasitol* 102 (Suppl 1): 13–17.
- Botto C., Escalona E, Vivas-Martinez S, Behm V, Delgado L, Coronel P 2005. Geographical patterns of onchocerciasis in southern Venezuela: relationships between environment and infection prevalence. *Parasitologia* 47: 145-150
- Botto C, Escalona M, Cortés J, Torres JF., Suárez Lourdes ME, Grillet ME 2007. Avances y desafíos en la producción de conocimientos y en la eliminación de la Oncocercosis en el Foco Sur de Venezuela. *Salus* 11(1): 9-14
- BRASIL, Presidência da República Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos, 1992. Decreto de 25 de maio de 1992. Homologa a demarcação administrativa da Terra Indígena Yanomami, nos Estados de Roraima e Amazonas. [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/dnn/antior%20a%202000/1992/dnn780.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/dnn/antior%20a%202000/1992/dnn780.htm) . Acesso em: 26agosto2015.
- BRASIL, Fundação Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde (FUNASA/MS) 2004. 100 Anos de Saúde Pública: A Visão da FUNASA. Brasília, 232p.
- BRASIL, Fundação Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde (FUNASA/MS) 2006. FUNASA: 15 Anos de Edição. Brasília, 56p.

- BRASIL, Fundação Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde (FUNASA/MS) 2010. Distrito Sanitário Especial Indígena (DESEI). Situação de Saúde e Assistência: Relatório Epidemiológico Operacional – Novembro de 2009 a Março de 2010. Boa Vista, 115p.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI). 2012. Distrito Sanitário Especial Indígena Yanomami. Plano Distrital de Saúde Indígena, 2012-2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI). 2013. Distrito Sanitário Especial Indígena Yanomami. *Sistema de Informação de Atenção à Saúde Indígena*. Pag.
- BRASIL, 2014. Situação Epidemiológica – Dados Oncocercose. Criado em 27 Março 2014. <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/732-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/oncocercose/11407-situacao-epidemiologica-dados>. Acesso em: 20julho2016.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2013 Progress Toward Elimination of Onchocerciasis in the Americas — 1993–2012. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 62 (20), 405-408.
- Chaves CC 1994. *Oncocercose Ocular na Amazônia Brasileira*. Dissertação, Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, SP, 100pp.
- Chester P, Clifton R, Wayne E 1988. *Parasitología Clínica*. Segunda Edição. Editorial Interamericana. México. 405 pp.
- Choochote W, Takaoka H, Fukuda M, Otsuka Y, Aoki C, Eshima N 2005. Seasonal abundance and daily flying activity of black flies (Diptera: Simuliidae) attracted to human baits in Doi Inthanon National Park, northern Thailand. *Med Entomol Zool* 56: 335-348.
- Coelho GE, Vieira JBF, Oliveira CE, Francisco DA, Pinheiro LR 1997. Atividades preliminares do Programa de Controle e Tratamento da Oncocercose no Território Yanomâmi, Roraima, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30(1): 69-72

- Coelho GE, Vieira JBF, Garcia-Zapata MTA, Schuertz JCM 1998. Identificação de áreas de estratificação epidemiológica no foco de oncocercose na região Yanomami, Roraima, Brasil. *Cad. Saúde Púb Rio de Janeiro*, 14: 109-118.
- Coscarón S, Coscarón-Arias CL 1997. Cladistic analysis of the subgenera *Inequalium*, *Psaroniocompsa* and *Chirostilbia* of the genus *Simulium* with comments on their distribution. *Rev Soc Entomol Argent*, 56: 109-121.
- Crosskey RW 1973. *Simuliidae (Black-flies, German: Kriebelmücken)*, p. 109-153. In *Insects and Other Arthropods of Medical Importance*, Smith edited, British Museum of Natural History. 561pp.
- Crosskey RW 1990. *The Natural History of Blackflies*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester. 960p.
- Crump A, Morel CM, Omura S 2012. The Onchocerciasis Chronicle: From the Beginning to the End? *Trends in Parasitology* 28(7): 280-288
- Davies JB, Crosskey RW 1991. *Simulium* Vectors of Onchocerciasis. In: World Health Organization. Vector control series: *Simulium* Training and information Guide. WHO/UBC. 115pp.
- Diawara L, Traore MO, Badji A, Bissan Y, Doumbia K, Goita SF, Konate L, Mounkoro K, Sarr MD, Seck AF, Toe L, Touree S, Remme JH 2009. Feasibility of onchocerciasis elimination with ivermectin treatment in endemic foci in Africa: first evidence from studies in Mali and Senegal. *PLoS Neg Trop Di*. 3,e497.
- Duke BO, 1970. *Onchocerca-Simulium* complexes. VI. Experimental studies on the transmission of Guatemalan and West African strains of *Onchocerca volvulus* by *Simulium ochraceum*, *S. metallicum* and *S. callidum*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 64: 421-431.
- Duke BO 1990. Human Onchocerciasis – An overview of the disease. *Acta Leidensia* 59: 9-24.
- Erttmann KD, Meredith SEO, Greene BM & Unnasch TR 1990. Isolation and characterization of form specific DNA sequences of *O. volvulus*. *Acta Leidensia* 59: 253-260.

