



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

MARIANA SILVA SOUSA

**ANTÍGENO ANÓDICO CIRCULANTE NA INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni*:
AVALIAÇÃO DE ENSAIO ULTRA-SENSÍVEL NO DIAGNÓSTICO ANTES E APÓS
O TRATAMENTO E ASSOCIAÇÃO COM NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO
RENAL**

FORTALEZA

2019

MARIANA SILVA SOUSA

ANTÍGENO ANÓDICO CIRCULANTE NA INFECÇÃO POR SCHISTOSOMA
MANSONI: AVALIAÇÃO DE ENSAIO ULTRA-SENSÍVEL NO DIAGNÓSTICO ANTES
E APÓS O TRATAMENTO E ASSOCIAÇÃO COM NOVOS BIOMARCADORES DE
LESÃO RENAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra.

Coorientadora: Prof. Dra. Elizabeth De Francesco Daher.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S697a Sousa, Mariana Silva.
ANTÍGENO ANÓDICO CIRCULANTE NA INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni*: AVALIAÇÃO DE ENSAIO ULTRA-SENSÍVEL NO DIAGNÓSTICO ANTES E APÓS O TRATAMENTO E ASSOCIAÇÃO COM NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL / Mariana Silva Sousa. – 2019.
166 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra.
Coorientação: Profa. Dra. Elizabeth De Francesco Daher.
1. Esquistossomose. 2. Diagnóstico. 3. Antígeno Anódico Circulante (CAA). 4. Up-Converting Phosphor - Lateral Flow (UCP-LF). 5. Biomarcadores renais. I. Título.

MARIANA SILVA SOUSA

ANTÍGENO ANÓDICO CIRCULANTE NA INFECÇÃO POR SCHISTOSOMA
MANSONI: AVALIAÇÃO DE ENSAIO ULTRA-SENSÍVEL NO DIAGNÓSTICO ANTES
E APÓS O TRATAMENTO E ASSOCIAÇÃO COM NOVOS BIOMARCADORES DE
LESÃO RENAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Adriana Rolim Campos Barros
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Prof. Dr. Anastácio de Queiroz Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujiwara
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Prof. Dr. Roberto da Justa Pires Neto
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus, sempre!

Aos meus pais amados Maria de Fátima e
Acrísio Rocha (*in memoriam*).

Aos meus irmãos queridos Juliana e Acrísio
Filho.

Ao meu sobrinho amoroso Guilherme
Henrique.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar com sabedoria, me dando forças para superar todas as dificuldades e permitindo a realização dos meus projetos, como a conclusão desta Tese.

À minha família, que está ao meu lado em todos os momentos. Em especial, ao meu pai Acrísio Rocha que por desígnios de Deus não está mais entre nós no momento do término desta Tese.

Ao meu namorado João Teixeira por todo amor e compreensão; por está sempre presente e compartilhar das minhas alegrias e pelo apoio e incentivo nos momentos difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra, pela oportunidade de integrar a sua equipe de pesquisa, desde a iniciação científica, pela orientação desta Tese, pela confiança em mim depositada, pela extrema paciência, pelos ensinamentos e amizade. Sinceros agradecimentos.

A minha co-orientadora Prof. Dra. Elizabeth De Francesco Daher, por conceber e projetar os experimentos de análise da função renal; pelo tempo dedicado, incentivo e colaboração, com valiosas sugestões para a melhoria desta Tese.

Aos pesquisadores Dr. Paul L. A. M. Corstjens, Dra. Claudia J. de Dood e, em especial, ao Dr. Govert J. van Dam e sua equipe de pesquisa (especialmente Dieuwke Kornelis, Pytsje Hoekstra-Mevius e Miriam Casacuberta), da Universidade de Leiden – Holanda, pela parceria concedida, pelo acolhimento em sua universidade, por todo apoio, atenção, investimento e tempo dedicados, e pela ajuda com parte das análises estatísticas.

Ao professor Dr. Geraldo Bezerra da Silva Júnior e ao Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses pelas valiosas sugestões para o melhoramento dessa Tese na banca examinadora de qualificação.

A todos os queridos colegas do Laboratório de Parasitologia e Biologia de Moluscos (LPBM/UFC), que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho. Em especial, à Rosangela Lima de Freitas Galvão pelo imenso auxílio durante as dosagens dos biomarcadores de lesão renal, durante a fase final desse trabalho, que foi muito importante. Ao José Damião da Silva Filho pela ajuda concedida durante os experimentos de PCR. À Dra. Marta Cristhiany Cunha Pinheiro, pela parceria durante a etapa de inserção na comunidade e ao João Victor Souza, pela disponibilidade de ajuda com o maior compromisso e simpatia.

Ao Prof. Dr. Jose Mauro Peralta da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e à Prof. Dra. Regina Helena Saramago Peralta da Universidade Federal Fluminense (UFF) pela colaboração; por conceber e projetar os experimentos de PCR em tempo real.

Ao Centro de Pesquisas Rene Rachou, FIOCRUZ – Minas Gerais pela colaboração com os experimentos para detecção de anticorpos de *S. mansoni* (SWAP-ELISA). Em especial, ao Dr. Naftale Katz.

Ao Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro e aos colegas do Laboratório de Citogenômica do Câncer (UFC) que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho. Em especial, à Juliana Cordeiro e à Roberta de Oliveira pelo auxílio durante os experimentos de PCR em tempo real.

Ao prof. Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima e aos colegas do Laboratório de Farmacologia Gastrointestinal e Dinâmica das Infecções Entéricas, Enteropatia Tropical e Desnutrição (UFC) que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho. Em especial, ao Pedro Henrique Quintela pelo auxílio durante os experimentos de extração de DNA.

Ao Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses por conceber e projetar os experimentos de análise da função renal; pelo tempo dedicado e paciência, pela ajuda com as análises laboratoriais e estatísticas dessa parte do trabalho.

A Prof. Dra. Alice Maria Costa Martins e aos colegas do Laboratório de Nefrologia e Doenças Tropicais (UFC) que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho. Em especial, à querida Gabriela Freire Bezerra e à Thaiany Pereira pelo auxílio durante as dosagens dos biomarcadores de lesão renal.

À Célia, técnica de enfermagem do Posto de saúde da localidade e à Silvely, agente comunitária de Bananeiras, que deram o apoio junto à comunidade, ajudando na sua mobilização durante a etapa de coleta das amostras.

Aos habitantes de Bananeiras, Ceará, por seu espírito hospitaleiro e pela motivação de fazer um trabalho que traria benefícios à comunidade.

Aos colegas de turma das disciplinas cursadas pelo convívio e pelas trocas de experiências.

Aos professores dos Programas de Pós-graduação em Ciências Médicas, Saúde Coletiva, Patologia, e Odontologia, UFC, pelos ensinamentos durante as disciplinas cursadas no meu Doutorado.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Ivone e Rita, pelo auxílio, atenção e simpatia.

À Biblioteca de Ciências da Saúde (BCS)/UFC em prover acesso gratuito local e remoto à informação técnico-científica em saúde custeada com recursos públicos federais, integrante do rol de referências desta Tese, também pelo auxílio na normalização da mesma, em especial, à bibliotecária Nicácia Lina.

À Secretaria de Saúde de Capistrano, na pessoa do Dr. Pedro Barbosa – Secretário de Saúde, que concedeu apoio e colaboração à execução desse projeto.

À Secretaria de Saúde do Estado do Ceará pela disponibilização dos medicamentos para a realização do tratamento para esquistossomose.

Ao Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Ceará (LACEN-CE) pela disponibilização dos kits de diagnóstico Helm Test[®].

À CAPES pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao CNPq pelo financiamento de parte da pesquisa.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, que, através do PRONEX, possibilitou auxílio financeiro.

Ao Neels van Rooyen da *Rapid Medical Diagnostics* e ao Santiago Nicholls da Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) pela doação dos kits POC-CCA[®].

À *University of Georgia Research Foundation, Inc./Bill & Melinda Gates Foundation/ Schistosomiasis Consortium for Operational Research and Evaluation (SCORE)* pelo apoio financeiro destinado à execução dos ensaios UCP-LF CAA e à publicação do artigo científico dessa parte da Tese.

“ Viver é afinar o instrumento
De dentro pra fora
De fora pra dentro
A toda hora, todo momento...
Tudo é uma questão de manter
A mente quieta
A espinha ereta
E o coração tranquilo...”

Walter Franco

RESUMO

A esquistossomose situa-se no grupo das Doenças Tropicais Negligenciadas e continua sendo um problema de saúde pública em várias partes do mundo, incluindo o Brasil. O diagnóstico em ambientes de baixa transmissão requer técnicas com alta sensibilidade e especificidade. O envolvimento renal na esquistossomose é pouco investigado. Determinou-se a acurácia do ensaio UCP-LF CAA para o diagnóstico de *Schistosoma mansoni* em ambiente de baixa prevalência no Ceará, antes (*baseline*) e pós-tratamento, e investigou-se o dano renal glomerular e a associação dos biomarcadores renais com os níveis de *Circulating Anodic Antigen* (CAA). Amostras de 258 participantes foram investigadas por UCP-LF CAA, POC-CCA, SWAP-ELISA e Kato-Katz (KK); seleção de 128 fezes por PCR em tempo real. Três e seis semanas pós-tratamento, amostras foram avaliadas por detecção de CAA e *Circulating Cathodic Antigen* (CCA). Dois grupos foram formados baseados no UCP-LF CAA para avaliação renal: participantes CAA-positivos (GP) e negativos (GN) na *baseline*. Quantificou-se albuminúria, proteinúria, estresse oxidativo urinário, uVEGF e uMCP-1, dosados novamente 1, 2 e 3 anos pós-tratamento. Ensaio UCP-LF CAA detectaram 80 positivos (31%) com urina e 82 (31,8%) com soro. POC-CCA e SWAP-ELISA detectaram 30 (11,6%) e 107 (40,7%) positivos, respectivamente. KK revelou 4 positivos (1,6%). Entre os 128 participantes, 19 foram identificados por PCR (14,8%); Sensibilidades e especificidades dos UCP-LF CAA, versus um padrão de referência combinado (CCA/KK/PCR), variaram de 60-68% a 68-77%, respectivamente. Houve maior sensibilidade para o CAA urinário (80%), seguido pelo CAA sérico (70,9%), SWAP-ELISA (43,6%), PCR (34,5%), POC-CCA (29,1%) e KK (3,6%), versus uma referência comparativa (CAA/KK/PCR). Houve diminuição nos níveis de CAA (urina e soro) 3 e 6 semanas pós-tratamento. Ensaio UCP-LF CAA revelaram 33 e 28 participantes infectados no acompanhamento pós-tratamento de 3 e 6 semanas, respectivamente. GP apresentou albuminúria e proteinúria aumentadas e maiores associações entre os biomarcadores renais na *baseline*. Os níveis de CAA urinário tiveram correlação apenas com os de uVEGF. Não foram observadas diferenças nos biomarcadores renais em nenhum dos tempos do prospectivo pós-tratamento, assim como destes em relação ao *baseline*. Ensaio UCP-LF CAA mostraram alta sensibilidade para o diagnóstico de *S. mansoni* em ambiente de baixa endemicidade e utilidade para avaliar as taxas de cura pós-tratamento. Os participantes apresentaram sinais aumentados de dano glomerular que podem estar associados à lesão podocitária.

Palavras-chave: Esquistossomose. *Schistosoma mansoni*. Diagnóstico. Antígeno Anódico Circulante (CAA). *Up-Converting Phosphor – Lateral Flow (UCP-LF)*. Doença renal. Biomarcadores renais.

ABSTRACT

Schistosomiasis is in the Neglected Tropical Diseases group and remains a public health problem in many parts of the world, including Brazil. Diagnosis in low-transmission settings requires techniques with high sensitivity and specificity. Kidney involvement in schistosomiasis is poorly investigated. We determined the accuracy of UCP-LF CAA assay for *Schistosoma mansoni* diagnosis in low-prevalence setting in Ceará, before (baseline) and posttreatment, and the glomerular renal damage and the association of kidney biomarkers with Circulating Anodic Antigen (CAA) levels were investigated. Samples of 258 participants were investigated by UCP-LF CAA, POC-CCA, SWAP-ELISA and Kato-Katz (KK); selection of 128 stools by real-time PCR. Three and 6-weeks posttreatment, samples were evaluated by CAA and *Circulating Cathodic Antigen* (CCA) detection. Two groups were formed based on the UCP-LF CAA for renal evaluation: CAA-positive (GP) and negative (GN) subjects at baseline. Albuminuria, proteinuria, urinary oxidative stress, uVEGF and uMCP-1 were quantified, re-dosed 1, 2 and 3 years post-treatment. UCP-LF CAA assays detected 80 positives (31%) with urine and 82 (31.8%) with serum. POC-CCA and SWAP-ELISA detected 30 (11.6%) and 107 (40.7%) positives, respectively. KK revealed 4 positives (1.6%). Among the 128 individuals, 19 were identified by PCR (14.8%); Sensitivities and specificities of the UCP-LF CAA, versus a combined reference standard (CCA/KK/PCR), ranged from 60–68% to 68–77%, respectively. There was greater sensitivity for the urine CAA (80%), followed by the serum CAA (70.9%), SWAP-ELISA (43.6%), PCR (34.5%), POC-CCA (29.1%) and Kato-Katz (3.6%), versus a comparative reference (CAA/KK/PCR). There was decrease in the CAA levels (urine and serum) 3 and 6-weeks posttreatment. UCP-LF CAA assays revealed 33 and 28 infected participants at the 3- and 6-week post-treatment follow-up, respectively. GP showed increased albuminuria and proteinuria and greater associations between kidney biomarkers at baseline. Urinary CAA levels correlated only with uVEGF levels. No differences in kidney biomarkers were observed at any of the prospective posttreatment times, as well as these in relation to the baseline. UCP-LF CAA assays showed high sensitivity for the diagnosis of *S. mansoni* in low-endemicity setting and utility for evaluating cure rates posttreatment. The participants had increased signals of glomerular damage that may be associated with podocyte injury.

Keywords: Schistosomiasis. *Schistosoma mansoni*. Diagnostic. Circulating Anodic Antigen (CAA). Up-Converting Phosphor – Lateral Flow (UCP-LF). Kidney disease. Kidney biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Ciclo de vida do <i>Schistosoma mansoni</i>	24
Figura 2	– Distribuição da esquistossomose, mundo, 2012.....	25
Figura 3	– Áreas endêmicas para <i>Schistosoma mansoni</i> , Brasil.....	27
Figura 4	– Positividade para <i>Schistosoma mansoni</i> , Ceará.....	28
Figura 5	– Princípio do ensaio <i>Up-Converting Phosphor-Lateral Flow (UCP-LF)</i> para detecção do CAA.....	39
Figura 6	– Microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas fosforescentes $Y_2O_3S: Yb^{3+}, Er^3$ de 400 nm aplicadas no ensaio UCP- LF.....	40
Figura 7	– Princípio de <i>up-conversion</i> ; Processo multi-fóton que converte luz de baixa energia (infravermelho) em luz de alta energia (radiação visível). O íon Er^3 emite luz verde (550nm).....	41
Figura 8	– Representação esquemática da estrutura glomerular com suas células e biomarcados urinários.....	53
Figura 9	– Mapa do Estado do Ceará localizando o Município de Capistrano. À direita, vista ampliada mostrando as áreas limítrofes do município.....	56
Figura 10	– Fotos da Localidade de Bananeiras; Etapa de assinatura do TCLE e aplicação dos questionários, 2013.....	57
Figura 11	– Fotos do acondicionamento dos criotubos contendo as amostras para transporte internacional conforme a norma IATA; a. Embalagens terciárias; b. Embalagens primárias (bags).....	60
Figura 12	– Preparação da técnica de Kato – Katz, pelo Kit Helm Test®	61
Figura 13	– Ilustração da tira (strip) específica para CAA utilizada no ensaio UCP- LF.....	62
Figura 14	– Visão geral do ensaio de fluxo lateral baseado na <i>up- conversion</i> de nanopartículas fosforescentes (<i>Up-Converting Phosphor - Lateral Flow – UCP-LF</i>).....	65
Figura 15	– Ilustração dos resultados positivo e negativo no ensaio UCP- LF.....	66

Figura 16 – Kit Bilharzia (<i>Schistosoma</i>) da <i>Rapid Medical Diagnostics</i> [®] (Pretoria, África do Sul).....	68
Figura 17 – Ilustração esquemática das etapas do estudo.....	71
Figura 18 – Fluxograma detalhando a participação do estudo e adesão das pessoas para a submissão de amostras para o diagnóstico da infecção por <i>S. mansoni</i> antes e após a administração de praziquantel na comunidade de Bananeiras CE	75

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Diagrama de dispersão das concentrações de CAA séricas e urinárias, conforme determinado pelo ensaio UCP-LF CAA na <i>baseline</i> (A), 3 semanas (B) e 6 semanas (C) após o tratamento com PZQ.....	84
Gráfico 2 – Decréscimo dos níveis de CAA, mostrando os respectivos valores antes e 3 e 6 semanas após o tratamento com PZQ.....	85
Gráfico 3 – Correlações dos níveis de CAA de <i>S. mansoni</i> na urina (pg / mL) determinados pelo UCP-LF CAA (UCAA 2000) com as pontuações de intensidade do POC-CCA na <i>baseline</i> (A) e 3 semanas após o tratamento (B).....	86
Gráfico 4 – Albuminúria e proteinúria dos grupos positivo e negativo para infecção por <i>S. mansoni</i> , baseado na detecção de CAA na urina, antes do tratamento (<i>baseline</i>).....	88
Gráfico 5 – Dispersão em matriz dos parâmetros renais na <i>baseline</i> em cada grupo; (A): Grupo CAA-negativo e (B): Grupo CAA-positivo.....	89
Gráfico 6 – Dispersão dos níveis de CAA na urina e aumento do VEGF urinário.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Prevalência de <i>S. mansoni</i> na <i>baseline</i> de acordo com diferentes abordagens diagnósticas (n=258)	76
Tabela 2 – Número de casos positivos por faixa etária, de acordo com diferentes abordagens diagnósticas	77
Tabela 3 – Acordo entre as diferentes abordagens diagnósticas	78
Tabela 4 – Número de resultados positivos e negativos do ensaio <i>up-converting phosphor – lateral flow</i> que detecta o antígeno anódico circulante na urina (UCAA2000) e no soro (SCAA500), e do SWAP-ELISA para o diagnóstico de <i>S. mansoni</i> contra um padrão de referência combinado de positividade de infecção por ovos (Kato-Katz) e / ou PCR e / ou teste POC-CCA*, em amostras do Brasil (n = 25 positivos).....	79
Tabela 5 – Características diagnósticas de várias abordagens utilizadas para o diagnóstico de <i>S. mansoni</i> contra uma referência comparativa de positividade de infecção por ovos (Kato-Katz) e/ou PCR e/ou ensaios UCP-LF CAA ^a , em amostras do Brasil (n = 55 positivos)	80
Tabela 6 – Comparação do número de casos positivos no UCP-LF CAA (urina e soro) da <i>baseline</i> e de 3 e 6 semanas após tratamento com praziquantel (n=128)..	81
Tabela 7 – Diagnóstico da infecção por <i>S. mansoni</i> pelos ensaios UCAA2000 e SCAA500, 3-6 semanas após o tratamento.....	82
Tabela 8 – Características dos grupos de participantes para a análise de função renal glomerular	87
Tabela 9 – Biomarcadores de função renal glomerular na <i>baseline</i>	88
Tabela 10 – Correlação de CAA urinário com parâmetros renais no grupo positivo na <i>baseline</i>	89
Tabela 11 – Biomarcadores de função renal glomerular do prospectivo de 1,2, e 3 anos pós-tratamento	91
Tabela 12 – Biomarcadores de função renal glomerular: Prospectivo de 1,2 e 3 anos pós-tratamento vs. <i>baseline</i>	92

Tabela 13 – Análise de correlação de uVEGF e CAA urinário na <i>baseline</i> com albuminúria no prospectivo de 1, 2 e 3 anos pós-tratamento no grupo positivo	93
Tabela 14 – Análise de regressão linear de uVEGF e CAA urinário na <i>baseline</i> com albuminúria no prospectivo de 1, 2 e 3 anos pós-tratamento no grupo positivo	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AWA-TCA	<i>Adult Worm Antigen - Trichloroacetic acid</i>
Baseline	Início do estudo – antes do tratamento
C3	Componente 3 do sistema complemento
CAA	<i>Circulating Anodic Antigen</i> (Antígeno Anódico Circulante)
CCA	<i>Circulating Cathodic Antigen</i> (Antígeno Catódico Circulante)
DRC	Doença Renal Crônica
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
FC	<i>Flow Control</i> (Região Controle, Linha Controle)
GP	Grupo CAA-positivo
GN	Grupo CAA-negativo
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i>
IgA	Imunoglobulina A
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
IL-1	Interleucina-1
IL-1β	Interleucina-1 beta
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
IFN-γ	Interferon-gama
kDa	Quilodalton
LPBM	Laboratório de Pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos
LPS	<i>Lipopolysaccharides</i> (Lipopolissacarídeos)
LRA	Lesão Renal Aguda

LUMC	<i>Leiden University Medical Center</i>
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MDA	Malonaldeído
OPG	Ovos por grama de fezes
PCE	Programa de Controle da Esquistossomose
POC-CCA	<i>Point-of-Care CCA</i>
PT	Pós-Tratamento
PZQ	Praziquantel
SCAA500	Ensaio UCP-LF CAA utilizando 500 µL de soro
SWAP-ELISA	<i>Soluble Worm Antigen Preparation - Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
T	<i>Test</i> (Região Teste, Linha Teste)
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>
TCA	<i>Trichloroacetic acid</i> (Ácido Tricloroacético)
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TNF-α	Fator de necrose tumoral-alfa
TNF- β	Fator de necrose tumoral-beta
UCAA2000	Ensaio UCP-LF CAA utilizando 2000 µL de urina
UCP-LF	<i>Up-Converting Phosphor- Lateral Flow</i>
UCPs	<i>Up-Converting Phosphors</i>
UFC	Universidade Federal do Ceará
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	Esquistossomose: Aspectos gerais	22
1.2	Epidemiologia da esquistossomose no mundo, no Brasil e no Ceará	25
1.3	Diagnóstico laboratorial da infecção por <i>S. mansoni</i>	29
<i>1.3.1</i>	<i>Métodos parasitológicos</i>	29
<i>1.3.2</i>	<i>Métodos moleculares</i>	30
<i>1.3.3</i>	<i>Métodos imunológicos</i>	33
<i>1.3.3.1</i>	<i>Detecção de anticorpos de <i>S. mansoni</i></i>	33
<i>1.3.3.2</i>	<i>Detecção de antígenos de <i>S. mansoni</i></i>	35
1.4	Tratamento	42
1.5	Patogenia da esquistossomose mansoni	44
1.6	Envolvimento renal na esquistossomose mansoni	45
1.7	Albuminúria e proteinúria	48
1.8	Estresse oxidativo urinário/Malonaldeído (MDA)	49
1.9	O uso de novos biomarcadores renais urinários	50
1.10	Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1/CCL2)	51
1.11	Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	52
2	OBJETIVOS	55
2.1	Objetivo geral	55
2.2	Objetivos específicos	55
3	METODOLOGIA	56
3.1	Tipo de estudo	56
3.2	Área e população de estudo	56
<i>3.2.1</i>	<i>Critérios de inclusão</i>	58
<i>3.2.2</i>	<i>Critérios de exclusão</i>	58
<i>3.2.3</i>	<i>Critérios de seleção dos grupos para uma subcoorte destinada à avaliação da função renal glomerular</i>	58
3.3	Aplicação dos questionários	59
3.4	Coleta e transporte do material biológico	59
<i>3.4.1</i>	<i>Coleta de sangue, fezes e urina</i>	59

3.4.2	<i>Transporte do material biológico para realização dos ensaios UCP-LF CAA</i>	59
3.5	Técnicas de diagnóstico para a infecção por <i>S. mansoni</i>	60
3.5.1	<i>Técnica de Kato-Katz</i>	61
3.5.2	Ensaio Up- Converting Phosphor – Lateral Flow Circulating Anodic Antigen – UCP-LF CAA	61
3.5.2.1	<i>Produção das tiras (strips) e do conjugado UCP^{MaCAA}</i>	62
3.5.2.2	<i>Pré-tratamento das amostras</i>	63
3.5.2.3	<i>Concentração das amostras</i>	63
3.5.2.4	<i>Ensaio UCP-LF CAA</i>	64
3.5.3	Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (PCR)	66
3.5.3.1	<i>Extração e purificação do DNA de amostras de fezes</i>	67
3.5.3.2	<i>PCR em tempo real para detecção de <i>S. mansoni</i></i>	67
3.5.4	Detecção do Antígeno Catódico Circulante (CCA) - POC-CCA	68
3.5.5	Detecção de anticorpos contra <i>S. mansoni</i>	69
3.6	Tratamento	69
3.7	Análise da função renal glomerular	69
3.7.1	<i>Creatinina e albumina urinárias</i>	69
3.7.2	<i>Proteinúria</i>	69
3.7.3	<i>Estresse oxidativo urinário – Malonaldeído (MDA)</i>	70
3.7.4	<i>Quantificação dos novos biomarcadores de lesão renal</i>	70
3.8	Análises estatísticas	71
3.9	Aspectos éticos	73
4	RESULTADOS	74
4.1	Características de adesão e população (avaliação das abordagens de diagnóstico de <i>S. mansoni</i>)	74
4.2	Resultados individuais dos testes e prevalência de <i>S. mansoni</i> antes do tratamento de acordo com a abordagem diagnóstica	76
4.3	Desempenhos de diferentes abordagens de diagnóstico de <i>S. mansoni</i> antes do tratamento – Sensibilidade e especificidade das técnicas de diagnóstico usando um padrão de referência combinado	77
4.4	Leituras pós-tratamento e avaliação da eficiência do PZQ	81
4.5	Correlação dos níveis de CAA sérico e urinário	82

4.6	Avaliação da eficiência do PZQ por mudanças nos níveis de CAA	83
4.7	Correlação dos níveis de CAA urinário e as pontuações de intensidade do POC-CCA	86
4.8	Características de adesão e população (avaliação da função renal glomerular	87
4.9	Biomarcadores de dano renal glomerular – <i>baseline</i>	87
4.10	Correlação dos níveis de CAA urinário e os biomarcadores de dano renal glomerular – <i>baseline</i>	89
4.11	Biomarcadores de dano renal glomerular – Análises do prospectivo de 1, 2 e 3 anos pós-tratamento	90
5	DISCUSSÃO	94
6	CONCLUSÕES	106
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
	REFERÊNCIAS	108
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	140
	APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO DO MENOR	145
	APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO SOCIOAMBIENTAL	150
	APÊNDICE D – QUESTIONÁRIO COMPLEMENTAR: PESQUISA DE CO-MORBIDADES, USO DE MEDICAMENTOS E HÁBITOS DE VIDA	156
	ANEXO A – PARECERES CONSUBSTANCIADOS DO CEP	159
	ANEXO B – ARTIGO PUBLICADO	166

1 INTRODUÇÃO

1.1 Esquistossomose: Aspectos gerais

A esquistossomose, amplamente conhecida como bilharziose, continua sendo um problema de saúde pública em várias partes do mundo, especialmente na África, e situa-se dentro do grupo das Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs): um grupo diversificado de doenças transmissíveis que prevalecem em condições tropicais e subtropicais em 149 países. Estas afetam mais de um bilhão de pessoas, principalmente as populações que vivem na pobreza, sem saneamento adequado, e custam bilhões de dólares às economias em desenvolvimento todos os anos (WHO, 2019).

O Brasil contribui substancialmente para as elevadas taxas de detecção de DTNs na região da América Latina e Caribe, sendo o responsável por 96% dos casos de esquistossomose, 93% de leishmaniose visceral, 86% de hanseníase, 40% de dengue, 39% de leishmaniose cutânea e 25% da doença de Chagas, dentre outras (HOTEZ; FUJIWARA, 2014). Em estudo que avaliou a mortalidade por DTNs no Brasil durante um período de 12 anos (2000-2011), a esquistossomose foi a segunda maior causa de mortes, depois apenas da Doença de Chagas (MARTINS-MELO *et al.*, 2016).

A esquistossomose (CID 10: B65) é uma doença infecto-parasitária, adquirida por meio do contato com água doce contaminada por cercárias (forma larval) de um parasito multicelular, pertencente ao filo Platyhelminthes, classe Trematoda, família Schistomatidae, e gênero *Schistosoma*. Esses vermes são delgados, de coloração leitosa, digenéticos (organismos que completam seu ciclo evolutivo passando pelo menos por dois hospedeiros), dioicos (animais de sexos separados), com nítido dimorfismo sexual; a fêmea adulta é mais alongada e encontra-se alojada em uma fenda do corpo do macho denominada de canal ginecóforo (BRASIL, 2019).

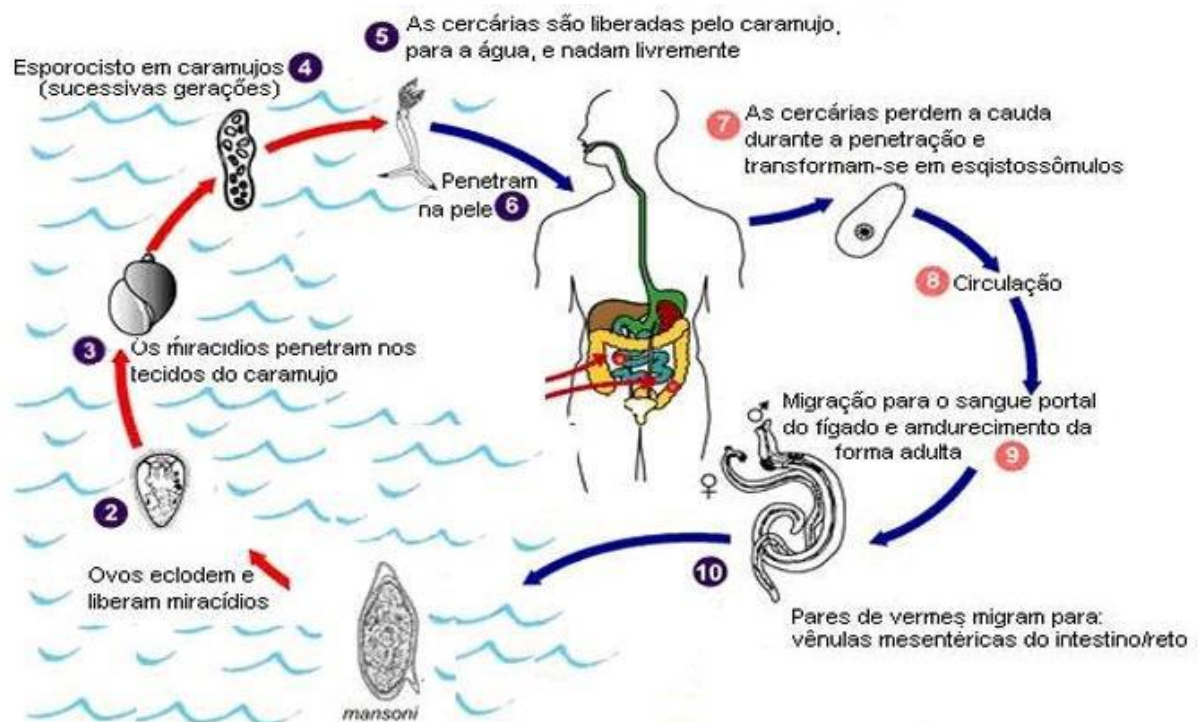
As principais espécies envolvidas na transmissão dessa doença aos seres humanos no mundo são: *Schistosoma haematobium* – agente etiológico da esquistossomose urogenital, comum na África, Oriente Médio e Córsega (França); *Schistosoma mansoni* – agente etiológico da esquistossomose intestinal, presente na África, Oriente Médio e característico das Américas (Caribe, Brasil, Venezuela e Suriname); *Schistosoma japonicum* – agente etiológico da esquistossomose intestinal, encontrado na Ásia (principalmente na China, Indonésia e Filipinas); *Schistosoma mekongi* – agente etiológico da esquistossomose intestinal, encontrado no Sudeste Asiático (vários distritos do Camboja e da República

Democrática Popular do Laos); e *Schistosoma guineensis* e *Schistosoma intercalatum* – agentes etiológicos da esquistossomose intestinal, encontrados em áreas de floresta tropical da África Central (WHO, 2018). A distribuição espacial das espécies é determinada principalmente pela presença dos planorbídeos (caramujos) específicos como hospedeiros intermediários de cada uma delas (*S. mansoni* associa-se ao gênero *Biomphalaria*, *S. haematobium* está relacionado ao gênero *Bullinus* e *S. japonicum* ao gênero *Oncomelania*) (COLLEY *et al.*, 2014).

De todas as espécies do gênero *Schistosoma* que infectam humanos, apenas *S. mansoni* está presente nas Américas. Esse trematódeo possui diferentes fases de vida que se desenvolvem em moluscos do gênero *Biomphalaria* (hospedeiro intermediário) e no homem (hospedeiro vertebrado), e as fases de vida livre (miracídio e cercária) (COLLEY *et al.*, 2014).

O indivíduo infectado elimina ovos da fêmea de *S. mansoni* nas fezes que ao entrarem em contato com a água eclodem liberando os miracídios (larvas ciliadas) que nadam e, guiados pela luz e por estímulos químicos, penetram em caramujos do gênero *Biomphalaria*. Nestes ocorre a multiplicação assexuada em esporocistos primário e secundário que, após cerca de quatro a sete semanas, darão origem a milhares de larvas cercarianas, que são liberadas pelo estímulo da luz e do calor na água, nadando livremente por até 72 horas. Elas penetram na pele, podendo causar a dermatite cercariana (erupções cutâneas), que pode durar de horas até uma semana (CDC, 2018; GRYSEELS *et al.*, 2012).

Após a penetração, as cercárias perdem suas caudas bifurcadas, transformando-se rapidamente em esquistossômulos, que migram pela circulação sistêmica até diversos locais do organismo, principalmente o fígado (veias porta), onde se concluirá o amadurecimento sexual e a transformação em vermes adultos, que se acasalam e migram pela veia porta até o plexo mesentérico. A postura dos ovos ocorre nos ramos terminais das vênulas da submucosa intestinal. Estes se movimentam progressivamente em direção ao lúmen do intestino grosso, sendo excretado juntamente com as fezes do hospedeiro; momento em que o ciclo inicia-se novamente (Figura 1) (COLLEY *et al.*, 2014; GRYSEELS *et al.*, 2012).

Figura 1 – Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni*

Fonte: Adaptado de dpd.cdc.gov.

Os hospedeiros intermediários da doença são moluscos do gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 (Mollusca: Pulmonata, *Planorbidae*). No Brasil foram reconhecidas dez espécies e uma subespécie, dentre as quais apenas três – *B. glabrata* (Say, 1818), *B. tenagophila* (Orbigny, 1835) e *B. straminea* (Dunker 1848) – são encontradas naturalmente infectadas (BRASIL, 2008), e pelo menos uma dessas espécies já foi notificada em 25 das 27 unidades federativas do País, com exceção dos Estados Amapá e Rondônia (BRASIL, 2014).

Apesar de *B. glabrata* ser a espécie de maior importância epidemiológica, devido aos altos níveis de infecção e pela eficiência na transmissão da esquistossomose, *B. straminea* é a de maior distribuição e melhor adaptada a variações climáticas (BRASIL, 2014; CARVALHO *et al.*, 2005). *B. straminea* é o hospedeiro intermediário responsável pela transmissão da esquistossomose no Ceará, estando presente em todos os municípios do estado (SESA-CE, 2016).

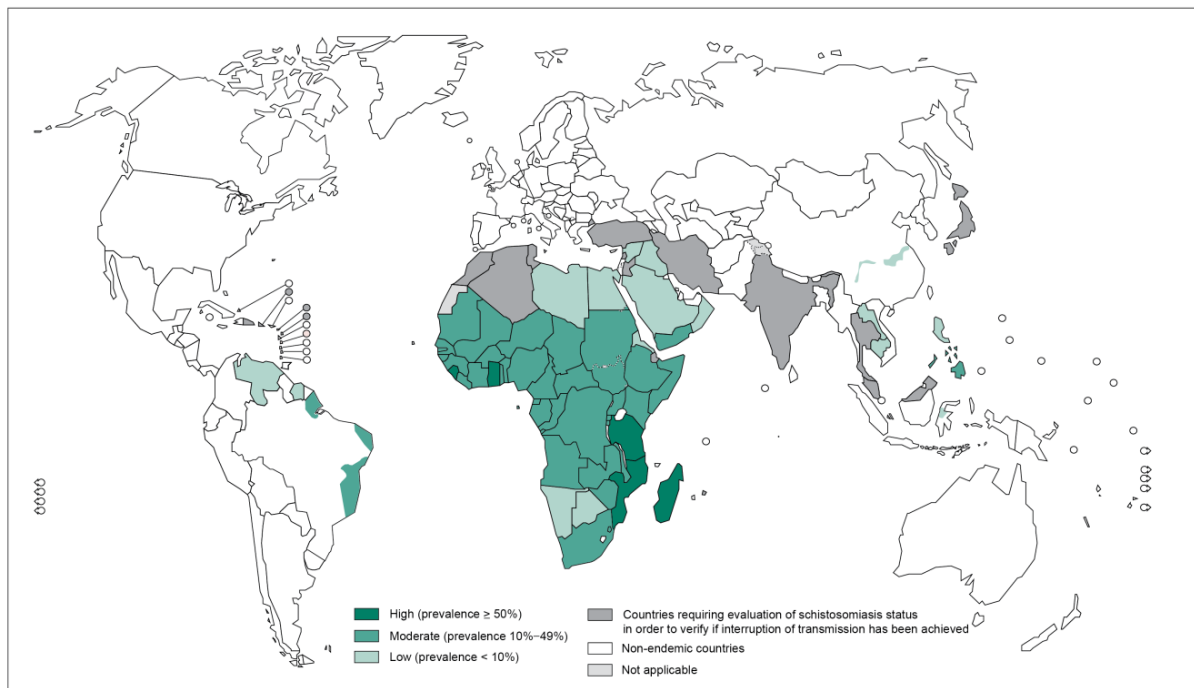
Após anos de medidas de controle integradas, o controle da esquistossomose continua sendo um desafio, com persistência e expansão de focos de doença. A intensa migração de pessoas, combinada com a permanência de condições sanitárias inadequadas em

muitas regiões e a ampla distribuição geográfica de hospedeiros intermediários favorecem a persistência e o estabelecimento de novos focos no Brasil (BRASIL, 2014).

1.2 Epidemiologia da esquistossomose no mundo, no Brasil e no Ceará

A esquistossomose afeta 78 países do mundo, em áreas tropicais e subtropicais, com mais de 240 milhões de pessoas infectadas (Figura 2) e aproximadamente 800 milhões de pessoas em risco vivendo em áreas endêmicas de países situados principalmente na África, Ásia e América Latina (WEERAKOON *et al.*, 2015). Depois da malária, constitui a doença parasitária com maior número de pessoas infectadas e em risco, particularmente as comunidades pobres e rurais sem acesso à água potável e saneamento adequado. Estima-se que mais de 90% das pessoas com necessidade de tratamento para esquistossomose vivem na África (STEINMANN *et al.*, 2006; WHO, 2018).

Figura 2 – Distribuição da esquistossomose, mundo, 2012



Fonte: WHO, 2014.

Dependendo dos determinantes locais, a epidemiologia pode variar fortemente de uma localidade para outra. Em regiões endêmicas para esquistossomose, a forma crônica da doença é a predominante, resultante da exposição repetida à cercárias infectantes. A esquistossomose afeta em especial as populações agrícolas e de pesca. No entanto, as

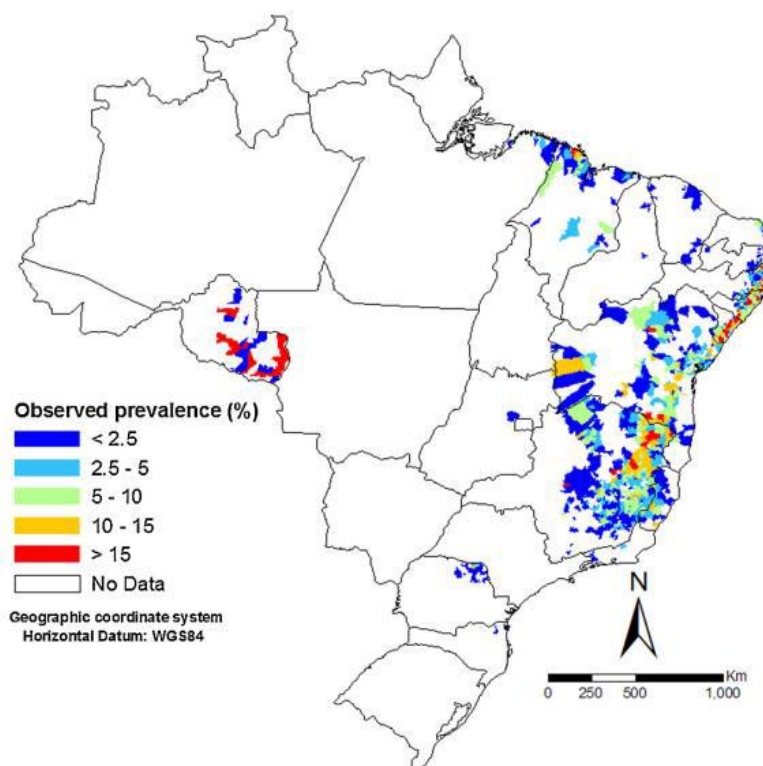
migrações para as áreas urbanas e os movimentos populacionais estão introduzindo a doença para novas áreas. Normalmente, a maior prevalência e intensidades de infecção ocorrem em jovens adolescentes, uma vez que o contato com água infectada e hábitos de higiene inadequados tornam estes especialmente vulneráveis à infecção. Mulheres que fazem tarefas domésticas em águas infectadas, como lavar roupas, também estão em risco. (COLLEY *et al.*, 2014;WHO, 2018). A frequência de infecções por *Schistosoma* entre bebês e as crianças em idade pré-escolar é cada vez mais reconhecida (STOTHARD *et al.*, 2011).

No Brasil, a entrada da doença deu-se principalmente através do tráfico de escravos, trazidos da costa ocidental da África pelos portugueses durante o período colonial. A maioria chegou pelos portos das cidades de Recife e Salvador para trabalhar inicialmente nas lavouras de cana de açúcar do Nordeste brasileiro e posteriormente fluxos migratórios internos ocorreram por conta de novos ciclos econômicos: do ouro, da criação de gado, da borracha e industrialização (BRASIL, 2014).

A estimativa é de 1,5 milhões de indivíduos infectados pelo *S. mansoni* (abaixo de 1%), de acordo com dados obtidos pelo Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose e Geo-Helminthoses (INPEG), promovido pelo Ministério da Saúde (MS), (2011-2014), através da SVS (Secretaria de Vigilância em Saúde). As macrorregiões Sudeste (2,35%) e Nordeste (1,27%) apresentaram as maiores taxas de positividade. Os estados com os maiores índices de positividade geral foram Sergipe (8,1%), Minas Gerais (3,8%), Alagoas (2,3%), Bahia (2,1%), Pernambuco (2,1%) e Rio de Janeiro (1,6%) (KATZ, 2018).

Em todas as regiões do país há registros de transmissão da doença, abrangendo 18 estados da federação e o Distrito Federal (Figura 3). Está presente de forma endêmica nos estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Maranhão, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe. Existem ainda focos de transmissão no Pará, Ceará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Goiás e Rio Grande do Sul. As principais causas de óbito estão relacionadas às formas clínicas graves. Entre 2006 e 2015, registraram-se, em média, 508 óbitos anuais pela doença no país (BRASIL, 2019).

Figura 3 – Áreas endêmicas para *Schistosoma mansoni*, Brasil



Fonte: Scholte *et al.*, 2014.

Um estudo de mortalidade relacionada à esquistossomose no Brasil entre 2000 e 2011 mostrou que as maiores taxas de mortalidade são oriundas da região Nordeste, e que apesar da redução da mortalidade, a esquistossomose ainda é uma causa de morte negligenciada no Brasil, com diferenças regionais consideráveis, sendo mencionada como morte subjacente ou associada em mais de 8.000 mortes nesse período (MARTINS-MELO *et al.*, 2014). A análise espaço-temporal realizada por Martins-Melo *et al.* (2015) identificou agrupamentos de óbitos de alto risco, principalmente em áreas altamente endêmicas de esquistossomose ao longo da costa da região Nordeste.

No Ceará, o primeiro inquérito coproscópico foi realizado em 1940 por Alencar quando se encontrou casos autóctones na cidade de Redenção, com positividade de 12,2% em 199 amostras estudadas (ALMEIDA, 1999).

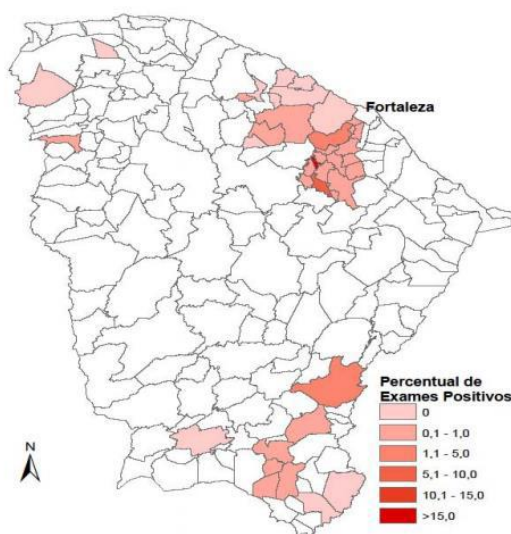
Pontes *et al.* (1999) apontaram quatro focos principais como área endêmica em nosso Estado: I) a Região Hidrográfica Pacoti-Choró-Pirangi (Aracoiaba; Aratuba; Baturité; Capistrano; Guaramiranga; Itapiúna; Maranguape; Mulungu; Pacatuba; Pacoti; Palmácia; Redenção), onde as maiores prevalências eram nas localidades banhadas pelo Rio Pacoti e Rio Choró. O Maciço de Baturité era o principal foco por abranger 10 municípios com altos

índices de positividade (em relação ao Estado do Ceará); II) a Região Hidrográfica do Rio Curu, área que na época possuía um projeto de irrigação do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas – DNOCS e onde a alta densidade de caramujos transmissores da esquistossomose nos canais de irrigação contribuía para a persistência do foco; III) a cidade de Quixadá e localidades periféricas, que tinham seus focos alimentados pelos canais de irrigação que provinham do Açude Cedro e do Rio Sitiá, afluente do Rio Jaguaribe; IV) a Região Hidrográfica do Rio Jaguaribe, que abrangia os municípios de Barbalha, Crato, Juazeiro do Norte e Missão Velha.

No início das ações do Programa Especial de Controle da Esquistossomose – PECE no Ceará, segundo semestre de 1976, o município de Capistrano apresentou, no período de 1977-79, 22 localidades positivas e no período de 1988-89, 18 localidades; tendo um decréscimo de 18% no número de localidades positivas. Posteriormente a 1988-89, houve uma ligeira tendência ascendente, que na maioria dos casos atingiu o pico máximo em 1994 (26,5% para Capistrano, um acréscimo de 53 vezes no período de 1989 à 1994) (PONTES *et al.*, 1999).

Segundo os dados do boletim epidemiológico da Secretaria de Saúde do Ceará, o Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) é realizado desde 1977, em 71 dos 184 (38,5%) municípios cearenses, e tem trabalhado de forma rotineira principalmente em municípios das principais áreas endêmicas do Estado: Maciço de Baturité, Região do Cariri e Serra da Ibiapaba (Figura 4) (SESA-CE, 2016).

Figura 4 – Positividade para *Schistosoma mansoni*, Ceará



Fonte: SESA-CE, 2015.

1.3 Diagnóstico laboratorial da infecção por *S. mansoni*

O diagnóstico laboratorial engloba métodos parasitológicos, moleculares e imunológicos.

1.3.1 Métodos parasitológicos

O diagnóstico das infecções por *S. mansoni* é rotineiramente realizado pela detecção microscópica de ovos do parasito nas fezes (GRYSEELS, 2012; COLLEY *et al.*, 2014), utilizando a técnica de Kato-Katz. Esta, originalmente desenvolvida em meados dos anos 1950 pelos pesquisadores japoneses Kato e Miura (1954), e modificada por Katz, Chaves e Pellegrino (1972), é recomendada pela Organização Mundial da Saúde e ainda é a mais utilizada em inquéritos epidemiológicos relativos à esquistossomose intestinal (UTZINGER *et al.*, 2011).

O Kato-Katz é uma técnica simples, rápida, de custo relativamente baixo, sensível (em áreas de moderada a alta endemicidade), quantitativa, que fornece informações básicas de carga parasitária e, conseqüentemente, intensidade de infecção. No entanto, há uma diminuição acentuada da sensibilidade em áreas de baixa endemicidade, que resulta na subestimação da prevalência dessa infecção, sendo, portanto, necessário o desenvolvimento de outras ferramentas para diagnóstico e vigilância (CAVALCANTI *et al.*, 2013; COLLEY *et al.*, 2017; UTZINGER *et al.*, 2015).

Vários estudos demonstraram que a sensibilidade do Kato-Katz pode ser aumentada pelo aumento do número de amostras e também pelo aumento do número de lâminas examinadas por amostra (RABELLO *et al.*, 2008; DA FROTA *et al.*, 2011; SIQUEIRA *et al.*, 2011; PINHEIRO *et al.*, 2012), o que é particularmente importante em áreas de baixa transmissão.

Outra estratégia é o exame de uma maior quantidade de fezes. Nesse contexto, foram desenvolvidos outros métodos parasitológicos de fezes: Método Helmintex[®], (TEIXEIRA *et al.*, 2007), Método de eclosão dos miracídios (JURBERG *et al.*, 2008) e Método Gradiente Salínico (COELHO *et al.*, 2009).

O Helmintex[®] baseia-se no processamento de uma grande quantidade de fezes (30 gramas), as quais são submetidas a uma sequência de passos de concentração, finalizando com o isolamento dos ovos pela interação com esferas paramagnéticas em um campo magnético. A análise microscópica é realizada utilizando todo o sedimento, que varia normalmente entre 0,5 e 1,0 mL (TEIXEIRA *et al.*, 2007). O Método de eclosão consiste em um dispositivo de incubação contendo um recipiente de coleta para detecção de miracídios que eclodem de uma

suspensão de fezes ao ser exposto a uma fonte luminosa quando o paciente é positivo (JURBERG *et al.*, 2008). O Método do Gradiente Salínico consiste de um dispositivo contendo soluções de diferentes concentrações salínicas que criam uma sedimentação diferencial entre os ovos de *S. mansoni* e homogeneizados de tecidos ou fezes, de modo que os ovos permanecem na parte inferior do dispositivo, enquanto que os restos de baixa densidade são suspensos para o topo da coluna de gradiente (COELHO *et al.*, 2009). Em geral, esses métodos proporcionam uma melhor sensibilidade, mas são mais trabalhosos e demorados (PINHEIRO *et al.*, 2012), o que torna mais complexa a aplicação destes em estudos epidemiológicos de larga escala.

Nesse contexto, os métodos parasitológicos necessitam ser complementados ou substituídos por técnicas imunológicas com base na detecção de antígeno ou anticorpo (VAN LIESHOUT; POLDERMAN; DEELDER, 2000; DOENHOFF; CHIODINI; HAMILTON, 2004; BERGQUIST; JOHANSEN; UTZINGER, 2009; JOHANSEN *et al.*, 2010), ou ferramentas moleculares, como abordagens baseadas na reação em cadeia da polimerase (PONTES *et al.*, 2003; TEN HOVE *et al.*, 2008; GOMES *et al.*, 2010).

1.3.2 Métodos moleculares

A técnica molecular amplamente empregada para o diagnóstico de vários patógenos infectantes, baseada na amplificação *in vitro* de uma sequência específica do DNA-alvo pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), vem sendo considerada potencialmente valiosa como uma ferramenta complementar no diagnóstico da esquistossomose (CAVALCANTI *et al.*, 2013; UTZINGER *et al.*, 2011).

Na primeira aplicação da PCR para o diagnóstico de *S. mansoni* em amostras de fezes e de soro humanas foi possível detectar até 1 fentograma de DNA (PONTES; DIAS-NETO; RABELO, 2002). Em estudo posterior desses pesquisadores em uma área endêmica para esquistossomose, localizada em Comercinho, Minas Gerais, a prevalência determinada pela PCR, utilizando apenas uma amostra fecal, foi 38,1%, enquanto a prevalência detectada pela coproscopia, realizada com utilização de três amostras fecais, foi de 30,9%. Verificou-se que a técnica de PCR mostrou uma sensibilidade de 96,7% e uma especificidade de 88% quando o exame parasitológico de fezes foi utilizado como teste de referência (PONTES *et al.*, 2003).

Nos últimos anos, a abordagem de alta tecnologia de sistemas de PCR em tempo real tem sido aplicada à parasitologia e demonstrado como eles são poderosos

instrumentos alternativos para a quantificação da carga parasitária (GOMES *et al.*, 2014). Gomes *et al.* (2006) descreveram, pela primeira vez, a utilização dessa tecnologia para o diagnóstico da esquistossomose. O método descrito empregou o sistema de detecção inespecífica do corante SYBER Green, visando um pequeno fragmento de 96bp do gene que codifica a pequena subunidade ribossômica do RNA (SSU rRNA) de *S. mansoni*. Posteriormente, em Gana, foi empregado um sistema de PCR em tempo real utilizando o sistema de detecção específica de sondas fluorescentes TaqMan[®], visando o internal - transcribed - spacer 2 (ITS-2), para a detecção de *S. haematobium* em amostras de urina (OBENG *et al.*, 2008). O formato multiplex de PCR em tempo real foi testado em amostras de fezes por ten Hove *et al.* (2008) com os iniciadores e sondas específicos para *S. haematobium* e *S. mansoni* voltados para genes da citocromo oxidase 1 (COX 1) dos parasitos.

Vários outros grupos desenvolveram ensaios adicionais altamente sensíveis e específicos baseados em PCR convencional (SANDOVAL *et al.*, 2006a; OLIVEIRA *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2012; ENK *et al.*, 2012; CARNEIRO *et al.*, 2013; LODH *et al.*, 2014; HESSLER *et al.*, 2017; DIAB *et al.*, 2019), e também em PCR em tempo real (GENTILE *et al.*, 2011; CNOPS *et al.*, 2012; WICHMANN *et al.*, 2013; ESPÍRITO-SANTO *et al.*, 2014a; SCHWARZ *et al.*, 2014; CAVALCANTI *et al.*, 2016; FUSS *et al.*, 2018) para o diagnóstico da esquistossomose. Todos se mostraram eficientes na identificação dos casos positivos, mesmo em pacientes de baixa carga parasitária, e no correto diagnóstico dos casos negativos, demonstrando melhorar o diagnóstico da infecção por *Schistosoma* como resultado das elevadas sensibilidade e especificidade desses testes em comparação com os métodos convencionais, tanto em estudos experimentais quanto em humanos.

Os ensaios de PCR utilizam diferentes genes- alvo de *Schistosoma* para a detecção específica de DNA (CNOPS *et al.*, 2012); o gene da subunidade 1 da enzima citocromo oxidase 1 – COX 1 (TEN HOVE *et al.*, 2008; GENTILE *et al.*, 2011; CAVALCANTI *et al.*, 2016; DIAB *et al.*, 2019), sequências do internal -transcribed - spacer 2 – ITS 2 (OBENG *et al.*, 2008; SCHWARZ *et al.*, 2014), uma seqüência de 121 pb altamente repetitiva ao longo do genoma de *S. mansoni* (WICHMANN *et al.*, 2009; CLERINX *et al.*, 2011; CARNEIRO *et al.*, 2013; LODH *et al.*, 2014; HESSLER *et al.*, 2017; FUSS *et al.*, 2018) e o gene da pequena subunidade do DNA ribossomal - 28S rDNA (SANDOVAL *et al.*, 2006b; CNOPS *et al.*, 2012) são exemplos de genes – alvo mais comumente empregados na literatura.

Além disso, o diagnóstico por PCR pode ser usado para detectar DNA de *Sschistosoma* em diferentes amostras clínicas, incluindo fezes (CARNEIRO *et al.*, 2013; TEN

HOVE *et al.*, 2008; GOMES *et al.*, 2010; SCHWARZ *et al.*, 2014; CAVALCANTI *et al.*, 2016; FUSS *et al.*, 2018), soro (CLERINX *et al.*, 2011; WICHMANN *et al.*, 2013), plasma (WICHMANN *et al.*, 2009), urina (OBENG *et al.*, 2008; CNOPS *et al.*, 2012; LODH *et al.*, 2014; HESSLER *et al.*, 2017; DIAB *et al.*, 2019) e secreção vaginal (KJETLAND *et al.*, 2009).

Um estudo realizado no Senegal e no Quênia sugeriu a PCR como o próximo padrão de referência para o diagnóstico de *Schistosoma* nas fezes, particularmente útil para a detecção de *S. mansoni* em áreas de baixa transmissão, configurações pós-controle e para melhorar programas de controle da esquistossomose, pesquisa epidemiológica e controle de qualidade da microscopia (MEURS *et al.*, 2015). Cavalcanti *et al.* (2016) mostraram que a detecção de DNA pode tornar-se uma ferramenta essencial para o diagnóstico da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade, onde a infecção leve com baixa carga parasitária predomina, e que a PCR em tempo real pode ser usada de forma confiável para avaliar as respostas terapêuticas e permitir estratégias de monitoramento para a vigilância da esquistossomose nessas áreas.

Simultaneamente, a maioria das limitações anteriores no uso de PCR para detectar as infecções parasitárias, incluindo presença de substâncias inibidoras e dificuldades de isolamento do DNA do parasito, foram melhoradas e simplificadas, e a superação dos problemas de contaminação já foi relatada na literatura (SUBRUNGRUANG *et al.*, 2004).

Com os avanços na aplicação da PCR, os métodos de extração de DNA também passaram por um processo de aprimoramento, melhorias e adequações; Atualmente, existe uma diversidade de kits comerciais disponíveis para extração e purificação de DNA, de forma a serem empregados nos mais diferentes tipos de fontes de DNA potenciais, ampliando o campo de utilização da PCR.

Dessa forma, métodos baseados em PCR parecem uma alternativa para o diagnóstico da esquistossomose com alta sensibilidade e especificidade (CAVALCANTI *et al.*, 2013). No entanto, a PCR continua sendo uma técnica de alto custo (reagentes e infraestruturas), embora a redução de custos possa ser obtida por modificações metodológicas, tais como o melhoramento dos métodos de extração de DNA (ENK *et al.*, 2012). Alternativamente, a detecção de DNA por novas tecnologias, como a técnica de *Loop Mediated Isothermal Amplification* (LAMP), desenvolvida por Notomi *et al.* (2000), tem sido sugerida na literatura (GANDASEGUI *et al.*, 2018; MWANGI *et al.*, 2018), mostrando-se melhor sob o aspecto custo-benefício (WANG *et al.*, 2011; NJIRU *et al.*, 2012).

1.3.3 Métodos imunológicos

O imunodiagnóstico da infecção por *Schistosoma* há algum tempo tem sido proposto na literatura para superar algumas das limitações dos métodos parasitológicos, que são: risco de falha na detecção de infecções de baixa intensidade, variação dia-a-dia e intra-espécime da excreção dos ovos de *Schistosoma* e a relativa demora das metodologias parasitológicas (HAMILTON *et al.*, 1998; VAN LIESHOUT; POLDERMAN; DEELDER, 2000; DOENHOFF; CHIODINI; HAMILTON, 2004). As abordagens imunológicas se baseiam na detecção de anticorpos ou de antígenos.

1.3.3.1 Detecção de anticorpos de *S. mansoni*

A detecção de anticorpos é considerada altamente sensível e tem sido sugerida como uma ferramenta complementar para o diagnóstico da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade e/ou após quimioterapia em larga escala (CARNEIRO *et al.*, 2012; GRENFELL *et al.*, 2013a); Estudos nessas configurações têm demonstrado que os imunoenaios são superiores ao diagnóstico parasitológico (GONÇALVES *et al.*, 2006; ALARCÓN DE NOYA *et al.*, 2007; ESPÍRITO-SANTO *et al.*, 2014b). Essa também pode ser usada para triar os viajantes sem registro de infecção anterior (BIERMAN *et al.*, 2005).

Diferentes técnicas foram desenvolvidas para o sorodiagnóstico da esquistossomose através da detecção de anticorpos; dentre os formatos que foram validados em ensaios de campo de grande escala estão o teste de hemaglutinação indireta, o teste de imunofluorescência indireta, o *circumoval precipitin test* (COPT) e o *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). O método imunoenzimático ELISA constitui a técnica mais comumente e amplamente utilizada para o diagnóstico sorológico da esquistossomose, oferecendo a possibilidade de detectar diferentes classes de anticorpos, bem como a utilização de uma vasta gama de antígenos (GOMES *et al.*, 2014).

A maioria dos ensaios de detecção de anticorpos mede a reatividade imunológica no soro ao antígeno solúvel de verme adulto, que é a fonte mais fácil e abundante de material antigênico (DOENHOFF; CHIODINI; HAMILTON, 2004), e ao antígeno solúvel do ovo do parasito para fins de diagnóstico, utilizando principalmente extratos brutos, mas também outras frações do parasito, como proteínas do tegumento do *Schistosoma*. (CAVALCANTI *et al.*, 2013). Antígenos das formas imaturas, cercárias (CHAND *et al.*, 2010; KINKEL *et al.*,

2012) e esquistossômulos também têm sido empregados (CARVALHO *et al.*, 2011; GRENFELL *et al.*, 2013b, 2013c).

Por serem de fácil preparo e terem resposta positiva no emprego em imunodiagnóstico, os extratos brutos apresentam vantagens. Porém, a utilização de preparações purificadas é muito visada devido à ausência de reações cruzadas que ocorrem através de porções antigênicas de *S. mansoni* compartilhadas por diversos parasitos, protozoários e até bactérias (BOUKLI *et al.*, 2011). Por esta razão, as pesquisas se tornam cada vez mais refinadas na utilização de antígenos purificados que induzam a formação de ligações antígeno-anticorpo mais específicas. São exemplos desses o *Major Serological Antigen* (MSA) (STEK *et al.*, 1983), o antígeno CEF6 que envolve frações antigênicas de ovos (DOENHOFF *et al.*, 2003; TURNER *et al.*, 2004), os antígenos *Adult Microsomal Antigen* (MAMA) (HANCOCK; TSANG, 1986; TORRES *et al.*, 2001), CCA (GRENFELL *et al.*, 2013d), Sm31/32 (NOYA *et al.*, 2001, 2003; SULBARAN *et al.*, 2010), RP26 (MAKAROVA *et al.*, 2003, 2005), um antígeno larval de 37 kDa que demonstrou ser um bom marcador de susceptibilidade (WU, 2002) e uma proteína tegumentar de 200-kDa de *S. mansoni* (Sm200) (CARVALHO *et al.*, 2014).

Considerando que vários antígenos estão disponíveis para fins de diagnóstico, estudos de soro-reatividade demonstram resultados variáveis, mesmo quando são usados proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos (CAVALCANTI *et al.*, 2013).

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidos vários testes rápidos para detecção de anticorpos anti - *Schistosoma*; Esse formato de teste de diagnóstico para o uso no ponto-de-cuidado (*Point-of-Care -POC*) mostra-se bastante promissor e tende a se tornar cada vez mais útil nos programas de controle de larga escala para a esquistossomose (XU *et al.*, 2011; COULIBALY *et al.*, 2013a; DAWSON *et al.*, 2013; NAUSCH *et al.*, 2014). Ainda nesse contexto, um ensaio de fluxo lateral com um sistema de detecção que utiliza a tecnologia de nanopartículas fosforescentes ultrasensíveis, inicialmente desenvolvido para detecção do antígeno anódico circulante, foi aplicado para a detecção de anticorpos anti - *Schistosoma* no soro demonstrando resultados promissores. Estes permitem a detecção de múltiplos alvos simultaneamente em uma única *strip* (CORSTJENS *et al.*, 2014a). Além disso, a presença de anticorpos na urina foi demonstrada para *S. mansoni* e *S. haematobium* (ELHAG *et al.*, 2011), e estudos anteriores mencionaram detecção de anticorpos anti- *S. mansoni* (SANTOS *et al.*, 2000) e anticorpos anti- *S. japonicum* (WANG *et al.*, 2002) na saliva.

Contudo, apesar da alta sensibilidade dos ensaios baseados na detecção de anticorpos, a especificidade é geralmente baixa (LIN *et al.*, 2008; ZHOU; ZHENG; JIANG, 2011). Além disso, os níveis de anticorpos não estão associados com a carga real do parasita e, esses permanecem elevados por longos períodos de tempo após a quimioterapia bem sucedida, o que representa um dilema diagnóstico: não pode distinguir entre infecções passadas (previamente curadas) e novas infecções. Assim, a detecção de anticorpos é de baixo valor diagnóstico para a detecção de infecção ativa em áreas altamente endêmicas onde a exposição é comum (ROLLINSON *et al.*, 2013; VAN LIESHOUT; POLDERMAN; DEELDER, 2000; UTZINGER *et al.*, 2011, 2015). A detecção de anticorpos para identificar infecções ativas em programas de controle só terá valor após vários anos da interrupção da transmissão e, então, apenas para recém-nascidos após a interrupção da transmissão (COLLEY *et al.*, 2017). Finalmente, pode haver um alto grau de reatividade cruzada em ambientes onde *S. mansoni* e outras infecções por trematódeos coexistem (BERGQUIST; JOHANSEN; UTZINGER, 2009; JOHANSEN *et al.*, 2010), além de que a abordagem pode ser logisticamente exigente e demorada (WEERAKOON *et al.*, 2015).

1.3.3.2 Detecção de antígenos de *S. mansoni*

Os ensaios imunológicos que têm sido descritos extensivamente e considerados mais promissores são aqueles para detecção de antígenos circulantes do parasito no soro e na urina (e potencialmente na saliva) do hospedeiro. Dois antígenos circulantes bem descritos para *Schistosoma*, ambos aplicados para diagnosticar a infecção ativa, são o Antígeno Anódico Circulante (*Circulating Anodic Antigen – CAA*) e o Antígeno Catódico Circulante (*Circulating Cathodic Antigen – CCA*) (CORSTJENS *et al.*, 2014a, 2015, 2017; DE DOOD *et al.*, 2018).

CAA e CCA são antígenos do intestino do parasito (DEELDER *et al.*, 1994), sendo os principais antígenos liberados na circulação do hospedeiro pela constante regurgitação dos conteúdos não digeridos do intestino do parasito (VAN LIESHOUT, 1996). O sistema digestivo dos vermes adultos se inicia com a boca, localizada no fundo da ventosa oral, em seguida vem o esôfago curto bifurcado a altura do acetábulo. A ventosa oral é, portanto, utilizada para a ingestão de alimentos e para a eliminação de materiais residuais do metabolismo e da própria alimentação (HOCKLEY, 1973). Ambos são glicoproteínas carregadas eletronicamente sob pH 8,2 que receberam essa nomenclatura devido ao perfil de mobilidade eletroforética apresentado por cada um deles (DEELDER *et al.*, 1976).

A descoberta de antígenos circulantes na esquistossomose se deve a Okabe e Tanaka em 1958, estudiosos que os encontraram em urina de humanos infectados pelo *S. japonicum*.

O CAA foi primeiramente descrito por Berggren e Weller (1967) que o identificaram na urina de hamsters infectados com *S. mansoni*, e posteriormente foi mais caracterizado por Gold; Rosen; Weller (1969); Nash; Prescott; Neva (1974); Nash; Nasir; Jeanloz (1977) e Deelder *et al.*, (1976, 1980) como uma glicoproteína termoestável, de alto peso molecular (70kDa), fortemente negativa em pH 8,2, solúvel em ácido tricloroacético (TCA) e encontrada nos primórdios celulares do intestino em cercárias e nas células do intestino de vermes adultos.

Em 1994, Bergwerff *et al.* descobriram que as cadeias de carboidratos pertencentes ao CAA possuem uma estrutura completamente única de polissacarídeo, composta por múltiplos dissacarídeos contendo N-acetil-galactosamina (GalNAc) e ácido glucurônico (GlcA), e nenhum equivalente biológico até o momento foi descrito (VAN DAM *et al.*, 2013). Deelder *et al.*, (1990) e Miller *et al.*, (1992) detectaram o CAA depositado em tecidos de múmias. Adicionalmente, esse achado demonstrou a grande estabilidade dos antígenos circulantes.

O CCA, ou 'antígeno M', foi descrito, independentemente, por Carlier *et al.* (1975) e por Deelder *et al.* (1976), sendo posteriormente mais caracterizado por esses dois grupos (CARLIER; BOUT; CAPRON, 1978; CARLIER *et al.*, 1980; CARLIER; BOUT; CAPRON, 1980; DEELDER *et al.*, 1980) como um antígeno também termoestável, solúvel em ácido tricloroacético (TCA) e encontrado nos primórdios celulares do intestino em cercárias e nas células do intestino de vermes adultos, porém com carga levemente positiva em pH 8,2, sendo este uma glicoproteína de baixo peso molecular (30kDa) cuja população de polissacarídeos contém repetidas unidades de trissacarídeos Lewis X (contendo fucose, galactose e N-acetil-galactosamina) (VAN DAM *et al.*, 1994), que, em contraste com as do CAA, compartilham epítomos com vários componentes do hospedeiro (VAN DAM *et al.*, 1996a).

Ambos os antígenos são gênero-específicos, e foram detectados no soro, na urina e no leite materno (somente CCA) (SANTORO *et al.*, 1977) de indivíduos infectados por *S. mansoni* (DEELDER *et al.*, 1989; DE JONGE *et al.*, 1990), *S. haematobium* (KREMSNER *et al.*, 1994), *S. japonicum* (VAN'T WOUT *et al.*, 1992), *S. intercalatum* (KREMSNER *et al.*, 1993) e *S. mekongi* (VAN DAM *et al.*, 2015a). Além disso, esses antígenos foram também detectados na circulação de hospedeiros de interesse veterinário, incluindo espécies que

infectam o gado (DE BONT *et al.*, 1996; FLOWERS *et al.*, 2002; GABRIEL *et al.*, 2002).

A função primária de ambos os antígenos não é exatamente conhecida. Baseado nas suas estruturas altamente glicosiladas, eles provavelmente desempenham um papel na proteção do parasito contra enzimas digestivas, baixo pH ou contra materiais do hospedeiro como anticorpos ou sistema complemento (NASH, 1974; NASH; NASIR; JEANLOZ, 1977), protegendo o verme contra os mecanismos efetores do sistema imune celular do hospedeiro. Nesse sentido, já foi demonstrado que o CAA interage com o primeiro componente do Complemento, C1q (VAN DAM *et al.*, 1993), e que o CCA presumivelmente evoca uma resposta auto-imune devido a similaridade com um antígeno de superfície de granulócitos humanos (VAN DAM *et al.*, 1996a).

Ensaio de diagnóstico direcionados para a detecção do CAA requerem a extração da amostra com ácido tricloroacético (TCA) seguida de centrifugação, que deixa o material proteico precipitado num pellet e os componentes de carboidratos no sobrenadante, onde poderá ser detectada a presença desse antígeno. A vantagem dessa extração é uma melhoria da sensibilidade analítica, por permitir uma maior concentração da amostra, que o torna adequado para aplicações em regiões de baixa endemicidade para detectar infecções ativas por uma baixa carga de vermes (AGNEW *et al.*, 1995; VAN LIESHOUT *et al.*, 1995a; VAN DAM *et al.*, 1996b; LEUTSCHER *et al.*, 2008).

A detecção dos antígenos circulantes de *Schistosoma* apresenta várias vantagens sobre a detecção de anticorpos e vem se tornando uma importante ferramenta para o diagnóstico de infecções ativas, uma vez que somente vermes vivos eliminam antígenos para a circulação (CORSTJENS *et al.*, 2014a). Além disso, os níveis séricos desses antígenos estão relacionados com a carga parasitária e intensidade de infecção (POLMAN *et al.*, 1995; VAN LIESHOUT *et al.*, 1995a, 1995b; VAN LIESHOUT; POLDERMAN; DEELDER, 2000; CORSTJENS *et al.*, 2014a) e diminuem rapidamente após o tratamento medicamentoso, demonstrando ser uma abordagem útil também na avaliação da eficiência da administração do medicamento e, conseqüentemente, na avaliação de cura (EL- MORSHEDY *et al.*, 1996; CORSTJENS *et al.*, 2014a).

Inicialmente, a detecção desses antígenos de uma forma sensível e altamente específica foi possível através do desenvolvimento de metodologias de ELISA baseadas no emprego de anticorpos monoclonais específicos para porções glicídicas do CAA (DEELDER *et al.*, 1989) e do CCA (DE JONGE *et al.*, 1990). Todavia, embora o CAA-ELISA determine os níveis de CAA no soro para todas as espécies de *Schistosoma* humanos com praticamente 100% de especificidade (DEELDER *et al.*, 1989), este perde sensibilidade ao diagnosticar

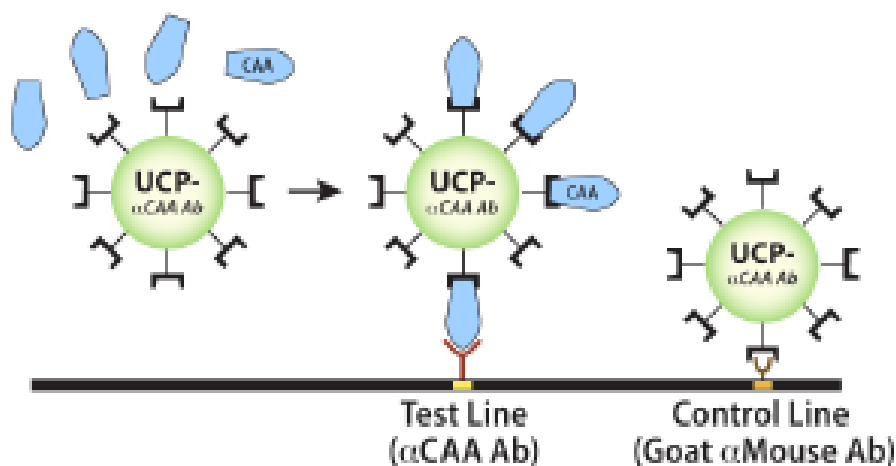
infecções leves (VAN LIESHOUT *et al.*, 1997). Além disso, a implementação do ELISA no diagnóstico clínico de rotina é complexa, uma vez que este pode perder robustez quando realizado apenas ocasionalmente (não foi desenvolvido para identificação de um único caso). Quando o ensaio é efetuado de forma menos regular e as amostras são testadas apenas uma vez a sensibilidade pode ser comprometida (CORSTJENS *et al.*, 2008a; LEUTSCHER *et al.*, 2008). Além de que os procedimentos de ELISA permanecem relativamente lentos, mesmo num formato otimizado e padronizado, e exigem pessoal qualificado e laboratórios bem equipados (VAN DAM *et al.*, 2004), o que faz com que não possa ser rotineiramente utilizado para o diagnóstico da comunidade no campo e que sua aplicabilidade seja menos visível em locais onde há restrições financeiras e onde as configurações de laboratório não estão bem desenvolvidas (LEGESSE; ERKO, 2007).

Dessa forma, num esforço para melhorar as técnicas para o diagnóstico da infecção por *Schistosoma* em nível de campo van Dam *et al.* (2004) desenvolveram um ensaio de fluxo lateral para a detecção de CCA na urina. O formato laboratorial desse teste foi desenvolvido em um teste rápido *Point-of-Care* atualmente disponível no mercado (POC-CCA; *Rapid Medical Diagnostics*; Pretoria, África do Sul). Vários estudos foram conduzidos em áreas endêmicas dos continentes africano, asiático e sul-americano para determinar a eficácia e a aplicabilidade no campo do POC-CCA para o diagnóstico da esquistossomose intestinal (isto é, infecção por *S. mansoni*). Um apanhado de avaliações do teste POC-CCA em cinco países, financiado pelo *Schistosomiasis Consortium for Operational Research and Evaluation* (SCORE), demonstrou que esse teste é recomendado como uma ferramenta de mapeamento para a detecção de *S. mansoni* em áreas endêmicas (ADRIKO *et al.*, 2014; COLLEY *et al.*, 2013; VAN DAM *et al.*, 2015a). Até agora, apenas alguns estudos foram publicados mostrando resultados de estudos com POC-CCA no Brasil. No geral, eles mostraram que o POC-CCA é capaz de detectar muitos casos positivos adicionais em comparação com os esfregaços espessos de Kato-Katz, em particular em áreas de baixa endemicidade, mas também relataram que o verdadeiro significado das leituras 'traço' permanece incerto (FERREIRA *et al.*, 2017; BEZERRA *et al.*, 2018; COELHO *et al.*, 2016; SIQUEIRA *et al.*, 2016). Uma revisão sistemática sobre Kato-Katz versus POC-CCA para *Schistosoma mansoni* indicou que abaixo de 50% de prevalência, o teste POC-CCA é mais sensível que o Kato-Katz, mas que pesquisas adicionais em áreas de baixa prevalência são necessárias para entender como é melhor administrar locais que apresenta baixa ou nenhuma prevalência por Kato-Katz, mas tem uma prevalência significativa usando POC-CCA ou outros novos testes (KITUR *et al.*, 2016).

A fim de prosseguir o desenvolvimento de testes rápidos para o diagnóstico da esquistossomose que possam ser utilizados no futuro como aplicações *Point-of-Care* e também para melhorar ainda mais a robustez, a tecnologia de nanopartículas fosforescentes ultra-sensíveis (UCPs) foi introduzida em combinação com uma plataforma de fluxo lateral (ensaio *Up-Converting Phosphor-Lateral Flow – UCP-LF*) para detecção de CAA no soro. O UCP-LF CAA, assim como o CAA-ELISA, requer a extração da amostra com TCA e depende da utilização de um par de anticorpos específicos para capturar o alvo desejado; o mesmo anticorpo monoclonal é utilizado para ligar o antígeno tanto na nanopartícula fosforescente, bem como na área de captura específica da linha (T) do teste na tira de nitrocelulose formando um imunossanduíche (Figura 5) (CORSTJENS *et al.*, 2008a; ZARLING *et al.*, 1997; ZIJLMANS *et al.*, 1999).

Esse ensaio atingiu uma sensibilidade analítica abaixo de 1 pg / mL, cerca de 10 vezes melhor que a do CAA-ELISA (CORSTJENS *et al.*, 2008a, 2014a). Espera-se que a concentração de 1 pg / mL no soro permita a identificação de infecções por um único verme, uma vez que estudos de cultura de vermes *in vitro* e estudos com babuínos infectados experimentalmente indicam níveis séricos de CAA no estado estacionário de aproximadamente 5 pg / mL (VAN DAM *et al.*, 1996c; WILSON *et al.*, 2006).

Figura 5 – Princípio do ensaio *Up-Converting Phosphor-Lateral Flow (UCP-LF)* para detecção do CAA



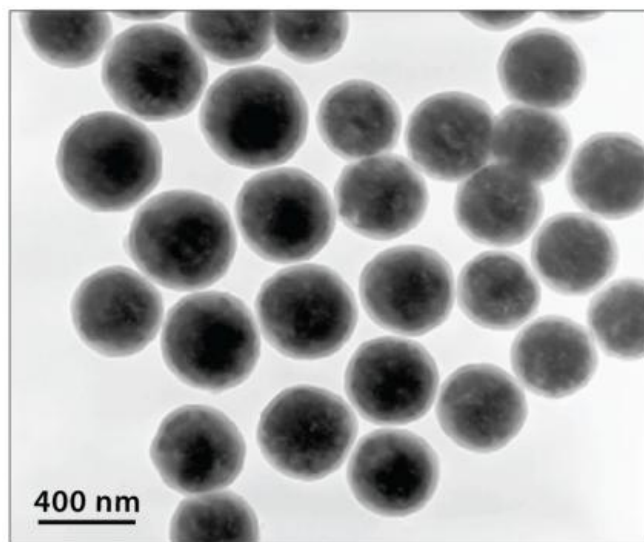
Fonte: Corstjens *et al.*, 2013.

A introdução da tecnologia das nanopartículas fosforescentes ultra-sensíveis (UCPs) foi um fator importante para o aumento da sensibilidade (CORSTJENS *et al.*, 2005). As partículas fosforescentes $Y_2O_2S: Yb^{3+}, Er^3+$ de 400 nm aplicadas nesse ensaio (Figura 6)

são excitadas com luz infravermelha (IR, 980 nm) e emitem luz verde de maior energia (550 nm) em um processo chamado de *up-conversion* (Figura 7). Essas partículas consistem de uma “rede hospedeira” de materiais inorgânicos, na qual estão incrustados os íons de elementos raros (absorvedor e emissor), tipicamente lantanídeos trivalentes, que são os responsáveis pelo processo de *up-conversion* em si. Este está completamente restringido à estrutura das partículas e, portanto, livre de auto-fluorescência a partir de outros componentes do ensaio (ZARLING *et al.*, 1997; ZIJLMANS *et al.*, 1999; GORYACHEVA; LENAIN; DE SAEGER, 2013).

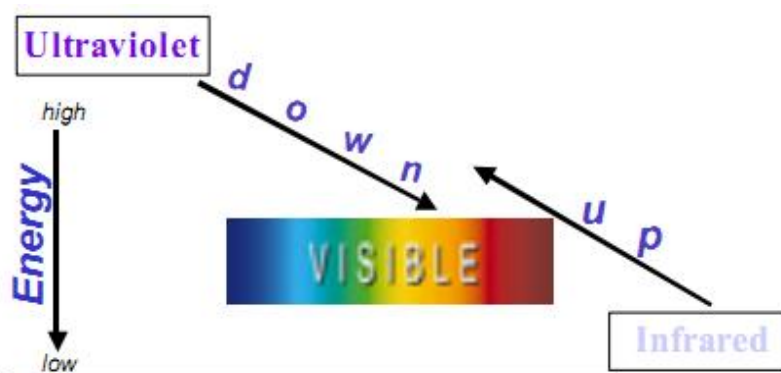
Vários bioensaios, incluindo os dispositivos de fluxo lateral, foram desenvolvidos e demonstraram a utilidade dessa tecnologia de detecção para ácidos nucleicos (CORSTJENS *et al.*, 2001), gonadotrofina coriônica humana - hCG (HAMPL *et al.*, 2001), estradiol (KUNINGAS *et al.*, 2006), interferon γ (CORSTJENS *et al.*, 2008b), *Escherichia coli* (NIEDBALA *et al.*, 2001), *Streptococcus pneumonia* (ZUIDERWIJK *et al.*, 2003), *Yersinia pestis* (YAN *et al.*, 2006), vírus respiratório sincicial (MOKKAPATI *et al.*, 2007), *Brucella* (QU *et al.*, 2009), hepatite B (LI *et al.*, 2009) e HIV, hepatite C e tuberculose (CORSTJENS *et al.*, 2007).

Figura 6 – Microscopia eletrônica de transmissão das nanopartículas fosforescentes $Y_2O_3:S:Yb^{3+}, Er^{3+}$ de 400 nm aplicadas no ensaio UCP- LF



Fonte: Corstjens *et al.* (2014b, p.4).

Figura 7 – Princípio de *up-conversion*; Processo multi-fóton que converte luz de baixa energia (infravermelho) em luz de alta energia (radiação visível). O íon Er^{3+} emite luz verde (550nm)



Fonte: Adaptado de van de Rijke *et al.* (2001, p.273).

Corstjens *et al.* (2014a) demonstraram que o formato UCP-LF também foi aplicado com sucesso para a detecção de níveis de CAA na urina e após a aplicação de uma etapa extra, que se refere à concentração da amostra utilizando dispositivos de filtros membranares centrifugáveis descartáveis, mostra uma precisão quase absoluta para diagnosticar a infecção por *Schistosoma*.

A estabilidade do antígeno alvo também pode afetar a sensibilidade do ensaio e a fração de carboidrato do CAA demonstrou ser um componente estável na urina e no sangue, sendo detectável após múltiplos passos de congelamento-descongelamento ou depois do armazenamento das amostras clínicas à temperatura ambiente durante períodos prolongados de tempo (CORSTJENS *et al.*, 2014a).

O ensaio foi melhorado e convertido para um formato com reagentes secos ('dry'), que permite o armazenamento e transporte do teste no mundo inteiro, à temperatura ambiente. Isso combinado à disponibilidade de pequenos scanners para analisar as tiras do UCP-LF (os leitores portáteis *UPlink* (MOKKAPATI *et al.*, 2007) e *UCP-Quant*) são dois passos importantes no sentido de torná-lo compatível com aplicações *point-of-care* (POC) para ser empregado, por exemplo, em ambientes remotos e pobres em recursos (VAN DAM *et al.*, 2013).

Enquanto o teste POC-CCA é mais aplicado para demonstrar a infecção por *S. mansoni*, o UCP-LF CAA é um ensaio específico do gênero que pode ser aplicado para demonstrar infecções de qualquer espécie de *Schistosoma*, incluindo as veterinárias (CORSTJENS *et al.*, 2014a; BEECHLER *et al.*, 2017). As variantes do formato desse ensaio foram avaliadas com amostras de urina provenientes de locais altamente endêmicos nas

Filipinas para *S. japonicum* e no Camboja e na República Democrática Popular do Laos para *S. mekongi* (VAN DAM *et al.*, 2015a; VONGHACHACK *et al.*, 2017). O ensaio também foi aplicado com sucesso em ambientes de baixa transmissão na República Popular da China, na Tanzânia e no Burundi, para o diagnóstico de infecções por *S. japonicum* (VAN DAM *et al.*, 2015b), *S. haematobium* (KNOPP *et al.*, 2015) e *S. mansoni*, respectivamente (CLEMENTS *et al.*, 2018).

Colley *et al.* (2017) relataram a necessidade crucial da avaliação contínua dos ensaios envolvidos e de novas diretrizes baseadas no uso de testes mais sensíveis para os programas de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) que desejam avançar para estratégias destinadas à eliminação. Aqui, o presente estudo enfoca uma avaliação completa do ensaio UCP-LF CAA em uma área de baixa endemicidade no Brasil, comparando os resultados com várias abordagens diagnósticas incluindo Kato-Katz, PCR, POC-CCA e detecção de anticorpos antes do tratamento (*baseline*). Adicionalmente, os ensaios UCP-LF CAA e o teste POC-CCA foram utilizados para determinar a eficácia do tratamento através de testes de seguimento de amostras de urina e de soro 3 e 6 semanas pós-tratamento. Em um artigo anterior (BEZERRA *et al.*, 2018), o desempenho do POC-CCA foi comparado com a técnica de Kato-Katz na mesma comunidade, resultando em um aumento de sete vezes na prevalência de *S. mansoni* e também foi comparado com a detecção de anticorpos.

1.4 Tratamento

O fármaco mais amplamente utilizado contra a esquistossomose e o único eficaz contra vermes adultos continua sendo o praziquantel (PZQ), uma quinolina-pirazina acilada segura e barata, que é efetivo para o tratamento contra todas as espécies de *Schistosoma*. No entanto, PZQ não tem efeito contra formas imaturas (vermes jovens), que amadurecerão e iniciarão a produção de ovos após a quimioterapia. Portanto, PZQ nunca atinge 100% de eficácia, tornando o desenvolvimento de um novo medicamento imperativo (ARULEBA *et al.*, 2018; BERGQUIST; ELMORSHEDY, 2018; COLLEY *et al.*, 2014; GRYSEELS *et al.*, 2012).

O exato mecanismo molecular de ação desse anti-helmíntico permanece desconhecido (BERGQUIST; ELMORSHEDY, 2018), mas depende de um rápido influxo de Ca^{2+} para o verme, levando a intensa paralisia muscular juntamente com danos ao tegumento (CHAN; ZAROWIECKI; MARCHANT, 2013; XIAO *et al.*, 2000).

O fármaco é administrado como comprimidos orais numa dose de 40 mg / kg de peso corporal em adultos e crianças na África e 50 mg / kg em adultos, e 60 mg / kg em crianças, na América do Sul (MUTAPI *et al.*, 2017). De fato, um estudo farmacocinético, numa população pediátrica na África, recomendou uma dose mais alta (> 60 mg / kg) para atingir a cura terapêutica em crianças pequenas (BUSTINDUY *et al.*, 2016). Uma revisão sistemática revelou uma taxa de cura global de 71,3% de PZQ contra *S. haematobium* e *S. mansoni* (STOTHARD *et al.*, 2013a). Além disso, um estudo mostrou que as taxas de cura contra *S. mansoni*, determinadas um mês após o tratamento, variaram de 52 a 92% (DANSO-APPIAH *et al.*, 2013).

Embora alguns estudos já tenham mostrado a eficácia e a segurança no uso do praziquantel em bebês e crianças em idade pré-escolar (MUTAPI *et al.*, 2011; SOUSA-FIGUEIREDO *et al.*, 2010a; SOUSA-FIGUEIREDO *et al.*, 2010b; NAMWANJE; KABATEREINE; OLSEN, 2011), comprimidos de praziquantel são grandes e têm um sabor amargo, além de que não existe formulação pediátrica prontamente disponível (STOTHARD *et al.*, 2013b). A abordagem de tratamento regular é difícil para crianças com menos de 6 anos, deixando-as sem opção de tratamento. Em 2012, foi estabelecida uma parceria público-privada internacional que funciona sem fins lucrativos no campo da pesquisa e desenvolvimento de medicamentos para a esquistossomose denominada *Pediatric Praziquantel Consortium*, que tem a missão de desenvolver, registrar e fornecer acesso de uma formulação pediátrica de PZQ adequada para o tratamento de crianças em idade pré-escolar (3-6 meses a 6 anos). O desenvolvimento do medicamento está em andamento e o objetivo é que o produto seja considerado para um programa de distribuição em larga escala até 2022 (REINHARD-RUPP; KLOHE, 2017).

Após o uso extensivo em muitos países endêmicos, existe uma crescente preocupação referente à resistência ao praziquantel causada pela monoterapia em massa. Nos últimos anos não houve abordagens significativas na descoberta de novos fármacos ou alternativas e, infelizmente, a resistência ao PZQ foi relatada em algumas partes do mundo (ARULEBA *et al.*, 2018). Alguns autores descreveram populações de *S. mansoni* resistentes ao praziquantel (BONESSO-SABADINI; DIAS, 2002; DOENHOFF *et al.*, 2002; MELMAN *et al.*, 2009). Contudo, apesar de décadas de uso, a resistência generalizada não se desenvolveu. Isso pode ser devido à presença de múltiplos alvos farmacologicamente relevantes. O metabolismo alterado do medicamento ou o aumento do efluxo do fármaco são as formas mais prováveis de surgimento de resistência (THOMAS; TIMSON, 2018).

Os derivados de artemisinina, atualmente usados contra a malária, surpreendentemente também são ativos contra vermes jovens de *Schistosoma*. Incluir uma combinação destes com PZQ tem sido sugerido como estratégia complementar e potencialmente aditiva em certas áreas não maláricas. Porém, é necessário um teste de campo em larga-escala (BERGQUIST; ELMORSHEDY, 2018).

Nos últimos anos, o controle da doença baseou-se basicamente na distribuição em grande escala da quimioterapia específica. Essa estratégia provisória mostrou-se ser efetiva no controle da morbidade, conseguindo uma redução substancial nas taxas globais da doença. No entanto, é cada vez mais claro que essa abordagem por si só não é capaz de quebrar o ciclo de transmissão e que a eliminação da esquistossomose depende de estratégias mais complexas e integradas (CURTALE; MOHAMED; YOUSSEF, 2010), que combinem o uso do PZQ com outros fármacos ou ferramentas, como controle de hospedeiros intermediários, educação em saúde, acesso à água, saneamento e higiene adequados. Uma abordagem holística do sistema de saúde é necessária para alcançar o controle sustentável e, finalmente, a eliminação da doença (ROSS *et al.*, 2017).

1.5 Patogenia da esquistossomose mansoni

A patogenia da esquistossomose mansoni depende de vários fatores: idade, estado nutricional e imunidade do hospedeiro, linhagem do parasito, e, principalmente, carga parasitária. Clinicamente, essa patologia pode ser classificada em fase aguda e fase crônica (KATZ; ALMEIDA, 2003).

A fase aguda constitui o período de migração do parasito pelo corpo do hospedeiro. As manifestações clínicas nessa fase são: coceira, dermatite cercariana, broncopneumonia e a síndrome de Katayama, sendo decorrentes da ativação de resposta imune *T-helper* do tipo 1 (Th1) (BARSOUM; ESMAT; EL BAZ, 2013; COLLEY *et al.*, 2014; ROSS *et al.*, 2002).

Em geral, a cronicidade da doença ocorre a partir dos seis meses após a infecção, podendo evoluir por vários anos. A caracterização da mudança da fase aguda para a crônica ocorre por um predomínio da resposta imune *T-helper* do tipo 2 (Th2) em relação à Th1 (COLLEY *et al.*, 2014 ; BARSOUM; ESMAT; EL BAZ, 2013).

A patogenia da doença não está relacionada aos vermes, mas à reação do corpo humano aos ovos e substâncias por eles excretadas. Alguns ovos não conseguem ser eliminados, ficando retidos nos tecidos, principalmente hepático e intestinal, e liberam

antígenos solúveis, que estimulam intensamente a resposta imunológica e acarretam a formação de granulomas (COLLEY *et al.*, 2014; GRYSEELS, 2012). Essa resposta pode ser benéfica, ao controlar o dano ocasionado pela alta toxicidade dos antígenos, mas também prejudicial, pois uma resposta exacerbada pode resultar em fibrose. Os ovos ainda podem ser carregados pela corrente sanguínea a diversos outros órgãos (deposição ectópica), como o Sistema Nervoso Central, desencadeando desfechos clínicos mais graves que afetam cérebro ou medula espinhal (neuroesquistossomose) (LAMBERTUCCI, 2014; HAMS *et al.*, 2013).