- Erttmann KD, Unnasch TR, Greene BM, Albiez EJ, Boateng J, Benke AM, Ferraroni JJ, Karam M, Schultz-Key H, Williams PN 1987. A DNA sequence specific for forest form *O. volvulus*. *Nature* (Land.). 327:415-417.
- Ferreira HP (Org.). 2011. *Dicionário de verbos Português-Yanomama: Napëpëni thë thaa thaatarapëhe nahã thãaxo, yanomama thããxo, thëkipëã wëanowei siki*. São Paulo: Instituto Socioambiental, 351p.
- Figueiró R, Araujo-Coutinho CJPC, Azevedo LHG, Nascimento ES, Monteiro RF 2006. Spatial and temporal distribution of blackflies (Diptera: Simuliidae) in the Itatiaia National Park, Brazil. *Neotrop Entomol* 35: 542-550.
- Fischer P, Bamuhiiga J, Kilian AHD, Büttner DW 1996. Strain differentiation of *Onchocerca volvulus* from Uganda using DNA probes. *Parasitology* 112: 401-408.
- Fobi G, Yameogo L, Noma M, Aholou Y, Koroma JB, Zouré HM, et al. 2015. Managing the Fight against Onchocerciasis in Africa: APOC Experience. *PLoS Negl Trop Dis* 9(5): 1-9.
- Fulgsang H, Anderson J 1977. The concentration of microfilariae in the skin near as a simple measure of the severity of onchocerciasis in a community and as an indicator of danger to the eye. *Trop Parasitol* 28: 63-67.
- Gaona JC, Andrade CFS 1999. Aspectos da entomologia médica e veterinária dos borrachudos (Diptera, Simuliidae) – *Biologia, Importância e Controle*. *LECTA* 17: 51-65.
- Gerais BB & Ribeiro TC 1986. *Onchocerca volvulus* – 1º caso autóctone da região Centro-Oeste. *Rev Soc Bras Med Trop* 19(2): 105-107.
- Good K 2004. Os Yanomami: habitantes da floresta tropical da Venezuela e do Brasil. Em: *Faces da floresta: os Yanomami*. Fotografias e diários de Valdir Cruz. São Paulo, Ed. Cosac & Naify, 126-133,143p.
- Grillet M-E, Basáñez M-G, Vivas-Martínez S., Villamizar N., Frontado H., Cortez, J, Coronel P, Botto C., 2001. Human onchocerciasis in the Amazonian focus of southern Venezuela: spatial and temporal variations in biting and parity rates of black fly (Diptera: Simuliidae) vectors. *J. Med. Entomol.* 38, 520–530

- Grillet M-E, Villamizar NJ, Cortez J, Frontado HL, Escalona M, Vivas-Martinez S, Basanez M-G 2005. Diurnal biting periodicity of parous *Simulium* (Diptera: Simuliidae) vectors in the onchocerciasis Amazonian focus. *Acta Trop.* 94,139–158.
- Guderian RH, Shelley AJ 1992. Onchocerciasis in Ecuador: the situation in 1989. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 87: 405-415.
- Guderian JR, Anselmi RM, Espinel M, Sandoval C, Cooper PJ, Rivadeneira G, Guderian R 1997a. Onchocerciasis in Ecuador: Prevalence of infection on the Ecuador-Colombia border in the province of Esmeraldas. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 157-162.
- Guderian RH, Anselmi RM, Espinel M, Mancero T, Rivadeneira G, Proaño R, Calvopiña HM, Vieira JC, Cooper PJ 1997b. Successful control of onchocerciasis with community-based ivermectin distribution in the Rio Santiago focus in Ecuador. *Trop Med Int Health* 2: 982-988.
- Guderian RH, Lovato R, Ansehni M, Mancero T, Cooper PJ 1997c. Onchocerciasis and Reproductive Health in Ecuador. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 91: 315-317.
- Guevara AG, Vieira JC, Lilley BG, Lopez A, Vieira N, Rumbela J, Collins R, Katholi CR, Unnasch TR. 2003. Entomological Evaluation by Pool Screen Polymerase Chain Reaction of *Onchocerca volvulus* Transmission in Ecuador Following Mass Mectizan Distribution. *Am J Trop Med Hyg* 68: 222-227.
- Hamada N, McCreadie, JW 1999. Environmental factors associated with the distribution of *Simulium perflavum* (Diptera: Simuliidae) among streams in Brazilian Amazonia *Hydrobiologia* 397: 71–78.
- Harnett W, Chambers AE, Renz A, Parkhouse RME 1989. An oligonucleotide probe specific for *Onchocerca volvulus*. *Mol Biochim Parasitol* 35: 119-126.
- Hernández LM, Shelley AJ, Luna-Dias APA, Maia-Herzog M 2007. New specific synonymies and taxonomic notes in Neotropical blackflies (Diptera: Simuliidae) belonging to the subgenera *Chirostilbia* Enderlein, *Hemicnetha* Enderlein, *Inaequalium* Coscarón & Wygodzinsky, *Psaroniocompsa* Enderlein and *Psilopelmia* Enderlein. *Zootaxa* 1580: 1-80.