A fase crônica pode se apresentar sob as formas clínicas: intestinal, hepática, hepatointestinal e hepatoesplênica compensada ou descompensada. A forma intestinal é muito comum nas áreas endêmicas, mas a maioria dos indivíduos é assintomática (LAMBERTUCCI *et al.*, 2000; SIQUEIRA-BATISTA *et al.*, 1997). As reações imunopatológicas, principalmente a reação granulomatosa periovular, induzem um processo inflamatório contínuo que leva a manifestações como doença intestinal obstrutiva, inflamação hepatoesplênica e fibrose hepática, que caracterizam a fase crônica da doença (ANDRADE; PEIXOTO, 1992). Cerca de 6% dos infectados apresenta hipertensão no sistema porta hepático e extravasamento do plasma para a cavidade abdominal (ascite) (UTZINGER *et al.*, 2015).

1.6 Envolvimento renal na esquistossomose mansoni

Além das formas clássicas de manifestação a doença causada pelo *S. mansoni* pode acometer também os rins de forma indireta causando uma disfunção nesse órgão, essencialmente em glomérulos. A glomerulopatia esquistossomótica é um exemplo de nefropatia parasitária induzida por complexos imunes (ANDRADE; ROCHA, 1979; ANDRADE; VAN MARCK, 1984; DA SILVA JUNIOR *et al.*, 2013). Trata-se de uma reação de hipersensibilidade do tipo III, em que o complexo antígeno-anticorpo pode chegar aos glomérulos, produzindo uma lesão tecidual em consequência da sua capacidade de ativar o sistema complemento (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000; DUARTE *et al.*, 2019).

O envolvimento renal na esquistossomose mansoni é descrito em diversos estudos que demonstram a associação entre a doença e alterações glomerulares (BARSOUM *et al.*, 1996; NUSSENZVEIG *et al.*, 2002; BARSOUM, 2004; MARTINELLI; SILVEIRA; ROCHA, 2006), embora já tenham sido relatadas alterações tubulares como de concentração e acidificação urinária em pacientes com a forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni (DUARTE *et al.*, 2014, 2019). Proteinúria e presença de anormalidades morfológicas nas biópsias renais ou em materiais de autópsias foram descritas (ANDRADE; VAN MARCK,

1984). Em um estudo longitudinal realizado em uma zona endêmica na Bahia, Bina (1981) encontrou presença de proteinúria em 14,8% dos pacientes, sendo 24,7% na forma hepatosplênica e 4,6% na forma hepatointestinal da esquistossomose mansoni.

Apesar das intervenções terapêuticas em áreas endêmicas no Brasil iniciadas no final dos anos 1970, que reduziram o número de casos de esquistossomose no país, em especial as formas graves da doença, a prevalência da glomerulopatia esquistossomótica não diminuiu (ANDRADE, 1998; CORREIA; MARTINELLI; ROCHA, 1997; RODRIGUES *et al.*, 2010). O envolvimento renal na esquistossomose é variável; a incidência de envolvimento glomerular nesses pacientes no geral é de 5 a 6%, enquanto aumenta em até 15% na forma hepatoesplênica (BRITO *et al.*, 1999).

O interessante é que nessa glomerulopatia foi possível se demonstrar os antígenos e anticorpos envolvidos, bem como o mecanismo da produção da lesão glomerular e seus aspectos ultra-estruturais (ANDRADE; ROCHA; 1979; ANDRADE; VAN MARCK, 1984). A alteração renal inicial é secundária ao depósito de imunocomplexos circulantes, ou formados *in situ*, pois já foi demonstrada a presença de antígenos principalmente derivados do verme adulto, mas também de seus ovos em glomérulos humanos (BARSOUM, 1993; DIAL; NOËL, 2010).

Biópsias renais de indivíduos com esquistossomose mansoni ativa demonstraram depósitos de antígenos circulantes (CAA e CCA) localizados ultraestruturalmente em glomérulos, implicando-os como principais responsáveis pela patogênese da glomerulonefrite esquistossomótica (SOBH *et al.*, 1987, 1988; BARSOUM, 1993), a qual foi evidenciada principalmente em pacientes com a forma crônica hepatoesplênica (ANDRADE; DE QUEIROZ, 1968; ZATZ; ROMÃO; NORONHA, 2003). A doença parasitária associada com antígeno glomerular pode explicar a presença de lesões renais não só na esquistossomose hepatoesplênica, mas também em pacientes com a forma hepatointestinal da doença (ABENSUR *et al.*, 1992). Além da produção de antígenos pelo verme adulto, outros fatores importantes parecem contribuir na gênese da doença glomerular na esquistossomose mansoni: a circulação colateral do sistema porta resultante do grau de envolvimento hepático, a ineficiência do sistema macrofágico do fígado, a severidade e a duração da infecção e, ainda fatores raciais e genéticos (DUARTE *et al.*, 2019). A duração da infecção e a carga parasitária são importantes, visto que a glomerulopatia do mesmo modo aparece na forma hepatointestinal (BARSOUM, 1993; SOBH *et al.*, 1987, 1991). Além disso, em estudo realizado no ano de 2013 também foi demonstrado lesão renal glomerular subclínica em pacientes provenientes de área de baixa endemicidade com a forma crônica intestinal da

doença (HANEMANN *et al.*, 2013).

Estudos baseados em análises de imunofluorescência realizados com camundongos infectados por cercárias de *S. mansoni* já apresentavam os antígenos circulantes em células de kupffer do fígado, em macrófagos nas zonas marginais no baço e em glomérulos (EL-DOSOKY; VAN MARCK; DEELDER, 1984; DEELDER *et al.*, 1985). CAA e CCA foram localizados ultraestruturalmente em glomérulos de camundongos infectados com *S. mansoni*; esses antígenos são retidos pela membrana basal glomerular e depositados na matriz mesangial (DE WATER *et al.*, 1988).

Pacientes esquistossomóticos com envolvimento glomerular são comumente assintomáticos ou manifestam-se, apenas, por hipocomplementemia, fato que contribui para a complexidade de estimar a real incidência de acometimento glomerular. Além disso, o envolvimento glomerular também pode ser autolimitado. Além da síndrome nefrótica, forma clínica de apresentação mais frequente (ANDRADE; VAN MARCK, 1984; MARTINELLI; ROCHA, 1996), pacientes com esquistossomose também podem apresentar proteinúria na faixa subnefrótica isolada, glomerulonefrite aguda (GN) ou doença renal terminal (DRT) (MOHAMMAD IBRAHIM *et al.*, 2019).

Histologicamente, há alterações da membrana basal, infiltração por leucócitos e proliferação de células glomerulares. A nefrite intersticial decorrente pode apresentar síndrome de disfunção tubular antes da doença renal crônica progressiva (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000).

Os antígenos do verme adulto de *S. mansoni* depositam-se nos glomérulos, levando ao reconhecimento de cinco classes de glomerulopatia: Classe I - glomerulonefrite mesangioproliferativa associada à deposição de complexos imunes, contendo antígenos esquistossomóticos, IgM e C3; Classe II - glomerulonefrite exsudativa caracterizada por neutrófilos, monócitos e eosinófilos, invadindo o mesângio, além de depósitos subendotelial e mesangial de C3, muitas vezes associados com IgG e IgM. Ocorre com co-infecção pelo *Schistosoma* e espécies de salmonela; Classe III - glomerulonefrite membranoproliferativa; Classe IV - lesão esclerosante segmentar e focal. As classes III e IV constituem a maioria dos pacientes com doença progressiva e se correlacionam com o grau de fibrose hepática esquistossomótica associada. São muitas vezes associadas com anormalidades em componentes séricos de IgA, bem como depósitos de IgA glomerular e peritubular; Classe V - amiloidose decorrente de uma resposta generalizada à inflamação crônica e ocorre nos casos de infecção prolongada. Ainda a coinfeção com os vírus da hepatite B ou C pode confundir o quadro clínico da esquistossomose (BARSOUM, 2004; BARSOUM; ESMAT; EL-BAZ,

2013).

A glomerulonefrite membranoproliferativa, geralmente com síndrome nefrótica, é o tipo histológico mais frequente (ANDRADE; VAN MARCK, 1984; ANDRADE; VAN MARCK, 1987; RODRIGUES *et al.*, 2010). Contudo, dos Santos *et al.* (2011) encontraram como padrão predominante na esquistossomose a glomeruloesclerose segmentar e focal.

Em estudo realizado na Tanzânia foi observada uma alta prevalência estimada para DRC e que tanto doenças cardiovasculares clássicas (hipertensão, diabetes) quanto doenças infecciosas negligenciadas (tuberculose e esquistossomose) podem estar associadas à DRC em uma população semi-rural na África Subsaariana (HODEL *et al.*, 2018).

Estudo retrospectivo de 60 pacientes com esquistossomose admitidos em um hospital universitário em Maceió, Alagoas, mostrou que a disfunção renal é uma característica importante da esquistossomose, que está associada à morbidade significativa e possível aumento da mortalidade (DUARTE *et al.*, 2015).

1.7 Albuminúria e proteinúria

A albumina é uma das proteínas mais abundantes e é pouco excretada pelos rins (<30 mg/dia). No entanto, após uma lesão renal, a filtração glomerular da albumina está aumentada, enquanto a reabsorção e a degradação da albumina no túbulo renal estão reduzidas, resultando no aumento dos níveis de albumina intacta na urina, ou seja, albuminúria (TESCH, 2010).

A albuminúria é considerada um marcador precoce de dano glomerular em vários estudos porque muitas vezes precede do declínio da função renal. No entanto, não distingue diferentes tipos de doença renal e não prevê a progressão da doença impedindo assim a eficácia terapêutica (OLIVEIRA *et al.*, 2014; POLKINGHORNE, 2006).

As proteínas com peso molecular inferior a 60 kDa são filtradas livremente pelos glomérulos e reabsorvidas nos túbulos proximais. A proteína total excretada na urina varia de 20 mg a 150 mg/dia, da qual metade corresponde à albumina e o restante quase totalmente à proteína de Tamm-Horsfall, um constituinte dos cilindros urinários (VIDIGAL, 2009; STEVENS; LEVEY, 2005).

Condições que aumentem a quantidade de proteínas no filtrado glomerular ou diminuam a reabsorção tubular levam à proteinúria. A proteinúria glomerular é a mais comum e caracteriza-se pela perda de albumina e proteínas de tamanho semelhante, como

antitrombina, transferrina, pré-albumina, α 1-glicoproteína ácida e α 1-antitripsina. Quando agrava a lesão glomerular, proteínas maiores, como a α 2-macroglobulina e a lipoproteína b serão perdidas na urina. Em geral, o padrão eletroforético das proteínas urinárias na lesão glomerular é bastante semelhante ao encontrado no plasma. A proteinúria tubular é caracterizada pela perda de proteínas de baixo peso molecular, uma vez que estas são livremente filtradas pelos glomérulos, mas não são re-absorvidas nos túbulos proximais. Na proteinúria de sobrecarga, observa-se extravasamento de uma proteína normal de baixo peso molecular do plasma para a urina, como hemoglobina, mioglobina e proteína de Bence-Jones. Já na proteinúria pós-renal, há produção de proteínas pelas vias urinárias inferiores devido à inflamação ou malignidade (JOHNSON, 2008).

1.8 Estresse oxidativo urinário/ Malonaldeído (MDA)

O estresse oxidativo é o fator mais importante associado a várias patologias durante a lesão renal aguda (LRA) (PALIPOCH, 2013). As espécies reativas do metabolismo do oxigênio ou nitrogênio atacam principalmente os ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolípidos das membranas celulares, destruindo-as e permitindo sua entrada na célula num processo denominado de peroxidação lipídica, sendo, portanto um indicador de estresse oxidativo celular. Esse processo em cadeia se desenvolve em várias etapas, não havendo um método ideal que possa avaliá-lo por completo (LIMA *et al.*, 2001).

A avaliação do estresse oxidativo urinário é estabelecido especialmente a partir da peroxidação lipídica que se baseia no malonaldeído (MDA) que é determinado pela medição de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ATTIA *et al.*, 2003). O MDA é um dialdeído formado como um produto secundário durante a oxidação por cisão beta dos ácidos graxos poliinsaturados peroxidados, principalmente do ácido aracdônico (LIMA *et al.*, 2001) e tem sido relacionado a inúmeras condições clínicas como diabetes, asma, doença cardiovascular e câncer, além das nefropatias (ZHANG *et al.*, 2013). Estudos anteriores demonstraram associação entre elevação do MDA sérico e disfunção renal (AHMADIASL *et al.*, 2013). Cunha *et al.* (2012) sugeriram uma possível associação entre o estabelecimento do estresse oxidativo no tecido e a carga parasitária do *S. mansoni*.

1.9 O uso de novos biomarcadores renais urinários

Devido às limitações dos marcadores clínicos utilizados para avaliação da função renal como creatinina sérica e volume urinário, que, além de terem seus níveis interferidos por variáveis extra renais (idade, sexo, massa muscular, etnia, dieta (principalmente com uma grande ingestão de proteína), e o estado nutricional), sabe-se que a creatinina só se eleva quando metade da função renal está comprometida, o diagnóstico da doença renal é muito tardio, o que contribui para as taxas elevadas de LRA nos pacientes (PARIKH; MANSOUR, 2017; VAIDYA; FERGUSON; BONVENTRE, 2008; WASUNG; CHAWLA; MADERO, 2015). Dessa forma, novos biomarcadores renais têm sido estudados para diferentes contextos clínicos, apresentando maior especificidade e sensibilidade em relação aos marcadores renais clínicos clássicos (KASHANI; CHEUNGASITPORN; RONCO, 2017; PERES *et al.*, 2013). Estes podem ser quantificados em amostras de soro e urina, apresentando resultados relevantes em ambos (GONZALES; PISITKUN; KNEPPER, 2008; MÅRTENSSON; MARTLING; BELL, 2012).

Cada novo biomarcador possui vantagens e desvantagens. Em geral, eles são mais específicos para determinada porção do néfron e auxiliam, por exemplo, na detecção do local da lesão renal. A avaliação de um painel de biomarcadores em um mesmo contexto clínico é importante, uma vez que pode complementar os mecanismos fisiopatológicos de cada um e melhorar não só o entendimento da nefropatia como também o diagnóstico clínico (PARIKH; MANSOUR, 2017; RONCO *et al.*, 2017; URBSCHAT; OBERMÜLLER; HAFERKAMP, 2011).

Para glomerulopatias um dos mais amplamente estudados é o *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1), associado à inflamação glomerular e nefrite intersticial (KIM; TAM, 2011). Outro novo biomarcador é o *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), fundamental para a manutenção da barreira de filtração glomerular (BARTLETT; JEANSSON; QUAGGIN, 2016). O acometimento glomerular está bastante presente em doenças infecciosas como a esquistossomose e pode ser decisivo para o desenvolvimento de doença renal crônica (DRC), contribuindo para um mau prognóstico dos pacientes. A investigação e elucidação dos mecanismos envolvidos nas alterações estruturais e funcionais glomerulares podem também ajudar na descoberta de novos biomarcadores de lesão renal e de novos alvos terapêuticos para essas glomerulopatias. Outros biomarcadores são mais específicos para lesão renal aguda (LRA): *Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin* (NGAL) e *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1) (HAASE, 2011; ICHIMURA *et al.*, 1998;

KASHANI; CHEUNGPASITPORN; RONCO, 2017; MISHRA *et al.*, 2005; PARIKH *et al.*, 2013).

1.10 Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1/CCL2)

MCP-1 ou CCL2, também conhecida como fator ativador de macrófagos, é uma proteína com 76 aminoácidos membro das quimiocinas inflamatórias, da família CC, e atua em receptores CCR2. Primeira quimiocina CC humana descoberta e uma das melhores descritas na literatura, MCP-1 atrai monócitos/macrófagos para várias condições fisiopatológicas, estimula produção de citocinas e ICAM-1 e atua na fibrose, sendo assim um importante fator pró-inflamatório. Há evidência de que o MCP-1 tem um papel significativo no desenvolvimento das doenças renais (KIM; TAM, 2011). Esta pode ser produzida por diversos tipos de células renais: podócitos, epiteliais tubulares, mesangiais e endoteliais (HALLER *et al.*, 2016), tendo como principais agentes indutores IL-1 β , TNF- α , INF- γ , além de produtos exógenos, LPS, vírus, imunocomplexos e outras citocinas como IL-4 e TNF- β (HORA *et al.*, 1992; KIM; TAM, 2011).

Estudos abordando quimiocinas mostraram que MCP-1 desempenha um papel central em lesões tubulointerciciais e glomerulares na glomerulonefrite membranoproliferativa (GRANDALIANO *et al.*, 1997; ROVIN; DOE; TAN, 1996), nefrite lúpica (ZOJA, 1997), glomerulonefrite crescêntica (VIEDT; ORTH, 2002), nefropatia diabética (TESCH, 2008) e na nefropatia por IgA (STANGOU *et al.*, 2009).

O aumento de expressão de MCP-1 no rim pode acontecer na doença renal progressiva e quando há infiltrado inflamatório intersticial. MCP-1 urinário tem sido associado com o aumento de albuminúria em pacientes com doenças renais (MENESES *et al.*, 2014). O envolvimento dos níveis de MCP-1 urinário com o desenvolvimento e progressão de alterações histológicas nos rins associadas com alterações inflamatórias renais já foram demonstrados na nefrite lúpica e na nefropatia diabética (SHOUKRY; BDEER; EL-SOKKARY, 2015). Também já foi correlacionada a elevação de MCP-1 urinário em casos de doença renal aguda, como em glomerulonefrites proliferativas (HODGKINS; SCHNAPER, 2012).

Em doenças parasitárias, foi descrito níveis elevados de MCP-1 urinário em pacientes com leishmaniose visceral (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Meneses *et al.* (2018) mostraram que os níveis de MCP-1 urinário estiveram aumentados em pacientes com leishmaniose visceral na admissão hospitalar e antes do início do tratamento específico e que

esses poderiam ter disfunção da barreira de filtração glomerular através de mecanismos inflamatórios mediados pela produção de MCP-1 no tecido renal.

Em estudo prévio realizado em outra área de baixa endemicidade para esquistossomose no Ceará foi evidenciado lesão renal glomerular subclínica em pacientes infectados por *S. mansoni*, com a forma crônica intestinal da doença, através dos altos níveis dosados de MCP-1 urinários, os quais se mantiveram após o tratamento específico (HANEMANN *et al.*, 2013), sugerindo que a infecção pode induzir um estado de inflamação renal crônico não interrompido pelo tratamento específico do agente agressor, corroborando com Andrade e Van Marck (1984) que relataram que o tratamento específico da esquistossomose não parecia alterar o curso clínico da nefropatia esquistossomótica. Esses achados juntamente a correlação de MCP-1 urinário com a albuminúria nesse mesmo estudo, sugeriram o MCP-1 como um marcador promissor e sensível para disfunção renal em pacientes com esquistossomose.

1.11 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

VEGF corresponde a uma família composta por 7 glicoproteínas diméricas: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F e o fator de crescimento da placenta (PIGF) (HOEBEN *et al.*, 2004; GONÇALVES, 2006).

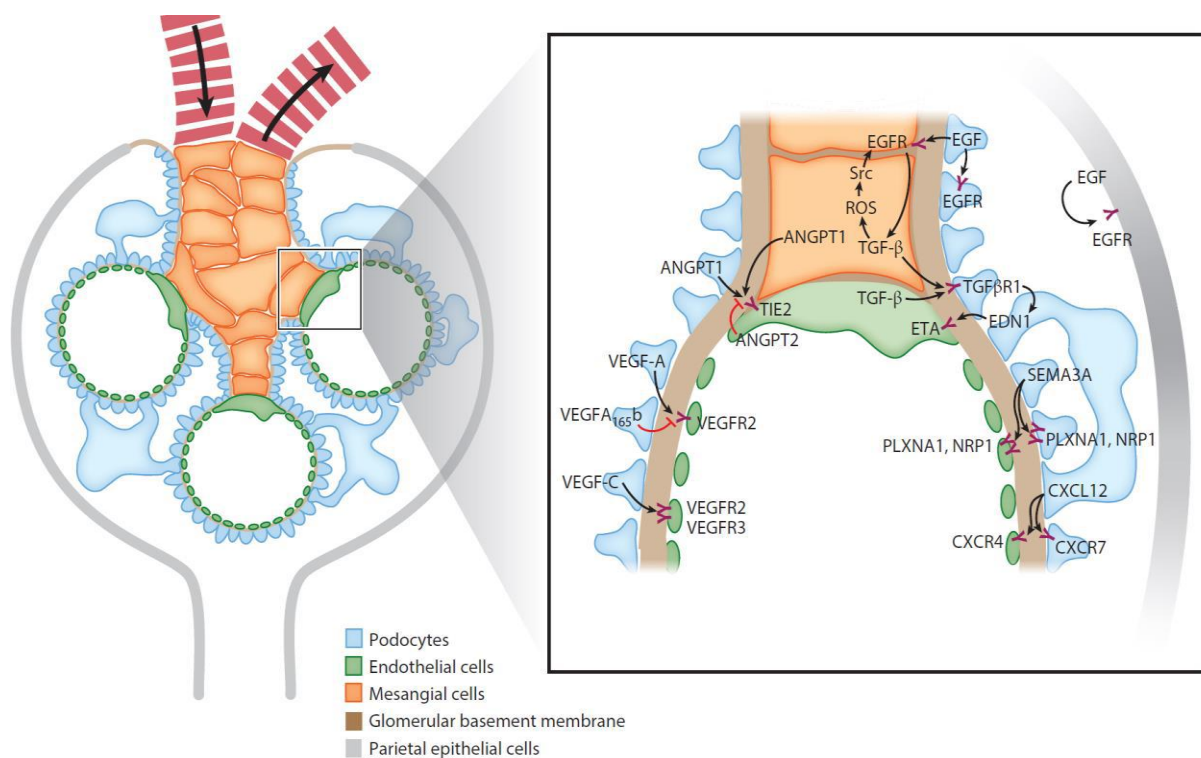
VEGF-A é uma glicoproteína (45 kDa) considerada como o maior indutor de angiogêneses fisiológica e patológica, sendo a primeira delas a ser identificada como um fator indutor de permeabilidade vascular secretado por células tumorais, conhecido como fator de permeabilidade vascular (VPF). O rim é tanto uma fonte quanto um alvo do VEGF. A expressão de VEGF no rim humano tem sido demonstrada por células epiteliais glomerulares (podócitos) (KRETZLER *et al.*, 1998; SHULMAN *et al.*, 1996) e por células tubulares (SIMON *et al.*, 1995), e os seus receptores estão expressos no endotélio glomerular e nos capilares peritubulares (SIMON *et al.*, 1998; THOMAS *et al.*, 2000).

Esse marcador está relacionado à angiogêneses tumoral, cicatrização de feridas, nefropatia diabética e doenças glomerulares, e é responsável pela manutenção da integridade da barreira de filtração glomerular, como também pela manutenção dos podócitos (BARTLETT; JEANSSON; QUAGGIN, 2016; HOEBEN *et al.*, 2004; HICKLIN; ELLIS, 2005; GONÇALVES, 2006).

Os podócitos são células diferenciadas que formam a barreira de filtração glomerular juntamente com a membrana basal glomerular e as células endoteliais adjacentes

(Figura 8) (BARTLETT; JEANSSON; QUAGGIN, 2016; TRIMARCHI, 2017). Essas células que oferecem suporte estrutural eficiente para as alças capilares garantem a filtração constante do plasma e impedem a perda de proteínas na urina durante o processo constante de filtração glomerular, assegurando a permeabilidade seletiva dessa barreira (MUKHI *et al.*, 2017; SCHELL; HUBER, 2017; TRIMARCHI, 2017). Os podócitos possuem uma extensa rede de protusões que se estendem desde um processo primário até numerosas projeções secundárias chamada de processos podálicos (*foot processes*). Esses processos podálicos são importantes para a formação da barreira de filtração, em aumentar a superfície e por uma eficiente fixação a membrana basal glomerular. A estrutura única e a localização dos podócitos permitem que eles resistam a uma pressão hidrostática dentro dos capilares glomerulares e garantam a filtração glomerular. A diminuição desses processos podálicos (*foot process effacement*) é característica muito importante na doença glomerular (MUKHI *et al.*, 2017; SCHELL; HUBER, 2017).

Figura 8 – Representação esquemática da estrutura glomerular com suas células e biomarcados urinários



Fonte: Adaptado de Bartlett; Jeansson; Quaggin, (2016, p.439).

O excesso ou diminuição de VEGF-A secretados por podócitos podem alterar o desenvolvimento ou maturação destes, o que acarreta em um dano glomerular. O *Vascular endothelial Growth Factor Receptor 2* (VEGFR2) é o receptor mais abundante no endotélio glomerular e o principal receptor para a sinalização do VEGF-A (BROSIUS; COWARD, 2014). O VEGF A possui pelo menos 5 isoformas em humanos: VEGF-A₁₂₁, VEGF-A₁₄₅, VEGF-A₁₆₅ (mais abundante), VEGF-A₁₈₉ e VEGF-A₂₀₆ (BARTLETT; JEANSSON; QUAGGIN, 2016; GNUDI *et al.*, 2015).

Um dos principais estímulos para o aumento da expressão do VEGF A é a presença da hipóxia. Grande variedade de hormônios, fatores de crescimento, citocinas, como fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento transformador (TGF), fator de crescimento da placenta (PIGF), fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), angiotensina II, IL-1 e IL-6 também podem regular e influenciar essa expressão. O VEGF acarreta na proliferação de células endoteliais, aumenta a permeabilidade vascular e medeia a vasodilatação do endotélio via aumento da produção de óxido nítrico (NO) pela sintetase NO endotelial (eNOS) (HOOD *et al.*, 1998). Além disso, VEGF induz a MCP-1 (MARUMO; SCHINI-KERTH; BUSSE, 1999) que conseqüentemente promove a quimiotaxia de monócitos e expressão de moléculas de adesão (NEUFELD *et al.*, 1999).

Estudos mostraram que os níveis renais de VEGF estão alterados em situações patológicas, como isquemia renal crônica e aguda (BASILE *et al.*, 2008; ZHU *et al.*, 2004). Outros mostraram que a inibição do VEGF está associada ao desenvolvimento de hipertensão, perda de podócitos (HARVEY; ENGEL; CHADE, 2016) e lesão renal (EREMINA *et al.*, 2008). Além disso, uma redução significativa na disponibilidade de VEGF é observada em patologias renais associadas a reduções crônicas no fluxo sanguíneo, incluindo receptor de vitamina D (RVD) (ILIESCU *et al.*, 2010), doença renal crônica (DRC) de diferentes etiologias (por exemplo, diabetes e hipertensão) (FUTRAKUL; BUTTHEP; FUTRAKUL, 2008; FUTRAKUL *et al.*, 2008) e glomerulopatias progressivas (RUDNICKI *et al.*, 2009). VEGF urinário reflete injúria de podócitos, podendo ser usado como um marcador sensível na nefropatia diabética (BROSIUS, COWARD, 2014; KIM *et al.*, 2004; TUFRO; VERON, 2012) e, potencialmente, na glomerulonefrite membranosa idiopática (HONKANEN; TEPPPO; GRONHAGEN-RISKA, 2000). Edelbauer *et al.* (2012) mostraram que os níveis séricos de VEGF-A estavam aumentados em pacientes com nefrite lúpica ativa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o ensaio *Up- Converting Phosphor Lateral Flow* que detecta o Antígeno Anódico Circulante (UCP-LF CAA) para o diagnóstico da infecção por *Schistosoma mansoni* contra outras abordagens de diagnóstico, associando-o com novos biomarcadores de lesão renal, antes e após tratamento, em uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará.

2.1 Objetivos específicos

1. Determinar a prevalência da infecção por *Schistosoma mansoni* em Bananeiras, Capistrano-CE, segundo as diferentes abordagens utilizadas;
2. Comparar as abordagens de diagnóstico utilizadas, avaliando as diferenças de positividade destas;
3. Comparar o desempenho das diferentes abordagens de diagnóstico utilizadas, através do cálculo dos valores de sensibilidade, especificidade e valores preditivos;
4. Avaliar a eficiência do tratamento farmacológico pela detecção e quantificação do CAA em amostras de soro e de urina antes e três e seis semanas após tratamento;
5. Correlacionar os níveis de CAA obtidos no soro e na urina;
6. Correlacionar as concentrações de CAA com as pontuações de intensidade do POC-CCA, antes e após o tratamento, em amostras de urina;
7. Detectar possíveis alterações renais glomerulares em grupos de indivíduos infectados antes e um, dois e três anos após o tratamento para esquistossomose mansoni;
8. Correlacionar as concentrações de CAA com as dos biomarcadores de dano renal glomerular.

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, longitudinal e observacional com três cortes transversais para a avaliação dos métodos de diagnóstico da infecção por *S. mansoni*: *baseline* (linha de base/pré- tratamento), 3 e 6 semanas após o tratamento; e quatro cortes transversais para a avaliação de dano renal glomerular: *baseline*, 1, 2 e 3 anos após o tratamento.

3.2 Área e população de estudo

O estudo foi realizado na comunidade de Bananeiras, uma localidade rural pertencente ao município de Capistrano, no estado do Ceará (coordenadas geográficas 4° 28' 20''S latitude, 38° 54' 14''W longitude). Capistrano estende-se por 222,6 km² e está localizado no sopé da serra do maciço do Baturité a 155 metros de altitude em relação ao nível do mar, a cerca de 93 km ao sul de Fortaleza (Figura 9).

Figura 9 – Mapa do Estado do Ceará localizando o Município de Capistrano. À direita, vista ampliada mostrando as áreas limítrofes do município



Fonte: Adaptado do Wikipédia, acessado em 25 de setembro de 2018; Adaptado do Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA).

A região é endêmica para *S. mansoni* e isso foi documentado desde os primeiros inquéritos realizados no Ceará (PECE, 1976). Situado em uma região de clima semi-árido, o rio que passa pela comunidade (rio Aracoiaba) permanece seco a maior parte do ano, com a temporada de cheias entre os meses de dezembro e março. O censo porta a porta realizado pela equipe do LPBM em março de 2013 revelou 297 pessoas com 2 anos ou mais de idade na comunidade. Antes da inscrição, o consentimento informado foi obtido por escrito, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ou por impressão digital (em casos de analfabetismo) (Apêndice A). Os pais/ responsáveis legais forneceram consentimento informado para seus filhos participarem. Contudo ainda, o participante menor de idade que sabia ler e escrever assinou o Termo de Assentimento (Apêndice B).

No momento da coleta dos dados, Bananeiras tinha sua fonte de renda baseada principalmente na agricultura de subsistência, mas também no comércio local. A comunidade apresentava precárias condições de infra-estrutura e ausência de saneamento (Figura 10). Os cuidados básicos de saúde estavam a cargo de uma equipe de Saúde da Família que atendia no único Posto de Saúde da localidade e, se necessário (maior complexidade), os moradores eram encaminhados para a sede de Capistrano.

Figura 10 – Fotos da Localidade de Bananeiras; Etapa de assinatura do TCLE e aplicação dos questionários, 2013



Fonte: Elaboração da autora e Arquivos do LPBM.

A comunidade de Bananeiras foi escolhida porque apresentou casos positivos nos anos de 2008, 2009 e 2010 (com taxa de positividade relatada em 2010 de 1,6% - 3 positivos / n = 188), não foi trabalhada pelo PCE nos anos seguintes, e, conseqüentemente, não tinha havido tratamento específico para a esquistossomose nos últimos dois anos (CEARÁ, 2014).

Os pontos de tempo de 3 e 6 semanas pós-tratamento foram escolhidos baseado na literatura (VAN LIESHOUT *et al.*, 1991; SCHERRER *et al.*, 2009) como tempos suficientes para a depuração do antígeno, e antes que uma possível reinfecção pudesse ser registrada.

3.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo os moradores da localidade acima mencionada, com idade igual ou superior a 2 anos, de ambos os sexos.

3.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os participantes que não disponibilizaram alguma das amostras biológicas solicitadas e/ou que não as entregaram em quantidade suficiente para a realização dos procedimentos.

3.2.3 Critérios de seleção dos grupos para uma subcoorte destinada à avaliação de função renal glomerular

Foram incluídos nessa parte do estudo participantes não infectados e participantes infectados por *S. mansoni*, baseado no ensaio UP-LF CAA, e acompanhados por 1, 2 e 3 anos pós-tratamento, pertencentes à localidade citada, com idade superior a 15 anos, de ambos os sexos, que não apresentavam doenças renais, diabetes e/ou hipertensão e que forneceram as amostras de todos os tempos de análise dessa parte do estudo.

Essa subcoorte foi composta por 2 grupos baseado na detecção de CAA de *S. mansoni* na *baseline*: grupo de participantes infectados por *S. mansoni*, CAA-positivos (GP); e grupo de não infectados por *S. mansoni*, CAA-negativos (GN). Estes foram tratados e avaliados 1 ano, 2 anos e 3 anos após o tratamento.

3.3 Aplicações dos questionários

Foram aplicados dois questionários aos participantes, em visitas domiciliares: um questionário socioambiental composto por perguntas a respeito das condições demográficas, sociais, de saúde, e sobre alguns aspectos da esquistossomose, que foi aplicado na *baseline* (Apêndice C); e, posteriormente, um questionário para investigação de co-morbidades, utilização de medicamentos e hábitos de vida (Apêndice D). Os pais / responsáveis legais forneceram as respostas dos questionários das crianças.

3.4 Coleta e transporte do material biológico

3.4.1 Coleta de sangue, fezes e urina

No início do estudo, um dia antes do dia de coleta, dois recipientes de plástico rotulados com números de identificação únicos e nome do participante (recipientes para fezes e urina) foram entregues a cada participante do estudo / mães ou responsáveis; nesse momento também foram coletadas amostras de sangue venoso. Amostras de soro foram obtidas após centrifugação de amostras de sangue coagulado a 3.000 g por 5 min e estas foram armazenadas congeladas à temperatura de -20°C. No dia seguinte, a comunidade foi convidada a devolver os recipientes cheios com uma amostra fresca de urina da manhã, de preferência, e uma amostra de fezes para os pesquisadores de campo no posto de Saúde de Bananeiras, onde as amostras foram processadas no mesmo dia. Pequenas alíquotas de urina (5 mL), de soro (2 mL) e de fezes foram transportados sob refrigeração e mantidas congeladas a - 20°C no Laboratório de pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos (LPBM) da UFC, antes da transferência para o *Leiden University Medical Center* (LUMC) na Holanda para a execução dos ensaios de detecção do CAA. Três e seis semanas (urina e soro) e 1, 2 e 3 anos (apenas urina) após a administração de PZQ, amostras foram coletadas novamente, usando os mesmos procedimentos.

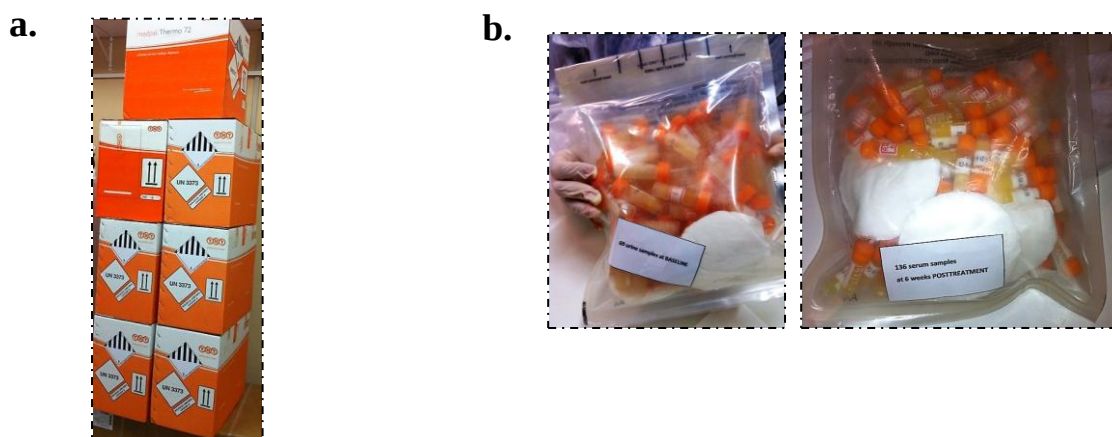
3.4.2 Transporte do material biológico para realização dos ensaios UCP-LF CAA

As alíquotas de urina e de soro coletadas na *baseline* e 3-6 semanas após o tratamento foram transportadas para o Departamento de Parasitologia do *Leiden University Medical Center* (LUMC), ficando sob a responsabilidade do pesquisador e professor Dr.

Govert J. van Dam. Essas amostras foram utilizadas para a execução dos ensaios UCP-LF CAA, que foram desenvolvidos por seu grupo de pesquisa.

Tratou-se de um transporte aéreo, realizado por empresa especializada em transporte de material biológico. O conteúdo enquadrou-se na descrição de substâncias biológicas, categoria B, UN3373 (não infectante), sendo transportado para fins de diagnóstico em pesquisa científica sob condição de congelamento mantido por gelo seco (UN1845 – Substâncias Perigosas Diversas - 9). As embalagens utilizadas seguiram as determinações da instrução de embalagem 650 da norma *International Air Transport Association* (IATA), estando os volumes devidamente identificados (Figura 11).

Figura 11 – Fotos do acondicionamento dos criotubos contendo as amostras para transporte internacional conforme a norma IATA; a. Embalagens terciárias; b. Embalagens primárias (bags)



Fonte: Elaboração da autora, 2014.

3.5 Técnicas de diagnóstico para a infecção por *S. mansoni*

Foram executados três tipos de técnicas de diagnóstico: técnica parasitológica de fezes (Kato-Katz), ensaio UCP-LF CAA em amostras de urina (UCAA2000) e de soro (SCAA500), ambos no formato *wet* (CORSTJENS *et al.*, 2014a) e PCR em amostras de fezes. Além disso, os dados obtidos pelo teste de diagnóstico que detecta o antígeno catódico circulante (POC-CCA), antes e 3 e 6 semanas após o tratamento, e pela técnica de detecção de anticorpos (SWAP-ELISA) antes do tratamento oriundos de Leal (2014) fizeram parte de um projeto de mestrado, realizado pelo nosso grupo de pesquisa, na mesma população de forma simultânea e

ao qual esse estudo está vinculado. Estes foram utilizados para análises comparativas desse estudo.

3.5.1 Técnica de Kato-Katz

A técnica de Kato-Katz (KATZ; CHAVES; PELLEGRINO, 1972) foi realizada utilizando o Kit Helm Test[®] (Bio-Manguinhos/Fiocruz, RJ, Brasil). As lâminas foram preparadas no próprio posto de saúde da localidade. Estas foram levadas para uma estufa a 40°C por 2 horas e em seguida foram embaladas e levadas para o LPBM onde foi realizada a leitura ao microscópio óptico, percorrendo toda a superfície delimitada pela lamínula, fazendo a contagem do número de ovos de *S. mansoni*. A leitura foi realizada por dois microscopistas treinados e quaisquer discrepâncias resolvidas antes do registro dos resultados.

Foram preparadas três lâminas de uma única amostra de fezes para cada participante, através dessa técnica (Figura 12), e a carga parasitária foi determinada pela média do número de ovos por grama de fezes (OPG). A média aritmética de OPG calculada para as 03 lâminas ($OPG \chi = \text{Soma do n}^\circ \text{ de ovos} \times 24 / \text{n}^\circ \text{ lâminas analisadas}$) foi utilizada para determinação da intensidade da infecção por *S. mansoni*. Para o controle de qualidade, 10% dos esfregaços de Kato-Katz foram reexaminados por um técnico sênior do Centro de Pesquisa Rene Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Minas Gerais, Brasil.

Figura 12 – Preparação da técnica de Kato – Katz, pelo Kit Helm Test[®]



a: Material para preparação das lâminas; b: kit com reagente e materiais utilizados.

Fonte: Arquivos do LPBM.

3.5.2 Ensaios Up – Converting Phosphor - Lateral Flow Circulating Anodic Antigen – UCP-LF CAA

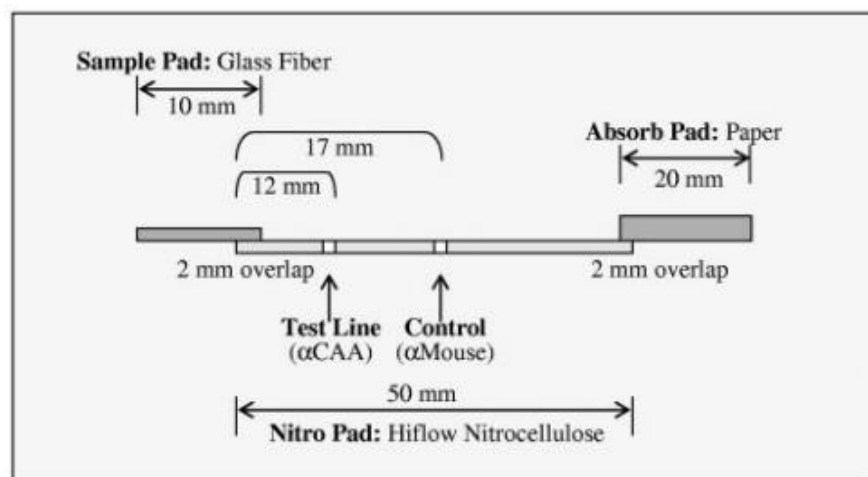
A execução desses ensaios foi realizada nos laboratórios de Pesquisa do Departamento

de Parasitologia da *Leiden University*, sob a supervisão e orientação do Prof ° Dr. Govert J. van Dam, para onde as amostras biológicas foram enviadas. No geral, amostras de urina e soro de 128 participantes foram examinadas pelo ensaio *up-converting phosphor – lateral flow* (UCP-LF) para detecção e quantificação de CAA antes e 3 e 6 semanas após a administração de PZQ.

3.5.2.1 Produção das tiras (strips) e do conjugado UCP^{MαCAA}

Grandes lotes de tiras para o ensaio de fluxo lateral (até 2000) foram preparados de acordo com os protocolos descritos por Corstjens *et al.* (2001, 2008a). A linha de teste (T) foi composta de 200 ng do anticorpo monoclonal anti-CAA produzido em camundongo 147-3G4 (MαCAA, Dept. de Parasitologia, LUMC) e a linha de Controle do fluxo (*Flow-Control*- FC) continha 100 ng do anticorpo anti-camundongo produzido em cabra (M8642, Sigma-Aldrich). As tiras foram armazenadas secas em recipientes de plástico fechados com sílica. Um esquema da tira está representado na figura 13.

Figura 13 – Ilustração da tira (strip) específica para CAA utilizada no ensaio UCP- LF



Fonte: Corstjens *et al.* (2008a, p.172).

O anticorpo monoclonal anti-CAA 147-3G4 (LUMC, Parasitologia) foi acoplado às nanopartículas fosforescentes - 400 nm (OraSure Technologies, Inc., Bethlehem, PA), como descrito por Corstjens *et al.* (2001), utilizando uma carga de conjugação de 25ng de anticorpo por mg das partículas. O conjugado resultante (UCP^{MαCAA}) é estável durante pelo menos 6 meses sob refrigeração (4°C). Diretamente antes usar, a solução estoque de conjugado foi

homogeneizada, e uma quantidade desejada foi sonicada (1 minuto, *water bath sonicator*, 100 W) e diluída em tampão de ensaio a 1 ng/mL. O tampão de ensaio de Fluxo Lateral utilizado é o *High Salt Lateral Flow* (HSLF: 100 mM de HEPES pH 7,5; 270 mM NaCl; 0,5% (p/v) de Tween 20; 1% (p/v) de soro de albumina bovina).

3.5.2.2 Pré - tratamento das amostras

Todas as amostras testadas por esse ensaio, bem como os padrões e controles positivo e negativo, foram primeiramente pré-tratadas com igual volume de ácido tricloroacético (TCA) - 4% (p/v), para remover proteínas interferentes e para dissociar os imunocomplexos (DE JONGE; FILLIÉ; DEELDER, 1987).

(I) Amostras de urina: Pipetou-se 2mL de urina/padrões/controles e adicionou-se 2mL de TCA (4%). O volume de 4 mL foi dividido em dois tubos do tipo eppendorf de 2mL. Após agitação em vortex por 3 segundos, incubou-se a mistura 5 minutos à temperatura ambiente e em seguida centrifugou-se por 10 minutos a 14.000 rpm. O sobrenadante resultante (4mL) foi utilizado para a etapa de concentração da amostra.

(II) Amostras de soro: Pipetou-se 500 µL de soro/padrões/controles e adicionou-se 500 µL de TCA (4%). Após agitação em vortex por 3 segundos, incubou-se a mistura 5 minutos à temperatura ambiente e em seguida centrifugou-se por 5 minutos a 14.000 rpm. Foram utilizados 500 µL do sobrenadante resultante para a etapa de concentração da amostra.

3.5.2.3 Concentração das amostras

Para aumentar a sensibilidade analítica um passo de concentração foi adicionado. As amostras de urina foram investigadas por um ensaio baseado em concentração altamente sensível (UCAA2000 formato *wet*), e as amostras de soro foram examinadas de um modo semelhante, por um ensaio baseado em concentração utilizando 500 µL de soro (SCAA500 formato *wet*), como descritos por Corstjens *et al.* (2014a).

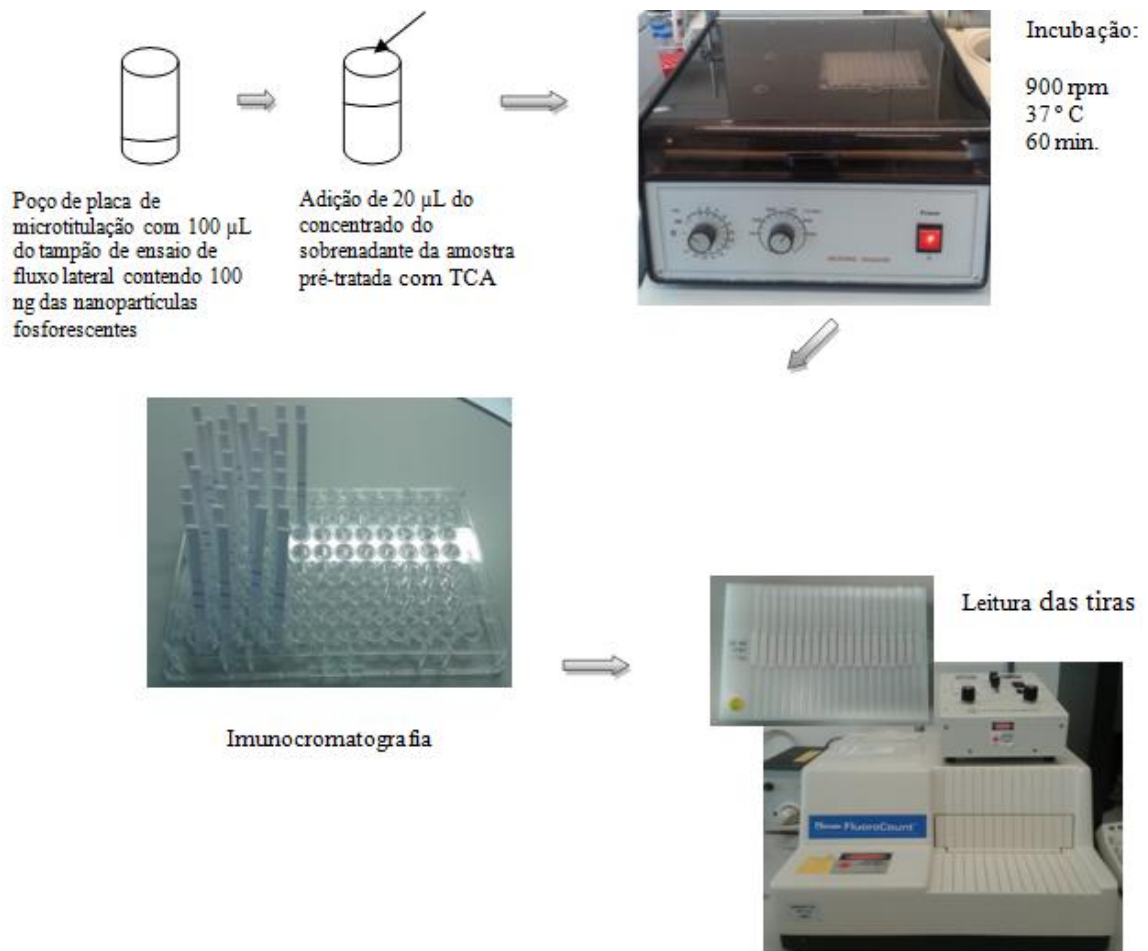
Após o pré-tratamento com ácido tricloroacético, 4 mL e 0,5mL do sobrenadante das amostras de urina e de soro, respectivamente, foram adicionados em dispositivos de filtro centrifugáveis com membranas de tamanho específico (cut-off) de 10kDa de massa molecular. Foram utilizados dispositivos para 4mL/0,5mL (Amicon Ultra- 4mL/0,5mL Centrifugal Filters, Millipore Corp.; Billerica, MA, USA). Amostras de urina e de soro foram centrifugados durante 1 hora à 4.000 rpm e 20 min à 14.000 rpm, respectivamente, reduzindo

o volume para cerca de 20 - 30 μL . 20 μL do concentrado foram utilizados para execução do ensaio.

3.5.2.4 Ensaio UCP-LF CAA

Uma visão geral do ensaio UCP-LF é mostrada na figura 14. O ensaio consiste de quatro passos: (I) 20 μL do concentrado do sobrenadante da amostra pré-tratada com TCA foram misturados com 100 μL do tampão de ensaio de fluxo lateral contendo 100 ng de nanopartículas fosforescentes específicas para o CAA (1ng/ μL) em uma placa de microtitulação (ou em um tubo de 1.5 mL); (II) Essa mistura foi incubada em um agitador orbital (900 rpm) à 37 ° C durante 60 minutos; (III) Imediatamente após a incubação, as tiras identificadas com o número da amostra foram inseridas com a almofada da amostra para dentro do poço da placa de microtitulação da amostra correspondente, permitindo que a imunocromatografia prosseguisse (CORSTJENS *et al.*, 2014a); e (IV) Finalmente, após a secagem das tiras durante a noite, foi realizada a leitura das tiras com o leitor de placas de microtitulação Packard FluoroCountTM modificado (adaptado com um laser infravermelho - 980 nm) para ler as tiras do ensaio de fluxo lateral (NIEDBALA *et al.*, 2001).

Figura 14 – Visão geral do ensaio de fluxo lateral baseado na *up-conversion* de nanopartículas fosforescentes (*Up-Converting Phosphor - Lateral Flow – UCP-LF*)



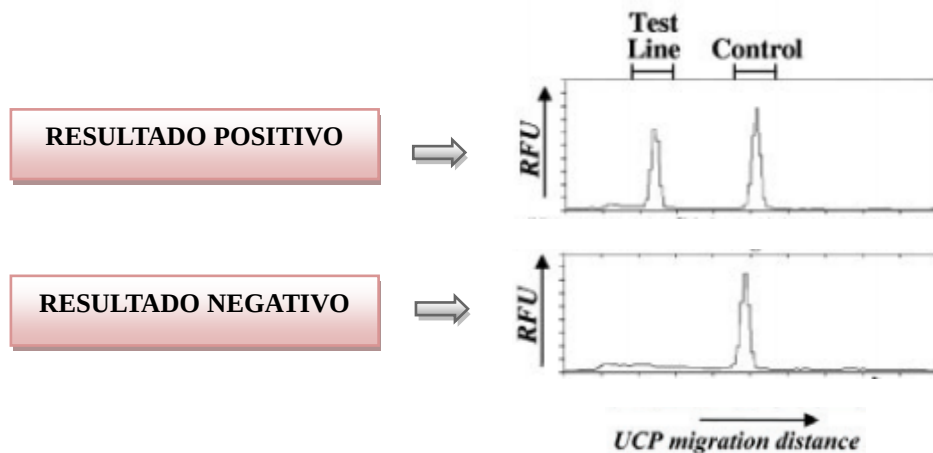
Fonte: Elaboração da autora, 2014.

Os sinais são medidos como Unidades de Fluorescência Relativa (*Relative Fluorescent Units - RFUs*) que representam a intensidade da luz verde emitida por excitação das nanopartículas capturadas nas linhas T e FC e detectada com um filtro de 550nm. O software utilizado para a análise das tiras (OTI-Connect, OraSure Technologies Inc.) inclui algoritmos para correção de fundo (*background*) e determinação das áreas de pico (T e FC). Para padronização e expressão quantitativa, os sinais da linha Teste (T) foram normalizados para os sinais da linha do Controle de Fluxo (FC) de cada tira individualmente e os resultados do ensaio UCP-LF são expressos em valores de razão (T/FC) (CORSTJENS *et al.*, 2014a; HAMPL *et al.*, 2001). Curvas padrão de CAA *spike* em urina / soro negativos foram usadas para quantificar os níveis de CAA nas amostras clínicas (CORSTJENS *et al.*, 2015). Em mais detalhes, diluições em série do antígeno parcialmente purificado, ou seja, a fração solúvel em TCA do antígeno de verme adulto de *Schistosoma* (AWA-TCA) (DEELDER *et al.*, 1976),

contendo aproximadamente 3% (p/p) de CAA, em urina e soro negativos, foram ensaiadas com cada conjunto de amostras clínicas (50 urina/100 soro). As concentrações do CAA são determinadas por valores de razão T/FC relativos às respectivas curvas padrão obtidas pela série de AWA-TCA, sendo expressas em pg /mL de urina/soro, como descrito por Corstjens *et al.* (2008a).

Os cut-offs do ensaio foram decididos de acordo com Corstjens *et al.* (2014a) usando 0,1 pg / mL de urina e 1 pg / mL de soro como os menores limites de detecção (*Lower Limit of Detection* - LOD), e 0,05 pg / mL de urina e 0,5 pg / mL de soro como o LOD se o ensaio tivesse sido realizado com múltiplos experimentos (triplicatas ou mais) em condições laboratoriais ideais. A região entre os dois LODs foi designada como 'irresoluto', indicando que as amostras eram suspeitas de ser positivas, mas para determinar o status verdadeiramente positivo ou negativo, as amostras precisariam ser testadas novamente, de preferência usando um volume de amostra ainda maior. A ilustração dos resultados (positivo e negativo) nesse ensaio é mostrada na figura 15.

Figura 15 – Ilustração dos resultados positivo e negativo no ensaio UCP- LF



RFU: *Relative Fluorescent Units* (Unidades de Fluorescência Relativa).

Fonte: Adaptado de Corstjens *et al.* (2008a, p.172).

3.5.3 Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (PCR)

A técnica de PCR em tempo real foi realizada com a colaboração do Laboratório Diagnóstico Imunológico e Molecular de Doenças Infecciosas e Parasitárias, do Departamento de Imunologia do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes (IMPG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e do Laboratório de Citogenômica do Câncer, do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará.

3.5.3.1 Extração e purificação do DNA de amostras de fezes

Foi utilizado o conjunto NucleoSpin[®] Soil (MACHEREY- NAGEL, Düren, Germany) seguindo as recomendações do fabricante para extração e purificação do DNA genômico total. As suspensões de fezes de cada espécime clínico foram preparadas a partir de um grama de fezes não preservadas, estocadas a - 20°C, em água deionizada. Para a etapa de lise das amostras, os tubos foram agitados, horizontalmente, no Mini-Beadbeater-16 cell disruptor (BioSpec Products, Bartlesville, OK, USA) por 1 min. O DNA purificado foi armazenado à temperatura de - 20°C até a realização das PCRs.

3.5.3.2 PCR em tempo real para detecção de *S. mansoni*

Para a detecção do DNA do ovo específico de *S. mansoni* foram empregados os pares de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) e sonda duplamente marcada direcionados para o gene da subunidade 1 da enzima citocromo oxidase (*cox1*) descritos na literatura (TEN HOVE *et al.*, 2008). O fragmento amplificado é composto por 99 pares de base (pb).

Primers:

SMCYT 748F – 5'-CCCTGCCAAATGAAGAGAAAAC-3'

SMCYT 847R – 5'-TGGGTGTGGAATTGGTTGAAC-3'

Sonda:

SMCYT 785T-FAM – 5'-CCAAAACCAGACCCCTCTCAAATTG-3'

Para a amplificação, o volume total de reação foi de 20,0 µL. A mistura da reação foi preparada com 0,55 µL, na concentração de 0,19 µM, de cada iniciador, 1,1 µL, na concentração de 0,139 µM, da sonda, 11,0µL do reagente Platinum Quantitative PCR Supermix-UDG with ROX (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), 1,8 µL de água deionizada e 5,0 µL da solução de DNA purificado, utilizando-se duas diluições de cada amostra de DNA (1:2 e 1:20).

A amplificação consistiu em 2 min a 95 ° C seguido por 40 ciclos de 15s a 95 ° C e 30s a 60 ° C. A amplificação, detecção e análise de dados foram realizadas com o 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster city, CA, EUA). A análise foi qualitativa. A amplificação do DNA foi positiva quando os valores de *Cycle threshold* (Ct)

foram <38. As amostras dos 128 participantes acompanhados 3 e 6 semanas após o tratamento foram escolhidas para a análise parcial por PCR na *baseline*.

Para cada reação realizada foi incluído: controle positivo/DNA (DNA de *S. mansoni*, cedido pelo Laboratório Diagnóstico Imunológico e Molecular de Doenças Infecciosas e Parasitárias, do Instituto de Microbiologia da UFRJ); controle negativo (extração de amostra fecal de um participante comprovadamente negativo para *S. mansoni* pelos demais métodos diagnósticos utilizados); branco da reação (todos os reagentes utilizados, exceto DNA que foi substituído por água ultra-pura).

3.5.4 Detecção do Antígeno Catódico Circulante (CCA) – POC-CCA

Para a detecção do CCA foi realizado o teste *Point-of-Care (POC)* disponível comercialmente, Bilharzia (*Schistosoma*), que detecta esse antígeno na urina (Lote nº 33.827, *Rapid Medical Diagnostics*, Pretoria, África do Sul), realizado à temperatura ambiente de acordo com as instruções do fabricante no dia da coleta da amostra (Figura 16). Os possíveis status dos resultados desse teste são negativo, 'traço' e positivo, de forma similar a de outros grupos que trabalharam com o POC-CCA para o diagnóstico de *S. mansoni* em diferentes contextos africanos (COLLEY *et al.*, 2013; COULIBALY *et al.*, 2013b) e no Brasil (BEZERRA *et al.*, 2018; COELHO *et al.*, 2016; SIQUEIRA *et al.*, 2016). Todos os testes foram lidos independentemente por dois investigadores cegos e, no caso de resultados discordantes, discutiu-se com um terceiro investigador independente até que a concordância fosse alcançada.

Figura 16 – Kit Bilharzia (*Schistosoma*) da *Rapid Medical Diagnostics*[®] (Pretoria, África do Sul)



Fonte: Elaboração da autora, 2014.

3.5.5 Detecção de anticorpos contra *S. mansoni*

O ensaio ELISA foi realizado para a detecção do anticorpo IgG contra a preparação de antígenos solúveis de vermes (SWAP-ELISA), de acordo com a metodologia descrita por Grenfell *et al.* (2013a).

3.6 Tratamento

O tratamento com praziquantel (PZQ) (Farmanguinhos, Ministério da Saúde, Brasil) foi oferecido gratuitamente a todos os participantes no posto de saúde de Bananeiras, independentemente do diagnóstico da infecção. O tratamento coletivo foi aplicado porque este estudo faz parte de um projeto maior, cujo objetivo é interromper a transmissão da esquistossomose nessa área. Foi realizado com dose única de 60 mg / kg para crianças (≤ 15 anos) e 50 mg / kg para adultos, conforme preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil. O medicamento foi disponibilizado pela Secretaria de Saúde do Estado do Ceará e a prescrição e administração deste foram supervisionadas pelo médico e enfermeiros da Atenção Básica de Saúde do Município de Capistrano. As crianças mais jovens participantes foram tratadas com comprimidos de PZQ triturados misturados com um pouco de suco; a eficácia e segurança dessa intervenção foram descritas por Coulibaly *et al.* (2012).

3.7 Análise da função renal glomerular

3.7.1 Creatinina e albumina urinárias

Creatinina e albumina urinárias foram quantificadas por imunoturbidimetria (COBAS C111, Roche®). O analisador COBAS C111 computa automaticamente toda determinação no mesmo intervalo de tempo.

3.7.2 Proteinúria

A proteinúria foi quantificada através de método colorimétrico, pela reação com o vermelho de pirogalol. Nessa reação, o vermelho de pirogalol reage com o molibdato de sódio formando um complexo que, quando combinado com a proteína em meio ácido (urina) desenvolve um cromóforo de cor azul, com o máximo de absorção em 600 nm. A absorbância

resultante é diretamente proporcional à concentração de proteína na amostra (Labtest[®]).

3.7.3 Estresse oxidativo urinário - Malonaldeído (MDA)

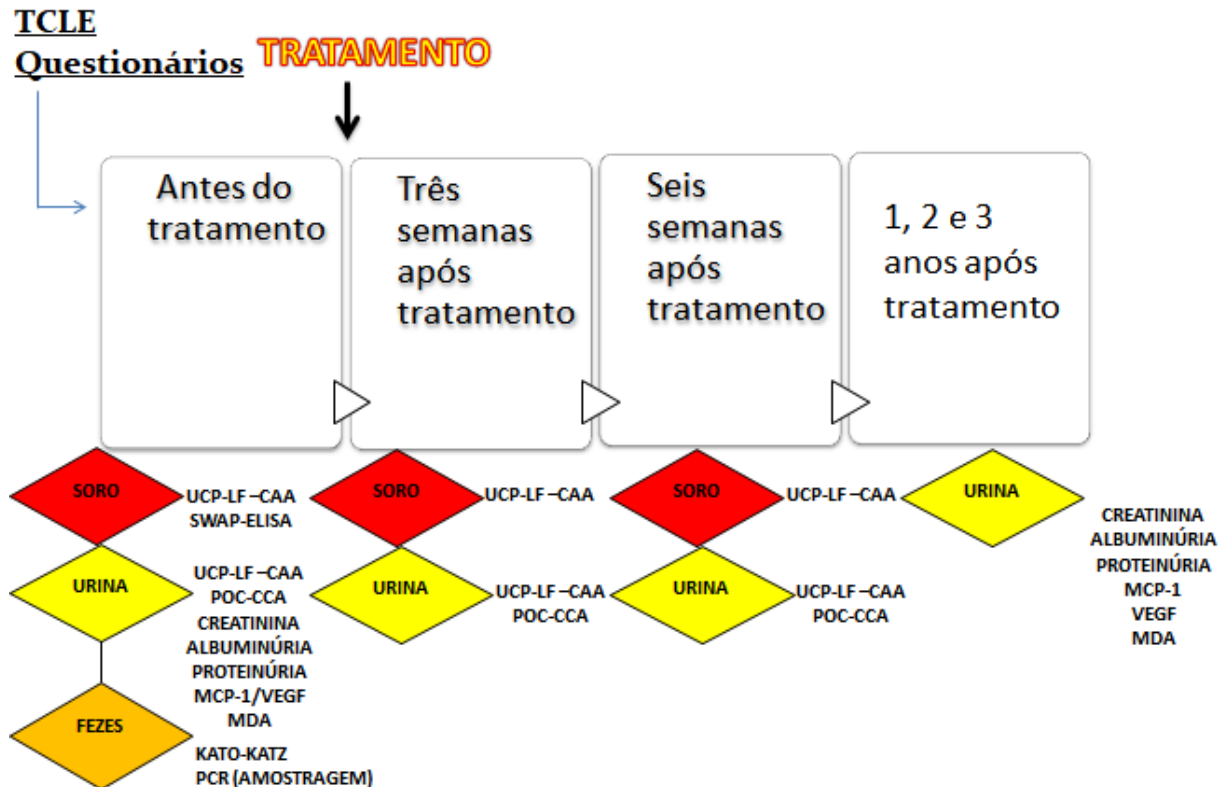
O método empregado para determinação do MDA foi baseado na sua reação com ácido tiobarbitúrico (TBARS). Nesta reação, duas moléculas de TBARS reagem estequiometricamente com uma molécula de MDA para formar um cromóforo róseo que tem absorvância máxima em solução ácida 535 a 560 nm. O volume de 125 mL de urina foi adicionado a tubos de vidro e incubado em banho-maria a 37 °C por 1 h, seguido por adição de 200 mL de ácido perclórico a 35% para precipitar as proteínas. A mistura foi centrifugada a 14.000 rpm por 10 minutos e 300 mL do sobrenadante, adicionados a 100 mL de uma solução de ácido tiobarbitúrico a 0,6%. A mistura foi levada a banho-maria e aquecida a 95 °C por 30 min. Em seguida, foi centrifugada a 14.000 rpm por 10 minutos. Após resfriada, a absorvância foi medida em um leitor de microplacas a 560 nm. Os valores das absorvâncias foram interpoladas no gráfico da curva padrão para obtenção da concentração mM.

3.7.4 Quantificação dos novos biomarcadores de lesão renal

Os biomarcadores MCP-1/CCL2 e VEGF urinários foram quantificados por meio da técnica de ELISA, segundo as normas dos fabricantes dos kits comerciais (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Para a leitura colorimétrica, foi utilizado o equipamento ASYS modelo Expert Plus. O limite de detecção foi de 15,6 pg/mL e de 31,3 pg/mL para o MCP-1 e o VEGF, respectivamente. Todos os kits de ELISA foram do tipo sanduíche.

Todos os biomarcadores urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (WAIKAR; SABBISSETTI; BONVENTRE, 2010), colhida da mesma amostra de urina utilizada para a dosagem dos biomarcadores descritos. As etapas do estudo são ilustradas na figura abaixo (Figura 17).

Figura 17 – Ilustração esquemática das etapas do estudo



Fonte: Elaboração da autora, 2019.

3.8 Análises estatísticas

Os dados foram digitados em uma planilha eletrônica (Excel 2007 Microsoft; Washington, EUA). As análises estatísticas da parte do estudo de avaliação das abordagens diagnósticas foram feitas usando os programas Graphpad Prism 5 (Graphpad Software Inc.; California, EUA) e SPSS versão 20 (IBM Corp.; Armonk, EUA).

Análise estatística não paramétrica foi utilizada para correlação entre os resultados dos testes, para avaliar os níveis de CAA antes e após o tratamento com PZQ e a correlação e as diferenças entre as concentrações de CAA em urina e soro. A concordância entre variáveis binárias foi estabelecida pela determinação da estatística kappa (k).

Especificidade e sensibilidade foram calculadas e usadas para indicação dos desempenhos dos ensaios UCP-LF CAA e do SWAP-ELISA contra um padrão de referência combinado construído pelos resultados de Kato-Katz e / ou PCR e / ou POC-CCA (considerando as leituras “traços” como negativas); Por outro lado, especificidade, sensibilidade e valores preditivos positivos e negativos dos testes diagnósticos foram calculados seguindo uma abordagem descrita anteriormente (van Dam *et al.*, 2015b; Knopp *et*

al., 2015), mas apenas por razões comparativas. Para tanto, foi construída uma referência comparativa, definido como positivo se uma amostra de um participante apresentou ovos de *S. mansoni* em pelo menos uma das três lâminas (Kato-Katz) e / ou foi positivo na PCR e / ou foi positivo no ensaio UCP-LF CAA (urina ou soro), considerando as leituras “irresolutas” como negativas. Essa abordagem implica que, por definição, as especificidades e, conseqüentemente, os valores preditivos positivos dos testes individuais foram considerados como 100%. Devido às especificidades muito elevadas dos ensaios de antígenos circulantes, isso foi considerado válido (Midzi *et al.*, 2009). Além disso, este não foi um estudo transversal, assim como os parâmetros são influenciados pela prevalência.

As categorias 'irresoluto' e 'traço' foram definidas para os resultados do UCP-LF CAA e do POC-CCA, respectivamente, e analisadas separadamente, seguindo a abordagem descrita anteriormente por Coulibaly *et al.* (2013b), van Dam *et al.* (2015a) e Vonghachack *et al.* (2017). Além disso, a análise dos dados de CAA em urina/soro foi realizada de duas maneiras: com os resultados "irresolutos" sendo considerados como negativos para infecção (UCAA-/SCAA-) e com os resultados "irresolutos" sendo considerados como positivos (UCAA + /SCAA +); Da mesma forma foram analisados os dados de CCA com os resultados "traços" sendo considerados negativos (t-) ou positivos (t+). Para obter informações mais exatas sobre em que faixa etária da população foi localizado mais participantes infectados, os dados também foram analisados por grupos etários (2-9,10-19, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59 e ≥ 60 anos).

As taxas de cura foram calculadas a partir de participantes para os quais foram obtidos resultados completos de UCAA2000 ou SCAA500 em todos os momentos do estudo. As taxas de cura foram calculadas como a proporção de participantes positivos pelo UCAA2000 ou SCAA500 antes do tratamento que se tornaram negativos 3 ou 6 semanas após o tratamento.

Quanto à parte do estudo de biomarcadores de lesão renal, as análises estatísticas foram realizadas com o programa SPSS 20.0 para Windows (IBM Corp.; Armonk, USA). As estatísticas descritivas foram expressas como média e desvio padrão ou medianas com o intervalo interquartil para variáveis contínuas e contagens de frequência (porcentagens) para dados categóricos. Para verificar a normalidade de distribuição dos dados observados, todas as variáveis foram testadas pelo teste de Kolmogorov - Smirnov. O teste de Levene foi usado para comparar a variabilidade entre os grupos. Variáveis contínuas foram comparadas pelo teste t de Student ou Mann-Whitney, conforme apropriado. Além disso, análise pareada usando teste t de pares ou teste de Wilcoxon foi utilizada para comparação dos biomarcadores durante o acompanhamento dos participantes. As variáveis de categoria foram comparadas

pelo teste do qui-quadrado. Coeficiente Rho de Spearman foi utilizado para determinar correlações entre as variáveis analisadas. A análise de regressão univariada foi utilizada para determinar a associação independente entre os biomarcadores renais e o antígeno com desfechos desfavoráveis dos participantes. Todos os testes foram bicaudais.

Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os procedimentos inferenciais.

3.9 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Ceará sob os números dos pareceres: 480.719/CAAE: 22932713.7.0000.5054 e 3.706.472/CAAE: 22786919.9.0000.5054, conforme descrito nos Pareceres Consubstanciados do CEP (Anexo A).

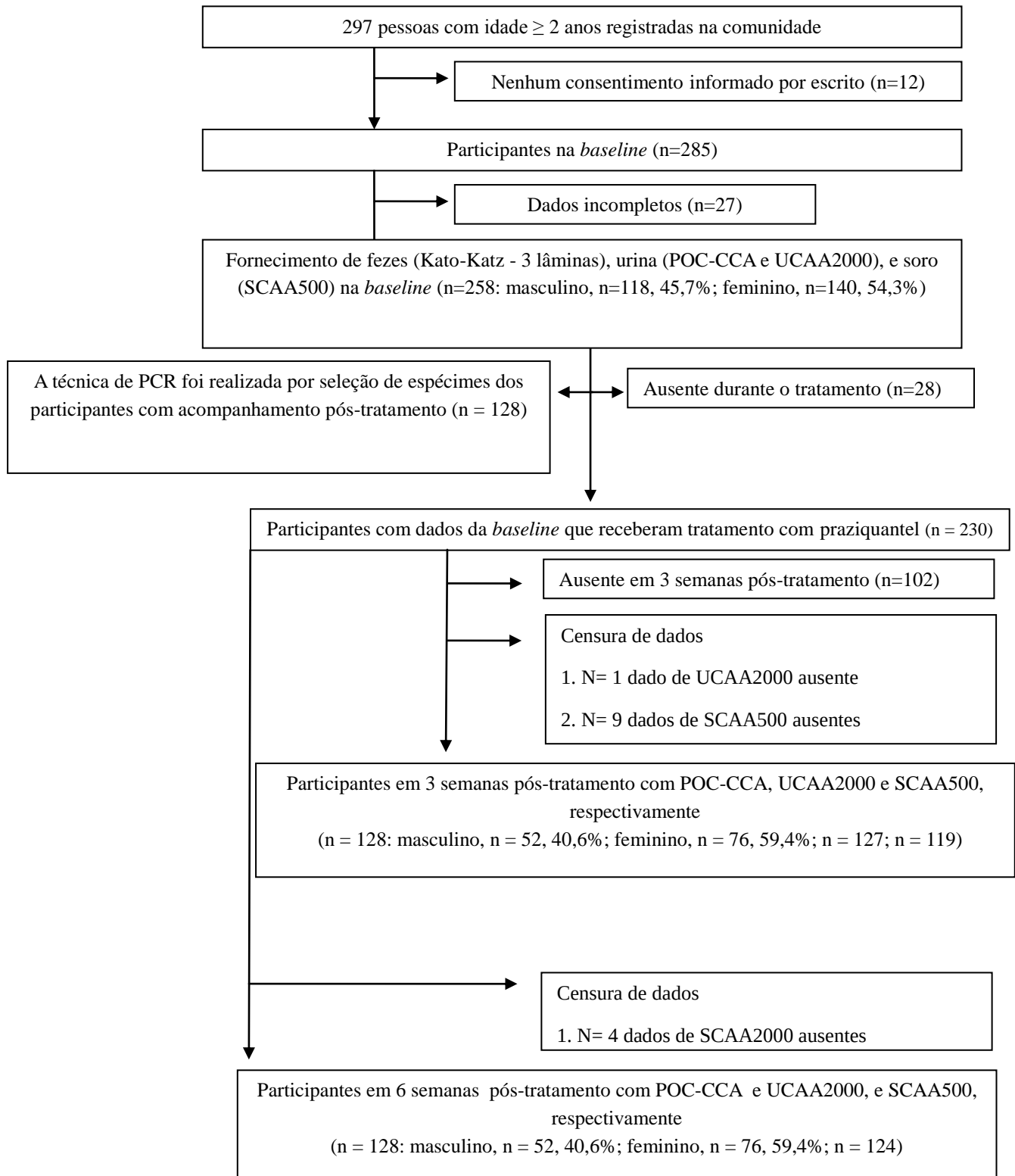
Todas as pessoas foram informadas sobre seus direitos que são assegurados de acordo com os preceitos éticos previstos na Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

4 RESULTADOS

4.1 Características de adesão e população (avaliação das abordagens de diagnóstico de *S. mansoni*)

A adesão das pessoas ao protocolo do estudo é mostrada na figura 18. Nosso censo populacional revelou 297 pessoas com dois anos ou mais de idade; todas foram convidadas a participar. Doze indivíduos não forneceram consentimento informado por escrito. Dos 285 participantes da pesquisa transversal da *baseline*, 27 foram excluídos devido a dados incompletos (por exemplo, amostra de sangue não coletada ou amostras de fezes em quantidade insuficiente). Os 258 participantes restantes forneceram amostras de fezes, urina e sangue para um conjunto de testes diagnósticos para detecção de *S. mansoni* (esfregaços espessos pela técnica de Kato-Katz em triplicata, os ensaios UCP-LF CAA, um teste POC-CCA e SWAP-ELISA). Havia 140 mulheres (54,3%) e 118 homens, com uma mediana de idade de 30 anos (intervalo: 2 a 87 anos). Entre estes, 230 receberam tratamento com PZQ. Três e seis semanas após o tratamento, com exceção de algumas perdas em determinados testes, detalhadas na figura 18, as amostras de urina e soro de 128 participantes foram reexaminadas com os ensaios UCP-LF CAA e um teste POC-CCA. Entre estes, 40,6% (n = 52) eram do sexo masculino e a mediana de idade da coorte era de 19 anos (faixa etária de 2-87 anos). O diagnóstico molecular na *baseline* e, conseqüentemente, as análises de acurácia foram concentradas nessa coorte de participantes.

Figura 18 – Fluxograma detalhando a participação do estudo e adesão das pessoas para a submissão de amostras para o diagnóstico da infecção por *S. mansoni* antes e após a administração de praziquantel na comunidade de Bananeiras – CE



4.2 Resultados individuais dos testes e prevalências de *S. mansoni* antes do tratamento de acordo com a abordagem diagnóstica

Apenas quatro das 258 amostras de fezes na *baseline* foram positivas pelos esfregaços espessos de Kato-Katz, correspondendo a uma prevalência de 1,6%. As prevalências da leitura de uma, duas e três lâminas foram de 0,8%, 1,2% e 1,6%, respectivamente. Todos os positivos foram classificados como tendo uma intensidade de infecção muito baixa (médias aritméticas da contagem de ovos de *S. mansoni* nas fezes iguais a 8 OPG). Enquanto isso, encontramos 80 casos de CAA positivos para urina (31,0%), 82 positivos para CAA no soro (31,8%) e 10 positivos para POC-CCA (3,9%). Além disso, no teste POC-CCA, 20 casos foram traços (7,7%), enquanto no ensaio CAA urinário, 13 casos foram classificados como irresolutos (5,0%) e 14 casos irresolutos (5,4%) no CAA sérico. O SWAP-ELISA detectou 105 (40,7%) casos positivos. Os positivos para *S. mansoni*, avaliados pelas diferentes abordagens diagnósticas, são mostrados na tabela 1. Os intervalos de confiança de 95% (IC 95%) para a prevalência são mostrados.

Tabela 1 – Prevalência de *S. mansoni* na *baseline* de acordo com diferentes abordagens diagnósticas (n=258)

Diagnóstico	Infectados (Nº.)	% positivo (95% CI)
Kato-Katz	4	1,6 (0,0-3,1)
UCAA2000-	80	31 (25-37)
UCAA2000+	93	36 (30-42)
SCAA500-	82	32 (26-38)
SCAA500+	96	37 (31-43)
POC-CCA (t-)	10	3,9 (1,5-6,2)
POC-CCA (t+)	30	12 (7,7-16)
SWAP-ELISA	105	41 (35-47)

UCP-LF CAA: *up-converting phosphor - lateral flow assay detecting circulating anodic antigen*; UCAA 2000-: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos; UCAA 2000+: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como positivos; SCAA500-: UCP-LF CAA preparado com 0,5 mL de soro, resultados irresolutos foram considerados como negativos; SCAA500+: UCP-LF CAA preparado com 0,5 mL de soro, resultados irresolutos foram considerados como positivos; POC-CCA: *point-of-care circulating cathodic antigen test*; t-, traço negativo; t+, traço positivo; IC, intervalo de confiança.

Na amostragem por PCR, encontramos 19 positivos (14,8%; n = 128). Não houve associação entre infecção e sexo (p = 0,46). Os casos positivos de Kato-Katz, CAA urinário e sérico e PCR, de acordo com as diferentes faixas etárias, são mostrados na tabela 2. A maior positividade ocorreu em adultos, independentemente da abordagem diagnóstica, com um máximo entre 20 e 39 anos de idade.

Tabela 2 – Número de casos positivos por faixa etária, de acordo com diferentes abordagens diagnósticas

Faixa etária	Total testado	Positivos (n/%)			Total testado*	Positivos (n/%) PCR*
		Microscopia	UCAA-	SCAA-		
2-9	32	0	3/9,4	4/13	26	2/7,7
10-19	58	0	12/20	12/21	39	3/7,7
20-29	38	0	16/42	16/42	17	5/29
30-39	43	3/7	20/47	20/47	20	6/30
40-49	35	1/2,8	11/31	14/40	14	1/7,1
50-59	23	0	9/39	6/26	5	2/40
>60	29	0	9/31	10/35	7	0
Total	258	4/1,6	80/31	82/32	128	19/15

UCAA-: ensaio UCP-LF CAA que detecta o antígeno anódico circulante na urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos; SCAA-: ensaio UCP-LF CAA que detecta o antígeno anódico circulante no soro, resultados irresolutos foram considerados como negativos; *PCR foi realizada por amostragem (n=128).

4.3 Desempenhos de diferentes abordagens de diagnóstico de *S. mansoni* antes do tratamento – Sensibilidade e especificidade das técnicas de diagnóstico usando um padrão de referência combinado

Os números de resultados positivos, negativos, irresolutos e traços para cada combinação de métodos diagnósticos em matrizes de 6 e 9 células são mostrados na tabela 3. Dos quatro participantes positivos no método parasitológico, apenas um foi positivo no POC-CCA e dois outros foram positivos tanto nos ensaios UCP-LF CAA como no PCR. Digno de nota, um dos quatro casos positivos no método parasitológico, 11 (57,9%) dos positivos para PCR e 51 (53,1%) dos positivos para CAA foram negativos para anticorpos.

Tabela 3 – Acordo entre as diferentes abordagens diagnósticas

	Positivo	Traço/ Irresoluto	Negativo	Total	K*	P
UCAA2000	POC-CCA					
Positivo	7	11	62	80	0,09	0,007
Irresoluto	0	0	13	13		
Negativo	3	9	153	165		
Total	10	20	228	258		
	SCAA500					
Positivo	66	6	8	80	0,73	<0,0001
Irresoluto	2	1	10	13		
Negativo	14	7	144	165		
Total	82	14	162	258		
PCR	UCAA2000					
Positivo	14	1	4	19	0,30	<0,0001
Negativo	30	5	74	109		
Total	44	6	78	128		
	SCAA500					
Positivo	13	2	4	19	0,31	<0,0001
Negativo	26	5	78	109		
Total	39	7	82	128		
	POC-CCA					
Positivo	3	7	9	19	0,15	0,063
Negativo	5	9	95	109		
Total	8	16	104	128		

Matrizes de seis e nove células mostrando a concordância do número de resultados positivos, negativos, irresolutos e traços do *up-converting phosphor – lateral flow assay detecting circulating anodic antigen* na urina (UCAA2000) e no soro (SCAA500) com o teste POC-CCA e a PCR para o diagnóstico de *S. mansoni* em amostras do Brasil. * Índices Kappa: resultados traços e irresolutos foram considerados negativos.

As sensibilidades e especificidades dos ensaios UCP-LF CAA e SWAP-ELISA, incluindo a análise separada com resultados irresolutos sendo considerados como positivos ou negativos, versus o padrão de referência combinado (combinação dos resultados do Kato-Katz em triplicata, PCR e o teste POC-CCA, com resultados traços considerados negativos) são mostradas na tabela 4. Um total de 128 casos apresentaram dados de todos os ensaios, com 25 positivos por Kato-Katz e / ou PCR e / ou CCA. As sensibilidades dos ensaios UCP-LF CAA foram semelhantes em ambas as amostras clínicas (intervalo de 60-68%) e superiores ao SWAP-ELISA (40%). As especificidades de todos esses ensaios foram semelhantes (intervalo de 67-77%).

Tabela 4 – Número de resultados positivos e negativos do ensaio *up-converting phosphor – lateral flow* que detecta o antígeno anódico circulante na urina (UCAA2000) e no soro (SCAA500), e do SWAP-ELISA para o diagnóstico de *S. mansoni* contra um padrão de referência combinado de positividade de infecção por ovos (Kato-Katz) e / ou PCR e / ou teste POC-CCA*, em amostras do Brasil (n = 25 positivos)

	Resultados de Kato-Katz e/ou PCR e/ou POC-CCA como padrão de referência combinado*		
	Positivo	Negativo	Total
UCAA2000-			
Positivo	16	28	44
Negativo	9	75	84
Total	25	103	128
Sensibilidade	64%	Especificidade	73%
UCAA2000+			
Positivo	17	33	50
Negativo	8	70	78
Total	25	103	128
Sensibilidade	68%	Especificidade	68%
SCAA500-			
Positivo	15	24	39
Negativo	10	79	89
Total	25	103	128
Sensibilidade	60%	Especificidade	77%
SCAA500+			
Positivo	17	29	46
Negativo	8	74	82
Total	25	103	128
Sensibilidade	68%	Especificidade	72%
SWAP-ELISA			
Positivo	10	34	44
Negativo	15	69	84
Total	25	103	128
Sensibilidade	40%	Especificidade	67%

* Padrão de referência combinado, assumindo 100% de especificidade dos resultados de detecção de ovos (Kato-Katz) e/ou PCR e/ou CCA, considerando as leituras "traços" como negativas (n=25 positivos). UCAA 2000-: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos; UCAA 2000+: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como positivos; SCAA500-: UCP-LF CAA preparado com 0,5 mL de soro, resultados irresolutos foram considerados como negativos; SCAA500+: UCP-LF CAA preparado com 0,5 mL de soro, resultados irresolutos foram considerados como positivos; POC-CCA: *point-of-care circulating cathodic antigen test*.

As sensibilidades, especificidades e os valores preditivos positivos e negativos dos diferentes ensaios, incluindo a análise separada com resultados traços/irresolutos sendo considerados negativos ou positivos, versus uma referência comparativa (combinação dos resultados de Kato-Katz em triplicata, PCR e os ensaios UCP-LF CAA (urina e soro), com

resultados irresolutos considerados negativos) são apresentados na tabela 5. Um total de 128 casos apresentaram dados de todos os ensaios, com 55 positivos por Kato-Katz, PCR e/ou CAA sérico ou urinário.

Tabela 5 – Características diagnósticas de várias abordagens utilizadas para o diagnóstico de *S. mansoni* contra uma referência comparativa de positividade de infecção por ovos (Kato-Katz) e/ou PCR e/ou ensaios UCP-LF CAA^a, em amostras do Brasil (n = 55 positivos)

Referência comparativa ^a	Sensibilidade (95% CI)	Especificidade (95% CI)	VPP (95% CI)	VPN (95% CI)
Kato-Katz	3,6 (0,0-8,6)	p.d. ^a	p.d. ^a	58 (49-67)
PCR	35 (22-47)	p.d.	p.d.	67 (58-76)
UCAA2000-	80 (69-91)	p.d.	p.d.	87 (80-94)
UCAA2000+	84 (74-93)	95 (89-100)	92 (85-100)	89 (81-96)
SCAA500-	71 (59-83)	p.d.	p.d.	82 (74-90)
SCAA500+	80 (69-91)	97 (94-100)	96 (90-100)	87 (79-94)
UCAA2000- & SCAA500- ^b	87 (79-96)	p.d.	p.d.	91 (85-97)
UCAA2000+ & SCAA500+ ^b	89 (81-97)	92 (86-98)	89 (81-97)	92 (86-98)
POC-CCA (t-)	11 (2,7-19)	97 (94-100)	75 (45-100)	59 (50-68)
POC-CCA (t+)	29 (17-41)	89 (82-96)	67 (48-86)	63 (53-72)
UCAA2000-, SCAA500- & POC-CCA (t-) ^c	89 (81-97)	97 (94-100)	96 (91-100)	92 (86-98)
UCAA2000+, SCAA500+ & POC CCA (t+) ^c	95 (89-100)	81 (72-90)	79 (69-89)	95 (90-100)
SWAP-ELISA	44 (31-57)	73 (62-83)	55 (40-69)	63 (53-73)

^a Referência comparativa, assumindo 100% de especificidade dos resultados de detecção de ovos (Kato-Katz), PCR e CAA, considerando as leituras "irresolutas" como negativas (n = 55 positivos). Portanto, por definição (p.d.) especificidades e valores preditivos positivos são 100%.

^b CAA na urina e/ou no soro.

^c Combinado de ensaios de CAA e resultados dos testes de CCA com traços/irresolutos considerados negativos ou positivos.

UCP-LF CAA: *up-converting phosphor - lateral flow assay detecting circulating anodic antigen*; UCAA 2000-: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos; UCAA 2000+: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como positivos; SCAA500-: UCP-LF CAA preparado com 0,5 mL de soro, resultados irresolutos foram considerados como negativos; SCAA500+: UCP-LF CAA preparado com 0,5 mL de soro, resultados irresolutos foram considerados como positivos; POC-CCA: *point-of-care circulating cathodic antigen test*; IC, intervalo de confiança; VPP, Valor Preditivo Positivo; VPN, Valor Preditivo Negativo; t-, traço negativo; t+, traço positivo.

O UCAA2000+ apresentou a maior sensibilidade de 83,6%, seguido pelo UCAA2000- e SCAA500+, ambos com sensibilidade de 80,0%. As sensibilidades dos ensaios UCP-LF CAA, SWAP-ELISA (43,6%) e PCR (34,5%) ou mesmo do teste POC-CCA (t+ = 29,1%; t- = 10,9%) foram consideravelmente maiores do que o exame de fezes com três lâminas de Kato-Katz, que mostraram sensibilidade muito baixa (3,6%). O UCAA2000+ também apresentou o

maior VPN de 88,5%, seguido pelo UCAA2000-, com um VPN de 86,9%. Melhoras na sensibilidade foram obtidas pela combinação de achados de CAA no soro e na urina (87,3%; 89,1%) e pela combinação dos ensaios de CAA com os achados do teste de CCA (89,1%; 94,5%).

4.4 Leituras pós-tratamento e avaliação da eficiência do PZQ

Encontramos 34 (26,8%) e 35 (27,3%) na urina e 13 (10,9%) e 11 (8,9%) no soro de casos positivos para CAA em 3 e 6 semanas após o tratamento, respectivamente. Além disso, no ensaio de CAA urinário, 6 (4,7%) e 30 (23,4%) casos foram classificados como irresolutos 3 e 6 semanas após o tratamento e 6 (5,0%) e 7 (5,6%), no ensaio de CAA sérico, respectivamente (Tabela 6). Enquanto isso, encontramos 2 resultados de CCA positivos (1,6%) e 3 traços (2,3%) no teste POC-CCA 3 semanas após o tratamento. Na avaliação de 6 semanas pós-tratamento, todos os participantes foram negativos para o CCA.

Tabela 6 – Comparação do número de casos positivos no UCP-LF CAA (urina e soro) da *baseline* e de 3 e 6 semanas após tratamento com praziquantel (n= 128)

<i>Baseline</i>	3 semanas após tratamento			6 semanas após tratamento			
	Total	Positivo	Irresoluto	Negativo	Positivo	Irresoluto	Negativo
UCAA2000^a							
Positivo	44	32	4	8	27	8	9
Irresoluto	6	0	0	6	1	0	5
Negativo	78	2	2	73	7	22	49
Total	128	34	6	87	35	30	63
Positividade	34%	27%			27%		
SCAA500^b							
Positivo	39	12	6	18	10	5	21
Irresoluto	7	1	0	6	0	0	7
Negativo	82	0	0	76	1	2	78
Total	128	13	6	100	11	7	106
Positividade	31%	11%			8,9%		

^a Um participante não tem resultado de UCAA2000 no seguimento de 3 semanas após o tratamento.

^b Nove e quatro participantes não apresentam resultados de SCAA500 nos seguimentos de 3 e 6 semanas após o tratamento, respectivamente.

Considerando-se os 128 participantes com dados de *baseline* e seguimento de 3 e 6 semanas pós-tratamento, entre os 44 participantes que eram UCAA2000- positivos no início do estudo, 12 (27,3%) tornaram-se negativos na repetição do teste realizada 3 semanas após o tratamento. Sete (21,9%) dos UCAA2000- positivos remanescentes (n = 32) tornaram-se

negativos 6 semanas pós-tratamento. Enquanto isso, entre os 34 participantes que eram SCAA500- positivos no início do estudo, 23 (67,6%) se tornaram SCAA500- negativos na repetição do teste realizada 3 semanas após o tratamento. Quatro (36,4%) dos SCAA500-positivos remanescentes (n = 11) tornaram-se negativos 6 semanas pós-tratamento.

Os ensaios UCP-LF CAA (soro e urina), considerando "irresolutos" como resultados negativos, revelaram 33 e 28 participantes infectados com *S. mansoni* no seguimento pós-tratamento de 3 e 6 semanas, respectivamente. As respectivas taxas de cura (TC) foram de 31,2% e 41,7%. As TC são mostradas na tabela 7 em mais detalhes de acordo com a amostra clínica aplicada (UCAA2000 / SCAA500), considerando "irresolutos" como resultados positivos ou negativos.

Tabela 7 – Diagnóstico da infecção por *S. mansoni* pelos ensaios UCAA2000 e SCAA500, 3-6 semanas após o tratamento

	Pré-tratamento n (%)			
	Irresoluto pos.		Irresoluto neg.	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
3-semanas Pós- tratamento				
UCAA2000				
Positivo	36 (72)	4 (5,2)	32 (73)	2 (2,4)
Negativo	14 (28)*	73 (95)	12 (27)*	81 (98)
SCAA500				
Positivo	19 (44)	0	12 (33)	1 (1,2)
Negativo	24 (56)*	76 (100)	24 (67)*	82 (99)
6-semanas Pós- tratamento				
UCAA2000				
Positivo	36 (72)	29 (37)	27 (61)	8 (9,5)
Negativo	14 (28)*	49 (63)	17 (39)*	76 (90,5)
SCAA500				
Positivo	15 (35)	3 (3,7)	10 (28)	1 (1,1)
Negativo	28 (65)*	78 (96)	26 (72)*	87 (99)

* Taxas de cura como determinado, considerando resultado irresoluto como positivo (pos.) ou negativo (neg.).

4.5 Correlação dos níveis de CAA sérico e urinário

Um total de 258, 118 e 124 participantes tiveram amostras de soro e urina submetidas aos ensaios de CAA na *baseline*, 3 e 6 semanas após o tratamento, respectivamente.