- Hernández LM, Shelley AJ, Luna-Dias APA de, Maia-Herzog M 2008. Review of the Neotropical blackfly subgenus *Chirostilbia* Enderlein (Diptera: Simuliidae) based on adults and pupal morphology. *Zootaxa* 1834: 1-100.
- Herzog Neto G, Jaegger K, Marchon-Silva V, Calvão-Britto RH, Vieira JB, Banic DM, Maia-Herzog M, 2009. Eye lesions due to onchocerciasis: a clinica study in the Aratha-ú, Yanomami tribe, Roraima State, Brazil. *Acta Trop*, 111: 33.
- Herzog-Neto G, Jaegger K, Nascimento ES, Marchon-Silva V, Banic DM, Maia-Herzog M 2014. Ocular Onchocerciasis in the Yanomami Communities from Brazilian Amazon: Effects on Intraocular Pressure. *Am J Trop Med Hyg* 90(1): 96-98.
- Hoerauf A, Mand S, Volkmann L, Buttner M, Marfo-Debrekyei Y, Taylor M, Adjei O, Buttner DW 2003. Doxycycline in the treatment of human onchocerciasis: Kinetics of *Wolbachia* endobacteria reduction and of inhibition of embryogenesis in female *Onchocerca* worms. *Microbes Infect* 5:261-273
- Holmes R 1995. Small is Adaptive: Nutricional Anthropometry of Native Amazonians. p.121-148. *In: Sponsel LE (org.). Indigenous Peoples and the Future of Amazonia. An Ecological Antropology of an Endangered World.* Tucson, University of Arizona Press.
- Hopkins A 2005. Ivermectin and Onchocerciasis: Is It All Solved? *Eye* 19: 10.
- Hougard JM, Alley ES, Yaméogo L, Dadzie KY, Boatin BA 2001. Eliminating onchocerciasis after 14 years of vector control: a proved strategy *J Inf Dis* 184: 497-503.
- Jesus EP, Maia-Herzog M 1995. Análise morfo-comparativa das fêmeas antropofílicas de *Simulium* (*Psaroniocompsa*) Enderlein1934 pertencentes ao Grupo *Amazonicum* (Díptera Simuliidae). Monografia submetida como requisito para obtenção do título de Especialista em Entomologia, do Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ.
- Katholi CR, Unnasch TR 2006. Important experimental parameters for determining infection rates in arthropod vectors using pool screening approaches. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 74:779-785.

- Katholi CR, Toe L, Merriweather A, Unnasch TR. 1995. Determining the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in vector populations by polymerase chain reaction screening of pools of black flies. *J Infect Dis*, 172:1414–1417.
- Landeiro VL, Pepinelli M, Hamada N 2009. Species richness and distribution of Black flies (Diptera: Simuliidae) in the Chapada Diamantina region, Bahia, Brazil. *Neotrop Entomol* 38: 332–339.
- Lindblade KA, Arana B, Zea-Flores G, Rizzo N, Porter CH, Dominguez A, Cruz-Ortiz N, Unnasch TR, Punkosdy GA, Richards J, Sauerbrey M, Castro J, Catú E, Oliva O, Richards Jr FO 2007. Elimination of *Onchocerca volvulus* transmission in the Santa Rosa focus of Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 77: 334-341.
- Maia-Herzog M, Shelley AJ, Bradley JE, Luna Dias APA, Calvão RHS, Lowry C, Camargo M, Rubio JM, Post RJ, Coelho GE 1999. Discovery of a new focus of human onchocerciasis in central Brazil. *Trans R Trop Med Hyg* 93: 235-239.
- Marchon-Silva V 2004. *Detecção molecular (DNA) de Onchocerca volvulus nos vetores em relação à distribuição da ivermectina na Amazônia Brasileira*, Tese: Mestre em Ciências (Biologia Celular e Molecular). Rio de Janeiro, IOC, FIOCRUZ 88pp.
- Marchon-Silva V, Kaër J, Post RJ, Maia-Herzog, M, Fernandes O 2007. Detection of *Onchocerca volvulus* (Nematoda: Onchocercidae) infection in vectors from Amazonian Brazil following mass Mectizan™ distribution. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 102: 197-202.
- McCreadie JW, Adler PH 2012. Variation in larval fitness of a black fly species (Diptera: Simuliidae) over heterogeneous habitats. *Aquatic Insects* 34: 143-150
- Medeiros JF 1998. *Epidemiologia da transmissão natural de Onchocerca volvulus (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) pelas espécies Cerqueirellum oyapockense (Flock & Abonnec, 1946), Ectemnaspis bipunctata (Malloch, 1912) e Notolepri exigua (Roubaud, 1906) (Díptera, Simuliidae), em Xitei/Xidea, área indígena Yanomami, Roraima, Brasil*. Dissertação. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA /Universidade do Amazonas - UA, 101pp.
- Medeiros JF, Py-Daniel V. 1999. Atividade hematófagica e infecção natural de três espécies de Simuliidae (Diptera: Culicomorpha) em Xitei/Xidea, área indígena Yanomami, Roraima, Brasil. *Entomologia y Vectores*, 6(3): 210-226.

- Meredith SEO, Unnasch TR, Karam M, Piessens WF, Dyann F, Wirth 1989. Cloning and characterization of an *Onchocerca volvulus* specific DNA sequence. *Mol Biochem Parasitol* 36: 1-10.
- Meredith SEO, Lando G, Gbakima AA, Zimmerman PA, Unnasch TR 1991. *Onchocerca volvulus*: Application of the Polymerase Chain Reaction to identification and strain differentiation of the parasite. *Exp Parasitol* 73: 335-344.
- Meredith SEO, Schoone, GJ, Kroon CCM, Devries PJ, Bradley JE, Brika DP, Boatman BA 1994. Detection of *Onchocerca volvulus* DNA in blood using the PCR. *Parasite* 1 (1S): 22.
- Merriweather A, Unnasch TR 1996. *Onchocerca volvulus*: Development of Species Specific Polymerase Chain Reaction-Based Assay *Exp Parasitol* 83: 164-166.
- Migliazza EC 1972. *Yanomama Grammar and Intelligibility*. Tese de Doutorado. Universidade de Indiana. 470p.
- Moraes MAP, Dias LB 1972. Oncocercose no Estado do Amazonas, Brasil. *Rev Inst Med Trop, São Paulo* 14: 330-333.
- Moraes MAP, Fraiha H, Chaves GM 1973. Onchocerciasis in Brazil. *Bull Pan Am Health Organ* 7: 50-56.
- Moraes MAP, Chaves GM 1974a. Um caso de oncocercose no Território de Roraima, Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 16: 110-113.
- Moraes MAP, Chaves GM 1974b. Oncocercose no Brasil: Novos achados entre os índios Yanomamis. *Bol of Sanit Panam* 77: 1-5.
- Moraes MAP, Shelley AJ 1974. Oncocercose no Grupo Yanomama. *Pan American Health Organization* 8: 112-119.
- Moraes MAP, Fraiha H, Chaves GM 1974. Oncocercose no Brasil. *Bol of Sanit Panam* 76: 48-53.
- Moraes MAP, Calheiros LB, Porto MAS, Neves RNA, Shelley AJ 1977a. Novas observações sobre o foco de oncocercose do rio Auaris, Território de Roraima. *Bol Epidem Fud SESP* 9: 13-16.
- Moraes MAP, Calheiros LB, Porto MAS, Neves RNA, Shelley AJ 1977b. Oncocercose no Território de Roraima: Resultado das investigações feitas nos rios Mucajaí e Catrimani. *Bol Epidem Fud SESP* 9: 119-124.

- Murdoch ME, Hay RJ, Mackenzie CD, Williams JF, Ghalib HW, Cousens S, Abiose A, Jones BR 1993. A clinical classification and grading system of the cutaneous changes in onchocerciasis. *Br J Dermatol* 129: 260-269.
- Noma M, Nwoke B, Nutall I, Tambala P, Enyong P, Namsenmo A., Remme J, Amazigo U, Kale O, Seketeli A 2002. Rapid epidemiological mapping of onchocerciasis (REMO): its application by the African Programme for Onchocerciasis Control (APOC). *Pathog Global Health* 96: 29-39.
- Ochoa JO, Castro JC, Barrios VM, Juarez EL & Tada I 1997. Successful control of onchocerciasis in San Vicente Pacaya, Guatemala, 1984–1989. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 91: 471–479.
- Onchocerciasis Elimination Program for the Americas (OEPA) 1999. Guia de Evaluaciones Epidemiológicas. Anexo V. A. Evaluación Entomológica de Impacto de la Distribución Masiva de Mectizan® sobre la Transmisión de la Oncocercosis.
- Onchocerciasis Elimination Program for the Americas (OEPA) 2013. Epidemiología - Población regional a riesgo, fuera de riesgo, bajo VEPT y elegible para tratamiento en 2013. <<http://www.oepa.net/epidemiologia.html>>. Acceso em: 06 abril 2014.
- Onchocerciasis Elimination Program for the Americas (OEPA) 2014. Epidemiología - Población regional a riesgo, fuera de riesgo, bajo VEPT y elegible para tratamiento en 2014. <<http://www.oepa.net/epidemiologia.html>>. Acceso em: 19 junho 2015.
- Pachón RT, Walton WE, 2011. Seasonal occurrence of black flies (Diptera: Simuliidae) in a desert stream receiving trout farm effluent. *J Vector Ecol* 36: 187-196.
- Pan-Americana Health Organization (PAHO), 2008. Towards the elimination of onchocerciasis (river blindness) in the Americas. 48<sup>th</sup> Directing Council. 60<sup>th</sup> Session of the regional committee. CD48.R12/2008, Washington.
- Pan-Americana Health Organization (PAHO), 2009. Elimination of Neglected Diseases and other poverty-related infections. 49<sup>th</sup> Directing Council. 61<sup>th</sup> Session of the regional committee. CD49.R19/2009, Washington.

- Pearlman E, Hall LR 1999. Pathogenesis of onchocercal keratitis (river blindness). *Clin Microbiol Rev* 3: 445-453.
- Pepinelli M, Hamada N, Trivinho-Strixino S. 2006. Larval Description of *Simulium* (*Notolepria*) *cuasiexiguum* and *Simulium* (*Chirostilbia*) *obesum* and New Records of Black Fly Species (Diptera: Simuliidae) in the States of São Paulo and Minas Gerais, Brazil *Neotropical Entomology* 35(5): 698-704.
- Perle RFB, Karam M 1986. Cloning and characterization of two *Onchocerca volvulus* repeated DNA sequences. *Mol Biochem Parasitol* 21: 171-178.
- Post RJ, Flook PK, Millest AL 1993. Methods for the preservation of insects for DNA studies. *Biochem Syst Ecology* 21: 85-92.
- Post RJ, Adams Z, Shelley AJ, Maia-Herzog M, Luna Dias APA, Coscarón S 2003. The morphological discrimination of microfilariae of *Onchocerca volvulus* from *Mansonella ozzardi*. *Parasitology* 127: 21-27.
- Py-Daniel V, 1997. Oncocercose, uma endemia focal no hemisfério norte da Amazônia. p. 111-155. In Barbosa RI, Ferreira EJJ, Castellón EG (eds.). *Homem, Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima*, INPA, Manaus, AM, 613 pp.
- Py-Daniel V, Andreazze R, Medeiros JF 2000. Projeto Piloto Xitei/Xidea, (Roraima). I—índices epidemiológicos da transmissão de *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) para os anos de 1995-1996. *Entomologia y Vectores* 7(4): 389-444.
- Rabha B, Dhiman S, Yadav K, Hazarika S, Bholá RK, Veer V 2013. Influence of water physicochemical characteristics on Simuliidae (Diptera) prevalence in some streams of Meghalaya, India. *J. Vector Borne Dis.* 50: 18–23.
- Ramirez, H 1994a. *Le parler yanomami des Xamatauteri*. Tese de doutorado, Universidade de Provence, (França).
- Ramirez H 1994b. Iniciação a língua Yanomama. Dialéto do médio rio Catrimani e de Xitei. Curso de língua Yanomama. Boa Vista, Diocese de Roraima. v. 1.
- Ramirez H 1994c. Iniciação à língua Yanomama. Boa Vista: Diocese de Roraima, v. 2.