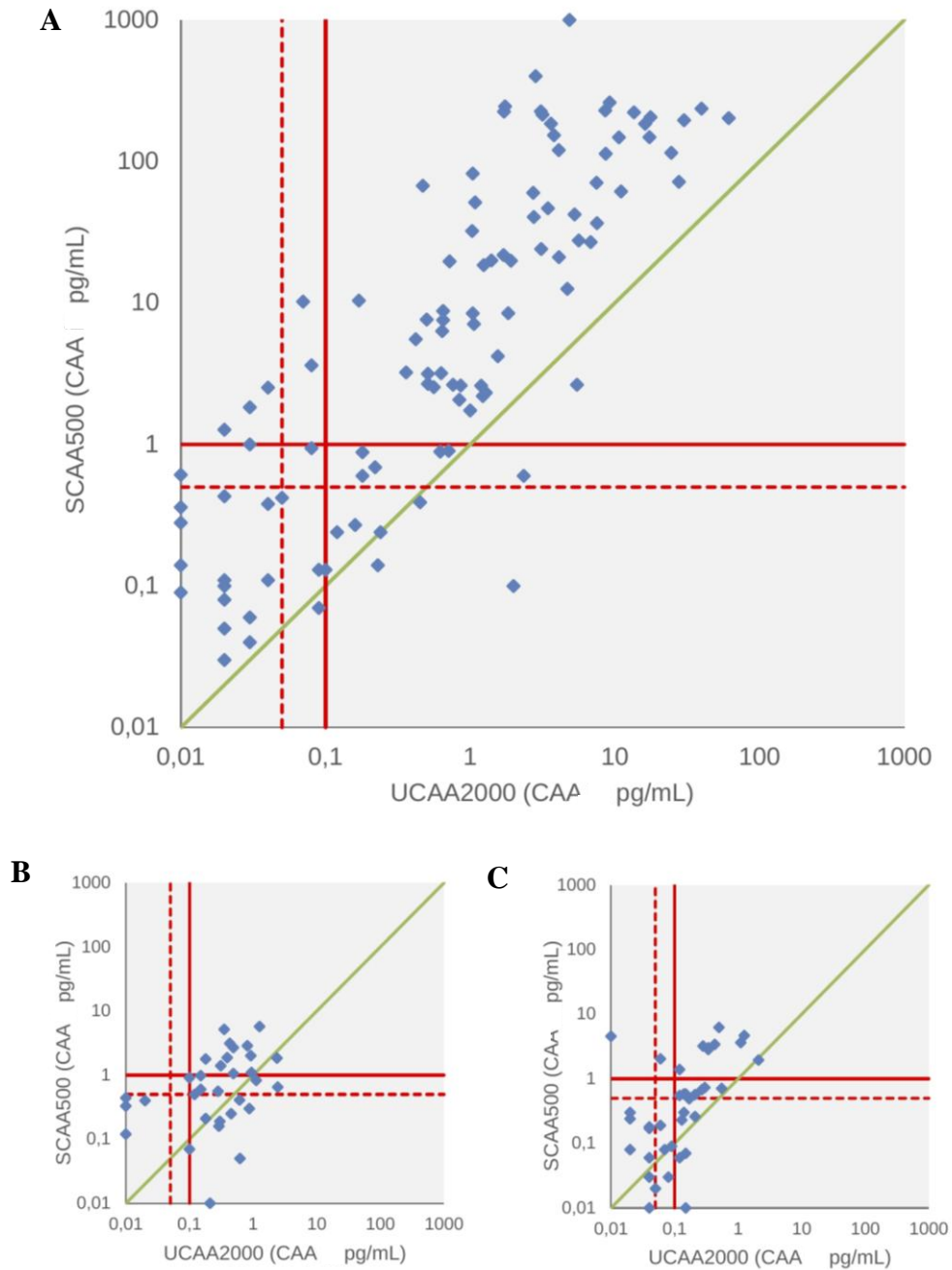
Encontramos correlações significativas entre as concentrações em todos os três pontos: *baseline* (Painel A, *Spearman's rho* 0,66, $p < 0,001$), 3 semanas (Painel B, *Spearman's rho* 0,60, $p < 0,001$) e 6 semanas após o tratamento (Painel C, *Spearman's rho* 0,45, $p < 0,001$) (Gráfico 1).

As concentrações de CAA séricas foram significativamente maiores do que as urinárias [*Baseline* - CAA sérico (24 ± 83), CAA urinário ($1,7 \pm 5,9$), $p < 0,001$; 6 semanas após o PZQ - CAA sérico ($0,36 \pm 1,03$), CAA urinário ($0,11 \pm 0,24$), $p < 0,001$], exceto na análise de 3 semanas após o tratamento [CAA sérico ($0,35 \pm 0,90$), CAA urinário ($0,18 \pm 0,45$), $p = 0,45$] (teste de Mann-Whitney).

4.6 Avaliação da eficiência do PZQ por mudanças nos níveis de CAA

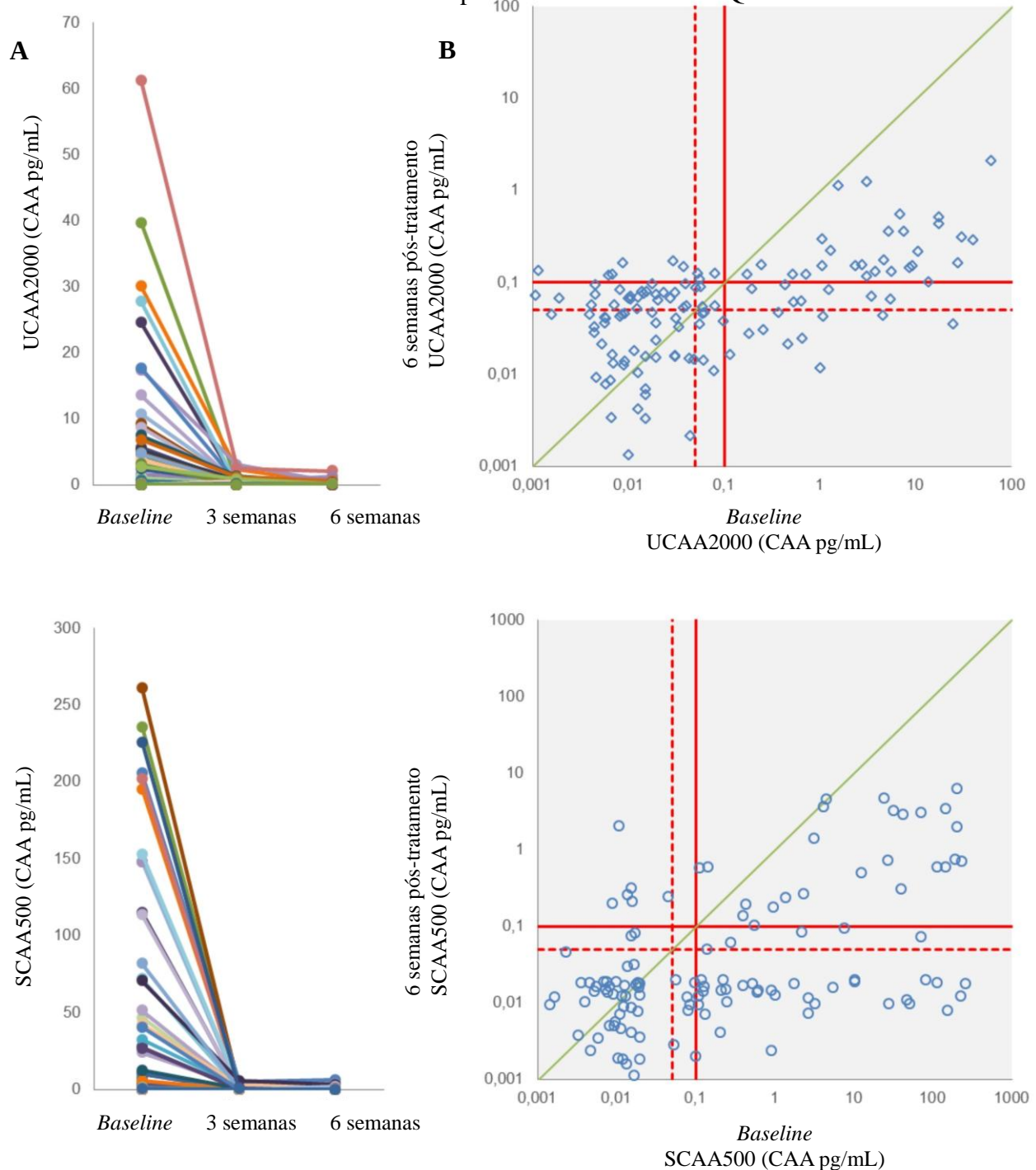
Os níveis de CAA urinário e sérico antes e 3 - 6 semanas após a administração do fármaco praziquantel são mostrados no gráfico 2. O painel A mostra a diminuição dos níveis de CAA na urina e no soro 3 ($p < 0,001$) e 6 semanas ($p < 0,001$) após o tratamento. Não houve diferença entre 3 e 6 semanas em ambas as amostras clínicas ($p = 0,78$, urina; $p = 0,93$, soro) (teste de Wilcoxon). As concentrações de CAA urinárias e séricas de 27 e de 10 participantes, respectivamente, permaneceram acima do limiar de corte de alta especificidade 6 semanas após o tratamento (painel B).

Gráfico 1 – Diagrama de dispersão das concentrações de CAA séricas e urinárias, conforme determinado pelo ensaio UCP-LF CAA na *baseline* (A), 3 semanas (B) e 6 semanas (C) após o tratamento com PZQ



As linhas vermelhas sólidas e tracejadas indicam os cut-off do ensaio UCP-LF de 0,1 e 0,05 pg / mL de urina (UCAA2000) e de 1 e 0,5 pg / mL de soro (SCAA500), respectivamente, segundo Corstjens *et al.* (2014a). As linhas vermelhas sólidas indicam níveis de corte de alta especificidade, enquanto as linhas vermelhas tracejadas indicam níveis de corte mais baixos de especificidades. Amostras que têm concentrações na região intermediária foram classificadas como "irresolutas". A linha diagonal sólida verde representa onde as concentrações de CAA no soro e na urina seriam iguais, indicando que a maioria das concentrações de CAA sérico é maior do que a de CAA urinário.

Gráfico 2 – Decréscimo dos níveis de CAA, mostrando os respectivos valores antes e 3 e 6 semanas após o tratamento com PZQ

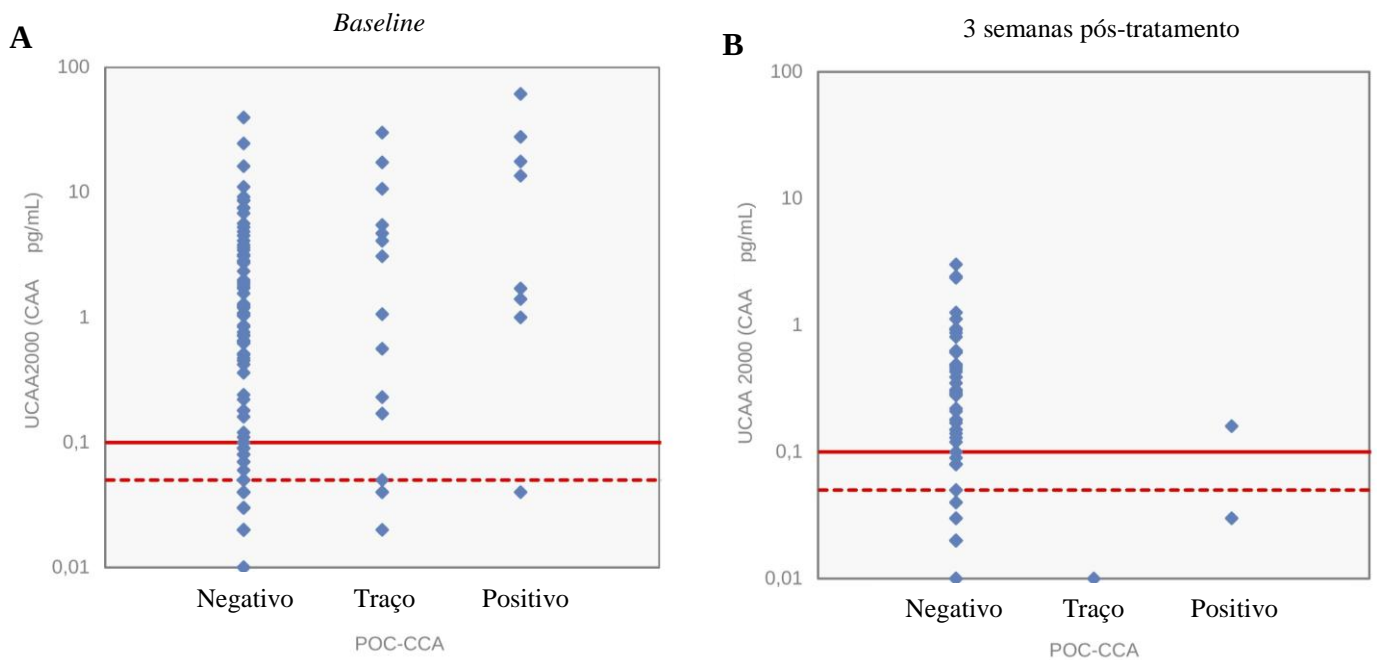


(A) A diminuição das concentrações de CAA urinário e sérico mostrando os respectivos valores antes e 3-6 semanas após o tratamento com PZQ. (B) Gráfico de dispersão das concentrações de CAA na urina e no soro, conforme determinado antes e 6 semanas após o tratamento. As linhas vermelhas sólidas indicam níveis de corte de alta especificidade, enquanto as linhas vermelhas tracejadas indicam níveis de corte mais baixos de especificidades. Amostras que têm concentrações na região intermediária foram classificadas como "irresolutas". A linha diagonal sólida verde em (B) indica a posição "sem alteração na concentração de CAA"; amostras com valores abaixo dessa linha indicam uma diminuição da concentração de CAA 6 semanas após o tratamento.

4.7 Correlação dos níveis de CAA urinário e as pontuações de intensidade do POC-CCA

As correlações entre as concentrações de CAA urinário e as pontuações de intensidade do POC-CCA na *baseline* (painel A, *Spearman's rho* = 0,24, $p < 0,001$) e 3 semanas após a administração do fármaco (painel B, *Spearman's rho* = -0,043, $p = 0,63$) são apresentadas no gráfico 3. O painel A mostra que onze dos vinte traços nos testes POC-CCA foram confirmados como positivos pelo teste UCP-LF CAA.

Gráfico 3 – Correlações dos níveis de CAA de *S. mansoni* na urina (pg / mL) determinados pelo UCP-LF CAA (UCAA 2000) com as pontuações de intensidade do POC-CCA na *baseline* (A) e 3 semanas após o tratamento (B)



As linhas vermelhas sólidas representam os níveis de corte de alta especificidade, enquanto as linhas vermelhas tracejadas indicam níveis de corte mais baixos de especificidades para o ensaio UCP-LF CAA. As amostras que têm concentrações na região entre a linha tracejada e a linha sólida são classificadas como "irresolutas".

4.8 Características de adesão e população (avaliação da função renal glomerular)

Cinquenta e cinco participantes forneceram as amostras de urina antes (*baseline*) e 1, 2 e 3 anos após o tratamento, compondo a subcoorte destinada à avaliação de função renal glomerular. O total de 38 participantes infectados por *S. mansoni* (Grupo Positivo - GP), e 17 não infectados (Grupo Negativo - GN), baseados na detecção de CAA na urina, foram avaliados através dos biomarcadores renais urinários nos tempos de análise referidos acima. Os participantes não apresentavam doença renal clinicamente importante. Havia 27 homens (49,1%). A mediana da concentração de CAA (urina) no GP foi de 1,8 pg/mL (0,7 – 4,1). As características desses participantes são mostradas na tabela 8.

Tabela 8 – Características dos grupos de participantes para a análise de função renal glomerular

	GP (n=38)	GN (n=17)	<i>p</i> *
Sexo masculino, n(%)	17 (45)	10 (59)	0,334
Idade	39,4 ± 15,7	38,7 ± 12	0,873
Glicemia (mg/dL)	107,6 ± 22,3	103,3 ± 12,6	0,489
PAS (mmHg)	12,9 ± 2,0	12,4 ± 1,4	0,399
PAD (mmHg)	8,4 ± 1,4	8,1 ± 1,0	0,341
UCAA 2000- (pg/mg-Cr)	1,6 (0,6 – 3,6)	-	

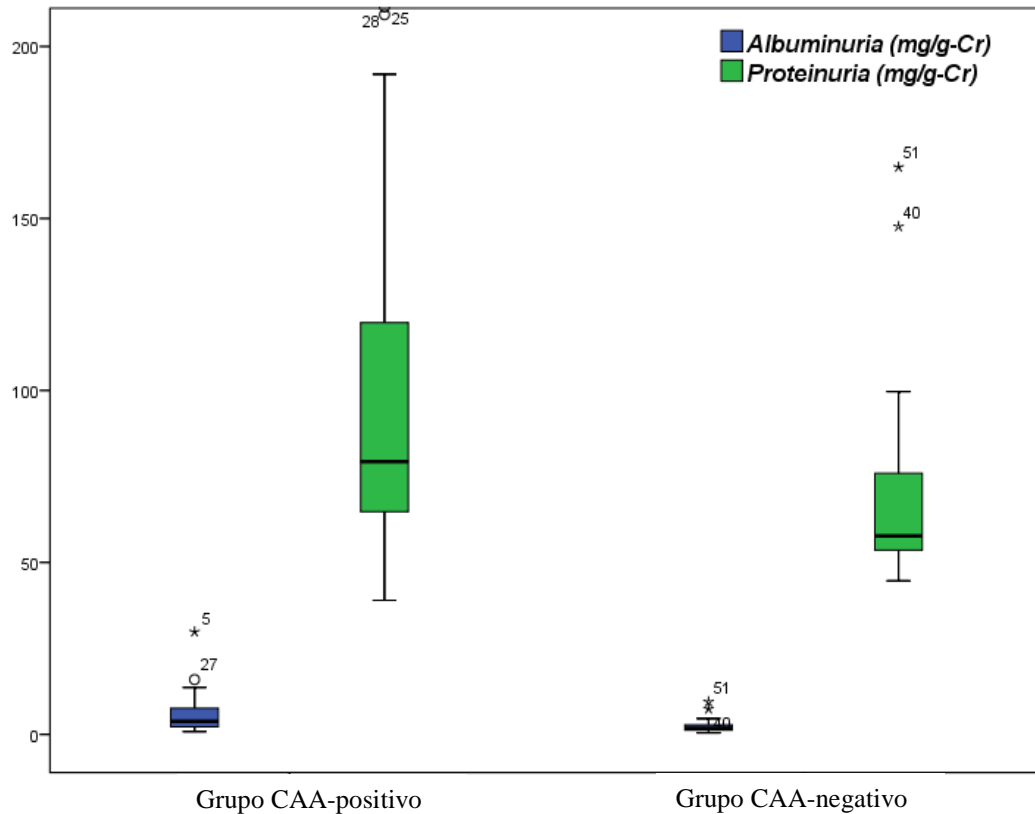
Dados expressos como média ± desvio padrão ou como mediana e intervalo interquartil entre parênteses para variáveis quantitativas. * O teste do qui-quadrado foi aplicado para dados categóricos; O teste t de Student e os testes de Mann-Whitney foram usados de acordo com dados normais ou não normais, respectivamente. UCAA 2000-: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos; CAA urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (Cr). GP, Grupo CAA-Positivo; GN, Grupo CAA-Negativo; PAS, Pressão Arterial Sistólica; PAD, Pressão Arterial Diastólica.

4.9 Biomarcadores de dano renal glomerular - *baseline*

Houve aumento significativo de albuminúria e proteinúria no grupo CAA-positivo antes do tratamento, como pode ser observado no gráfico 4 e na tabela 9.

Foram observadas tendências de aumento para uMDA, uMCP-1 e uVEGF, porém estas não foram significativas (Tabela 9). Apesar disso, fazendo-se uma análise de correlação dentro de cada um dos grupos (CAA-positivo e CAA-negativo), houve maiores associações significativas entre os biomarcadores dentro do GP (Gráfico 5).

Gráfico 4 – Albuminúria e proteinúria dos grupos positivo e negativo para infecção por *S. mansoni*, baseado na detecção de CAA na urina, antes do tratamento (*baseline*)



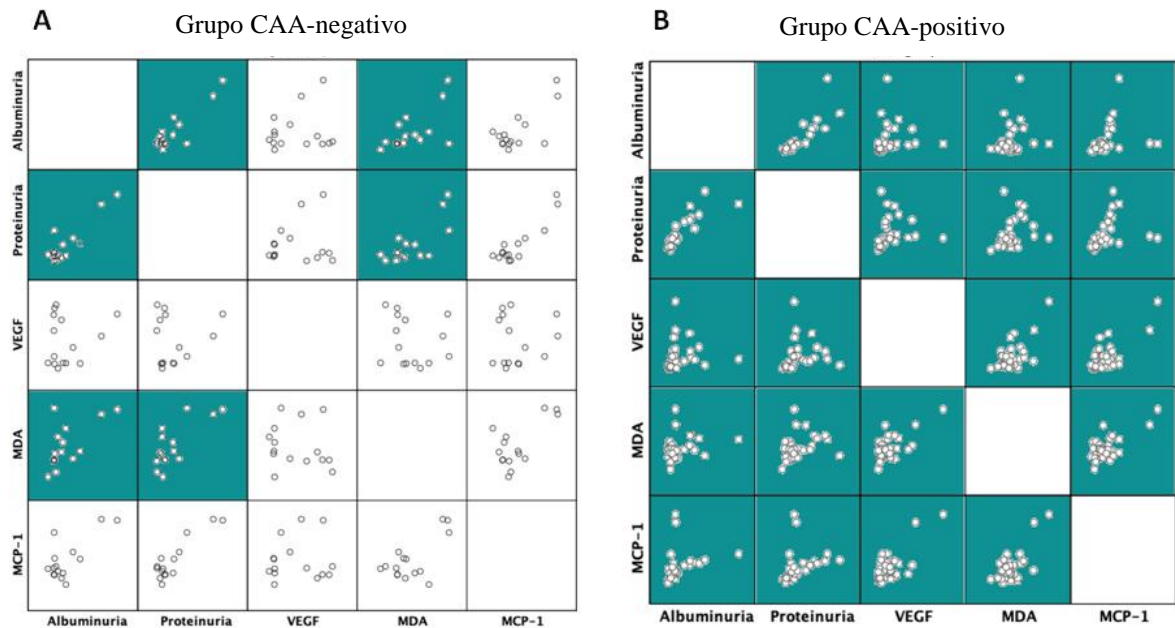
$p < 0,05$ entre os grupos para os níveis de proteinúria e albuminúria, usando teste de Mann-Whitney.

Tabela 9 – Biomarcadores de função renal glomerular na *baseline*

	GP (n=38)	GN (n=17)	p^*
Albuminúria (mg/g-Cr)	3,82 (2,18 – 7,58)	1,74 (1,25 – 2,77)	0,005
Proteinúria (mg/g-Cr)	79,28 (64,73 – 119,70)	57,68 (53,58 – 75,93)	0,025
uVEGF (pg/mg-Cr)	31,19 (14,38 – 50,04)	23,78 (9,55 – 53,41)	0,346
uMDA (μ mol/mg-Cr)	5,89 (5,08 – 6,97)	5,12 (4,56 – 6,04)	0,103
uMCP-1 (pg/mg-Cr)	82,70 (58,01 – 127,97)	63,11 (52,79 – 93,32)	0,171

Dados expressos como mediana e intervalo interquartil entre parênteses para variáveis quantitativas. * Os testes de Mann-Whitney foram usados de acordo com dados não normais. Todos os biomarcadores urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (Cr). GP, Grupo CAA-Positivo; GN, Grupo CAA-Negativo; uVEGF, Fator de crescimento vascular endotelial urinário; uMDA, Malonaldeído urinário; uMCP-1, Proteína quimiotática de monócitos-1 urinária.

Gráfico 5 – Dispersão em matriz dos parâmetros renais na *baseline* em cada grupo; (A): Grupo CAA-negativo e (B): Grupo CAA-positivo



Os quadrados coloridos representam uma correlação significativa ($p < 0,05$). VEGF, Fator de crescimento vascular endotelial urinário; MDA, Malonaldeído urinário; MCP-1, Proteína quimiotática de monócitos-1 urinária.

4.10 Correlação dos níveis de CAA urinário com parâmetros renais - *baseline*

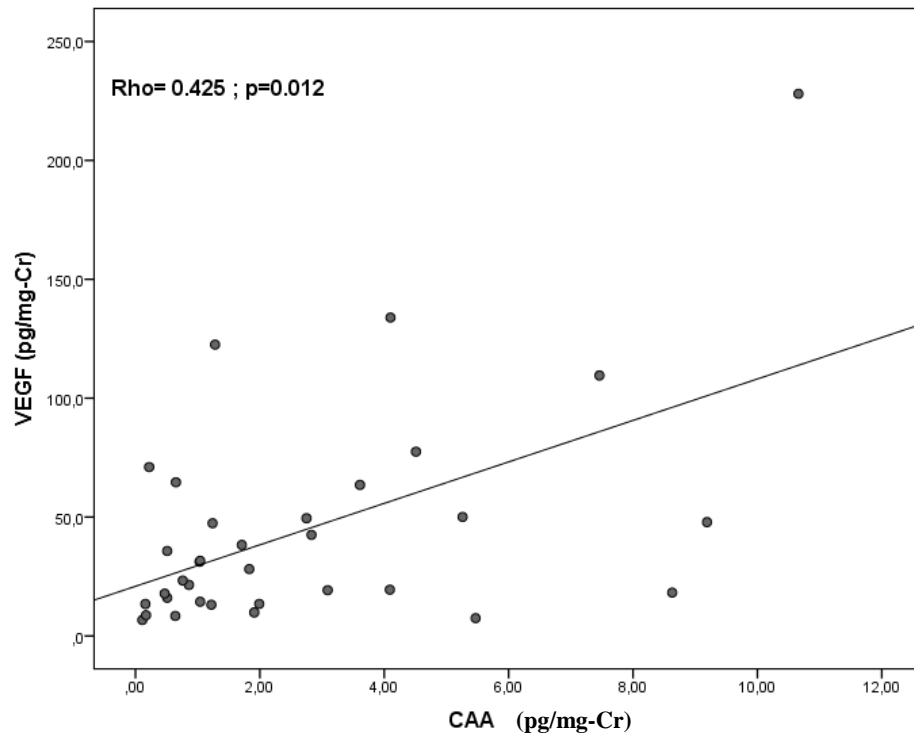
Os níveis de CAA urinário tiveram correlação apenas com os de uVEGF (Tabela 10), mostrando associação na *baseline* entre a concentração desse antígeno com o biomarcador de injúria de podócitos, como pode ser visualizada em detalhes no gráfico 6.

Tabela 10 – Correlação de CAA urinário com parâmetros renais no grupo positivo na *baseline*

GP (n=38)	UCAA2000- (pg/ mg-Cr)	
	<i>Rho</i> *	<i>p</i>
Albuminúria (mg/g-Cr)	0,042	0,809
Proteinúria (mg/g-Cr)	0,009	0,959
uMDA (umol/g-Cr)	0,149	0,393
uMCP-1 (pg/mg-Cr)	-0,010	0,954
uVEGF (pg/mg-Cr)	0,425	0,012

*Coeficiente rho; análise de correlação de Spearman. CAA e os biomarcadores urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (Cr). UCAA 2000-: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos; GP, Grupo CAA-Positivo; uVEGF, Fator de crescimento vascular endotelial urinário; uMDA, Malonaldeído urinário; uMCP-1, Proteína quimiotática de monócitos-1 urinária.

Gráfico 6 – Dispersão dos níveis de CAA na urina e aumento do VEGF urinário



Coeficiente rho; análise de correlação de Spearman. VEGF, Fator de crescimento vascular endotelial; CAA, Antígeno Anódico Circulante.

4.11 Biomarcadores de dano renal glomerular – Análises do prospectivo de 1,2 e 3 anos pós-tratamento

Não houve diferença nos biomarcadores renais nas análises pareadas entre os grupos no prospectivo de 1,2 e 3 anos pós-tratamento (Tabela 11), assim como também nas análises pareadas do prospectivo de 1, 2 e 3 anos em relação ao *baseline* (Tabela 12).

Tabela 11 – Biomarcadores de função renal glomerular do prospectivo de 1,2 e 3 anos pós-tratamento

	GP (n=38)	GN (n=17)	P*
1 ano pós-tratamento			
Albuminúria (mg/g-Cr)	3,58 (2,39 – 6,74)	2,61 (2,03 – 4,14)	0,356
Proteinúria (mg/g-Cr)	49,50 (35,22 – 69,77)	66,16 (53,83 – 84,10)	0,449
uVEGF (pg/mg-Cr)	30,76 (9,30 – 124,16)	6,86 (0,25 – 13,48)	0,398
uMDA (µmol/mg-Cr)	5,10 (4,32 – 6,22)	4,04 (3,60 – 5,35)	0,084
uMCP-1 (pg/mg-Cr)	79,93 (53,66 – 126,00)	72,65 (57,12 – 126,64)	0,880
2 anos pós-tratamento			
Albuminúria (mg/g-Cr)	2,68 (1,57 – 5,79)	3,51 (1,71 – 6,83)	0,823
Proteinúria (mg/g-Cr)	53,67 (41,14 – 73,56)	85,95 (70,72 – 141,14)	0,003
uVEGF (pg/mg-Cr)	22,80 (9,23 – 43,58)	39,61 (31,05 – 66,44)	0,197
uMDA (µmol/mg-Cr)	4,27 (3,70 – 5,49)	4,48 (3,53 – 5,24)	0,786
uMCP-1 (pg/mg-Cr)	76,19 (42,98 – 155,07)	83,50 (38,42 – 130,23)	0,611
3 anos pós-tratamento			
Albuminúria (mg/g-Cr)	5,04 (3,52 – 8,23)	3,66 (2,20 – 6,91)	0,242
Proteinúria (mg/g-Cr)	80,90 (66,96 – 140,18)	61,10 (43,30 – 95,14)	0,011
uVEGF (pg/mg-Cr)	39,13 (27,68 – 80,12)	81,38 (52,40 – 106,35)	0,762
uMDA (µmol/mg-Cr)	4,54 (4,06 – 6,02)	4,39 (3,53 – 4,89)	0,744
uMCP-1 (pg/mg-Cr)	55,59 (32,93 – 98,10)	67,10 (41,00 – 134,56)	0,289

Dados expressos como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses para variáveis quantitativas. * Os testes de Mann-Whitney foram usados de acordo com dados não normais. Todos os biomarcadores urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (Cr). GP, Grupo CAA-Positivo; GN, Grupo CAA-Negativo; uVEGF, Fator de crescimento vascular endotelial urinário; uMDA, Malonaldeído urinário; uMCP-1, Proteína quimiotática de monócitos-1 urinária.

Tabela 12 – Biomarcadores de função renal glomerular: prospectivo de 1,2 e 3 anos pós-tratamento vs. *baseline*

GP (n=38)		<i>Baseline</i>	Prospectivo	P*	
Albuminúria (mg/g-Cr)		3,82 (2,18 – 7,58)	1 ano PT	3,58 (2,39 – 6,74)	0,678
			2 anos PT	2,68 (1,57 – 5,79)	0,210
			3 anos PT	5,04 (3,52 – 8,23)	0,401
Proteinúria (mg/g-Cr)		79,28 (64,73 – 119,70)	1 ano PT	49,50 (35,22 – 69,77)	0,033
			2 anos PT	53,67 (41,14 – 73,56)	0,005
			3 anos PT	80,90 (66,96 – 140,18)	0,257
uVEGF (pg/mg-Cr)		31,19 (14,38 – 50,04)	1 ano PT	30,76 (9,30 – 124,16)	0,162
			2 anos PT	22,80 (9,23 – 43,58)	0,353
			3 anos PT	39,13 (27,68 – 80,12)	0,208
uMDA (µmol/mg-Cr)		5,89 (5,08 – 6,97)	1 ano PT	5,10 (4,32 – 6,22)	0,352
			2 anos PT	4,27 (3,70 – 5,49)	0,057
			3 anos PT	4,54 (4,06 – 6,02)	0,166
uMCP-1 (pg/mg-Cr)		82,70 (58,01 – 127,97)	1 ano PT	79,93 (53,66 – 126,00)	0,453
			2 anos PT	76,19 (42,98 – 155,07)	0,360
			3 anos PT	55,59 (32,93 – 98,10)	0,165

Dados expressos como mediana e intervalo interquartilico entre parênteses para variáveis quantitativas. * Os testes de Mann-Whitney foram usados de acordo com dados não normais. Todos os biomarcadores urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (Cr). GP, Grupo CAA-Positivo; PT, Pós-tratamento; uVEGF, Fator de crescimento vascular endotelial urinário; uMDA, Malonaldeído urinário; uMCP-1, Proteína quimiotática de monócitos-1 urinária.

Apesar disso, devido ao achado na *baseline* das associações entre os biomarcadores dentro do GP (Gráfico 5) foram realizadas nesse grupo análises de correlação de uVEGF e de CAA urinário na *baseline* com um defecho renal no prospectivo.

Foi considerado como defecho desfavorável o aumento da albuminúria em um, dois ou 3 anos após o tratamento, já que albuminúria aumentada é, segundo critérios do

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO), parâmetro de diagnóstico para DRC (MARWICK *et al.*, 2019). No entanto, uVEGF e CAA urinário não foram preditores no grupo CAA-positivo na *baseline* de aumento da albuminúria em 1, 2 ou 3 anos pós-tratamento (Tabela 13).

Tabela 13 – Análise de correlação de uVEGF e CAA urinário na *baseline* com albuminúria no prospectivo de 1, 2 e 3 anos pós-tratamento no grupo positivo

GP (n=38)	Albuminúria (mg/g-Cr)					
	1 ano PT		2 anos PT		3 anos PT	
	<i>*rho</i>	<i>p</i>	<i>rho</i>	<i>p</i>	<i>rho</i>	<i>p</i>
uVEGF (pg/mg-Cr)	-0,340	0,057	0,136	0,443	0,037	0,832
UCAA2000- (pg/mg-Cr)	-0,297	0,093	-0,088	0,615	-0,052	0,765

*Coeficiente rho; análise de correlação de Spearman. CAA e os biomarcadores urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (Cr). GP, Grupo CAA-Positivo; PT, Pós-tratamento; uVEGF, Fator de crescimento vascular endotelial urinário; UCAA 2000-: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos.

Os mesmos resultados negativos foram obtidos para ambos quando foram realizadas análises de regressão linear desses dados (Tabela 14).

Tabela 14 – Análise de regressão linear de uVEGF e CAA urinário na *baseline* com albuminúria no prospectivo de 1, 2 e 3 anos pós-tratamento no grupo positivo

GP (n=38)	Albuminúria (mg/g-Cr)					
	1 ano PT		2 anos PT		3 anos PT	
	<i>*β</i>	<i>p</i>	<i>β</i>	<i>p</i>	<i>β</i>	<i>p</i>
uVEGF (pg/mg-Cr)	-0,055	0,764	0,270	0,122	-0,013	0,942
UCAA2000- (pg/mg-Cr)	-0,255	0,152	0,042	0,810	0,145	0,398

*Coeficiente beta; análise de regressão linear. CAA e os biomarcadores urinários foram corrigidos pelos níveis de creatinina urinária (Cr). GP, Grupo CAA-Positivo; PT, Pós-tratamento; uVEGF, Fator de crescimento vascular endotelial urinário; UCAA 2000-: UCP-LF CAA preparado com 2 mL de urina, resultados irresolutos foram considerados como negativos.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo destaca o potencial de amostras de soro e de urina para uma abordagem diagnóstica de *Circulating Anodic Antigen* (CAA) para determinar com precisão as infecções por *S. mansoni* usando o ensaio ultrasensível UCP-LF, avaliado pela primeira vez no Brasil, sendo realizado em uma área de baixa endemicidade. A prevalência observada foi significativamente maior com a abordagem de antígeno: aumentando de 1,6% por Kato-Katz, técnica tradicionalmente utilizada no Brasil pelos Programas de Controle, para cerca de 30% pelos ensaios CAA UCP-LF; um aumento de quase vinte vezes. Os ensaios UCAA2000 e SCAA500 identificaram setenta e oito e oitenta casos positivos adicionais em relação à técnica de Kato-Katz, respectivamente. Os ensaios UCP-LF CAA, gênero-específicos, foram bem avaliados em vários cenários endêmicos e em estudos anteriores (VONGHACHACK *et al.*, 2017; VAN DAM *et al.*, 2015b; KNOPP *et al.*, 2015), mostrando consideravelmente mais casos positivos para as diferentes espécies de *Schistosoma* intestinal e urinária. A força e singularidade do presente estudo é a avaliação dos níveis de CAA tanto no soro como na urina em 2 pontos de tempo relativamente pouco tempo após o tratamento.

Este foi ainda o primeiro estudo que investigou a associação entre o CAA e biomarcadores urinários de dano renal. Os antígenos circulantes (CAA e CCA) são os principais implicados na patogênese da glomerulonefrite esquistossomótica, sendo localizados ultraestruturalmente em glomérulos de indivíduos com esquistossomose mansoni ativa por biópsias renais (SOBH *et al.*, 1987, 1988; BARSOUM, 1993). Nesse estudo pela primeira vez foi evidenciada uma correlação dos níveis de CAA urinário com os níveis de VEGF urinário, um biomarcador de injúria de podócitos. Essa investigação pode ajudar na descoberta de novos biomarcadores de lesão renal e de novos alvos terapêuticos para essa glomerulopatia, e também na elucidação dos mecanismos envolvidos nas alterações estruturais e funcionais glomerulares desses pacientes.

Apesar da orientação do Programa Brasileiro de Controle da Esquistossomose (duas lâminas), a técnica de Kato-Katz foi realizada com três lâminas de uma amostra de fezes. No entanto, a técnica foi apenas 3,6% sensível contra os ensaios UCP-LF CAA ultrasensíveis (cerca de 80%) para o diagnóstico de *S. mansoni*, fornecendo mais evidências de que a técnica de Kato-Katz amplamente utilizada é pouco sensível em áreas de baixa endemicidade (SIQUEIRA *et al.*, 2011; UTZINGER *et al.*, 2011). A introdução da tecnologia das nanopartículas fosforescentes ultrasensíveis (UCPs) foi um fator substancial para o aumento da sensibilidade (CORSTJENS *et al.*, 2005). As partículas luminescentes

(fosforescentes) $Y_2O_2S: Yb^{3+}, Er^3$ de 400nm aplicadas nesse ensaio, comparadas a outros rótulos aplicados convencionalmente (fluorescentes), incluem vantagens como alta sensibilidade (ausência de autofluorescência de outros componentes do ensaio), longa vida útil e um registro permanente (sem desbotamento). Além disso, a adição de uma etapa de concentração das amostras após extração com TCA permitiu o uso de maiores volumes de urina (2mL) e de soro (0,5mL) no ensaio UCP-LF. Isso implicou um aumento significativo em sua sensibilidade analítica, como indicado em estudos de laboratório por Corstjens *et al.* (2014a, 2015). Decisões estratégicas claramente melhores serão tomadas com diagnósticos mais sensíveis (COLLINS *et al.*, 2012).

No presente estudo, o alto *cut-off* escolhido de acordo com o protocolo delineado por Corstjens *et al.* (2014a) mostrou-se até bastante conservador e contribuiu para a especificidade de quase 100%. Controles de qualidade (QC) negativos e séries padrão indicaram que, na verdade, um *cut-off* ligeiramente inferior foi permitido. No entanto, em áreas com baixa prevalência e /ou baixa carga parasitária, configurações que estão se movendo para a eliminação, a precisão do ensaio, e particularmente a especificidade, é muito importante. Portanto, estudos com o ensaio UCP-LF CAA têm indicado a aplicação de dois pontos de corte, permitindo uma análise com especificidade menor ou maior (100%), dependendo da hipótese ou do objetivo do estudo, o que implicou a definição de um grupo que foi designado como “potencialmente positivo” nos estudos iniciais (CORSTJENS *et al.*, 2008a; VAN DAM *et al.*, 2013) e mais recentemente chamado de “irresoluto” (CORSTJENS *et al.*, 2014a; VAN DAM *et al.*, 2015a, 2015b). A detecção por anticorpos monoclonais altamente específicos (DEELDER *et al.*, 1989), a extração de CAA por pré-tratamento da amostra com TCA e a singularidade do antígeno (BERGWERFF *et al.*, 1994) são os principais argumentos para a alta especificidade do ensaio UCP-LF CAA usado nesse estudo.

O teste de urina POC-CCA disponível no mercado mostrou sensibilidade maior à técnica de Kato-Katz (29,1% vs. 3,6%, incluindo resultados traços como positivos). Nossos dados corroboram achados de outros em diferentes regiões da África (COLLEY *et al.*, 2013) e achados mais recentes em uma área de baixa endemicidade no Brasil (SIQUEIRA *et al.*, 2016) que mostraram que o POC-CCA é capaz de detectar muitos casos positivos adicionais em comparação ao Kato-Katz. As vantagens incluem economia direta em termos de custos de testes e entrega do tratamento, bem como considerável economia de tempo para coleta e processamento de amostras (urina em vez de fezes) e aceitação dos pacientes (COLLEY *et al.*, 2013; KNOPP *et al.*, 2013). Por outro lado, nessa área de baixa endemicidade, o teste POC-CCA foi muito menos sensível do que os ensaios UCP-LF CAA. De fato, sessenta e

dois participantes detectados pelo ensaio UCAA2000- foram negativos pela análise POC-CCA e, portanto, estes seriam incorretamente considerados negativos por esse último teste. Além disso, o aparecimento frequente de sinais de "traço" (linhas muito claras) foi levantado anteriormente devido à subjetividade do leitor, e a necessidade de padronização da leitura tem sido discutida (COLLEY *et al.*, 2013; SIQUEIRA *et al.*, 2016). Recentemente, foi realizado um estudo utilizando análise de imagens para quantificar a cor das linhas na faixa do cassette (CASACUBERTA *et al.*, 2016). Além disso, um estudo em uma população brasileira com baixa carga parasitária, em uma área endêmica, projetado para esclarecer a interpretação do conceito de traço mostrou que, após uma concentração de 10 vezes de amostras de urina por liofilização, o traço tornou-se positivo em casos parasitológicos positivos, mas permaneceu como traço em casos parasitológicos negativos, indicando que leituras traço não poderiam ser prontamente definidas como positivas ou negativas (COELHO *et al.*, 2016). Usando-se o ensaio UCP-LF CAA como um teste "confirmatório", de acordo com Colley *et al.* (2017), notamos que onze dos vinte sinais de traço no POC-CCA foram confirmados como positivos pelo UCAA2000-. Além disso, dezoito casos POC-CCA positivos, mas ovos-negativos, também foram confirmados como positivos. A avaliação do POC-CCA contra uma referência comparativa, definida pelos resultados de CAA sérico e urinário, PCR e Kato-Katz, mostrou uma sensibilidade e especificidade de 29% e 89%, se os traços fossem considerados positivos, e de 11% e 97%, respectivamente, se os traços fossem considerados negativos.

A PCR mostrou sensibilidade significativamente maior que a técnica de Kato-Katz (34,5% vs. 3,6%), como esperado e demonstrado por outros estudos (CARNEIRO *et al.*, 2013; SCHWARZ *et al.*, 2014). Além disso, o método molecular foi mais sensível que o teste POC-CCA, corroborando com os achados de outros estudos (OBENG *et al.*, 2008; LODH *et al.*, 2013). Digno de nota, seis dos 19 participantes positivos para PCR não foram detectados pelos ensaios UCP-LF CAA. No entanto, a PCR foi menos sensível que os ensaios UCP-LF CAA. Isso pode ser explicado em parte pelo fato de que a alíquota fecal utilizada poderia não conter a quantidade mínima de ovo de parasito necessária para obter DNA na etapa de extração, uma vez que são amostras de indivíduos com baixa carga parasitária. O número de ovos excretados é frequentemente baixo e apresenta alta flutuação diária (KONGS *et al.*, 2001), com conseqüente distribuição desigual destes nas amostras de fezes. Além disso, embora a redução de custos possa ser alcançada por meio de modificações metodológicas, como a melhoria dos métodos de extração de DNA (ENK; OLIVEIRA E SILVA; RODRIGUES, 2012), a PCR continua sendo um método caro. De fato, uma limitação do

nosso estudo e abordagens para estimar sensibilidade e especificidade é que a PCR não foi realizada em todas as amostras.

A detecção de anticorpos é considerada altamente sensível e tem sido recomendada como ferramenta complementar para o diagnóstico da esquistossomose em indivíduos com baixa carga de infecção, que geralmente são difíceis de detectar por métodos parasitológicos (ALARCÓN DE NOYA *et al.*, 2007; GRENFELL *et al.*, 2013a). No entanto, nossos resultados mostraram que um dos quatro casos positivos no parasitológico e 51 (53,1%) dos positivos para CAA foram negativos para anticorpos. Isso foi relatado anteriormente em um cenário chinês, caracterizado por uma prevalência muito baixa de *S. japonicum* (VAN DAM *et al.*, 2015b), e poderia ser explicado por um efeito imune de *down-regulation* em infecções crônicas de esquistossomose (VAN LIESHOUT *et al.*, 1995), qualquer incompetência imunológica ou poderia ser devido ao teste em si. Os desempenhos dos ensaios de anticorpos variam muito (BALAHBIB *et al.*, 2017; HINZ *et al.*, 2017). De qualquer forma, isso implica que, se utilizássemos o SWAP-ELISA como uma ferramenta de triagem de primeira linha, mais da metade das infecções ativas seria perdida, permitindo que esses participantes não fossem tratados e continuassem a contribuir para a transmissão. A baixa especificidade do ELISA (73%) também levaria à conclusão de que muitos participantes seriam positivos, mas que na verdade não tinham infecções ativas.

A categorização da positividade do CAA sérico e urinário e do DNA do ovo por idade demonstrou que as maiores positivities foram encontradas em adultos (quase 50% dos participantes com 30 a 39 anos de idade foram positivos pelo CAA). No entanto, muitos participantes com menos de 20 anos também foram positivos. Embora a maioria dos estudos seja baseada em populações de crianças em idade escolar, um realizado na Zâmbia usando Kato-Katz, POC-CCA e PCR revelou que há altas taxas de prevalência de infecções por *S. mansoni* em adultos (LODH *et al.*, 2013), enquanto um estudo em uma área de baixa endemicidade na China mostrou que as prevalências foram mais altas em grupos de idade ainda mais avançada, com um máximo em pessoas de 40-49 anos de idade (VAN DAM *et al.*, 2015b). Trata-se de uma observação importante do ponto de vista estratégico para a tomada de decisão nos Programas de Controle, pois como a abordagem de controle para áreas com prevalência entre 10% e 50% é preferencialmente voltada apenas para o tratamento dos escolares (WHO, 2002, 2006), muitos desses participantes positivos permaneceriam sem tratamento e continuariam a contribuir para a transmissão da doença. Além disso, encontramos crianças antes dos seis anos de idade infectadas, o que reforça que crianças em idade pré-escolar correm risco de se infectar por *S. mansoni*, como descrito em outros lugares

(COULIBALY *et al.*, 2012, 2013b), e o tratamento dessas crianças também é recomendado pela WHO (2011) e cada vez mais incentivado (STOTHARD *et al.*, 2013b).