- Ramirez-Pérez J, Yarzabal L, Peterson B. 1982. La simuliofauna del Territorio Federal Amazonas. Publicación Científica N°1, Ediciones PROICET AMAZONAS. 103pp.
- Ramirez-Pérez J. 1983. Los jejenes de Venezuela. Simposio de Oncocercosis Americana, CAICET, Puerto Ayacucho.
- Reid GDF 1994. Structure and function of the cibarial armadure in Simuliidae. *Med Vet Entomol* 8: 295-301.
- Rodríguez-Pérez MA. 1999. *Assessment and Monitoring of Onchocerciasis Control in Mexico: Application of Novel Immunological and Molecular Diagnostic Test*. Thesis of Doctor of Philosophy (Ph.D.), Universidade de Salford, Inglaterra. 236pp.
- Rodríguez-Pérez MA, Rivas-Alcalá AR 1991. Algunos problemas en la investigación para el control de la transmisión de *Onchocerca volvulus* en México. *Salud Pública de México* 33: 493-503.
- Rodríguez-Pérez MA, Reyes-Villanueva F 1994. Efecto de la ivermectina sobre la transmisión de *Onchocerca volvulus* en México. *Salud Publica Mex* 36:281-290.
- Rodríguez-Pérez MA, Rodríguez-Lopez MH 1994. Oncocercosis. In Valdespino-Gómez JL, Castrejón OV, Escobar-Gutiérrez A, del Río-Zolezzi A, Ibañez-Bernal S, Magos-Lopez C (Ed.), *Enfermedades Tropicales en México. Diagnóstico, Tratamiento y Distribución Geográfica*. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos de la Secretaría de Salud, México, DF, 325-333.
- Rodríguez-Pérez MA, Rodríguez MH, Margeli-Pérez HM, Rivas-Alcala AR, 1995. Effect of semiannual treatments of ivermectin on the prevalence and intensity of *Onchocerca volvulus* skin infection, ocular lesions, and infectivity of *Simulium ochraceum* populations in southern Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 52, 429-434.
- Rodríguez-Pérez MA, Danis-Lozano R, Rodríguez MH, Bradley JE 1999a. Application of an enzyme-linked inmuno absorbent assay to detect antibodies to *Onchocerca volvulus* on filter paper blood spots: Effect of storage and temperature on antibody decay. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 93: 1-2.
- Rodríguez-Pérez MA, Danis-Lozano R, Rodríguez MH, Bradley JE 1999b. Comparison of serological and parasitological assessment of *Onchocerca*

*volvulus* transmissions after 7 years of mass ivermectin treatment in Mexico. *Trop Med Int Health* 4: 98-104.

Rodríguez-Pérez MA, Lilley BG, Dominguez-Vazquez A, Segura-Arenas R, Lizarazo-Ortega C, Mendoza-Herrera A, Reyes-Villanueva F, Unnasch TR 2004. Polymerase chain reaction monitoring of transmission of *Onchocerca volvulus* in two endemic states in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 70: 38-45.

Rodríguez-Pérez MA, Katholi CR, Hassan HK, Unnasch TR 2006a. Large-scale entomologic assessment of *Onchocerca volvulus* transmission by poolscreen PCR in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 74: 1026-1033.

Rodríguez Pérez MA, Núñez González CA, Lizarazo Ortega C, Sánchez Varela A, Wootren MC. & Unnasch TR 2006b. Analysis of genetic variation in ribosomal DNA internal transcribed spacer and the NADH dehydrogenase subunit 4 mitochondrial genes of the onchocerciasis vector *Simulium ochraceum*. *J Med Ent* 43(4): 701-706

Rodríguez-Pérez MA, Lizarazo-Ortega C, Hassan HK, Dominguez-Vasquez A, Mendez-Galvan J, Lugo-Moreno P, Sauerbrey M, Richards, Jr. F. Unnasch TR 2008a. Evidence for suppression of *Onchocerca volvulus* transmission in the Oaxaca focus in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 78: 147-52.

Rodríguez-Pérez MA, Lutzow-Steiner MA, Segura-Cabrera A, Lizarazo-Ortega C, Dominguez-Vazquez A, Sauerbrey M, Richards Jr. F, Unnasch TR, Hassan HK, Hernandez-Hernandez R 2008b. Rapid suppression of *Onchocerca volvulus* transmission in two communities of the Southern Chiapas focus, Mexico, achieved by quarterly treatments with Mectizan. *Am J Trop Med Hyg* 79: 239-244.

Rodríguez-Pérez MA, Unnasch TR, Domínguez-Vázquez, A, Morales-Castro AL, Pena-Flores GP, Algarra-Orozco ME, Arredondo-Jimenez JI, Richards F, Vasquez-Rodriguez MA, Rendon VG 2010a. Interruption of transmission of *Onchocerca volvulus* in the Oaxaca focus, Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 83: 21-27.

Rodríguez-Pérez MA, Unnasch TR, Domínguez-Vázquez, A, Morales-Castro AL, Richards F Jr. Peña-Flores GP, Orozco-Algarra ME, Prado-Velasco G 2010b.

- Lack of active *Onchocerca volvulus* transmission in the northern Chiapas focus of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 83: 15-20.
- Rodríguez-Pérez MA, Unnasch TR, Real-Najarro O 2011. Assessment and monitoring of onchocerciasis in Latin America. *Adv Parasitol* 77: 175-225.
- Rodríguez-Pérez M, Domínguez-Vázquez A, Unnasch TR, Hassan HK, Arredondo-Jiménez JI, Orozco-Algarra ME, et al. 2013. Interruption of transmission of *Onchocerca volvulus* in the Southern Chiapas focus, México. *PLOS Neg Trop Dis*. 7: e2133.
- Rodríguez-Pérez MA, Fernández-Santos NA, Orozco-Algarra ME, Rodríguez-Atanacio JA, Domínguez-Vázquez A, Rodríguez-Morales KB, et al. 2015. Elimination of Onchocerciasis from Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 9(7): 1-15.
- Roungou JB, Yameogo L, Mwikisa C, Boakye DA, Bundy DAP 2015. 40 Years of the APOC Partnership. *PLoS Negl Trop Dis* 9(5): 1-2.
- Ruiz-Reyes F 1979. Oncocercosis: Cuadro Clínico. *Salud Pública de México* 21: 741-745.
- Santos RB, Lopes J, Santos KB 2010. Distribuição espacial e variação temporal da composição de espécies de borrachudos (Diptera: Simuliidae) em uma microbacia situada no norte do Paraná. *Neotrop Entomol* 39: 289-298.
- Sauerbrey M 2008. The Onchocerciasis Elimination Program for the Americas (OEPA). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 102(1): 25–29.
- Schultz-Key H, 1990. Observations on the reproductive biology of *Onchocerca volvulus*. *Acta Leidensia* 59: 27-44.
- Shah JS, Karam M, Piessens WF, Wirth DF 1987. Characterization of an *Onchocerca* specific DNA clone from *Onchocerca volvulus*. *Am J Trop Med Hyg* 37: 376-384.
- Shelley AJ 1988a. Vector Aspects of the Epidemiology of Onchocerciasis in Latin-America. *Ann Rev Entomol* 33: 337-366.
- Shelley AJ 1988b. Biosystematics and medical importance of the *Simulium amazonicum* group and the *Simulium exiguum* complex in Latin America, pp.203-220. In Service MW (ed.). *Biosystematics of haematophagous insects* xi, 363pp.

- Shelley AJ 1991. Simuliidae and the transmission and control of human onchocerciasis in Latin America. *Cadernos de Saúde Pública*, 7:310-327.
- Shelley AJ 1994. Factors affecting filarial transmission by simuliids. *Adv. Dis. Vector Research* 10: 183-214.
- Shelley AJ 2002. Human onchocerciasis in Brazil: an overview. *Cad Saúde Púb* 18: 1167-1177.
- Shelley AJ, Luna Dias APA, Moraes MAP, Procunier WS 1987a. The status of *Simulium oyapockense* and *S. limbatum* as vectors of human onchocerciasis in Brazilian Amazonia. *Med Vet Entomol* 1: 219-234.
- Shelley AJ, Luna Dias APA, Maia Herzog M, Procunier WS, Moraes MAP 1987b. Identification of Vector Species (Diptera: Simuliidae) of Human Onchocerciasis in the Amazonia focus of Brazil and Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 82: 461-465.
- Shelley AJ, Lowry CA, Maia-Herzog M, Luna Dias APA, Moraes MAP 1997. Biosystematic studies on the Simuliidae (Diptera) of the Amazonia onchocerciasis focus of Brazil. *Bull British Mus* 66: 1-121.
- Shelley AJ, Maia-Herzog M, Lowry CA, Luna Dias APA, Garritano PR, Shelley A, Camargo M, Carter HG 2000. The Simuliidae (Diptera) of the secondary onchocerciasis focus at Minaçu in central Brazil. *Bull Brit Mus Nat Hist Entomol* 69: 171-221.
- Shelley AJ, Hernández LM, Davies JB. 2004. Blackflies (Diptera: Simuliidae) of Southern Guyana with Keys for the Identification of Adults and Pupae - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 99 (5): 443-470
- Shelley AJ, Hernández LM, Maia-Herzog M, Luna Dias APA & Luz SB. 2006. An interpretation of the morphological variation in the *Simulium amazonicum* species group (Diptera: Simuliidae) of Latin América *Zootaxa* 1274.
- Silva ELS, 1997. In Barbosa RI, Ferreira EJJ, Castellón EG (eds.). Homem, Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima, INPA, Manaus, AM, 613 pp
- Smith, KGV 1973. *Insects and Other Arthropods of Medical Importance*. London, 561 pp