Encontramos 35 (27,3%) e 11 (8,9%) participantes positivos nos ensaios UCAA2000- e SCAA500- seis semanas pós-tratamento, respectivamente. Seria muito interessante projetar mais pesquisas com um bom protocolo que auxilie na elucidação desses achados, mas pelo menos quatro pontos precisam ser discutidos. Primeiro, seis semanas devem ser suficientes para a depuração do antígeno (VAN LIESHOUT *et al.*, 1991; DE JONGE *et al.*, 1989), em particular nessas concentrações bastante baixas, de modo que a presença de CAA ainda é indicativa da presença de vermes remanescentes, embora com uma carga muito baixa. Em segundo lugar, um estudo mostrou que as taxas de cura contra *S. mansoni*, determinadas um mês após o tratamento, variaram de 52 a 92% (DANSO-APPIAH *et al.*, 2013). Além disso, uma revisão sistemática revelou uma taxa de cura global de 71,3% de praziquantel contra *S. haematobium* e *S. mansoni* (STOTHARD *et al.*, 2013a). Assim, esses estudos, entre outros baseados tanto na detecção de antígenos circulantes (CORSTJENS *et al.*, 2017; DE DOOD *et al.*, 2018) quanto por PCR (VINKELES MELCHERS *et al.*, 2014), já demonstraram que a efetividade do praziquantel é muito menor, indicando que muitos vermes podem sobreviver. Além disso, sabe-se que alguns vermes podem ser afetados, mas se recuperarem do ataque do PZQ (COLLEY *et al.*, 2017; CORSTJENS *et al.*, 2014a). Terceiro, a morte dos vermes depende de uma resposta imune ativa. Portanto, em pessoas com alguma imunossupressão, os vermes podem sobreviver com relativa facilidade (SABAH *et al.*, 1985; BRINDLEY; SHER, 1987; DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). Finalmente, quando há vermes adultos e a transmissão continua, também haverá vermes jovens, que não são afetados pelo PZQ (SABAH *et al.*, 1986). Eles crescerão tornando-se vermes adultos durante um período de semanas e começarão a excretar níveis mais elevados de CAA.

Apesar do número considerável de participantes positivos no UCP-LF CAA após o tratamento, verificou-se que as concentrações de CAA nesses participantes foram bastante baixas. Nossos resultados mostraram uma redução significativa nas concentrações de CAA três e seis semanas após o tratamento, o que está de acordo com os achados de Corstjens *et al.* (2014a) que mostraram uma diminuição nas concentrações de CAA na urina dois meses após a administração de praziquantel em indivíduos infectados com *S. haematobium*. Esses achados confirmam que a determinação dos níveis de CAA imediatamente antes e logo após a administração do medicamento será um melhor indicador para monitorar a eficiência do medicamento do que monitorar a produção de ovos.

As concentrações de CAA séricas foram significativamente mais elevadas do que os níveis urinários, como tem sido geralmente observado em estudos anteriores que empregaram CAA-ELISA (VAN DAM *et al.*, 1996c; POLMAN *et al.*, 1995) ou mais recentemente utilizando o ensaio UCP-LF CAA (VAN DAM *et al.*, 2015b). Em contraste com um estudo anterior em indivíduos infectados por *S. mekongi* (VAN DAM *et al.*, 2015a) obteve-se apenas uma baixa correlação entre as concentrações de CAA e as pontuações de intensidade do POC-CCA, o que pode ser explicado pela carga muito baixa de parasito nessa configuração, resultando em sinais POC-CCA relativamente baixos. Consequentemente, o número de participantes positivos detectados pelo ensaio UCP-LF CAA, muito mais sensível, foi significativamente maior do que pelo POC-CCA.

Embora a ausência de um verdadeiro padrão-ouro possa ser considerada como uma limitação, a abordagem do padrão de referência combinado foi usada anteriormente, com as considerações e limitações discutidas (VONGHACHACK *et al.*, 2017; VAN DAM *et al.*, 2015b; KNOPP *et al.*, 2015), e foi realmente recomendada para tal situação por um grupo de trabalho da WHO/TDR (*the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases*) (BANOO *et al.*, 2010). Construimos um padrão de referência combinado composto por resultados de Kato-Katz e/ou PCR e/ou POC-CCA para indicação dos desempenhos dos ensaios UCP-LF CAA e do SWAP-ELISA; Posteriormente, uma referência comparativa composta por resultados de Kato-Katz e/ou PCR e/ou CAA foi feita, mas apenas por razões comparativas, na tentativa de indicar o desempenho de todos os testes de diagnóstico. Este último permitiu que os resultados fossem comparados a outros estudos semelhantes que aplicaram a mesma abordagem de análise, o que justifica sua importância. Vale a pena notar que os parâmetros de sensibilidade e especificidade dos ensaios UCP-LF CAA e principalmente do SWAP-ELISA foram semelhantes quando analisados contra ambas as referências combinadas.

A análise de classe latente bayesiana é uma abordagem estatística alternativa que foi aplicada em outros estudos diferentes (COLLEY *et al.*, 2013; CLEMENTS *et al.*, 2018). Em tal abordagem estatisticamente mais elaborada com o UCP-LF CAA não sendo parte da referência, os resultados seriam provavelmente muito semelhantes, como observado por Knopp *et al.* (2015) que aplicaram ambas as abordagens estatísticas. Outra opção para estudos futuros seria usar um teste parasitológico mais sensível como padrão ouro (aproximado) para infecção ativa, como Helmintex (TEIXEIRA *et al.*, 2007). Essa alternativa para microscopia de ovos melhoraria o diagnóstico de infecções com baixas cargas e foi recentemente otimizada (por exemplo, para diminuir o tempo de conclusão do exame) (FAVERO *et al.*,

2017). No entanto, o método ainda é muito trabalhoso e consome muito tempo para aplicações em campo (CANDIDO *et al.*, 2018). Um teste de diagnóstico rápido e de baixo custo, capaz de detectar números muito baixos de vermes, é uma necessidade urgente quando se passa para o estágio de eliminação dos programas de controle da esquistossomose (KNOPP *et al.*, 2013). A PCR e a detecção de antígenos circulantes apresentam diferenças significativas em relação ao diagnóstico pelos métodos tradicionais de microscopia de fezes e sorologia. Enquanto a sorologia é uma técnica indireta que não distingue infecção ativa e passada, as outras abordagens são diretas e, portanto, aplicáveis, dependendo da sensibilidade, para indicar o status da infecção e os resultados do tratamento. A detecção dos antígenos circulantes CAA e CCA do verme, rapidamente eliminados e regurgitados, pode ser preferida também devido a questões de custo e menor sensibilidade devido à dependência da presença de DNA derivado de ovo para a maioria dos métodos atuais de PCR disponíveis. Enquanto o POC-CCA está comercialmente disponível a um custo relativamente baixo (\$ 1 a \$ 1,5 por teste), a desvantagem do ensaio UCP-LF CAA é que ele ainda é um teste baseado em laboratório, com sua aplicação limitada a projetos de pesquisa colaborativos.

Os participantes que compuseram a subcoorte destinada à avaliação da função renal glomerular eram assintomáticos, mas apresentaram sinais aumentados de dano glomerular, corroborando com os achados de outros estudos experimentais e clínicos com *S. mansoni*, nos quais a lesão renal foi atribuída a mecanismos que levam a alterações glomerulares (EL-DOSOKY; VAN MARCK; DEELDER, 1984; SOBH *et al.*, 1987, 1988; BARSOUM, 1993). A comparação das características gerais entre os participantes infectados por *S. mansoni* (CAA-positivos) e os participantes não infectados (CAA-negativos) não identificou diferença entre os grupos.

No presente estudo, os sinais aumentados de dano glomerular apresentados pelos participantes infectados por *S. mansoni* foram devido à própria infecção pelo parasito, evidenciados antes do tratamento (*baseline*). De fato, na esquistossomose o dano glomerular é caracterizado como uma lesão tecidual em consequência ao depósito de imunocomplexos oriundos de antígenos circulantes do parasito (CAA e CCA), podendo levar a uma glomerulonefrite proliferativa (BARSOUM; ESMAT; EL-BAZ, 2013). Foi observado no grupo de participantes CAA-positivos maior albuminúria e proteinúria em comparação ao grupo negativo (sem a presença desse antígeno).

Devido à dificuldade do diagnóstico da infecção por *S. mansoni* através da técnica parasitológica de Kato-Katz pela baixa sensibilidade desta em áreas de baixa endemicidade já demonstrada na literatura (CAVALCANTI *et al.*, 2013; COLLEY *et al.*, 2017; UTZINGER *et al.*,

2015) e, igualmente constatada nesse estudo, somente o ensaio *up-converting phosphor – lateral flow* (UCP-LF) para detecção e quantificação de CAA foi utilizado como abordagem diagnóstica para estratificação dos grupos de análise das variáveis renais, constituindo uma limitação do estudo. Infelizmente, não seria possível estratificar os grupos utilizando a técnica de Kato-Katz, uma vez que nesse estudo obtivemos apenas quatro participantes detectados por essa abordagem diagnóstica. Apesar disso, mesmo se a estratificação fosse realizada através dessa técnica parasitológica, o grupo negativo também incluiria participantes infectados (detectados apenas pelo ensaio UCPLF-CAA mais sensível), devido à já mencionada baixa sensibilidade do Kato-Katz em áreas de baixa endemicidade. Dessa forma, a presença de participantes positivos incluídos no grupo dito negativo poderia influenciar, resultando no aumento das medianas dos biomarcadores no grupo negativo, e manter parâmetros renais clássicos similares entre os grupos, observando-se diferenças, talvez, apenas quando empregados novos biomarcadores, como pode ter ocorrido no estudo de Hannemann *et al.* (2013) que observaram diferenças apenas através da dosagem do MCP-1 urinário, com estimativas de taxa de filtração glomerular e albuminúria similares entre os grupos. Estudos posteriores em áreas de moderada a alta endemicidade para esquistossomose, onde há indivíduos com maior carga de vermes (consequentemente com maiores concentrações de CAA) e a técnica parasitológica é satisfatória, são necessários para melhor elucidação dos achados desse estudo. Investigações que incluam a carga parasitária são importantes porque a lesão glomerular também se relaciona com a intensidade da parasitose, conforme demonstrado em ensaios com hamsters infectados com quantidades diferentes de cercárias que evidenciaram proteinúria significativa, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia naqueles infectados com 50 cercárias ou mais, mas não nos controles ou no grupo infectado com 20 cercárias, parecendo haver correlação significativa entre as alterações patológicas e a duração e carga de infecção por *S. mansoni* (SOBH *et al.*, 1991).

Tendências de aumento foram observadas para MDA, MCP-1 e VEGF urinários; Embora não tenham sido significativas, fazendo-se uma análise de correlação dentro de cada um dos grupos (CAA-positivo e negativo), houve maiores associações entre os biomarcadores dentro do GP, mostrando que possíveis alterações glomerulares podem ter ocorrido no GP, refletindo o aumento de albuminúria e proteinúria mencionado. A existência de proteinúria observada nesses participantes constitui um fator que é grave para a piora da função renal. A proteinúria elevada pode acelerar a progressão da doença renal através da indução de quimiocinas e ativação do sistema complemento que levam à infiltração de células inflamatórias no interstício renal (GORRIZ; MARTINEZ-CASTELAO, 2012). Entretanto,

no presente estudo, nenhum participante apresentou proteinúria em níveis nefróticos. Diferentemente dos pacientes com leishmaniose visceral, nos quais a proteinúria elevada pode ser o resultado da hipergamaglobulinemia presente, apresentando frações de proteínas de baixo peso molecular, como alfa1, alfa2, beta microglobulinas e especialmente gama globulinas (DAHER *et al.*, 2017; LIMA VERDE *et al.*, 2009), aqui uma hipótese de mecanismo para as possíveis alterações glomerulares mencionadas anteriormente e o aparecimento de proteínas na urina (proteinúria e albuminúria) seria a existência de uma injúria em podócitos com consequentes prejuízos nos processos de filtração glomerular, uma vez que, como foi mencionado anteriormente, foi evidenciada nesse estudo uma correlação de CAA urinário com uVEGF, mostrando associação na *baseline* entre a concentração desse antígeno responsável pelo mecanismo da lesão renal esquistossomótica e o biomarcador de injúria de podócitos, que pode ajudar a explicar mecanismos de lesão e disfunção renal nesses pacientes.

A injúria de podócitos ocorre através da diminuição de seus processos primários e secundários, fazendo com que haja uma disruptura na barreira, que resulta no passar de moléculas de importância clínica, como a albumina, e, conseqüentemente, no aparecimento dessas moléculas na urina; a perda de podócitos não pode ser compensada pelas células remanescentes saudáveis (MUKHI *et al.*, 2017). O VEGF urinário é um fator para a sobrevivência dos podócitos, sendo responsável pela manutenção da integridade da barreira de filtração glomerular. O excesso ou diminuição de VEGF urinário podem alterar o desenvolvimento ou a maturação dos podócitos, ocorrendo defeitos na integridade dessa célula que podem resultar alterações glomerulares, demonstrando ser um eficiente marcador, conforme descrito por Bartlett, Jeansson e Quaggin (2016). A diminuição dos processos citoplasmáticos dos podócitos e a desregulação da nefrina, uma proteína importante para a manutenção do arcabouço dos prolongamentos destes, aumentam a fenestração endotelial causando uma disrupção na barreira de filtração glomerular (TARABRA *et al.*, 2009). De fato, estudos já mostraram que o VEGF urinário reflete injúria de podócitos na nefropatia diabética (BROSIUS; COWARD, 2014; KIM *et al.*, 2004; TUFRO; VERON, 2012) e na nefrite lúpica (DOS SANTOS *et al.*, 2015; EDELBAUER *et al.*, 2012), por exemplo. É possível que a etapa de concentração das amostras de urina aplicada no ensaio UCP-LF CAA tenha sido decisiva para a associação de CAA urinário com uVEGF. De qualquer maneira, os mecanismos fisiopatológicos ainda são pouco conhecidos na glomerulopatia esquistossomótica (DA SILVA JUNIOR *et al.*, 2013). Portanto, a glomerulonefrite observada na esquistossomose se enquadra nas funções e presença do VEGF em mecanismos de lesão

renal, indicando que a investigação da patogênese que envolve o VEGF nas doenças renais é importante na tentativa de caracterizar e explicar mecanismos de lesão renal nesse contexto clínico.

Todas as evidências clínicas e modelos experimentais demonstraram que o MCP-1 desempenha funções críticas no desenvolvimento de doenças renais (AMANN; TINZMANN; ANGELKORT, 2003; WADA *et al.*, 2000). Apesar do importante envolvimento já conhecido do MCP-1 em processos inflamatórios do interstício renal e na glomerulonefrite (HALLER *et al.*, 2016), no presente estudo o grupo CAA-positivo (infectados) não apresentou níveis significativamente maiores de MCP-1 urinário em comparação com o grupo CAA-negativo. Em contrapartida, estudos anteriores com esquistossomose, mas na forma hepatoesplênica (mais grave) (DUARTE *et al.*, 2014), e outras doenças infecciosas, incluindo a Leishmaniose Visceral (OLIVEIRA *et al.*, 2014), e a hanseníase (principalmente em formas lepromatosas) (MENESES *et al.*, 2014) apresentaram níveis mais elevados de MCP-1 urinário, incluindo também estresse oxidativo urinário, sugerindo aumento de risco para o desenvolvimento de doença renal nesses pacientes. Vale ressaltar que outros fatores, além da produção de antígenos pelo verme adulto, parecem contribuir na gênese da doença glomerular na esquistossomose. Em estudos experimentais, foi demonstrado que o clampeamento da veia porta em ratos favorece depósitos de imunocomplexos nos rins (VAN MARCK; DEELDER; GIGASE, 1977). A doença hepática tem impacto na lesão renal (SOBH *et al.*, 1991). A deposição do complexo imune pode ser intensificada pela hipertensão portal (DOS SANTOS *et al.*, 2011). A hipertensão porta, com circulação colateral, e o dano hepático com ineficiência do sistema macrofágico, verificados nos pacientes com a forma hepatoesplênica da doença, parecem facilitar a passagem dos antígenos esquistossomóticos, permitindo que escapem da depuração hepática, se liguem aos anticorpos na circulação e posteriormente se depositem nos glomérulos (BARSOU, 1987; DIGEON *et al.*, 1979); Isso justifica a maior prevalência da glomerulopatia na forma hepatoesplênica, embora o envolvimento renal também possa ser observado na forma hepatointestinal (ABENSUR *et al.*, 1992). Curiosamente, Hannemann *et al.* (2013) também encontraram níveis aumentados de MCP-1 urinário mesmo em pacientes infectados por *S. mansoni* com a forma intestinal da doença e em área de baixa endemicidade, o sugerindo como potencial biomarcador sensível de lesão renal em pacientes com esquistossomose mansoni.

Apesar de apresentarem somente uma tendência de aumento, os níveis dos novos biomarcadores renais, MCP-1 e VEGF urinários, correlacionaram-se estatisticamente dentro

do grupo positivo aos marcadores renais tradicionalmente utilizados na prática clínica investigados (albuminúria e proteinúria), corroborando com os achados de Hannemann *et al.* (2013) que observaram uma correlação dos níveis de MCP-1 urinário e microalbuminúria em estudo com pacientes infectados por *S. mansoni*. Isso também foi observado em estudos com pacientes com leishmaniose visceral de Oliveira *et al.* (2014), que associou que a correlação entre albuminúria, níveis elevados de MCP-1 urinário e inflamação poderia representar a presença de macrófagos no tecido renal, e de Bezerra (2018), que verificou uma correlação dos níveis de MCP-1 urinário com creatinina, ureia, albuminúria e ainda uma correlação inversa com a taxa de filtração glomerular no período da admissão hospitalar. Além disso, MCP-1 urinário é associado com o aumento de albuminúria em doenças renais, como por exemplo, a nefropatia diabética (MENESES *et al.*, 2014).

Em relação às análises do estudo prospectivo pós-tratamento, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nos biomarcadores renais dosados em nenhum dos tempos pós-tratamento (1, 2 e 3 anos), assim como também não houve diferença nas análises pareadas do prospectivo pós-tratamento em relação ao *baseline*. No entanto, a limitação principal dessa parte do estudo é que os níveis de CAA foram coletados apenas no *baseline*, e dessa forma não foi possível estabelecer o status da presença de CAA nos participantes 1, 2 e 3 anos pós-tratamento, de maneira que algum participante negativo na *baseline* poderia adquirir a infecção no prospectivo ou mesmo algum participante positivo na *baseline*, tratado, poderia ter uma reinfecção pelo parasito nos anos seguintes; Esses fatos são possíveis porque os participantes vivem em uma região endêmica para esquistossomose. Outra questão seria a possibilidade de falhas no tratamento com o praziquantel (ARULEBA *et al.*, 2018; BERGQUIST; ELMORSHEDY, 2018; COLLEY *et al.*, 2014), resultando na permanência de alguns participantes (CAA) positivos mesmo após o tratamento, o que foi constatado nesse estudo três e seis semanas após o tratamento e anteriormente discutido; isso tudo poderia influenciar nos níveis dos biomarcadores renais no prospectivo pós-tratamento. Além disso, apesar de o CAA urinário estar associado ao VEGF urinário (injúria de podócitos) e a estratificação baseada no CAA urinário mostrar diferenças da albuminúria na *baseline*, em longo prazo esse grupo não teve associação com progressão de lesão renal. De fato, VEGF e CAA urinários não foram preditores no grupo CAA-positivo na *baseline* de aumento da albuminúria em 1, 2 ou 3 anos pós-tratamento. Uma hipótese, além da limitação anterior discutida, é que o UCP-LF CAA tem alta sensibilidade e detecta a presença do parasito mesmo com baixíssimas concentrações de CAA (CORSTJENS *et al.*, 2014a), conforme verificado nesse estudo, as quais podem não ter afetado de maneira decisiva o

tecido renal em nenhum participante. Assim, outros estudos prospectivos com um bom protocolo são necessários para elucidar os impactos renais em longo prazo. Finalmente, outra limitação seria o pequeno tamanho da amostra de participantes analisada na parte do estudo dos biomarcadores de lesão renal. Entretanto, se torna um número significativo comparado aos da literatura, pelo caráter prospectivo em uma doença negligenciada.

Em resumo, o ensaio UCP-LF CAA foi empregado pela primeira vez em amostras de urina e soro de indivíduos infectados com *S. mansoni* do Brasil antes e após o tratamento com praziquantel. Estender o arsenal de diagnóstico existente é um dos requisitos essenciais para o sucesso do controle de doenças. As prevalências significativamente mais altas de infecções ativas pelo *Schistosoma* detectadas pelos ensaios UCP-LF CAA mostrados no estudo atual, sua utilidade potencial para avaliar as taxas de cura após o tratamento e o fato de que esse teste pode ser realizado em amostras de urina (coleta menos invasiva) tomadas em conjunto fazem do ensaio UCP-LF CAA uma abordagem diagnóstica sensível, robusta e promissora, especialmente em ambientes de baixa endemicidade. No que se refere às doenças renais secundárias aos processos infecto-parasitários, como na esquistossomose mansoni, poucos dados são encontrados. A correlação encontrada entre os níveis de CAA urinário e os de uVEGF pode refletir injúria de podócitos, que pode clarear os mecanismos de lesão e disfunção renal nesses pacientes. A pesquisa de novos biomarcadores renais que detectem alterações subclínicas, através de exames urinários, não invasivos, pode ser útil para o diagnóstico precoce do envolvimento renal na esquistossomose e para a consequente prevenção da progressão da doença renal, assintomática na maioria dos casos.

6 CONCLUSÕES

Ensaio UCP-LF CAA mostraram alta sensibilidade para o diagnóstico de *S. mansoni* em ambiente de baixa endemicidade e utilidade para avaliar as taxas de cura pós-tratamento. Os participantes apresentaram sinais aumentados de dano glomerular que podem estar associados à lesão podocitária.

- O ensaio UCP-LF CAA mostrou a maior sensibilidade, detectando um maior número de casos de infecções ativas por *Schistosoma mansoni* resultando, conseqüentemente, na maior prevalência obtida em comparação às demais abordagens utilizadas;
- A tradicional técnica de Kato-Katz apresentou baixíssima sensibilidade, implicando uma subestimação da prevalência da infecção por *Schistosoma mansoni* na localidade;
- O maior número de casos positivos foi em adultos com idades de 30 a 39 anos;
- O número considerável de participantes CAA-positivos após a administração do Praziquantel pode estar relacionado com uma possível falha terapêutica;
- Houve correlações entre as concentrações séricas e urinárias de CAA antes e após o tratamento, sendo os níveis mais elevados no soro;
- Houve correlação entre as concentrações de CAA e as pontuações de intensidade do POC-CCA, porém esta foi baixa e observada apenas antes do tratamento;
- Houve sinais de dano glomerular, com albuminúria e proteinúria aumentadas no grupo CAA-positivo antes do tratamento;
- Houve maiores associações entre os biomarcadores de lesão renal dentro do grupo CAA-positivo antes do tratamento;
- Houve correlação entre as concentrações urinárias de CAA e de VEGF, sugerindo a associação da lesão renal esquistossomótica com uma possível injúria de podócitos;
- São necessários estudos longitudinais para analisar os impactos renais em longo prazo da infecção inicial.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ensaio UCP-LF CAA ultra-sensível foi empregado pela primeira vez no Brasil em amostras de urina e de soro de indivíduos infectados por *S. mansoni* provenientes de uma área de baixa carga parasitária, mostrando-se como uma abordagem diagnóstica com valor potencial.

A baixíssima sensibilidade da técnica de Kato-Katz em área de baixa endemicidade apresentada nesse estudo, assim como também já relatada na literatura, sugere que seu emprego sem a combinação com outras abordagens diagnósticas mais sensíveis é desaconselhado nesse tipo de área. Utilizá-la unicamente, como tem sido realizado pelos programas de controle da esquistossomose no país, seria considerado até negligenciar o diagnóstico.

É de grande valia sabermos que o diagnóstico da esquistossomose por antígenos circulantes aponta como uma ferramenta promissora na busca de indivíduos não diagnosticados pelos métodos convencionais, principalmente em áreas de baixa endemicidade. No futuro, esperamos que o ensaio UCP-LF CAA, que atualmente é baseado em laboratório com sua aplicação limitada a projetos de pesquisa colaborativos, possa atingir um formato mais simplificado, que seja mais compatível com aplicações em nível de campo, e disponível comercialmente.

Além disso, doença renal relacionada à esquistossomose não é frequentemente descrita na literatura. Assim, a presença de alterações glomerulares que podem estar associadas à lesão de podócitos devido à associação verificada entre CAA e VEGF urinários constitui achados relevantes. O uso de novos biomarcadores de lesão renal mais sensíveis e específicos pode ser útil para o diagnóstico precoce, de alterações subclínicas, podendo prevenir a progressão da doença renal nesses pacientes.

REFERÊNCIAS

- ABENSUR, H.; NUSSENZVEIG, I.; SALDANHA, L.B.; PESTALOZZI, M.S.C., BARROS, M.T.; MARCONDES, M.; BARROS, R.T. Nephrotic syndrome associated with hepatointestinal schistosomiasis. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 34, p. 273-276, 1992.
- ADRIKO, M.; STANDLEY, C.J.; TINKITINA, B.; TUKAHEBWA, E.M.; FENWICK, A.; FLEMING, F.M.; SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; STOTHARD, J.R.; KABATEREINE, N.B. Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-cassette assay as a survey tool for *Schistosoma mansoni* in different transmission settings within Bugiri District, Uganda. **Acta Trop.**, v. 136, p. 50-57, 2014.
- AGNEW, A.M.; FULFORD, A.J.C.; DE JONGE, N.; KRIJGER, F.W.; RODRIGUEZ-CHACON, M.; GUTSMANN, V.; DEELDER, A.M. The relationship between worm burden and levels of a circulating antigen (CAA) of five species of *Schistosoma* in mice. **Parasitol. Int.**, v. 111, p. 67-76, 1995.
- AHMADIASL, N.; BANAEI, S.; ALIHEMMATI, A. Combination antioxidant effect of erythropoietin and melatonin on renal ischemia reperfusion injury in rats. **Iran. J. Basic Med. Sci.**, v. 16, n. 12, p. 1209-1216, 2013.
- ALARCÓN DE NOYA, B.; RUIZ, R.; LOSADA, S.; COLMENARES, C.; CONTRERAS, R.; CESARI, I.M.; NOYA, O. Detection of schistosomiasis cases in low-transmission areas based on coprologic and serologic criteria The Venezuelan experience. **Acta Trop.**, v. 103, n. 1, p. 41-49, 2007.
- ALMEIDA, Y.M. Esquistossomose mansônica no Ceará: notas bibliográficas, 1920 a 1977. **Rev. Med. UFC**, v. 39, n. 1-2, p. 18-20, 1999. Disponível em: <<http://www.revistademedicina.ufc.br/v39/v393.htm>>. Acessado em: 20 abr. 2012.
- AMANN, B.; TINZMANN, R.; ANGETKORT, B. ACE inhibitors improve diabetic nephropathy through suppression of renal MCP-1. **Diabetes Care**, v. 26, n. 8, p. 2421-2425, 2003.
- ANDRADE, Z.A. The situation of hepatosplenic schistosomiasis in Brazil today. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 313-316, 1998.
- ANDRADE, Z.A.; DE QUEIROZ, A.C. Renal lesions in hepatosplenic schistosomiasis. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 10, p. 36-40, 1968.
- ANDRADE, Z.; PEIXOTO, E. Pathology of periportal fibrosis involution in human schistosomiasis. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 34, p. 263-272, 1992.
- ANDRADE, Z.A.; ROCHA, H. Schistosomal glomerulopathy. **Kidney Int.**, v. 16, n. 1, p. 23-29, 1979.
- ANDRADE, Z.A.; VAN MARCK, E.A.E. Schistosomal glomerular disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 4, p. 499-506, 1984.

ANDRADE, Z.A.; VAN MARCK, E. Schistosomal glomerular disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 25-29, 1987.

ARULEBA, R.T.; ADEKIYA, T.A.; OYINLOYE, B.E.; MASAMBA, P.; MBATHA, L.S.; PRETORIUS, A.; KAPPO, A. P. PZQ therapy: how close are we in the development of effective alternative anti-schistosomal drugs? **Infect. Disord. Drug Targets**, v.19, p. 1, 2018.

ATTIA, D.M.; GOLDSCHMEDING, R.; ATTIA, M.A.; BOER, P.; KOOMANS, H. A.; JOLLES, J. A. Male gender increases sensitivity to renal injury in response to cholesterol loading. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 284, n. 4 p. F718 –F726, 2003.

BALAHBIB, A.; AMARIR, F.; CORSTJENS, P.L.; DE DOOD, C.J.; VAN DAM, G.J.; HAJLI, A.; BELHADDAD, M.; EL MANSOURI, B.; SADAK, A.; RHAJAOU, M.; ADLAOUI, E.B. Selecting accurate post-elimination monitoring tools to prevent reemergence of urogenital schistosomiasis in Morocco: a pilot study. **Infect. Dis. Poverty**, v. 6, n. 1, p. 75, 2017.

BANOO, S.; BELL, D.; BOSSUYT, P.; HERRING, A.; MABEY, D.; POOLE, F.; SMITH, P.G.; SRIRAM, N.; WONGSRICHANALAI, C.; LINKE, R.; O'BRIEN, R.; PERKINS, M.; CUNNINGHAM, J.; MATSOSO, P.; NATHANSON, C.M.; OLLIARO, P.; PEELING, R.W.; RAMSAY, A. Evaluation of diagnostic tests for infectious diseases: general principles. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 8, suppl 12, p. S17-S29, 2010.

BARSOUM, R.S. Schistosomal glomerulopathy: selection factors. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 2, n. 6, p. 488-497, 1987.

BARSOUM, R. S. Schistosomal glomerulopathies. **Kidney Int.**, v. 44, n. 1, p. 1-12, 1993.

BARSOUM, R. The changing face of schistosomal glomerulopathy. **Kidney Int.**, v. 66, n. 6, p. 2472-2484, 2004.

BARSOUM, R. S.; ESMAT, G.; TAMER EL-BAZ, T. Human Schistosomiasis: Clinical Perspective: Review. **J. Adv. Res.**, v. 4, n. 5, p. 433–444, 2013.

BARSOUM, R.; NABIL, M.; SAADY, G.; GENIN, C.; SALEH, E.; FRANCIS, M.; EL-KALIOUBI, A.; ISKANDER, I.; EL-GAREM, A. Immunoglobulin-A and the pathogenesis of schistosomal glomerulopathy. **Kidney Int.**, v. 50, n. 3, p. 920-928, 1996.

BARTLETT, C.S.; JEANSSON, M.; QUAGGIN, S.E. Vascular Growth Factors and Glomerular Disease. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 78, p.437-461, 2016.

BASILE, D.P.; FREDRICH, K.; CHELLADURAI, B.; LEONARD, E.C.; PARRISH, A.R. Renal ischemia reperfusion inhibits VEGF expression and induces ADAMTS-1, a novel VEGF inhibitor. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 294, p.928–936, 2008.

BEECHLER, B.R.; JOLLES, A.E.; BUDISCHAK, S.A.; CORSTJENS, P.L.A.M.; EZENWA, V.O.; SMITH, M.; SPAAN, R.S.; VAN DAM, G.J.; STEINAUER, M.L. Host immunity, nutrition and coinfection alter longitudinal infection patterns of schistosomes in a free ranging African buffalo population. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 11, n. 12, p. e0006122, 2017.

- BERGGREN, W.L.; WELLER, T.H. Immuno-electrophoretic demonstration of specific circulating antigen in animals infected with *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 16, p. 606-612, 1967.
- BERGQUIST, R.; ELMORSHEDY, H. Artemether and Praziquantel: Origin, Mode of Action, Impact, and Suggested Application for Effective Control of Human Schistosomiasis. **Trop. Med. Infect. Dis.**, v. 3, n. 4, p. pii: E125, 2018.
- BERGQUIST, R.; JOHANSEN, M.V.; UTZINGER, J. Diagnostic dilemmas in helminthology: what tools to use and when? **Trends Parasitol.**, v. 25, p. 151–156, 2009.
- BERGWERFF, A.A.; VAN DAM, G.J.; ROTMANS, J.P.; DEELDER, A.M.; KAMERLING, J.P.; Vliegenthart, J.F.G. Immunologically reactive part of immunopurified circulating anodic antigen from *Schistosoma mansoni* is a threonine-linked polysaccharide consisting of -6- [β-D-GlcpA-(1-3)]-; β-D-GalpNAc-1-*repeating units. **J. Biol. Chem.**, v. 269, p. 31510-31517, 1994.
- BEZERRA, G.F. **Avaliação de novos biomarcadores no diagnóstico precoce da lesão renal aguda em pacientes com leishmaniose visceral em uso de anfotericina b lipossomal.** 2018.
Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- BEZERRA, F.S.M.; LEAL, J.K.F.; SOUSA, M.S.; PINHEIRO, M.C.C.; RAMOS, A.N.JR.; SILVA-MORAES, V.; KATZ, N. Evaluating a point-of-care circulating cathodic antigen test (POC-CCA) to detect *Schistosoma mansoni* infections in a low endemic area in north-eastern Brazil. **Acta Trop.**, v. 182, p. 264-70, 2018.
- BIERMAN, W.F.; WETSTEYN, J.C.; VAN GOOL, T. Presentation and diagnosis of imported schistosomiasis: relevance of eosinophilia, microscopy for ova, and serology. **J. Travel Med.**, v. 12, n. 1, p. 9-13, 2005.
- BINA, J.C. Influência da terapêutica específica na evolução da esquistossomose mansoni. **Rev. Patol. Trop.**, v. 10, p. 221-267, 1981.
- BONESSO-SABADINI, P.I.P.; DIAS, L.C.S. Altered response of strain of *Schistosoma mansoni* to oxamniquine and praziquantel. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 381–385, 2002.
- BOUKLI, N.M.; DELGADO, B.; RICAURTE, M.; ESPINO, A.M. *Fasciola hepática* and *Schistosoma mansoni*: Identification of common proteins by comparative proteomic analysis. **J. Parasitol.**, v. 97, n. 5, p. 852-861, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3. ed. – Brasília: Ministério da Saúde. 2019; 740 p.**
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de

Vigilância Epidemiológica. **Vigilância da Esquistossomose mansoni: diretrizes técnicas** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. –4. ed. –Brasília: Ministério da Saúde. 2014; 144 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: Diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)**. Brasília: MS: SVS, 2. ed., 2008. 178p.

BRINDLEY, P.J.; SHER, A. The chemotherapeutic effect of praziquantel against *Schistosoma mansoni* is dependent on host antibody response. **J. Immunol.**, v. 139, n. 1, p. 215-220, 1987.

BRITO, T.; NUSSENZVEIG, I.; CARNEIRO, C. R. W.; SILVA, A. M. G. Schistosoma mansoni associated glomerulopathy. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 41, n. 5, p. 269-272, 1999.

BROSIUS, F.C.; COWARD, R.J. Podocytes, Signaling Pathways, and Vascular Factors in Diabetic Kidney Disease. **Adv. Chronic Kidney Dis.**, v. 21, n. 3, p.304-310, 2014.

BUSTINDUY, A.L.; WATERHOUSE, D.; DE SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; ROBERTS, S.A.; ATUHAIRE, A.; VAN DAM, G.J.; CORSTJENS, P.L.; SCOTT, J.T.; STANTON, M.C.; KABATEREINE, N.B.; WARD, S.; HOPE, W.W.; STOTHARD, J.R. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Praziquantel in Ugandan Children with Intestinal Schistosomiasis: Higher Dosages Are Required for Maximal Efficacy. **MBio.**, v. 7, n. 4, p. pii: e00227-16, 2016.

CARLIER, Y.; BOUT, D.; BINA, J.C.; CAMUS, D.; FIGUEIREDO, J.F.M.; CAPRON, A. Immunological studies in human schistosomiasis. I. Parasitic antigen in urine. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 24, p. 949-954, 1975.

CARLIER, Y.; BOUT, D.; CAPRON, A. Detection of Schistosoma mansoni M antigen in circulating immune-complexes and in kidneys of infected hamsters. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 74, n. 4, p. 534-538, 1980.

CARLIER, Y.; BOUT, D.; CAPRON, A. Further studies on the circulating M antigen in human and experimental *Schistosoma mansoni* infections. **Ann. Immunol. (Paris)**, v. 129 C, n. 6, p. 811-818, 1978.

CARLIER, Y.; BOUT, D.; STRECKER, G.; DEBRAY, H.; CAPRON, A. Purification, immunochemical, and biologic characterization of the Schistosoma circulating M antigen. **J. Immunol.**, v. 124, n. 5, p. 2442-2450, 1980.

CARNEIRO, T.R.; PINHEIRO, M.C.; DE OLIVEIRA, S.M.; HANEMANN, A.L.P.; QUEIROZ, J.A.N.; BEZERRA, F.S.M. Increased detection of schistosomiasis with Kato-Katz and SWAP-IgG-ELISA in a Northeastern Brazil low-intensity transmission area. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 45, n. 4, p. 510-513, 2012.

CARNEIRO, T.R.; PINHEIRO, M.C.C.; OLIVEIRA, S.M.; PERALTA, R.H.S.; PERALTA, J.M.; BEZERRA, F.S.M. Convencional PCR for the diagnosis of human schistosomiasis in stool samples from individuals in a low endemic area in Ceará state, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 13, p. 1037-1044, 2013.

CARVALHO, G.B.; PACÍFICO, L.G.; PIMENTA, D.L.; SIQUEIRA, L.M.; TEIXEIRA-CARVALHO, A., COELHO, P.M.; PINHEIRO, C.S.; FUJIWARA, R.T.; OLIVEIRA, S.C.; FONSECA, C.T. Evaluation of the use of C-terminal part of the *Schistosoma mansoni* 200kDa tegumental protein in schistosomiasis diagnosis and vaccine formulation. **Exp. Parasitol.**, v. 139, p. 24–32, 2014.

CARVALHO, G.B.; SILVA-PEREIRA, R.A.; PACÍFICO, L.G.; FONSECA, C.T. Identification of *Schistosoma mansoni* candidate antigens for diagnosis of schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.106, n.7, p. 837-843, 2011.

CARVALHO, G.C.; MARQUES, L.H.; GOMES, L.I.; RABELLO, A.; RIBEIRO, L.C.; SCOPEL, K.K.; TIBIRIÇA, S.H.C.; COIMBRA, E.S.; ABRAMO, C. Polymerase chain reaction for the evaluation of *Schistosoma mansoni* infection in two low endemicity areas of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 899-902, 2012.

CARVALHO, O.S; PASSOS, L.K.J.; MENDONÇA, L.F.G; CARDOSO, P.C.M; CALDEIRA, R. **Moluscos de importância médica no Brasil**. Belo Horizonte. 2005. 52 p.

CANDIDO, R.R.F.; ST PIERRE, T.G.; MORASSUTTI, A.L.; GRAEFF-TEIXEIRA, C.; JONES, M.K. Eggs and Magnetism: New Approaches for Schistosomiasis Diagnosis. **Trends Parasitol.**, v. 34, n. 4, p. 267-271, 2018.

CASACUBERTA, M.; KINUNGGHI, S.; VENNERVALD, B.J.; OLSEN, A. Evaluation and optimization of the Circulating Cathodic Antigen (POC-CCA) cassette test for detecting *Schistosoma mansoni* infection by using image analysis in school children in Mwanza Region, Tanzania. **Parasite Epidemiol. Control**, v. 1, n. 2, p. 105-115, 2016.

CAVALCANTI, M.G.; SILVA, L.F.; MACEDO, H.W.; PERALTA, R.H.S.; IGREJA, R.P; BARRETO, M.G.M.; PERALTA, J.M. Real-Time PCR Improves Detection of Active Infection in Human Feces and Treatment Failure Following Multiple Chemotherapeutic Rounds in *Schistosoma mansoni* LowEndemic Area. **Ann. Clin. Pathol.**, v. 4, n. 7, p. 1092, 2016.

CAVALCANTI, M. G; SILVA, L. F; PERALTA, R. H.; BARRETO, M. G; PERALTA, J. M. Schistosomiasis in areas of low endemicity: a new era in diagnosis. **Trends Parasitol.**, v. 29, n. 2, p. 75-82, 2013.

CEARÁ. Secretaria da Saúde. **Programa de Controle da Esquistossomose**. Fortaleza, 2014.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Global Health. Division of Parasitic Diseases. **Schistosomiasis: Biology**. 2018. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/biology.html/>>. Acesso em: 06 Fev. 2019.

CHAN, J.D.; ZAROWIECKI, M.; MARCHANT, J.S. Ca²⁺ channels and praziquantel: A view from the free world. **Parasitol. Int.**, v. 62, n. 6, p. 619–628, 2013.

CHAND, M.A.; CHIODINI, P.L.; DOENHOFF, M.J.; Development of a new assay for the diagnosis of schistosomiasis, using cercarial antigens. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 104, p. 255–258, 2010.

CLEMENTS, M.N.; CORSTJENS, P.L.; BINDER, S.; CAMPBELL, C.H. Jr.; DE DOOD, C.J.; FENWICK, A.; HARRISON, W.; KAYUGI, D.; KING, C.H.; KORNELIS, D.; NDAYISHIMIYE, O.; ORTU, G.; LAMINE, M.S.; ZIVIERI, A.; COLLEY, D.G.; VAN DAM, G.J. Latent class analysis to evaluate performance of point-of-care CCA for low-intensity *Schistosoma mansoni* infections in Burundi. **Parasit. Vectors**, v. 11, n. 1, p. 111, 2018.

CLERINX, J.; BOTTIEAU, E.; WICHMANN, D.; TANNICH, E.; VAN ESBROECK, M. Acute schistosomiasis in a cluster of travelers from Rwanda: diagnostic contribution of schistosome DNA detection in serum compared to parasitology and serology. **J. Travel Med.**, v.18, n. 6, p. 367-372, 2011.

COELHO, P.M.; JURBERG, A.D.; OLIVEIRA, A.A.; KATZ, N. Use of a saline gradient for the diagnosis of schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 5, p. 720-723, 2009.

COELHO, P.M.; SIQUEIRA, L.M.; GRENFELL, R.F.; ALMEIDA, N.B.; KATZ, N.; ALMEIDA, Á.; CARNEIRO, N.F.; OLIVEIRA, E. Improvement of POC-CCA Interpretation by Using Lyophilization of Urine from Patients with *Schistosoma mansoni* Low Worm Burden: Towards an Elimination of Doubts about the Concept of Trace. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 10, n. 6, p. e0004778, 2016.

COLLEY, D.G.; BUSTINDUY, A.L.; SECOR, W.E.; KING, C.H. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253-2264, 2014.

COLLEY, D.G.; BINDER, S.; CAMPBELL, C.; KING, C.H.; TCHUEM TCHUENTE, L.A.; N'GORAN, E.K.; ERKO, B.; KARANJA, D.M.; KABATEREINE, N.B.; VAN LIESHOUT, L.; RATHBUN, S. A five-country evaluation of a Point-of-Care Circulating Cathodic Antigen urine assay for the prevalence of Schistosomiasis mansoni. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 88, p. 426-432, 2013.

COLLEY, D.G.; ANDROS, T.S.; CAMPBELL, C.H. Jr. Schistosomiasis is more prevalent than previously thought: what does it mean for public health goals, policies, strategies, guidelines and intervention programs? **Infect. Dis. Poverty**, v. 6, n. 1, p. 63, 2017.

COLLINS, C.; XU, J.; TANG, S. Schistosomiasis control and the health system in P.R. China. **Infect. Dis. Poverty**, v. 1, n. 1, p. 8, 2012.

CORREIA, E.I.; MARTINELLI, R.P.; ROCHA, H. Esta desaparecendo a glomerulopatia da esquistossomose mansoni? **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 30, n. 4, p. 341-343, 1997.

CORSTJENS, P.L.; CHEN, Z.; ZUIDERWIJK, M.; BAU, H.H.; ABRAMS, W.R.; MALAMUD, D.; SAM NIEDBALA, R.; TANKE, H.J. Rapid assay format for multiplex detection of humoral immune responses to infectious disease pathogens (HIV, HCV, and TB). **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1098, p. 437-445, 2007.

CORSTJENS, P.L.; HOEKSTRA, P.T.; DE DOOD, C.J.; VAN DAM, G.J. Utilizing the ultrasensitive *Schistosoma* up-converting phosphor lateral flow circulating anodic antigen (UCP-LF CAA) assay for sample pooling-strategies. **Infect. Dis. Poverty**, v. 6, n. 1, p. 155, 2017.

CORSTJENS, P.L.; NYAKUNDI, R.K.; DE DOOD, C.J.; KARIUKI, T.M.; OCHOLA, E.A.; KARANJA, D.M.; MWINZI, P.N.; VAN DAM, G.J. Improved sensitivity of the urine CAA lateral-flow assay for diagnosing active *Schistosoma* infections by using larger sample volumes. **Parasit. Vectors**, v. 8, p. 241, 2015.

CORSTJENS, P. L.; D. E. DOOD CJ; KORNELIS, D.; TJON KON FAT, E. M.; WILSON, R. A.; KARIUKI, T. M.; NYAKUNDI, R. K.; LOVERDE, P. T.; ABRAMS, W. R.; TANKE, H. J.; VAN LIESHOUT, L.; DEELDER, A. M.; VAN DAM, G.J. Tools for diagnosis, monitoring and screening of *Schistosoma* infections utilizing lateral-flow based assays and upconverting phosphor labels. **Parasitology**, v. 141, n. 14, p. 1841-1855, 2014a.

CORSTJENS, P.L.; DE DOOD, C.J.; PRIEST, J.W.; TANKE, H.J.; HANDALI, S. Feasibility of a lateral flow test for neurocysticercosis using novel up- converting nanomaterials and a lightweight strip analyzer. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 8, n. 7, p. e2944, 2014b.

CORSTJENS, P.; ZUIDERWIJK, M.; BRINK, A.; LI, S.; FEINDT, H.; NIEDBALA, R.S.; TANKE, H. Use of up-converting phosphor reporters in lateral-flow assays to detect specific nucleic acid sequences: a rapid, sensitive DNA test to identify human papillomavirus type 16 infection. **Clin. Chem.**, v. 47, p. 1885–1893, 2001.

CORSTJENS, P.L.; LI, S.; ZUIDERWIJK, M.; KARDOS, K.; ABRAMS, W.R.; NIEDBALA, R.S.; TANKE, H.J. Infrared up-converting phosphors for bioassays. **IEE Proc. Nanobiotechnol.**, v. 152, n. 2, p. 64–72, 2005.

CORSTJENS, P.L.; VAN LIESHOUT, L.; ZUIDERWIJK, M.; KORNELIS, D.; TANKE, H.J.; DEELDER, A.M.; VAN DAM, G.J. Up-converting phosphor technology-based lateral flow assay for detection of *Schistosoma* circulating anodic antigen in serum. **J. Clin. Microbiol.**, v. 46, n. 1, p. 171–176, 2008a.

CORSTJENS, P.L.; ZUIDERWIJK, M.; TANKE, H.J.; VAN DER PLOEG-VAN SCHIP, J.J.; OTTENHOFF, T.H.; GELUK, A. A user-friendly, highly sensitive assay to detect the IFN-gamma secretion by T cells. **Clin. Biochem.**, v. 41, n. 6, p. 440-444, 2008b.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Doenças Glomerulares, Glomerulonefrite Membranoproliferativa. In: _____. **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. v. 6, p. 844-860.

COULIBALY, J. T.; N'GORAN, E. K.; UTZINGER, J.; DOENHOFF, M. J.; DAWSON, E.M. A new rapid diagnostic test for detection of anti- *Schistosoma mansoni* and anti-*Schistosoma haematobium* antibodies. **Parasit. Vectors**, v. 6, p. 29, 2013a.