- Soboslay PT, Luder CG, Riesch S, Geiger SM, Banla M, Batchassi E, Stadler A, Schulz-Key H 1999 .Regulatory effects of Th1-type (IFN-gamma, IL-12) and Th2-type cytokines (IL-10, IL-13) on parasite-specific cellular responsiveness in *Onchocerca volvulus* infected humans and exposed endemic controls. *Immunology* 97(2):219-225.
- Srisuka W, Takaoka H, Otsuka Y, Fukuda M, Thongsahuan S, Taai K, Choochote W, Saeung A 2015. Seasonal biodiversity of black flies (Diptera: Simuliidae) and evaluation of ecological factors influencing species distribution at Doi Pha Hom Pok National Park, Thailand. *Acta Trop* 149:212-219. doi: 10.1016/j.actatropica.2015.09.014.
- Takaoka H, Suzuki H 1984. The black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. *Jpn J Sanit Zool* 35, 7–45.
- Taylor HR, Keyvan LE, Newland HS, White AT, Greene BM 1987. Sensitivity of skin snips in the diagnosis of onchocerciasis. *Trop Med Parasitol* 38: 145-147.
- Tekle AH, Elhassan E, Isiyaku S, Amazigo UV, Bush S, Noma M, Cousens S, Abiose A, Remme JH 2012. Impact of longterm treatment of onchocerciasis with ivermectin in Kaduna State, Nigeria: first evidence of the potential for elimination in the operational area of the African Programme for Onchocerciasis Control. *Parasit Vectors* 5, 28.
- Toe L, Merriweather A, & Unnasch TR 1994. DNA probe-based classification of *Simulium damnosum* s.l. borne and human-derived filarial parasites in the Onchocerciasis Control Program area. *Am J Trop Med Hyg* 51: 676-683.
- Toé, L., Back, C., Adjami, A.G., Tang, J.M., Unnasch, T.R. 1997a. *Onchocerca volvulus*: comparison of field collection methods for the preservation of parasite and vector samples for PCR analysis. *Bull World Health Organ* 75: 443–447.
- Toé L, Tang J, Back C, Katholi CR & Unnasch TR 1997b. Vector Parasite Transmission Complexes For Onchocerciasis In West Africa. *The Lancet* 349: 163-166.
- Unnasch TR, Meredith, SEO. 1996. The Use of Degenerate Primers in Conjunction with Strain and Species Oligonucleotides to Classify *Onchocerca volvulus*. Chapter 21: 293-303. In Clapp JP (ed). *Methods in Molecular Biology*, v 50.

Species Diagnostics Protocols: PCR and Other Nucleic Acid Methods. *Humana Press Inc*, Totowa, NJ.

Unnasch TR, Hassan KH, 2011. Complete Protocol for O-150 PCR Analysis of Black flies for *O. volvulus* infection. Protocol Adapted for South American Black flies. In press, June, 16. 14p.

Vieira JC, Brackenboro L, Porter CH, Basañez MG, Collins RC. 2005. Temporal and spatial variation in biting rates and parasite transmission potentials of onchocerciasis vectors in Ecuador. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 99, 178–195.

Vieira JC, Cooper PJ, Lovato R, Mancero T, Rivera J et al. 2007. Impact of long-term treatment of onchocerciasis with ivermectin in Ecuador: potential for elimination of infection. *BMC Med* 5: 9. doi: 10.1186/1741-7015-5-9

Vivas-Martinez S, Basañez MG, Grillet ME, Weiss H, Botto C, Garcia M, Villamizar NJ, Chavasse DC 1998. Onchocerciasis in the Amazonian focus of southern Venezuela: Altitude and blackfly species composition as predictors of endemicity to select communities for ivermectin control programmes. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 92: 613-620.

Vivas-Martinez S, Basañez MG, Botto C, Rojas S, Garcia M, Pacheco M, & Curtis C F 2000a. Amazonian onchocerciasis: Parasitological profiles by host-age, sex, and endemicity in Southern Venezuela. *Parasitology* 121:513-525.

Vivas-Martinez S, Basañez MG, Botto C, Villegas L, Garcia M, Curtis C F 2000b. Parasitological indicators of onchocerciasis relevant to ivermectin control programmes in the Amazonian focus of Southern Venezuela. *Parasitology* 121:527-534.

Williams, C. B. (1937). The use of logarithms in the interpretation of certain entomological problems. *Ann. Appl. Biol.* 24, 404–414.

Workshop on the Taxonomy of South America Simuliidae of Medical Importance 1982. Fundação Oswaldo Cruz / IOC, Rio de Janeiro, Brasil.

World Health Organization (WHO) 1987. Expert Committee on Onchocerciasis Third Report. WHO Technical Report Series 752 WHO, Geneva.

- World Health Organization (WHO) 1995a. *Onchocerciasis and its control*. Expert Committee on Onchocerciasis Control. Technical Report Series 852. Geneva, 103 pp.
- WHO - World Health Organization 1995b. Onchocerciasis Control Programme in West Africa. Report of the WHO, Geneva.
- World Health Organization (WHO) 2001a. Criteria for Certification of Interruption of Transmission/Elimination of Human Onchocerciasis. Geneva: World Health Organization. WHO/CDS/CPE/CEE/2001.18a 64p.
- World Health Organization (WHO) 2001b. Certification of elimination of human onchocerciasis: Criteria and procedures. Geneva: World Health Organization, WHO/CDS/CPE/CEE/2001.18b, 36p.
- World Health Organization (WHO). 2001c. Summary Report of the OCP/TDR meeting on the impact of ivermectin on onchocerciasis transmission. Washington, DC, USA. World Health Organisation, JPC22-JAF7/INF/DOC.2
- World Health Organization (WHO). 2007. Meeting of the International Task Force for Disease Eradication –11 January 2007. Wkly. Epidemiol. Rec. 82, nº 22/23, 197-208.
- World Health Organization (WHO). 2009. Onchocerciasis (river blindness). Report from the eighteenth Inter-American Conference on Onchocerciasis, November 2008. Wkly. Epidemiol. Rec. 84, nº 38, 385–389.
- World Health Organization (WHO). 2010. Report from the 2009 Inter-American Conference on Onchocerciasis: progress towards eliminating river blindness in the region of the Americas. Wkly. Epidemiol. Rec. 85, nº 38, 321–328.
- World Health Organization (WHO). 2011. InterAmerican Conference on Onchocerciasis, 2010: progress towards eliminating river blindness in the WHO Region of the Americas. Wkly. Epidemiol. Rec. 86, nº38, 417–424.
- World Health Organization (WHO) 2012. World Health Organization Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases: a roadmap for implementation.[http://www.who.int/neglected\\_diseases/NTD\\_RoadMap\\_2012\\_Fullversion.pdf](http://www.who.int/neglected_diseases/NTD_RoadMap_2012_Fullversion.pdf). Acessado em junho de 2015.