COULIBALY, J.T.; N'GBESSO, Y.K.; KNOPP, S.; N'GUESSAN, N.A.; SILUE, K.D.; VAN DAM, G.J.; N'GORAN, E.K.; UTZINGER, J. Accuracy of urine circulating cathodic antigen test for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* in preschool-aged children before and after treatment. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 7, p. e2109, 2013b.

COULIBALY, J.T.; N'GBESSO, Y.K.; KNOPP, S.; KEISER, J.; N'GORAN, E.K.; UTZINGER, J. Efficacy and safety of praziquantel in preschool-aged children in an area co-endemic for *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 6, n. 12, p. e1917, 2012.

- CNOPS, L.; TANNICH, E.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; VAN ESBROECK, M. Schistosoma real-time PCR as diagnostic tool for international travellers and migrants. **Trop. Med. Int. Health**, v. 17, n. 10, p. 1208-1216, 2012.
- CUNHA, G.M.; SILVA, V.M.; BESSA, K.D.; BITENCOURT, M.A.; MACÊDO, U.B.; FREIRE-NETO, F.P.; MARTINS, R.R.; ASSIS, C.F.; LEMOS, T.M.; ALMEIDA, M.G.; FREIRE, A.C. Levels of oxidative stress markers: correlation with hepatic function and worm burden patients with schistosomiasis. **Acta Parasitol.**, v. 57, n. 2, p. 160-166, 2012.
- CURTALE, F.; MOHAMED, M.Y.; YOUSSEF, Z.M. Comprehensive primary health care, a viable strategy for the elimination of schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 104, n. 1, p. 70-72, 2010.
- DA FROTA, S.M.; CARNEIRO, T.R.; QUEIROZ, J.A.N.; ALENCAR, L.M.; HEUKELBACH, J.; BEZERRA, F.S.M. Combination of Kato Katz faecal examinations and ELISA to improve accuracy of diagnosis of intestinal schistosomiasis in a low-endemic setting in Brazil. **Acta Trop.**, v. 120, suppl. 1, p. S138-S141, 2011.
- DA SILVA JUNIOR, G.B.; DUARTE, D.B.; BARROS, E.J.G.; DAHER, E.F. Schistosomiasis-associated kidney disease: A review. **Asian Pac. J. Trop. Dis.**, v. 3, n. 1, p. 79-84, 2013.
- DAHER, E.F.; SOARES, D.S.; FILHO, S.L.; MENESES, G.C.; FREITAS, T.V.; LEITE, T.T.; DA SILVA JUNIOR, G.B. Hyponatremia and risk factors for death in human visceral leishmaniasis: new insights from a cross-sectional study in Brazil. **BMC Infect. Dis.**, v. 17, n. 1, p. 168, 2017.
- DANSO-APPIAH, A.; OLLIARO, P.L.; DONEGAN, S.; SINCLAIR, D.; UTZINGER, J. Drugs for treating *Schistosoma mansoni* infection. **Cochrane Database Syst. Rev.**, 2:CD000528, 2013.
- DAWSON, E.M.; SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; KABATEREINE, N.B.; DOENHOFF, M.J.; STOTHARD, J.R. Intestinal schistosomiasis in pre school-aged children of Lake Albert, Uganda: diagnostic accuracy of a rapid test for detection of anti-schistosome antibodies. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 107, n. 10, p. 639-647, 2013.
- DE BONT, J.; VAN LIESHOUT, L.; DEELDER, A.M.; YSEBAERT, M.T.; VERCRUYSSSE, J. Circulating antigen levels in serum of cattle naturally infected with *Schistosoma mattheei*. **Parasitology**, v. 113, n. pt 5, 465-471, 1996.
- DE DOOD, C.J.; HOEKSTRA, P.T.; MNGARA, J.; KALLUVYA, S.E.; VAN DAM, G.J.; DOWNS, J.A.; CORSTJENS, P.L.A.M. Refining diagnosis of *Schistosoma haematobium* infections: antigen and antibody detection in urine. **Front. Immunol.**, v. 9, p. 2635, 2018.
- DE JONGE, N.; FILLIÉ, Y.E.; DEELDER, A.M. A simple and rapid treatment (trichloroacetic acid precipitation) of serum samples to prevent non-specific reactions in the immunoassay of a proteoglycan. **J. Immunol. Methods**, v. 99, n. 2, p. 195-197, 1987.
- DE JONGE, N.; FILLIÉ, Y.E.; HILBERATH, G.W.; KRIJGER, F.W.; LENGELER, C.; DE SAVIGNY, D.H.; VAN VLIET, N.G.; DEELDER, A.M. Presence of the schistosome circulating anodic antigen (CAA) in urine of patients with *Schistosoma mansoni* or S.

haematobium infections. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 41, n. 5, p. 563-569, 1989.

DE JONGE, N.; KREMSNER, P.G.; KRIJGER F.W.; SCHOMMER, G.; FILLIE, Y.E.; KORNELIS, D.; VAN ZEYL, R.J.M.; VAN DAM, G.J.; FELDMIEIER, H.; DEELDER, A.M. Detection of the schistosome circulating cathodic antigen by enzyme immunoassay using biotinylated monoclonal antibodies. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 84, p. 815-818, 1990.

DE WATER, R.; VAN MARCK, E.A.; FRANSEN, J.A.; DEELDER, A.M. Schistosomamansoni: ultrastructural localization of the circulating anodic antigen and the circulating cathodic antigen in the mouse kidney glomerulus. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 38, p. 118-124, 1988.

DEELDER, A.M.; DE JONGE, N.; BOERMAN, O.C.; FILLIE, Y.E.; HILBERATH, G.W.; ROTMANS, J.P.; GERRITSE, M.J.; SCHUT, D.W.O. Sensitive determination of circulating anodic antigen in *Schistosoma mansoni* infected individuals by an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 40, n. 3, p. 268-272, 1989.

DEELDER, A.M.; EL DOSOKY, I.; VAN MARCK, E.A.E.; QIAN, Z.L. Immunofluorescent localization of *Schistosoma mansoni* circulating cathodic antigen in tissues of infected mice using monoclonal antibody. **Z. Parasitenkd.**, v. 71, p. 317-323, 1985.

DEELDER, A.M.; KLAPPE, T.M.; VAN DEN, A.; ARDWEG, G.J.M.J.; VAN MEERBEKE, E.H.E.M. *Schistosoma mansoni*: demonstration of two circulating antigens in infected hamsters. **Exp. Parasitol.**, v. 40, n. 2, p. 189-197, 1976.

DEELDER, A.M.; KORNELIS, D.; VAN MARCK, E.A.E.; EVELEIGH, P.C.; VAN EGMOND, J.G. *Schistosoma mansoni*: characterization of two circulating polysaccharide antigens and the immunological response to these antigens in mouse, hamster, and human infections. **Exp. Parasitol.**, v. 50, p. 16-32, 1980.

DEELDER, A.M.; MILLER, R.L.; DE JONGE, N.; KRIJGER, F.W. Detection of schistosome antigen in mummies. **Lancet**, v. 335, p. 724-725, 1990.

DEELDER, A.M.; QIAN, Z.L.; KREMSNER, P.G.; ACOSTA, L.; RABELLO, A.L.T.; ENYONG, P.; SIMARRO, P.P.; VAN ETTEN, C.M.; KRIJGER, F.W.; ROTMANS, J.P.; FILLIE, Y.E.; DE JONGE, N.; AGNEW A.M.; VAN LIESHOUT, L. Quantitative diagnosis of schistosoma infection by measurement of circulating antigens in serum and urine. **Trop. Geogr. Med.**, v. 46, 4 spec. n., p. 233-238, 1994.

DIAB, R.G.; MADY, R.F.; TOLBA, M.M.; GHAZALA, R.A. Urinary circulating DNA and circulating antigen for diagnosis of schistosomiasis mansoni: a field study. **Trop. Med. Int. Health**, v. 24, n. 3, p. 371-378, 2019.

DIAL, C.; NOËL, L.H. Eggs in the kidney. **Kidney Int.**, v. 77, n. 10, p. 934, 2010.

DIGEON, M.; DROZ, D.; NOEL, L.H.; RIZA, J.; RIEUMAILHOL, C.; BACH, J.F.; SANTORO, F.; CAPRON, A. The role of circulating immune complexes in the glomerular disease of experimental hepatosplenic schistosomiasis. **Clin. Exp.**

Immunol., v. 35, n. 3, p. 329-337, 1979.

DOENHOFF, M.J.; KUSEL, J.R.; COLES, G.C.; CIOLI, D. Resistance of *Schistosoma mansoni* to praziquantel: is there a problem? **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 96, n. 5, p. 465-469, 2002.

DOENHOFF, M.J.; WHEELER, J.G.; TRICKER, K.; HAMILTON, J.V.; STURROCK, R.F.; BUTTERWORTH, A.E.; OUMA, J.H.; MBUGUA, G.G.; KARIUKI, C.; KOECH, D. The detection of antibodies against *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens (SEA) and CEF6 in ELISA, before and after chemotherapy. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 97, n. 7, p. 697-709, 2003.

DOENHOFF, M.J.; CHIODINI, P.L.; HAMILTON, J.V. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? **Trends Parasitol.**, v. 20, n. 1, p. 35-39, 2004.

DOENHOFF, M.J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 21, p. 659-667, 2008.

DOS SANTOS, M.; BRINGHENTI, R.N.; RODRIGUES, P.G.; DO NASCIMENTO, J.F.; PEREIRA, S.V.; ZANCAN, R.; MONTICIELO, O.A.; GASPARIN, A.A.; DE CASTRO, W.P.; VERONESE, F.V. Podocyte-associated mRNA profiles in kidney tissue and in urine of patients with active lupus nephritis. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 5, p. 4600-4613, 2015.

DOS SANTOS, W.L.C.; SWEET, G.M.M.; BAHIANSE-OLIVEIRA, M.; ROCHA, P.N. Schistosomal glomerulopathy and changes in the distribution of histological patterns of glomerular diseases in Bahia, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 7, p. 901-904, 2011.

DUARTE, D.B.; DAHER, E.F.; PINHEIRO, M.E.; OLIVEIRA, M.J.C. Doença renal associada à esquistossomose mansônica. In: DAHER, E.F.; BARROS, E.; SILVA JUNIOR, G.B. (Org.). **Nefrologia Tropical**. 1. ed. São Paulo: Livraria Balieiro, 2019. p. 101-118.

DUARTE, D.B.; VANDERLEI, L.A.; DE AZEVÊDO BISPO, R.K.; PINHEIRO, M.E.; DA SILVA JUNIOR, G.B.; MARTINS, A.M.C.; MENESES, G.C.; DAHER, E.F. Renal function in hepatosplenic schistosomiasis-an assessment of renal tubular disorders. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. e115197, 2014.

DUARTE, D.B.; VANDERLEI, L.A.; BISPO, R.K.A.; PINHEIRO, M.E.; SILVA JUNIOR, G.B.; DAHER, E.F. Acute kidney injury in Schistosomiasis: A Retrospective Cohort of 60 Patients in Brazil. **J. Parasitol.**, v. 101, n. 2, p. 244-247, 2015.

EDELBAUER, M.; KSHIRSAGAR, S.; RIED, M.; BILLING, H.; TÖNSHOFF, B.; HAFFNER, D.; DÖTSCH, J.; WECHSELBERGER, G.; WEBER, L.T.; STEICHENGERSDORF, E. Soluble VEGF receptor 1 promotes endothelial injury in children and adolescents with lupus nephritis. **Pediatr. Nephrol.**, v.27, n. 5, p. 793-800, 2012.

EL DOSOKY, I.; VAN MARCK, E.A.E.; DEELDER, A.M. Presence of *Schistosoma mansoni* antigens in liver, spleen and kidney of infected mice: a sequential study. **Z. Parasitenkd.**, v.

70, n. 4, p. 491-497, 1984.

ELHAG, S.M.; ABDELKAREEM, E.A.; YOUSIF, A.S.; FRAH, E.A.; MOHAMED, A.B. Detection of schistosomiasis antibodies in urine patients as a promising diagnostic maker. **Asian Pac. J. Trop. Med.**, v. 4, p. 773-777, 2011.

EL-MORSHEDY, H.; KINOSIEN, B.; BARAKAT, R.; OMER, E.; KHAMIS, N.; DEELDER, A. M.; PHILLIPS, M. Circulating anodic antigen for detection of *Schistosoma mansoni* infection in Egyptian patients. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 54, n. 2, p.149-153, 1996.

ENK, M.J.; OLIVEIRA E SILVA, G.; RODRIGUES, N.B. Diagnostic accuracy and applicability of a PCR System for the detection of *Schistosoma mansoni* DNA in human urine samples from an endemic area. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. e38947, 2012.

EREMINA, V.; JEFFERSON, J.A.; KOWALEWSKA, J.; HOCHSTER, H.; HAAS, M.; WEISSTUCH, J.; RICHARDSON, C.; KOPP, J.B.; KABIR, M.G.; BACKX, P.H.; GERBER, H.P.; FERRARA, N.; BARISONI, L.; ALPERS, C.E.; QUAGGIN, S.E. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. **N. Engl. J. Med.**, v. 358, p. 1129 –1136, 2008.

ESPÍRITO-SANTO, M.C.; ALVARADO-MORA, M.V.; PINTO, P.L.; DE BRITO, T.; BOTELHO-LIMA, L.; HEATH, A.R.; AMORIM, M.G.; DIAS-NETO, E.; CHIEFFI, P.P.; PINHO, J.R.; CARRILHO, F.J.; ALBUQUERQUE LUNA, E.J.; GRYSCHKEK, R.C. Detection of *Schistosoma mansoni* infection by TaqMan(R) Real-Time PCR in a hamster model. **Exp. Parasitol.**, v. 143, p. 83-89, 2014a.

ESPÍRITO-SANTO, M.C.; SANCHEZ, M.C.; SANCHEZ, A.R.; ALVARADO-MORA, M.V.; CASTILHO, V.L.; GONÇALVES, E.M.; LUNA, E.J.; GRYSCHKEK, R.C. Evaluation of the sensitivity of IgG and IgM ELISA in detecting *Schistosoma mansoni* infections in a low endemicity setting. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 33, n. 12, p. 2275-2284, 2014b.

FAVERO, V.; FRASCA CANDIDO, R.R.; DE MARCO VERISSIMO, C.; JONES, M.K.; ST PIERRE, T.G.; LINDHOLZ, C.G.; DA SILVA, V.D.; MORASSUTTI, A.L.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. Optimization of the Helmintex method for schistosomiasis diagnosis. **Exp. Parasitol.**, v. 177, p. 28-34, 2017.

FERREIRA, F.T.; FIDELIS, T.A.; PEREIRA, T.A.; OTONI, A.; QUEIROZ, L.C.; AMÂNCIO, F.F.; ANTUNES, C.M.; LAMBERTUCCI, J.R. Sensitivity and specificity of the circulating cathodic antigen rapid urine test in the diagnosis of *Schistosomiasis mansoni* infection and evaluation of morbidity in a low- endemic area in Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 50, n. 3, p. 358-364, 2017.

FLOWERS, J.R.; HAMMERBERG, B.; WOOD, S.L.; MALARKEY, D.E.; VAN DAM, G.J.; LEVY, M.G.; MCLAWHORN, L.D. *Heterobilharzia americana* infection in a dog. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 220, p. 193-196, 2002.

FUSS, A.; MAZIGO, H.D.; TAPPE, D.; KASANG, C.; MUELLER, A. Comparison of sensitivity and specificity of three diagnostic tests to detect *Schistosoma mansoni* infections in school children in Mwanza region, Tanzania. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0202499.

FUTRAKUL N.; BUTTHERP, P.; FUTRAKUL, P. Altered vascular homeostasis in chronic kidney disease. **Clin. Hemorheol. Microcirc.**, v. 38, n. 3, p. 201–207, 2008.

FUTRAKUL, N.; BUTTHERP, P.; LAOHAREUNGPANYA, N.; CHAISURIYA, P.; RATANABANANGKOON, K. A defective angiogenesis in chronic kidney disease. **Ren. Fail.**, v. 30, n. 2, p. 215–217, 2008.

GABRIEL, S.; DE BONT, J.; PHIRI, I.K.; MASUKU, M.; RIVEAU, G.; SCHACHT, A.M.; DEELDER, A.M.; VAN DAM, G.J.; VERCRUYSSSE, J. Transplacental transfer of schistosomal circulating anodic antigens in cows. **Parasite Immunol.**, v. 24, p. 521-525, 2002.

GANDASEGUI, J.; FERNÁNDEZ-SOTO, P.; MURO, A.; SIMÕES BARBOSA, C.; LOPES DE MELO, F.; LOYO, R.; DE SOUZA GOMES, E.C. A field survey using LAMP assay for detection of *Schistosoma mansoni* in a low-transmission area of schistosomiasis in Umbuzeiro, Brazil: Assessment in human and snail samples. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 12, n. 3, p. e0006314, 2018.

GENTILE, R.; GONCALVES, M.M.; DA COSTA NETO, S.F.; DA COSTA, M.M.; PERALTA, R.H.; PERALTA, J.M. Evaluation of immunological, parasitological and molecular methods for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection before and after chemotherapy treatment with praziquantel in experimentally infected *Nectomys squamipes*. **Vet. Parasitol.**, v. 180, p. 243-249, 2011.

GNUDI, L.; BENEDETTI, S.; WOOLF, A.S.; LONG, D.A. Vascular growth factors play critical roles in kidney glomeruli. **Clin. Sci.**, v. 129, n. 12, p.1225-1236, 2015.

GOLD, R.; ROSEN, F.S.; WELLER, T.H. A specific circulating antigen in hamsters infected with *Schistosoma mansoni*. Detection of antigen in serum and urine, and correlation between antigenic concentration and worm burden. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 18, p. 545-551, 1969.

GOMES, A.L.; MELO, F.L.; WERKHAUSER, R.P.; ABATH, F.G. Development of a real time polymerase chain reaction for quantitation of *Schistosoma mansoni* DNA. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, suppl 1, p. 133-136, 2006.

GOMES, L.I.; MARQUES, L.H.S.; ENK, M.J.; OLIVEIRA, M.C.; COELHO, P.M.Z.; RABELLO, A. Development and Evaluation of a Sensitive PCR-ELISA System for Detection of *Schistosoma* Infection in Feces. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 4, n. 4, p. e664, 2010.

GOMES, L.I.; ENK, M.J.; RABELLO, A. Diagnosing schistosomiasis: where are we? **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 47, n. 1, p. 3-11, 2014.

GONÇALVES, S.B. **Efeito do VEGF na angiogênese pulpar e na apoptose.** 2006. Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade de São Paulo, Bauru, 2006.

GONÇALVES, M.M.L.; BARRETO, M.G.M.; PERALTA, R.H.S.; GARGIONI, C. GONÇALVES, T.; IGREJA, R.P.; SOARES, M.S.; PERALTA, J.M. Immunoassays as an auxiliary tool for the serodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in individuals with low intensity of egg elimination. **Acta Trop.**, v. 100, p. 24-30, 2006.

GONZALES, P.; PISITKUN, T.; KNEPPER, M. A. Urinary exosomes: is there a future? **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 23, n. 6, p. 1799–1801, 2008.

GORRIZ, J. L.; MARTINEZ-CASTELAO, A. Proteinuria: detection and role in native renal disease progression. **Transplant. Rev. (Orlando)**, v. 26, n. 1, p. 3–13, 2012.

GORYACHEVA, I.Y.; LENAIN, P.; DE SAEGER, S. Nanosized labels for rapid immunotests. **TrAC Trends Anal. Chem.**, v. 46, p. 30-43, 2013.

GRANDALIANO, G.; GESUALDO, L.; RANIERI, E.; MONNO, R.; STALLONE, G.; SCHENA, F.P. Monocyte chemotactic peptide-1 expression and monocyte infiltration in acute renal transplant rejection. **Transplantation**, v. 63, n. 3, p. 414–420, 1997.

GRENFELL, R.; HARN, D.A.; TUNDUP, S.; DA'DARA, A.; SIQUEIRA, L.; COELHO, P. M. Z. New Approaches with Different Types of Circulating Cathodic Antigen for the Diagnosis of Patients with Low *Schistosoma mansoni* Load. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 7, n. 2, p. e2054, 2013d.

GRENFELL, R.F.; MARTINS, W.M.; DRUMOND, S.; ANTUNES, C.M.; VOIETA, I; OTONI, A.; OLIVEIRA, A.A.; SILVA-MORAES, V.; OLIVEIRA, E.R.; OLIVEIRA, E.; LAMBERTUCCI, J.R.; FONSECA, C.T.; COELHO, P.M. Acute schistosomiasis diagnosis: a new tool for the diagnosis of schistosomiasis in an group of travelers recently infected in a new focus of *Schistosoma mansoni*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 46, n. 2, p. 208-213, 2013b.

GRENFELL, R.F.; MARTINS, W.; ENK, M.; OLIVEIRA, A.; SIQUEIRA, L.; SILVA-MORAES, V.; OLIVEIRA, E.; CARNEIRO, N.F.F.; COELHO, P.M.Z. *Schistosoma mansoni* in a low-prevalence area in Brazil: the importance of additional methods for the diagnosis of hard-to-detect individual carriers by low-cost immunological assays. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 13, p. 328-334, 2013a.

GRENFELL, R.; MARTINS, W.; SILVA-MORAES, V.; ARAUJO, N.; OLIVEIRA, E.; FONSECA, C.T; COELHO, P.M. The schistosomula tegument antigen as potential candidate for the early serological diagnosis of schistosomiasis mansoni. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 55, n. 2, p. 75-8, 2013c.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, v. 26, n. 2, p. 383-397, 2012.

HAASE, M. NGAL — From discovery to a new era of “Acute Renal Disease” diagnosis? **Clin. Biochem.**, v. 44, n. 7, p. 499–500, 2011.

HALLER, H.; BERTRAM, A.; NADROWITZ, F.; MENNE, J. Monocyte chemoattractant protein-1 and the kidney. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v. 25, n. 1, p. 42–49, 2016.

HAMILTON, J.V.; KLINKERT, M.; DOENHOFF, M.J. Diagnosis of schistosomiasis: antibody detection, with notes on parasitological and antigen detection methods. **Parasitology**, v. 117, Suppl., p. S41-S57, 1998.

HAMPL, J.; HALL, M.; MUFTI, N.A.; YAO, Y.M.; MACQUEEN, D.B.; WRIGHT, W.H.; COOPER, D.E. Upconverting phosphor reporters in immunochromatographic assays. **Anal.**

Biochem., v. 288, p. 176-187, 2001.

HAMS, E.; AVIELLO, G.; FALLON, P.G. The *Schistosoma* granuloma: friend or foe? **Front. Immunol.**, v. 4, p. 89, 2013.

HANCOCK, K.; TSANG, V.C.W. Development and optimization of the FAST-ELISA for detecting antibodies to *Schistosoma mansoni*. **J. Immunol. Methods**, v. 92, p. 167-176, 1986.

HANEMANN, A. L.; LIBORIO, A. B.; DAHER, E. F.; MARTINS, A. M.; PINHEIRO, M. C.; SOUSA, M. S.; BEZERRA, F. S. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in patients with chronic schistosomiasis mansoni: evidences of subclinical renal inflammation. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e80421, 2013.

HARVEY, T.W.; ENGEL, J.E.; CHADE, A.R. Vascular endothelial growth factor and podocyte protection in chronic hypoxia: effects of endothelin-A receptor antagonism. **Am. J. Nephrol.**, v. 43, p. 74 –84, 2016.

HESSLER, M.J.; CYRS, A.; KRENZKE, S.C.; MAHMOUD, E.S.; SIKASUNGE, C.; MWANSA, J.; LODH, N. Detection of duo-schistosome infection from filtered urine samples from school children in Zambia after MDA. **PLoS ONE**, v. 12, n. 12, p. e0189400, 2017.

HICKLIN, D.; ELLIS, L.M. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. **J. Clin. Oncol.**, v.23, n.5, p.1011-1027, 2005.

HINZ, R.; SCHWARZ, N.G.; HAHN, A.; FRICKMANN, H. Serological approaches for the diagnosis of schistosomiasis - A review. **Mol. Cell. Probes**, v. 31, p. 2-21, 2017.

HOCKLEY, D.J. Ultrastrutucure of teh tegumento f *Schistosoma mansoni*. **Adv. Parasitol.**, v. 11, p. 233-305, 1973.

HODEL, N.C.; HAMAD, A.; PRAEHAUSER, C.; MWANGOKA, G.; KASELLA, I.M.; REITHER, K.; ABDULLA, S.; HATZ, C.F.R.; MAYR, M. The epidemiology of chronic kidney disease and the association with non-communicable and communicable disorders in a population of sub-Saharan Africa. **PLoS ONE**, v. 13, n. 10, p. e0205326, 2018.

HODGKINS, K.S.; SCHNAPER, H.W. Tubulointerstitial injury and progression of chronic kidney disease. **Pediatr. Nephrol.**, v. 27, p. 901-909, 2012.

HOEBEN, A.; LANDUYT, B.; HIGHLEY, M.S.; WILDIERS, H.; VAN OOSTEROM, A.T.; DE BRUIJN, E.A. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. **Pharmacol. Rev.**, v.56, n.4, p. 549-580, 2004.

HONKANEN, E.O.; TEPPPO, A.M.; GRONHAGEN-RISKA, C. Decreased urinary excretion of vascular endothelial growth factor in idiopathic membranous glomerulonephritis. **Kidney Int.**, v. 57, n. 6, p. 2343-2349, 2000.

HOOD, J.D; MEININGER, C.J, ZICHIE, M., GRANGER, H.J. VEGF upregulates ecNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. **Am. J. Physiol.**, v. 274, n. 3, p.1054-1058. 1998.

HORA, K.; SATRIANO, J.A.; SANTIAGO, A.; MORI, T.; STANLEY, E.R.; SHAN, Z.; SCHLONDORFF, D. Receptors for IgG complexes activate synthesis of monocyte chemoattractant peptide 1 and colony-stimulating factor 1. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 89, n. 5, p. 1745–9, 1992.

HOTEZ, P.J.; FUJIWARA, R.T. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. **Microbes Infect.**, v. 16, n. 8, p. 601–606, 2014.

ICHIMURA, T.; BONVENTRE, J.V.; BAILLY, V.; WEI, H.; HESSION, C.A.; CATE, R.L.; SANICOLA, M. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 7, p. 4135–4142, 1998.

ILIESCU R.; FERNANDEZ, S.R.; KELSEN S.; MARIC C.; CHADE, A.R. Role of renal microcirculation in experimental renovascular disease. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 25, p. 1079 –1087, 2010.

JOHANSEN, M.V.; SITHITHAWORN, P.; BERGQUIST, R.; UTZINGER, J., Towards improved diagnosis of zoonotic trematode infections in Southeast Asia. **Adv. Parasitol.**, v. 73, p. 171–195, 2010.

JOHNSON, A.M. Aminoácidos e proteínas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R.; BRUNS, D.E. **Tietz: Fundamentos de Química Clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 295–325.

JURBERG, A.D.; OLIVEIRA, A.A.; LENZI, H.L.; COELHO, P.M.Z. A new miracidia hatching device for diagnosing schistosomiasis **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 112–114, 2008.

KASHANI, K.; CHEUNGASITPORN, W.; RONCO, C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 55, n. 8, p. 1074–1089, 2017.

KATO, T.; MIURA, M. On the comparison of some stool examination methods. **Jpn. J. Parasitol.**, v. 3, p. 35, 1954.

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

Katz, N. **Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintos**. 22. ed. Belo Horizonte: CPqRR FIOCRUZ, 2018. 76p.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 38–43, 2003. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252003000100024>. Acesso em: 24 maio 2019.

KIM, N.H.; KIM, K.B.; KIM, D.L.; KIM, S.G.; CHOI, K.M.; BAIK, S.H.; CHOI, D.S.; KANG, Y.S.; HAN, S.Y.; HAN, K.H.; JI, Y.H.; CHA, D.R. Plasma and urinary vascular

endothelial growth factor and diabetic nephropathy in Type 2 diabetes mellitus. **Diabet. Med.**, v. 21, n. 6, p. 545-551, 2004.

KIM, M.J.; TAM, F.W. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. **Clin. Chim. Acta**, v. 412, n. 23-24, p. 2022-2030, 2011.

KINKEL, H.F.; DITTRICH, S.; BÄUMER, B.; WEITZEL, T. Evaluation of eight serological tests for diagnosis of imported schistosomiasis. **Clin. Vaccine Immunol.**, v. 19, n. 6, p. 948-953, 2012.

KITTUR, N.; CASTLEMAN, J.D.; CAMPBELL, C.H. Jr; KING, C.H.; COLLEY, D.G. Comparison of *Schistosoma mansoni* Prevalence and Intensity of Infection, as Determined by the Circulating Cathodic Antigen Urine Assay or by the Kato-Katz Fecal Assay: A Systematic Review. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 94, n. 3, p. 605-610, 2016.

KJETLAND, E.F.; HOVE, R.J.; GOMO, E.; MIDZI, N.; GWANZURA, L.; MASON, P.; FRIIS, H.; VERWEIJ, J.J.; GUNDERSEN, S.G.; NDHLOVU, P.D.; MDULUZA, T.; VAN LIESHOUT, L. Schistosomiasis PCR in vaginal lavage as an indicator of genital *Schistosoma haematobium* infection in rural Zimbabwean women. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 81, n. 6, p. 1050-1055, 2009.

KNOPP, S.; BECKER, S.L.; INGRAM, K.J.; KEISER, J.; UTZINGER, J. Diagnosis and treatment of schistosomiasis in children in the era of intensified control. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.**, v. 11, n. 11, p. 1237-1258, 2013.

KNOPP, S.; CORSTJENS, P.L.; KOUKOUNARI, A.; CERCAMONDI, C.I.; AME, S.M.; ALI, S.M.; DE DOOD, C.J.; MOHAMMED, K.A.; UTZINGER, J.; ROLLINSON, D.; VAN DAM, G.J. Sensitivity and Specificity of a Urine Circulating Anodic Antigen Test for the Diagnosis of *Schistosoma haematobium* in Low Endemic Settings. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 9, n. 5, p. e0003752, 2015.

KONGS, A.; MARKS, G.; VERLE, P.; VAN DER STUYFT, P. The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluation *S. mansoni* infections. **Trop. Med. Int. Health**, v. 6, p. 163-169, 2001.

KREMSNER, P.G.; DE JONGE, N.; SIMARRO, P.P.; MUHLSCHLEGEL, F.; MIR, M.; SIMA, F.O.; FELDMEIERS, H.; BIENZLE, U.; DEELDER, A.M. Quantitative determination of circulating anodic and cathodic antigens in serum and urine of individuals infected with *Schistosoma intercalatum*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 87, n. 2, p. 167-169, 1993.

KREMSNER, P.G.; ENYONG, P.; KRIJGER, F.W.; DE JONGE, N.; ZOTTER, G.M.; THALHAMMER, F.; MUHLSCHLEAGEL, F.; BIENZLE, U.; FELDMEIERS, H.; DEELDER, A.M. Circulating anodic and cathodic antigen in serum and urine from *Schistosoma haematobium* infected Cameroonian children receiving praziquantel. **Clin. Infect. Dis.**, v. 18, p. 405-413, 1994.

KRETZLER, M.; SCHROPPEL, B.; MERKLE, M.; HUBER, S.; MUNDEL, P.; HOSTER, M.; SCHLÖNDORFF, D. Detection of multiple vascular endothelial growth factor splice isoforms in single glomerular podocytes. **Kidney Int. Suppl.**, v. 67, p. S159-S161, 1998.

KUNINGAS, K.; UKONAHU, T.; PAKKILA, H.; RANTANEN, T.; ROSENBERG, J.; LOVGREN, T.; SOUKKA, T. Upconversion fluorescence resonance energy transfer in a homogeneous immunoassay for estradiol. **Anal. Chem.**, v. 78, p. 4690-4696, 2006.

LAMBERTUCCI, J.R.; FIDELIS, T.A.; PEREIRA, T.A.; COELHO, P.M.Z; ARAUJO, N.; SOUZA, M.M.; BRASILEIRO FILHO, G.; PEREIRA, F.E.; ANTUNES, C.M. Brain schistosomiasis in mice experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 47, n. 2, p. 251-253, 2014.

LAMBERTUCCI, J.R.; SERUFO, J.C.; GERSPACHER-LARA, R.; RAYES, A.A.; TEIXEIRA, R.; NOBRE, V.; ANTUNES, C.M. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. **Acta Trop.**, v. 77, n. 1, p. 101-109, 2000.

LEAL, J.K.F. **Diagnóstico da esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade através do POC-CCA**: comparação com outros métodos e avaliação pós-tratamento. 2014. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

LEGESSE, M.; ERKO, B. Field-based evaluation of a reagent strip test for diagnosis of *Schistosoma mansoni* by detecting circulating cathodic antigen in urine before and after chemotherapy. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 101, p. 668-673, 2007.

LEUTSCHER, P.D.; VAN DAM, G.T.; REIMERT, C.M.; RAMARAKOTO, C. E.; DEELDER, A.M.; ORNBJERG, N. Eosinophil cationic protein, soluble egg antigen, circulating anodic antigen, and egg excretion in male urogenital schistosomiasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 79, p. 422-426, 2008.

LI, L.; ZHOU, L.; YU, Y.; ZHU, Z.; LIN, C.; LU, C.; YANG, R. Development of up-converting phosphor technology-based lateral-flow assay for rapidly quantitative detection of hepatitis B surface antibody. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 63, n. 2, p.165-172, 2009.

LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

LIMA VERDE, F.A.A.; LIMA VERDE, F. A.; DAHER, E. F.; SANTOS, G. M.; SABÓIA NETO, A.; LIMA VERDE, E. M. Renal tubular dysfunction in human visceral leishmaniasis (kala-azar). **Clin. Nephrol.**, v. 71, n. 5, p. 492-500, 2009.

LIN, D.D.; XU, J.M.; ZHANG, Y.Y.; LIU, Y.M.; HU, F.; XU, X.L.; LI, J.Y.; GAO, Z.L.; WU, H.W.; KURTIS, J.; WU, G.L. Evaluation of IgG-ELISA for the diagnosis of *Schistosoma japonicum* in a high prevalence, low intensity endemic area of China. **Acta Trop.**, v. 107, n. 2, p. 128-133, 2008.

LODH, N.; MWANSA, J.C.; MUTENGO, M.M.; SHIFF, C.J. Diagnosis of *Schistosoma mansoni* without the stool: comparison of three diagnostic tests to detect *Schistosoma mansoni* infection from filtered urine in Zambia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 89, n. 1, p. 46-50, 2013.

LODH, N.; NAPLES, J.M.; BOSOMPEN, K.M.; QUARTEY, J.; SHIFF, C.J. Detection of Parasite Specific DNA in Urine Sediment Obtained by Filtration Differentiates between

Single and Mixed Infections of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* from Endemic Areas in Ghana. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. e91144, 2014.

MAKAROVA, E.; GOES, T.S.; LEITE, M.F.; GOES, A.M. Detection of IgG binding to *Schistosoma mansoni* recombinant protein RP26 is a sensitive and specific method for acute schistosomiasis diagnosis. **Parasitol. Int.**, v. 54, n. 1, p. 69-74, 2005.

MAKAROVA, E.; GOES, T.S.; MARCATTO, A.L.; LEITE, M.F.; GOES, A.M. Serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis using *Schistosoma mansoni* recombinant protein RP26. **Parasitol. Int.**, v. 52, n. 4, p. 269-279, 2003.

MÅRTENSSON, J.; MARTLING, C.R.; BELL, M. Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability. **Br. J. Anaesth.**, v. 109, n. 6, p. 843–850, 2012.

MARTINELLI, R.; ROCHA, H. Revisao/Atualizacao em Nefrologia Clinica: Envolvimento glomerular na esquistossomose mansonica. **J. Bras. Nefrol.**, v. 18, p. 279-282, 1996.

MARTINELLI, R.; SILVEIRA, M.A.; ROCHA, H. Glomerulonefrites associadas às doenças parasitárias. In: BARROS, R.T. (Org.). **Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento**. São Paulo: Sarvier, 2006. p. 352-371.

MARTINS-MELO, F.R.; PINHEIRO, M.C.C.; RAMOS, A.N.Jr.; ALENCAR, C.H.; BEZERRA, F.S.; HEUKELBACH, J. Trends in schistosomiasis-related mortality in Brazil, 2000-2011. **Int. J. Parasitol.**, v. 44, n. 14, p. 1055-1062, 2014.

MARTINS-MELO, F.R.; PINHEIRO, M.C.; RAMOS, A.N.Jr.; ALENCAR, C.H.; BEZERRA, F.S.; HEUKELBACH, J. Spatiotemporal Patterns of Schistosomiasis-Related Deaths, Brazil, 2000-2011. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 21, n. 10, p. 1820-1823, 2015.

MARTINS-MELO, F.R.; RAMOS Jr., A.N.; ALENCAR, C.H.; HEUKELBACH, J. Trends and spatial patterns of mortality related to neglected tropical diseases in Brazil. **Parasite Epidemiol. Control**, v. 1, n. 2, p. 56–65, 2016.

MARUMO, T.; SCHINI-KERTH, V.B.; BUSSE, R. Vascular endothelial growth factor activates nuclear factor-kappaB and induces monocyte chemoattractant protein-1 in bovine retinal endothelial cells. **Diabetes**, v. 48, n. 5, p. 1131-1137, 1999.

MARWICK, T.H.; AMANN, K.; BANGALORE, S.; CAVALCANTE, J.L.; CHARYTAN, D.M.; CRAIG, J.C.; GILL, J.S.; HLATKY, M.A.; JARDINE, A.G.; LANDMESSER, U.; NEWBY, L.K.; HERZOG, C.A.; CHEUNG, M.; WHEELER, D.C.; WINKELMAYER, W.C.; SARNAK, M.J.; CONFERENCE PARTICIPANTS. Chronic kidney disease and valvular heart disease: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. **Kidney Int.**, v. 96, n. 4, p. 836-849, 2019.

MELMAN, S.D.; STEINAUER, M.L.; CUNNINGHAM, C.; KUBATKO, L.S.; MWANGI, I.N.; WYNN, N.B.; MUTUKU, M.W.; KARANJA, D.M.S.; COLLEY, D.G.; BLACK, C.L.; SECOR, W.E.; MKOJI, G.M.; LOKER, E.S. Reduced susceptibility to praziquantel among naturally occurring Kenyan isolates of *Schistosoma mansoni*. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 3, p. e504, 2009.

MENESES, G.C.; LIBÓRIO, A.B.; DE DAHER, E.F.; DA SILVA, G.B.Jr.; DA COSTA, M.F.; PONTES, M.A.; MARTINS, A.M. Urinary monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in leprosy patients: increased risk for kidney damage. **BMC Infect. Dis.**, v. 14, p. 451, 2014.

MENESES, G.C.; DAHER, E.F.; DA SILVA JUNIOR, G.B.; BEZERRA, G.F.; DA ROCHA, T.P.; DE AZEVEDO, I.E.P.; LIBÓRIO, A.B.; MARTINS, A.M.C. Visceral leishmaniasis-associated nephropathy in hospitalized Brazilian patients: new insights based on kidney injury biomarkers. **Trop. Med. Int. Health**, v. 23, n. 10, p. 1046-1057, 2018.

MEURS, L.; BRIENEN, E.; MBOU, M.; OCHOLA, E.A.; MBOUP, S.; KARANJA, D.M.; SECOR, W.E.; POLMAN, K.; VAN LIESHOUT, L. Is PCR the Next Reference Standard for the Diagnosis of *Schistosoma* in Stool? A Comparison with Microscopy in Senegal and Kenya. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 9, n. 7, p. e0003959, 2015.

MIDZI, N.; BUTTERWORTH, A.E.T.; MDULUZA, T.S.; MUNYATI, S.; DEELDER, A.M.; VAN DAM, G.J. Use of circulating cathodic antigen strips for the diagnosis of urinary schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 3, p. 45-51, 2009.

MILLER, R.L.; ARMELAGOS, G.J.; IKRAM, S.; DE JONGE, N.; KRIJGER, F.W.; DEELDER, A.M. Palaeoepidemiology of *Schistosoma* infection in mummies. **Brit. Med. J.**, v. 304, p. 555-556, 1992.

MISHRA, J.; DENT, C.; TARABISHI, R.; MITSNEFES, M.M.; MA, Q.; KELLY, C.; RUFF, S.M.; ZAHEDI, K.; SHAO, M.; BEAN, J.; MORI, K.; BARASCH, J.; DEVARAJAN, P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. **Lancet**, n. 365, n. 9466, p. 1231-1238, 2005.

MOHAMMAD IBRAHIM, W.H.; ALY, M.G.; ABDO, M.K.; ISMAIL, W. Primary membranous glomerulonephritis-associated with schistosomal nephropathy. **Indian J. Nephrol.**, v. 29, n. 2, p. 140-142, 2019.

MOKKAPATI, V.K.; SAM NIEDEBALA, R.; KARDOS, K.; PEREZ, R.J.; GUO, M.; TANKE, H.J.; CORSTJENS, P.L. Evaluation of UPLink-RSV: prototype rapid antigen test for detection of respiratory syncytial virus infection. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1098, p. 476-485, 2007.

MUKHI, D.; NISHAD, R.; MENON, R.K.; PASUPULATI, A.K. Novel Actions of Growth Hormone in Podocytes: Implications for Diabetic Nephropathy. **Front. Med. (Lausanne)**, v. 4, p. 102, 2017.

MUTAPI, F.; MAIZELS, R.; FENWICK, A.; WOOLHOUSE, M. Human schistosomiasis in the post mass drug administration era. **Lancet Infect. Dis.**, v. 17, n. 2, p. e42-e48, 2017.

MUTAPI, F.; RUJENI, N.; BOURKE, C.; MITCHELL, K.; APPLEBY, L.; NAUSCH, N.; MIDZI, N.; MDULUZA, T. *Schistosoma haematobium* treatment in 1-5 year old children: safety and efficacy of the antihelminthic drug praziquantel. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 5, p. e1143, 2011.

MWANGI, I.N.; AGOLA, E.L.; MUGAMBI, R.M.; SHIRAHU, E.A.; MKOJI, G.M. Development and Evaluation of a Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Diagnosis of *Schistosoma mansoni* Infection in Faecal Samples. **J. Parasitol. Res.**, v. 2018,

p. 1267826, 2018.

NAMWANJE, H.; KABATEREINE, N.B.; OLSEN, A. The acceptability and safety of praziquantel alone and in combination with mebendazole in the treatment of *Schistosoma mansoni* and soil-transmitted helminthiasis in children aged 1–4 years in Uganda.

Parasitology, v. 138, p. 1586-1592, 2011.

NASH, T.E. Localization of the circulating antigen within the gut of *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 23, p. 1085- 1087, 1974.

NASH, T.E.; NASIR, U.D.; JEANLOZ, R.W. Further purification and characterization of a circulating antigen in schistosomiasis. **J. Immunol.**, v. 119, p. 1627- 1633, 1977.

NASH, T.E.; PRESCOTT, B.; NEVA, F.A. The characteristics of a circulating antigen in schistosomiasis. **J. Immunol.**, v. 112, p. 1500 -1507, 1974.

NAUSCH, N.; DAWSON, E.M.; MIDZI, N.; MDULUZA, T.; MUTAPI, F.; DOENHOFF, M. J. Field evaluation of a new antibody-based diagnostic for *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* at the point-of-care in northeast Zimbabwe. **BMC Infect. Dis.**, v. 14, p. 165, 2014.

NEUFELD, G.; COHEN, T.; GENGRINOVITCH, S.; POLTORAK, Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. **FASEB J.**, v. 13, n. 1, p. 9-22, 1999.

NIEDEBALA, R.S.; FEINDT, H.; KARDOS, K.; VAIL, T.; BURTON, J.; BIELSKA, B.; LI, S.; MILUNIC, D.; BOURDELLE, P.; VALLEJO, R. Detection of analytes by immunoassay using up-converting phosphor technology. **Anal. Biochem.**, v. 293, n. 1, p. 22-30, 2001.

NJIRU, Z.K. Loop-mediated isothermal amplification technology: towards point of care diagnostics. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 6, p. e1572, 2012.

NOTOMI, T.; OKAYAMA, H.; MASUBUCHI, H.; YONEKAWA, T.; WATANABE, K.; AMINO, N., HASE T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. **Nucleic Acids Res.**, v. 28, n. 12, p. E63, 2000.

NOYA, O.; ALARCÓN DE NOYA, B.; GUZMÁN, F.; BERMÚDEZ, H.. Immunogenicity of Sm32 synthetic peptides derived from the *Schistosoma mansoni* adult worm. **Immunol. Lett.**, v. 88, n. 3, p. 211-219, 2003.

NOYA, O.; DE NOYA, B.A.; BALLEEN, D.E.; BERMÚDEZ, H.; BOUT, D.; HOEBEKE, J. Immunogenicity of synthetic proteins from the Sm31 antigen (cathepsin B) of the *Schistosoma mansoni* adult worms. **Parasite Immunol.**, v. 23, n. 11, p. 567-573, 2001.

NUSSENZVEIG, I.; DE BRITO, T.; CARNEIRO, C.R.; SILVA, A.M. Human Schistosomamansoni-associated glomerulopathy in Brazil. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 17, n. 1, p. 4-7, 2002.

OBENG, B.B.; ARYEETAY, Y.A.; DE DOOD, C.J.; AMOAH, A.S.; LARBI, I.A.; DEELDER, A.M.; YAZDANBAKSHI, M.; HARTGERS, F.C.; BOAKYE, D.A.; VERWEIJ, J.J.; VAN DAM, G.J.; VAN LIESHOUT, L. Application of a circulating-cathodic-antigen (CCA) strip test and real-time PCR, in comparison with microscopy, for the detection of *Schistosoma haematobium* in urine samples from Ghana. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 102,

n. 7, p. 625–633, 2008.

OKABE, K.; TANAKA, T. A new urine precipitation reaction for schistosomiasis japonica, a preliminary report. **Karame Med. J.**, v. 5, p. 45-52, 1958.

OLIVEIRA, L.M.; SANTOS, H.L.; GONÇALVES, M.M.; BARRETO, M.G.; PERALTA, J.M. Evaluation of polymerase chain reaction as an additional tool for the diagnosis of low-intensity *Schistosoma mansoni* infection. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 68, n. 4, p. 416-421, 2010.

OLIVEIRA, M.J.C.; SILVA, G.B.Jr.; SAMPAIO, A.M.; MONTENEGRO, B.L.; ALVES, M.P.; HENN, G.A.; ROCHA, H.A.; MENESES, G.C.; MARTINS, A.M.; DAHER, E.F. Preliminary Study on Tubuloglomerular Dysfunction and Evidence of Renal Inflammation in Patients with Visceral Leishmaniasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 91, n. 5, p. 908–911, 2014.

PALIPOCH, S. A review of oxidative stress in acute kidney injury: protective role of medicinal plants-derived antioxidants. **Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.**, v. 10, n. 4, p. 88-93, 2013.

PARIKH, C.R.; MANSOUR, S.G. Perspective on Clinical Application of Biomarkers in AKI. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 28, n. 6, p. 1677-1685, 2017.