- World Health Organization (WHO) 2013a. Progress towards eliminating onchocerciasis in the WHO region of the Americas: verification by WHO of elimination of transmission in Colombia. *Weekly epidemiological record*, No. 36, 2013, 88, 381–388
- World Health Organization (WHO) 2013b. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases second WHO report on neglected tropical diseases. WHO/HTM/NTD/2013.1. Geneva: [http://www.who.int/iris/bitstream/10665/77950/1/9789241564540\\_eng.pdf](http://www.who.int/iris/bitstream/10665/77950/1/9789241564540_eng.pdf)  
Acessado em agosto de 2015.
- World Health Organization (WHO) 2014. Elimination of onchocerciasis in the WHO Region of the Americas: Ecuador's progress towards verification of elimination. *Wkly Epidemiol Rec* 89(37): 401-408.
- Yamèogo L, Toé L, Hougard JM, Boatin BA, Unnash TR 1999. Pool Screen Polymerase Chain Reaction for Estimating the Prevalence of *Onchocerca volvulus* Infection in *Simulium damnosum sensu lato*: Results of a Field Trial in an Area Subject to Successful Vector Control. *Am J Trop Med Hyg* 60: 124-128.
- Yarzabal L, Basanez MG, Ramirez-Perez J, Ramirez A, Botto C, Yarzabal A 1985. Experimental and natural infection of *Simulium sanchezi* by *Mansonella ozzardi* in the Middle Orinoco region of Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 79: 29-33.
- Zimmerman PA, Toe L, Unnasch TR 1993. Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Mol Biochem Parasitol* 58: 259-268.

## 10 ANEXOS

### ANEXO 1. Preparo de soluções e Reagentes

#### 1.1. Solução de Iodeto de Sódio (NaI)

NaI 90,3 g

1,5 g NaSO<sub>3</sub> (sulfito de sódio)

Colocar aproximadamente 30 ml de água destilada em um Becker de 150 ml e adicionar o iodeto de sódio, lentamente para que dissolva. Homogeneizar em agitador magnético, adicionando mais água quanto for necessário para garantir que o iodeto de sódio se dissolva. Ajustar o volume final de 100 ml.

Adicionar o sulfito de sódio e agitar por 10 minutos. Observe que nem todo o NaSO<sub>3</sub> vai dissolver. Filtrar a solução em papel de filtro Whatman # 1.

Adicionar mais 0,5g de sulfito de sódio à solução, para garantir que a solução está saturada de sulfito. Conservar em local escuro (frasco âmbar, ou frasco coberto com papel alumínio) a 4°C.

1.

1.1

#### 1.2 Tampão F 5X

Identificar os microtubos com as alíquotas de 500ul de Tampão F 5X e armazenar no freezer (-20°C). Cada alíquota de 500ul é suficiente para realizar PCR em uma placa completa.

Concentração Final	Concentração Estoque	Quantidade a adicionar
300mM Tris-HCl (pH9.0)	1M	15 ml
75mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1M	3,75 ml
10mM MgCl <sub>2</sub>	1M	0,5 ml
Água livre de nuclease	---	30,75 ml

## ANEXO 2. Ficha de Campo - modelo



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ – Instituto Oswaldo Cruz**  
 Laboratório de Simulídeos e Oncocercose  
 Referência Nacional: Simulídeos • Oncocercose • Mansonelose



### FICHA DE CAMPO

Nome do Ponto de Coleta: \_\_\_\_\_ Data de Coleta: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Coletor: \_\_\_\_\_

Atrativo: \_\_\_\_\_

País: BRASIL Região: Norte Estado: ( ) Amazonas ( ) Roraima ( ) Outro: \_\_\_\_\_

Município: \_\_\_\_\_ Pólo-base: \_\_\_\_\_

Sub-polo: \_\_\_\_\_ Comunidade: \_\_\_\_\_

Observações sobre a localidade: \_\_\_\_\_

Área Povoada: Sim ( ) Não ( )

### COLETA DE EXEMPLARES EM HEMATOFAGIA

Período	HORÁRIO	Coleta	Capturador	OBSERVAÇÕES
1	07:00-07:50			
2	08:00-08:50			
3	09:00-09:50			
4	10:00-10:50			
5	11:00-11:50			
	12:00-12:50	<b>INTERVALO PARA ALMOÇO</b>		
6	13:00-13:50			
7	14:00-14:50			
8	15:00-15:50			
9	16:00-16:50			
10	17:00-17:50			

Observações: \_\_\_\_\_

Material Conservado em:

( ) álcool etílico 70% ( ) álcool etílico 99,3% ( ) álcool etílico 100%  
 ( ) álcool isopropílico absoluto [álcool etílico=etanol // álcool isopropílico=isopropanol]

Instruções para preenchimento da Tabela da Ficha de Campo:

- 1) Coluna **Coleta**: (+) coleta positiva (-) coleta (realizada) negativa (X) coleta não realizada (colocar na observação o motivo);
- 2) Coluna **Capturador**: (C) capturador de castro (E) tubo eppendorf + pincel

ELABORADO Verônica Marchon-Silva	VERIFICADO Alfredo Dominguez		DATA 27/07/2009
-------------------------------------	---------------------------------	--	--------------------