PARIKH, C.R.; THIESSEN-PHILBROOK, H.; GARG, A.X.; KADIYALA, D.; SHLIPAK, M.G.; KOYNER, J.L.; EDELSTEIN, C.L.; DEVARAJAN, P.; PATEL, U.D.; ZAPPITELLI, M.; KRAWCZESKI, C.D.; PASSIK, C.S.; COCA, S.G.; TRIBE-AKI CONSORTIUM. Performance of kidney injury molecule-1 and liver fatty acid-binding protein and combined biomarkers of aki after cardiac surgery. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 8, n. 7, p. 1079-1088, 2013.

PECE - Programa Especial de Controle da Esquistossomose no Brasil. Brasília: Conselho de Desenvolvimento Social; 1976. 41p.

PERES, L.A.; CUNHA JUNIOR, A.D.; SCHAFFER, A.J.; SILVA, A.L.; GASPAR, A.D.; SCARPARI, D.F.; ALVES, J.B.; GIRELLI NETO, R.; OLIVEIRA, T.F. Biomarkers of acute kidney injury. **J. Bras. Nefrol.**, v. 35, n. 3, p. 229-236, 2013.

PINHEIRO, M.C.C.; CARNEIRO, T.R.; HANEMANN, A.L.P.; OLIVEIRA, S.M.; BEZERRA, F.S.M. The combination of three faecal parasitological methods to improve the diagnosis of schistosomiasis mansoni in a low endemic setting in the state of Ceará, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 873-876, 2012.

POLKINGHONE, K.R. Detection and measurement of urinary protein. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v. 15, p. 625-630, 2006.

POLMAN, K.; STELMA, F.F.; GRYSEELS, B.; VAN DAM, G.J.; TALLA, I.; NIANG, M.; VAN LIESHOUT, L.; DEELDER, A.M. Epidemiologic application of circulating antigen detection in a recent *Schistosoma mansoni* focus in northern Senegal. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, p. 152-157, 1995.

PONTES, L.A.; DIAS-NETO, E; RABELO, A. Detection by polymerase chain reaction of

Schistosoma mansoni DNA in human sérum and feces. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 66, n. 2, p. 157-162, 2002.

PONTES, L.A.; OLIVEIRA, M.C.; KATZ, N.; DIAS-NETO, E.; RABELLO, A. Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 68, p. 652-656, 2003.

PONTES, R.J.S.; NATIONS, M.K.; ARDO, C.C.P.; FERNANDES, M.D.D.; LIMA, M.T.; SOUSA, S.P.; SILVA, R.S.; FERNANDES, S.M. D. Esquistossomose no Estado do Ceará (Parte II): Evolução dos Indicadores Epidemiológicos, 1977 – 1994. **Rev. Med. UFC**, v. 39, n. 1-2, p. 37-53, 1999.

QU, Q.; ZHU, Z.; WANG, Y.; ZHONG, Z.; ZHAO, J.; QIAO, F.; DU, X.; WANG, Z.; YANG, R.; HUANG, L.; YU, Y.; ZHOU, L.; CHEN, Z. Rapid and quantitative detection of *Brucella* by up-converting phosphor technology-based lateral-flow assay. **J. Microbiol. Methods**, v. 79, n. 1, p. 121-123, 2009.

RABELLO, A.; PONTES, L.A.; ENK, M.; MONTENEGRO, S.M.; MORAIS, C.N.L.; Diagnostico parasitológico, imunológico e molecular da esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z; LENZI H. ***Schistosoma mansoni* & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008. p. 897-925.

REINHARD-RUPP, J.; KLOHE, K. Developing a comprehensive response for treatment of children under 6 years of age with schistosomiasis: research and development of a pediatric formulation of praziquantel. **Infect. Dis. Poverty**, v. 6, n. 1, p. 122, 2017.

RODRIGUES, V.L.; OTONI, A.; VOIETA, I.; ANTUNES, C.M. LAMBERTUCCI JR. Glomerulonephritis in schistosomiasis mansoni: a time to reappraise. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 43, n. 6, p. 638-642, 2010.

ROLLINSON, D.; KNOPP, S.; LEVITZ, S.; STOTHARD, J.R.; TCHUEM TCHUENTE, L. A.; GARBA, A.; MOHAMMED, K.A.; SCHUR, N.; PERSON, B.; COLLEY, D.G.; UTZINGER, J. Time to set the agenda for schistosomiasis elimination. **Acta Trop.**, v. 128, n. 2, p. 423-440, 2013.

RONCO, C.; RIZO-TOPETE, L.; SERRANO-SOTO, M.; KASHANI, K. Pro: Prevention of acute kidney injury: time for teamwork and new biomarkers. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 32, n. 3, p. 408–413, 2017.

ROSS, A.G.; BARTLEY, P.B.; SLEIGH, A.C.; OLDS, G.R.; LI, Y.; WILLIAMS, G.M.; MCMANUS, D.P. Schistosomiasis. **N. Engl. J. Med.**, v. 346, p. 1212-1220, 2002.

ROSS, A.G.; CHAU, T.N.; INOBAYA, M.T.; OLVEDA, R.M.; LI, Y.; HARN, D.A. A new global strategy for the elimination of schistosomiasis. **Int. J. Infect. Dis.**, v. 54, p. 130-137, 2017.

ROVIN, B.H.; DOE, N.; TAN, L.C. Monocyte chemoattractant protein-1 levels in patients with glomerular disease. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 27, n. 5, p. 640-646, 1996.

RUDNICKI, M.; PERCO, P.; ENRICH, J.; EDER, S.; HEININGER, D.; BERNTHALER, A.;

- WIESINGER, M.; SARKÖZI, R.; NOPPERT, S.J.; SCHRAMEK, H.; MAYER, B.; OBERBAUER, R.; MAYER, G. Hypoxia response and VEGF-A expression in human proximal tubular epithelial cells in stable and progressive renal disease. **Lab. Invest.**, v. 89, p. 337–346, 2009.
- SABAH, A.A.; FLETCHER, C.; WEBBE, G.; DOENHOFF, M.J. *Schistosoma mansoni*: reduced efficacy of chemotherapy in infected T-cell-deprived mice. **Exp. Parasitol.**, v. 60, n. 3, p. 348-354, 1985.
- SABAH, A.A.; FLETCHER, C.; WEBBE, G.; DOENHOFF, M.J. *Schistosoma mansoni*: chemotherapy of infections of different ages. **Exp. Parasitol.**, v. 61, n. 3, p. 294-303, 1986.
- SANDOVAL, N.; SILES-LUCAS, M.; LOPEZ ABAN, J.; PEREZ-ARELLANO, J.L.; GARATE, T.; MURO, A. *Schistosoma mansoni*: a diagnostic approach to detect acute schistosomiasis infection in a murine model by PCR. **Exp. Parasitol.**, v. 114, n. 2, p. 84-88, 2006a.
- SANDOVAL, N.; SILES-LUCAS, M.; PÉREZ-ARELLANO, J.L.; CARRANZA, C.; PUENTE, S.; LÓPEZ-ABÁN, J. A new PCR-based approach for the specific amplification of DNA from different *Schistosoma* species applicable to human urine samples. **Parasitology**, v. 133, pt. 5, p. 581-587, 2006b.
- SANTORO, F.; BOROJEVIC, R.; BOUT, D.; TACHON, P.; BINA, J.C.; CAPRON, A. Mother-child relationship in human schistosomiasis mansoni. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 26, p. 1164- 1168, 1977.
- SANTOS, M.M.A. G.; GARCIA, T.C.; ORSINI, M.; DISCH, J.; KATZ, N.; RABELLO, A. Oral fluids for the immunodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infection. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 94, p. 289-292, 2000.
- SCHELL, C.; HUBER, T.B. The Evolving Complexity of the Podocyte Cytoskeleton. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 28, n. 11, p. 3166-3174, 2017.
- SCHERRER, A.U.; SJÖBERG, M.K.; ALLANGBA, A.; TRAORÉ, M.; LOHOURIGNON, L.K.; TSCHANNEN, A.B.; N'GORAN, E.K.; UTZINGER, J. Sequential analysis of helminth egg output in human stool samples following albendazole and praziquantel administration. **Acta Trop.**, v. 109, n. 3, p. 226-231, 2009.
- SCHWARZ, N.G.; RAKOTOZANDRINDRAINY, R.; HERINIAINA, J.N.; RANDRIAMAMPIONONA, N.; HAHN, A.; HOGAN, B.; FRICKMANN, H.; DEKKER, D.; POPPERT, S.; RAZAFINDRABE, T.; RAKOTONDRAINARIVELO, J.P.; MAY, J.; HAGEN, R.M. *Schistosoma mansoni* in schoolchildren in a Madagascan highland school assessed by PCR and sedimentation microscopy and Bayesian estimation of sensitivities and specificities. **Acta Trop.**, v. 134, p. 89-94, 2014.
- SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DO CEARÁ (SESA-CE). Coordenadoria de Promoção e Proteção a Saúde - COPROM. Núcleo de Controle de Vetores – NUVET. **Boletim Epidemiológico – Esquistossomose**. Fortaleza: SESA-CE, 2016. Disponível em: <<http://www.saude.ce.gov.br/index.php/boletins>>; Acesso em: 20 dez. 2016.

SHOUKRY, A.; BDEER, S.E.A.; EL-SOKKARY, R.H. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 and vitamin D-binding protein as biomarkers for early detection of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 408, n. 1-2, p. 25-35, 2015.

SHULMAN, K.; ROSEN, S.; TOGNAZZI, K.; MANSEAU, E.; BROWN, L. Expression of vascular permeability factor (VPF/VEGF) is altered in many glomerular diseases. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.7, n. 5, p. 661-666, 1996.

SIMON, M.; GRONE, H.J.; JOHREN, O.; KULLMER, J.; PLATE, K.H.; RISAU, W.; FUCHS, E. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in human renal ontogenesis and in adult kidney. **Am. J. Physiol.**, v. 268, p. F240-F250, 1995.

SIMON, M.; ROCKL, W.; HORNIG, C.; GRONE, E.F.; THEIS, H.; WEICH, H.A.; FUCHS, E.; YAYON, A.; GRÖNE, H.J. Receptors of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) in fetal and adult human kidney: localization and [125I]VEGF binding sites. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 9, n. 6, p.1032-1044, 1998.

SIQUEIRA, L.M.; COELHO, P.M.; OLIVEIRA, Á.A.; MASSARA, C.L.; CARNEIRO, N.F.; LIMA, AC, ENK, M.J. Evaluation of two coproscopic techniques for the diagnosis of schistosomiasis in a low-transmission area in the state of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 7, p. 844-850, 2011.

SIQUEIRA, L.M.; COUTO, F.F.; TABOADA, D.; OLIVEIRA, Á.A.; CARNEIRO, N.F.; OLIVEIRA, E.; COELHO, P.M.; KATZ, N. Performance of POC-CCA[®] in diagnosis of schistosomiasis mansoni in individuals with low parasite burden. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 49, n. 3, p. 341-347, 2016.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; RAMOS JÚNIOR, A.N.; FARIA, E.C.; *ET AL.* Esquistossomose mansoni em sua forma crônica. Aspectos clínicos. **Rev. Bras. Med.**, v. 54, p. 835-839, 1997.

SOBH, M.A.; MOUSTAFA, F.E.; EL HOUSSEINI, F.; BASTA, M.T.; DEELDER, A.M.; GHONEIM, M.A. Schistosomal specific nephropathy leading to end-stage renal failure. **Kidney Int.**, v. 31, n. 4, p. 1006 -1011, 1987.

SOBH, M.; MOUSTAFA, F.; RAMZY, R.; SAAD, M.; DEELDER, A.; GHONEIM, M. Schistosoma mansoni nephropathy in Syrian golden hamsters: effect of dose and duration of infection. **Nephron**, v. 59, n. 1, p. 121-130, 1991.

SOBH, M. A.; MOUSTAFA, F. E.; SALLY, S. M.; DEELDER, A. M.; GHONIEM, M. A. Characterisation of kidney lesions in early schistosomal-specific nephropathy. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 3, n. 4, p. 392-398, 1988.

SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; DAY, M.; BETSON, M.; KABATEREINE, N.B.; STOTHARD, J.R. An inclusive dose pole for treatment of schistosomiasis in infants and preschool children with praziquantel. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 104, p. 740-742, 2010a.

SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; PLEASANT, J.; DAY, M.; BETSON, M.; ROLLINSON, D.; MONTRESOR, A.; KAZIBWE, F.; KABATEREINE, N.B.; STOTHARD, J.R. Treatment of intestinal schistosomiasis in Ugandan preschool children: best diagnosis, treatment efficacy and side-effects, and an extended praziquantel dosing pole. **Int. Health**, v. 2, p. 103-113,

2010b.

STANGO, M.; ALEXOPOULOS, E.; PAPAGIANNI, A.; PANTZAKI, A.; BANTIS, C.; DOVAS, S.; ECONOMIDOU, D.; LEONTSINI, M.; MEMMOS, D. Urinary levels of epidermal growth factor, interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 may act as predictor markers of renal function outcome in immunoglobulin A nephropathy. **Nephrology (Carlton)**, v. 14, n. 6, p. 613-620, 2009.

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

STEK, M.J.R.; COULIS, P.A.; BOCTOR, F.N.; PELLE, R.P.; Reactivity of anti-MSA-1 monoclonal antibody with schistosomal and non-schistosomal antigenic extracts. **Lancet**, v. 2, n. 8348, p. 522-523, 1983.

STEVENS, L.A.; LEVEY, A.S. Measurement of kidney function. **Med. Clin. North Am.**, v. 89, n. 3, p. 457-473, 2005.

STOTHARD, J.R.; SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; BETSON, M.; BUSTINDUY, A.; REINHARD-RUPP, J. Schistosomiasis in African infants and preschool children: let them now be treated! **Trends Parasitol.**, 29: 197–205, 2013b.

STOTHARD, J.R.; SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; NAVARATNAM, A.M. Advocacy, policies and practicalities of preventive chemotherapy campaigns for African children with schistosomiasis. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.**, v. 11, n. 7, p. 733-752, 2013a.

STOTHARD, J.R.; SOUSA-FIGUEIREDO, J.C.; BETSON, M.; GREEN, H.K.; SETO, E.Y.; GARBA, A.; SACKO, M.; MUTAPI, F.; VAZ NERY, S.; AMIN, M.A.; MUTUMBA-NAKALEMBE, M.; NAVARATNAM, A.; FENWICK, A.; KABATEREINE, N.B.; GABRIELLI, A.F.; MONTRESOR, A. Closing the praziquantel treatment gap: new steps in epidemiological monitoring and control of schistosomiasis in African infants and preschool-aged children. **Parasitology**, v. 138, n. 12, p. 1593-1606, 2011.

SUBRUNGRUANG, I.; MUNGTHIN, M.; CHAVALITSEWINKOON- PETMITR, P.; RANGSIN, R.; NAAGLOR, T.; LEELAYOOVA, S. Evaluation of DNA extraction and PCR methods for detection of *Enterocytozoon bienuesi* in stool specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 3490–3494, 2004.

SULBARAN, G.S.; BALLEEN, D.E.; BERMUDEZ, H.; LORENZO, M.; NOYA, O.; CESARI, I.M. Detection of the Sm31 antigen in sera of *Schistosoma mansoni*- infected patients from a low endemic area. **Parasite Immunol.**, v. 32, n. 1, p. 20-28, 2010.

TARABRA, E.; GIUNTI, S.; BARUTTA, F.; SALVIDIO, G.; BURT, D.; DEFERRARI, G.; GAMBINO, R.; VERGOLA, D.; PINACH, S.; PERIN, P.C.; CAMUSSI, G.; GRUDEN, G. Effect of the Monocyte Chemoattractant Protein-1 / CC Chemokine Receptor 2 System on Nephryn Expression in. **Diabetes**, v. 58, n. 9, p. 2109–2118, 2009.

TEIXEIRA, C.F.; NEUHAUSS, E.; BEM, R.; ROMANZINI, J.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. Detection of *Schistosoma mansoni* Eggs in Feces through their Interaction with Paramagnetic beads in a Magnetic Fields. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, v. 1, n. 2, p. e73, 2007.

TEN HOVE, R.J.; VERWEIJ, J.J.; VEREECKEN, K.; POLMAN, K.; DIEYE, L.; VAN LIESHOUT, L. Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection in stool samples collected in northern Senegal. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.102, p.179-185, 2008.

TESCH, G.H. MCP-1/CCL2: a new diagnostic marker and therapeutic target for progressive renal injury in diabetic nephropathy. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 294, n. 4, p. F697-F701, 2008.

TESCH, G.H. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective. **Nephrology (Carlton)**, v. 15, p. 609-16, 2010.

THOMAS, C.M.; TIMSON, D.J. The Mechanism of Action of Praziquantel: Six Hypotheses. **Curr. Top. Med. Chem.**, v. 18, n. 18, p. 1575-1584, 2018.

THOMAS, S.; VANUYSTEL, J.; GRUDEN, G.; RODRIGUEZ, V.; BURT, D.; GNUDI, L.; HARTLEY, B.; VIBERTI, G. Vascular endothelial growth factor receptors in human mesangium in vitro and in glomerular disease. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.11, n. 7, p.1236-1243, 2000.

TORRES, E.A.; ACOSTA, H.; CRUZ, M.; WEINSTOCK, J.; HILLYER, G.V. Seroprevalence of *Schistosoma mansoni* in Puerto Ricans with inflammatory bowel disease. **P. R. Health Sci. J.**, v. 20, n. 3, p. 211-214, 2001.

TRIMARCHI, H. Podocyturia: Potential applications and current limitations. **World J. Nephrol.**, v. 6, n. 5, p. 221-228, 2017.

TUFRO, A.; VERON, D. VEGF and podocytes in diabetic nephropathy. **Semin. Nephrol.**, v. 32, n. 4, p. 385-393, 2012.

TURNER, P.; LALLOO, K.; BLIGH, J.; ARMSTRONG, M.; WHITTY, C.J.; DOENHOFF, M.J.; CHIODINI, P.L.; Serological speciation of human schistosome infections by ELISA with a panel of three antigens. **J. Clin. Pathol.**, v. 57, n. 11, p. 1193-1196, 2004.

URBSCHAT, A.; OBERMÜLLER, N.; HAFERKAMP, A. Biomarkers of kidney injury. **Biomarkers**, v. 16, Suppl 1, p. S22-S30, 2011.

UTZINGER, J.; N'GORAN E, K.; CAFFREY, C.R.; KEISER, J. From innovation to application: social-ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. **Acta Trop.**, v. 120, n. 1, p. S121-S137, 2011.

UTZINGER, J.; BECKER, S.L.; VAN LIESHOUT, L.; VAN DAM, G.J.; KNOPP, S. New diagnostic tools in schistosomiasis. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 21, n. 6, p. 529-542, 2015.

VAIDYA, V.S.; FERGUSON, M.A; BONVENTRE, J.V. Biomarkers of acute kidney injury. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 48, p. 463-493, 2008.

VAN DAM, G.J.; DE DOOD, C.J.; LEWIS, M.; DEELDER, A.M.; VAN LIESHOUT, L.; TANKE, H.J.; VAN ROOYEN, L.H.; CORSTJENS, P.L. A robust dry reagent lateral flow assay for diagnosis of active schistosomiasis by detection of *Schistosoma* circulating anodic antigen. **Exp. Parasitol.**, v. 135, p. 274-282, 2013.

VAN DAM, G. J.; ODERMATT, P.; ACOSTA, L.; BERGQUIST, R.; DE DOOD, C. J.; KORNELIS, D.; MUTH, S.; UTZINGER, J.; CORSTJENS, P. L. Evaluation of banked urine samples for the detection of circulating anodic and cathodic antigens in *Schistosoma mekongi* and *S. japonicum* infections: A proof-of-concept study. **Acta Trop.**, v. 141, pt. B, p. 198-203, 2015a.

VAN DAM, G.J.; XU, J.; BERGQUIST, R.; DE DOOD, C.J.; UTZINGER, J.; QIN, Z.Q.; GUAN, W.; FENG, T.; YU, X.L.; ZHOU, J.; ZHENG, M.; ZHOU, X.N.; CORSTJENS, P.L. An ultra-sensitive assay targeting the circulating anodic antigen for the diagnosis of *Schistosoma japonicum* in a low-endemic area, People's Republic of China. **Acta Trop.**, v. 141, pt. B, p. 190-197, 2015b.

VAN DAM, G.J.; SEINO, J.; ROTMANS, J.P.; DAHA, M.R.; DEELDER, A.M. *Schistosoma mansoni* circulating anodic antigen but not circulating cathodic antigen interacts with complement component C1q. **Eur. J. Immunol.**, v. 23, n. 11, p. 2807-2812, 1993.

VAN DAM, G.J.; BERGWERFF, A.A.; THOMAS-OATES, J.E.; ROTMANS, J.P.; KAMERLING, J.P.; Vliegenthart, J.F.G.; DEELDER, A.M. The immunologically reactive O-linked polysaccharide chains derived from Circulating Cathodic Antigen isolated from the human blood fluke *Schistosoma mansoni* have Lewis x as repeating unit. **Eur. J. Biochem.**, v. 225, p. 467-482, 1994.

VAN DAM, G.J.; BOGITSH, B.J.; VAN ZEYL, R.J.; ROTMANS, J.P.; DEELDER, A.M. *Schistosoma mansoni*: in vitro and in vivo excretion of CAA and CCA by developing schistosomula and adult worms. **J. Parasitol.**, v. 82, p. 557-564, 1996c.

VAN DAM, G.J.; CLAAS, F.H.; YAZDANBAKHSH, M.; KRUIZE, Y.C.; VAN KEULEN, A.C.; FERREIRA, S.T.; ROTMANS, J.P.; DEELDER, A.M. *Schistosoma mansoni* excretory circulating cathodic antigen shares Lewis-x epitopes with a human granulocyte surface antigen and evokes host antibodies mediating complement-dependent lysis of granulocytes. **Blood**, v. 88, p. 4246-4251, 1996a.

VAN DAM, G.J.; STELMA, F.F.; GRYSEELS, B.; FALCAO FERREIRA, S.T.; TALLA, I.; NIANG, M.; ROTMANS, J.P.; DEELDER, A.M. Antibody response patterns against *Schistosoma mansoni* in a recently exposed community in Senegal. **J. Infect. Dis.**, v. 173, p. 1232-1241, 1996b.

VAN DAM, G.J.; WICHERS, J.H.; FALCAO FERREIRA, T.M.; GHATI, D.; VAN AMERONGEN, A.; DEELDER, A.M. Diagnosis of schistosomiasis by reagent strip test for detection of circulating cathodic antigen. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 5458-5461, 2004.

VAN DE RIJKE, F.; ZIJLMANS, H.; LI, S.; VAIL, T.; RAAP, A.K.; NIEDBALA, R.S.; TANKE, H.J. Up-converting phosphor reporters for nucleic acid microarrays. **Nat. Biotechnol.**, v. 19, n. 3, p. 273-276, 2001.

VAN LIESHOUT, L. **Detection of the circulating antigens CAA and CCA in human *Schistosoma* infections:** immunodiagnostic and epidemiological applications. Thesis (Doctor) - Rijksuniversiteit te Leiden, 1996. p. 11-16.

VAN LIESHOUT, L.; DE JONGE, N.; BASSILY, S.; MANSOUR, M.M.; DEELDER, A.M. Assessment of cure in schistosomiasis patients after chemotherapy with praziquantel by quantitation of circulating anodic antigen (CAA) in urine. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 44, n. 3, p. 323-328, 1991.

VAN LIESHOUT, L.; PANDAY, U.G.; DE JONGE, N.; KRIJGER, F.W.; OOSTBURG, B.F.; POLDERMAN, A.M.; DEELDER, A.M. Immunodiagnosis of schistosomiasis mansoni in a low endemic area in Surinam by determination of the circulating antigens CAA and CCA. **Acta Trop.**, v. 59, p. 19-29, 1995b.

VAN LIESHOUT, L.; POLDERMAN, A.M.; DE VLAS, S.J.; DE CALUWÉ, P.; KRIJGER, F.W.; GRYSEELS, B.; DEELDER, A.M. Analysis of worm burden variation in human *Schistosoma mansoni* infections by determination of serum levels of circulating anodic antigen and circulating cathodic antigen. **J. Infect. Dis.**, v. 172, p. 1336-1342, 1995a.

VAN LIESHOUT, L.; POLDERMAN, A.M.; VISSER, L.G.; VERWEY, J.J.; DEELDER, A.M. Detection of the circulating antigens CAA and CCA in a group of Dutch travellers with acute schistosomiasis. **Trop. Med. Int. Health**, v. 2, p. 551-557, 1997.

VAN LIESHOUT, L.; POLDERMAN, A.M.; DEELDER, A.M. Immunodiagnosis of schistosomiasis by determination of the circulating antigens CAA and CCA, in particular in individuals with recent or light infections. **Acta Trop.**, v. 77, p. 69-80, 2000.

VAN MARCK, E.A.; DEELDER, A.M.; GIGASE, P.L. Effect of parcial vein ligation on immune glomerular deposits in *Schistosomamansoni* infected mice. **Br. J. Exp. Pathol.**, v. 58, n. 4, p. 412-417, 1977.

VAN'T WOUT, A.B.; DE JONGE, N.; TIU W.; GARICIA, E.E.; MITCHELL, G.F.; DEELDER, A.M. Schistosome circulating anodic antigen in serum of individuals infected with *Schistosoma japonicum* from the Philippines before and after chemotherapy with praziquantel. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 86, n. 4, p. 410-413, 1992.

VIDIGAL, P.G. Investigação laboratorial do paciente com disfunção renal. In: ERICHSEN, E.; VIANA, L.G.; FARIA, R.M.D.; Santos, S.M.E. **Medicina Laboratorial para o Clínico**. Belo Horizonte: Coopmed, 2009. p. 439-468.

VIEDT, C.; ORTH, S.R. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the kidney: does it more than simply attract monocytes? **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 17, n. 12, p. 2043-2047, 2002.

VINKELES MELCHERS, N.V.; VAN DAM, G.J.; SHAPROSKI, D.; KAHAMA, A.I.; BRIENEN, E.A.; VENNERVALD, B.J.; VAN LIESHOUT, L. Diagnostic performance of *Schistosoma* real-time PCR in urine samples from Kenyan children infected with *Schistosoma haematobium*: day-to-day variation and follow-up after praziquantel treatment. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 8, n. 4, p. e2807, 2014.

VONGHACHACK, Y.; SAYASONE, S.; KHIEU, V.; BERGQUIST, R.; VAN DAM, G.J.; HOEKSTRA, P.T.; CORSTJENS, P.L.A.M.; NICKEL, B.; MARTI, H.; UTZINGER, J.; MUTH, S.; ODERMATT, P. Comparison of novel and standard diagnostic tools for the detection of *Schistosoma mekongi* infection in Lao People's Democratic Republic and Cambodia. **Infect. Dis. Poverty**, v. 6, n. 1, p. 127, 2017.

WADA, T.; FURUICHI, K.; SAKAI, N.; IWATA, Y.; YOSHIMOTO, K.; SHIMIZU, M.; TAKEDA, S.I.; TAKASAWA, K.; YOSHIMURA, M.; KIDA, H.; KOBAYASHI, K.I.; MUKAIDA, N.; NAITO, T.; MATSUSHIMA, K.; YOKOYAMA, H. Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. **Kidney Int.**, v. 58, n. 4, p. 1492–1499, 2000.

WAIKAR, S.S.; SABBISSETTI, V.S.; BONVENTRE, J.V. Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. **Kidney Int.**, v. 78, n. 5, p. 486-494, 2010.

WANG, Z.J.; XUE, C.L.; LOU, W.X.; ZHANG, X.Y.; ZHANG, E.Y.; WU, W.D.; SHEN, G.J. Non-invasive immunodiagnosis of Schistosomiasis japonica: the detection of specific antibodies in saliva. **Chin. Med. J.**, v. 115, p. 1460-1464, 2002.

WANG, C.; CHEN, L.; YIN, X.; HUA, W.; HOU, M.; JI, M.; YU, C.; WU, G. Application of DNA-based diagnostics in detection of schistosomal DNA in early infection and after drug treatment. **Parasit. Vectors**, v. 4, p. 164, 2011.

WASUNG, M.E.; CHAWLA, L.S.; MADERO, M. Biomarkers of renal function, which and when? **Clin. Chim. Acta**, v. 438, p. 350–357, 2015.

WEERAKOON, K.G.; GOBERT, G.N.; CAI, P.; MCMANUS, D.P. Advances in the diagnosis of human schistosomiasis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 28, n. 4, p. 939-967, 2015.

WICHMANN, D.; PANNING, M.; QUACK, T.; KRAMME, S.; BURCHARD, G.D.; GREVELDING, C.; DROSTEN, C. Diagnosing schistosomiasis by detection of cell-free parasite DNA in human plasma. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 3, n. 4, p. e422, 2009.

WICHMANN, D.; POPPERT, S.; VON THIEN, H.; CLERINX, J.; DIECKMANN, S.; JENSENIUS, M.; PAROLA, P.; RICHTER, J.; SCHUNK, M.; STICH, A.; ZANGER, P.; BURCHARD, G.D.; TANNICH, E. Prospective European-wide multicentre study on a blood based real-time PCR for the diagnosis of acute schistosomiasis. **BMC Infect. Dis.**, v. 13, p. 55, 2013.

WILSON, R.A.; VAN DAM, G.J.; KARIUKI, T.M.; FARAH, I.O.; DEELDER, A.M.; COULSON, P.S. The detection limits for estimates of infection intensity in schistosomiasis mansoni established by a study in non-human primates. **Int. J. Parasitol.**, v. 36, p. 1241-1244, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION . **Report of the WHO informal consultation on the use of praziquantel during pregnancy/lactation and albendazole/mebendazole in children under 24 months (WHO/CDS/CPE/PVC/2002.4)**. Geneva, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Preventive chemotherapy in human**

helminthiasis. **Coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers.** Geneva, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of a meeting to review the results of studies on the treatment of schistosomiasis in preschool-age children.** Geneva, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Schistosomiasis**, Fact Sheets. Geneva, 2018).
Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>>.
Acesso em: 18 dec. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Neglected tropical diseases.** 2019.
Disponível em: < http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/>. Acesso em: 23 jan. 2019.

WU, G. A historical perspective on the Immunodiagnosis of schistosomiasis in China. **Acta Trop.**, v. 82, p. 193-198, 2002.

XIAO, S.; BINGGUI, S.; CHOLLET, J.; TANNER, M. Tegumental changes in 21-day-old *Schistosoma mansoni* harboured in mice treated with artemether. **Acta Trop.**, v. 75, n. 3, p. 341–348, 2000.

XU, J.; FENG, T.; LIN, D.D.; WANG, Q.Z.; TANG, L.; WU, X.H.; GUO, J.G.; PEELING, R.W.; ZHOU, X.N. Performance of a dipstick dye immunoassay for rapid screening of *Schistosoma japonicum* infection in areas of low endemicity. **Parasit. Vectors**, v. 4, p. 87, 2011.

YAN, Z.; ZHOU, L.; ZHAO, Y.; WANG, J.; HUANG, L.; HU, K.; LIU, H.; WANG, H.; GUO, Z.; SONG, Y.; HUANG, H.; YANG, R. Rapid quantitative detection of *Yersinia pestis* by lateral-flow immunoassay and up-converting phosphor technology-based biosensor. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 119, n. 2, p. 656-663, 2006.

ZARLING, D.A.; ROSSI, M.J.; PEPPERS, N.A.; KANE, J.; FARIS, G.W.; DYER, M.J.; NG, S.Y.; SCHNEIDER, L.V. Up-converting reporters for biological and other assays using laser excitation techniques. **United States Patent** 5674698 A, 1997.

ZATZ, R.; ROMÃO, J.E.; NORONHA, I.L. Nephrology in Latin America, with special emphasis on Brazil. **Kidney Int.**, v. 83, p. 131-134, 2003.

ZHANG, G.; TANG, Y.; SHI, X.; GAO, R.; SUN, Y.; DU, W.; FU, Q. A chemiluminescence method to detect malondyaldehyde in plasm and urine. **Anal. Biochem.**, v. 443, p. 16-21, 2013.

ZHOU, Y.B.; ZHENG, H.M.; JIANG, Q.W. A diagnostic challenge for Schistosomiasis japonica in China: consequences on praziquantel-based morbidity control. **Parasit. Vectors**, v. 4, p. 194, 2011.

ZHU, X.Y.; CHADE, A.R.; RODRIGUEZ-PORCEL, M.; BENTLEY, M.D.; RITMAN, E.L.; LERMAN, A.; LERMAN, L.O. Cortical microvascular remodeling in the stenotic kidney: Role of increased oxidative stress. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 24, p. 1854–1859, 2004.

ZIJLMANS, H.J.M.A.A.; BONNET, J.; BURTON, J.; KARDOS, K.; VAIL, T.; NIEDBALA, R.S.; TANKE, H.J. Detection of cell and tissue surface antigens using up-converting phosphors: a new reporter technology. **Anal. Biochem.**, v. 267, p. 30-36, 1999.

ZOJA, C.; LIU, X.H.; DONADELLI, R.; ALBATE, M.; CORNA, D.; TURUBOLETTI, G.; VECHI, A.; DONG, Q.G.; ROLLINS, B.J.; BETANI, T.; REMUZZI, G. Renal expression of monocyte chemoattractant protein-1 in lúpus autoimmune mice. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 8, n. 5, p. 720-729, 1997.

ZUIDERWIJK, M.; TANKE, H.J.; NIEDBALA, S.R.; CORSTJENS, P.L.A.M. An amplification-free hybridization-based DNA assay to detect *Streptococcus pneumoniae* utilizing the up-converting phosphor technology. **Clin. Biochem.**, v. 36, n. 5, p. 401-403, 2003.

APÊNDICE

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa – **“Teste imunocromatográfico através da detecção do Antígeno Anódico Circulante para o diagnóstico de esquistossomose mansoni antes e após o tratamento em indivíduos de uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará”** – que tem por objetivo verificar a situação da Esquistossomose nos moradores da localidade de Bananeiras e avaliar um novo método diagnóstico, que usa urina e soro, para esta doença, bem como a função dos rins; Sua participação não é obrigatória, e a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento.

PROCEDIMENTOS: Se concordar em participar da pesquisa você terá que responder a um questionário com informações pessoais sobre a Esquistossomose e dados sobre a casa onde mora e sobre a renda da família. Serão realizadas coletas de sangue, fezes e urina após as entrevistas a fim de diagnosticar a doença.

RELAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS ROTINEIROS E COMO SÃO REALIZADOS: Entrevista não gravada (com informações pessoais e relativas à Esquistossomose); Coleta de 5,0 mL de sangue da veia do antebraço; As coletas serão realizadas nos postos de saúde pela equipe de pesquisa e equipamentos corretos, seguindo as normas estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

RISCOS: Com a retirada de sangue podem ocorrer dores, inchaço e aparecimento de manchas roxas no braço. Caso ocorram essas situações você receberá atendimento de primeiros socorros.

BENEFÍCIOS: A participação nesse estudo poderá levar à descoberta da Esquistossomose, antes mesmo dela aparecer. Assim, esse estudo ajudará o paciente a tratar a doença o mais cedo possível, diminuindo as chances da evolução da doença para as formas graves que atingem o fígado e o intestino, além de avaliar a função dos seus rins.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA As informações obtidas serão analisadas em conjunto pelos pesquisadores, não sendo divulgado o nome de nenhum paciente; Os dados e o material coletado serão utilizados somente para essa pesquisa.

DIREITO SOBRE OS RESULTADOS DA PESQUISA: Todos os participantes serão informados sobre os resultados da pesquisa.

DESPEAS E COMPENSAÇÕES: Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não haverá pagamento ao paciente para participar da pesquisa.

“Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é Mariana Silva Sousa que pode ser encontrada no telefone: (85) 8722-9986

“Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFC – Rua Cel. Nunes de Melo, 1127, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8344 – E-mail: comepe@ufc.br”

Caso você se sinta suficientemente informado a respeito das informações que leu ou que foram lidas para você sobre os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes e que sua participação é voluntária, que não há remuneração para participar do estudo e se você concordar em participar solicitamos que assine no espaço abaixo.

Assinatura do
paciente/representante legal

Data / /

Assinatura da testemunha

Data / /

Para casos de pacientes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Assinatura do responsável pelo
estudo

Data / /

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado pelo pesquisador Prof.º Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra como participante da pesquisa intitulada “Avaliação renal glomerular em pacientes infectados por *Schistosoma mansoni* antes e após o tratamento: uso de novos biomarcadores renais” Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

OBJETIVOS: pretendemos verificar a situação da Esquistossomose e avaliar a função dos rins dos moradores da localidade de Bananeiras.

PROCEDIMENTOS: Se concordar em participar da pesquisa você terá que responder um questionário com informações pessoais sobre a Esquistossomose e dados sobre a casa onde mora e sobre a renda da família e outro sobre presença de doenças, caso presente, uso de medicamentos e hábitos de vida. O tempo para responder o questionário será em média de 30 minutos. Durante as visitas à comunidade serão registradas fotografias que podem ser divulgadas em aulas ou material científico, mas com o impedimento da sua identificação. Serão realizadas coletas de fezes e urina após as entrevistas (não gravadas) a fim de diagnosticar a esquistossomose e alterações nos rins. Será realizado o acompanhamento dos participantes com a possibilidade de repetição das análises com coleta de fezes e urina 1, 2 e 3 anos após o tratamento. As coletas serão realizadas nos postos de saúde pela equipe de pesquisa e equipamentos corretos, seguindo as normas estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

BENEFÍCIOS: A participação nesse estudo poderá levar à descoberta da Esquistossomose, antes mesmo dela aparecer. Assim, esse estudo ajudará o paciente a tratar a doença o mais cedo possível, diminuindo as chances da evolução da doença para as formas graves que atingem o fígado e o intestino; também terá uma avaliação da função dos seus rins.

RISCOS E DESCONFORTOS: Este estudo apresenta risco mínimo, isto é, o mesmo risco existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler etc. Na entrega de amostras pode ocorrer o derramamento do material caso seja mal tampado. Para que isso seja evitado, recomenda-se ter atenção em fechar corretamente os frascos, podendo estes ser colocados de preferência em sacolas separadas. Alguns participantes podem sentir desconfortos em entregar esse tipo de material, principalmente fezes.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: As informações obtidas serão analisadas em conjunto pelos pesquisadores, não sendo divulgado o nome de nenhum paciente; Os dados e o material coletado serão utilizados somente para essa pesquisa.

DESPEAS E COMPENSAÇÕES: Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não haverá pagamento ao paciente para participar da pesquisa.

DIREITO SOBRE OS RESULTADOS DA PESQUISA: Todos os participantes serão informados sobre os resultados da pesquisa.

A qualquer momento o participante poderá recusar a continuar participando da pesquisa e também poderá retirar o seu consentimento, sem que isso lhe traga qualquer prejuízo. Garantimos que as informações conseguidas através da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto aos responsáveis pela pesquisa, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto. A qualquer momento o participante poderá ter acesso a informações referentes à pesquisa pelos telefones/endereço dos pesquisadores.

Endereço d(os, as) responsável(is) pela pesquisa:

Nome: Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Endereço: Rua pastor Samuel Munguba, 1210. Rodolfo Teófilo.

Telefones para contato: (85)3366-8242

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8346/44. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

O abaixo assinado _____, ____ anos, RG: _____, declara que é de livre e espontânea vontade que está como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Fortaleza, ____/____/____

Nome do participante da pesquisa

Data

Assinatura

Nome do pesquisador principal	Data	Assinatura
-------------------------------	------	------------

Nome do Responsável legal/testemunha (se aplicável)	Data	Assinatura
--------------------------------------------------------	------	------------

Nome do profissional que aplicou o TCLE	Data	Assinatura
--------------------------------------------	------	------------

APÊNDICE B – TERMO DE ASSENTIMENTO DO MENOR

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **“Teste imunocromatográfico através da detecção do Antígeno Anódico Circulante para o diagnóstico de esquistossomose mansoni antes e após o tratamento em indivíduos de uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará”**. Seus pais permitiram que você participe. Queremos saber situação da Esquistossomose, doença transmitida por um caramujo que existe no rio da localidade de Bananeiras, bem como avaliar a função dos rins.

Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu não terá nenhum problema se desistir.

Se você concordar em participar da pesquisa, irá responder, com a ajuda dos seus pais, perguntas sobre a Esquistossomose e dados sobre a casa onde moram e sobre a renda da família. Você terá que realizar uma coleta de sangue após as entrevistas e entregar fezes e urina para que se faça exames nesses materiais também, para poder fazer o exame e ver se está doente ou não.

Com a retirada de sangue podem ocorrer um pouco de dor, devido à picada da agulha, inchaço e aparecimento de manchas roxas no braço, que passam logo.

Mas há coisas boas que podem acontecer como descobrir a doença antes mesmo dela aparecer. Assim, esse estudo ajudará a tratar a doença o mais cedo possível, diminuindo as chances de desenvolver a doença, além de avaliar a função dos seus rins.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar ou perguntar à pesquisadora Mariana Silva Sousa. Eu escrevi os telefones na parte de baixo desse texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa **“Teste imunocromatográfico através da detecção do Antígeno Anódico Circulante para o diagnóstico de esquistossomose mansoni antes e após o tratamento em indivíduos de uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará”**, que tem o objetivo saber situação da Esquistossomose nos moradores da localidade onde eu moro e avaliar um novo teste diagnóstico para essa doença utilizando urina e soro, bem como a função dos rins. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar furioso. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

“Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é Mariana Silva Sousa que pode ser encontrada no telefone: (85) 8722-9986.”

“Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFC – Rua Cel. Nunes de Melo,1127, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8344 – E-mail: comepe@ufc.br”

Capistrano, ____ de _____ de _____.

Assinatura do menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

TERMO DE ASSENTIMENTO (no caso do menor)

Você está sendo convidado(a) como participante da pesquisa: **“Avaliação renal glomerular em pacientes infectados por *Schistosoma mansoni* antes e após o tratamento: uso de novos biomarcadores renais”** do pesquisador Prof.º Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra.

Nesse estudo pretendemos saber a situação da Esquistossomose, doença transmitida por um caramujo que existe no rio da localidade de Bananeiras e avaliar a função dos rins dos moradores.

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é que pouco se avalia a função dos rins em indivíduos com esquistossomose e a área historicamente tem muitos casos dessa doença que ainda causa mortes no país.

Para este estudo adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): Se você concordar em participar da pesquisa, irá responder, com a ajuda dos seus pais, perguntas sobre a Esquistossomose e dados sobre a casa onde moram, renda da família, doenças que possui, uso de medicamentos e hábitos de vida. Você terá que entregar fezes e urina para que se façam exames nesses materiais, e ver se está doente ou não.

Na entrega das fezes e urina pode ocorrer o derramamento do material caso seja mal tampado. Para que isso seja evitado, tenha atenção em fechar corretamente os frascos, colocando de preferência em sacolas separadas. Alguns podem sentir desconfortos em entregar esse tipo de material, principalmente fezes.

Mas há coisas boas que podem acontecer como descobrir a doença antes mesmo dela aparecer. Assim, esse estudo ajudará a tratar a doença o mais cedo possível, diminuindo as chances da evolução da doença para as formas graves que atingem o fígado e o intestino; também terá uma avaliação da função dos seus rins.

Para participar deste estudo, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo

pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação. Este estudo apresenta risco mínimo, isto é, o mesmo risco existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler etc. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar ou perguntar ao pesquisador Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra. Eu escrevi os telefones na parte de baixo desse texto.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos e, após esse tempo, serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você.

Eu, _____, portador(a) do documento de Identidade _____ (se já tiver documento), fui informado(a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar, se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma via deste Termo de Assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Fortaleza, ____ de _____ de 20____.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador principal

Assinatura

Endereço d(os, as) responsável (is) pela pesquisa:

Nome: Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Endereço: Rua pastor Samuel Munguba, 1210. Rodolfo Teófilo.

Telefones para contato: (85)3366-8242

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO SOCIOAMBIENTAL

N°

_____, ____/____/____

1. DADOS SOCIO-DEMOGRÁFICOS

Peso _____ kg; Altura _____ ; Cinc. Abd: _____ cm; P.A. _____.

1.1. IDADE _____ anos

1.2.

Sexo	Masculino	Feminino
	1	2

1.3.

Estado civil	solteiro(a)	casado(a)	divorciado(a)	viúvo(a)	outros
	1	2	3	4	5

Escolaridade	analfabeto(a)	fundamental incompleto	fundamental completo	médio incompleto	médio completo	superior incompleto	superior completo
	1	2	3	4	5	6	7

1.4. NATURALIDADE: _____ UF _____

1.5.

Zona	Urbana	Rural
	1	2

Área endêmica	Sim	Não
	1	2

2. SITUAÇÃO FINANCEIRA

2.1. PROFISSÃO _____

2.1.1. LUGAR ONDE EXERCE A PROFISSÃO:

Zona	Urbana	Rural
	1	2

2.2.

Chefe da família?	Sim	Não
	1	2

2.2.1. SE NÃO, QUAL O A PROFISSÃO DO CHEFE DA FAMÍLIA? _____

2.2.2. LUGAR ONDE EXERCE A PROFISSÃO:

Zona	Urbana	Rural
	1	2

2.3. PRINCIPAL RESPONSÁVEL PELO SUSTENTO FAMILIAR:

Pais e filhos	Pai	Mãe	Filho	Aposentado	O próprio	Outro
1	2	3	4	5	6	7

2.3.1 SE OUTRO, QUEM? _____

2.4.

Renda Familiar em Salários Mínimos	Menos de 1	Entre 1 e 3	Entre 3 e 5	Mais de 5
	1	2	3	4

2.5.

Ajuda do governo?	Sim	Não
	1	2

2.5.1. SE SIM, QUAL? _____

3. MORADIA

3.1.

Situação da moradia	Própria	Própria em pagamento	Cedida	Alugada	Invadida
	1	2	3	4	5

3.2. NÚMERO DE HABITANTES: _____

3.3. NÚMERO DE CÔMODOS : _____

3.4. NÚMEROS DE BANHEIROS: _____

3.5.

Tipo de construção	Alvenaria	Madeira	Taipa	Mista	Outro
	1	2	3	4	5

3.6.

Tipo de telhado	Telha	Palha	Lona	Zinco	Mista com palha	Mista sem palha	Outro
	1	2	3	4	5	6	7

4. CONDIÇÕES SANITÁRIAS

4.1.

Esgotamento Sanitário	Rede pública	Rua	Canal	Fossa vedada	Fossa não vedada
	1	2	3	4	5

4.2.

Destino do lixo	Coleta pública	Queima	Rio	Céu aberto	Enterrado	Queimado
	1	2	3	4	5	6

4.3.

Origem da água consumida	Rede pública	Cisterna	Poço	Vizinhança	Rio	Outro
	1	2	3	4	5	6

4

4.3.1. SE OUTRO, QUAL? _____

Frequência	Diariamente	Dias alternados	1 vez na semana	Outro
-------------------	-------------	-----------------	-----------------	-------

4.4. EM CASO DE FORNECIMENTO PÚBLICO:

	1	2	3	4
--	---	---	---	---

4.5.

Poço ou cisterna próximo a fossa?	Sim	Não
	1	2

4.6.

Tipo de Banheiro	Interno com água	Interno sem água	Externo com água	Externo sem água	Comunitário com água	Comunitário sem água	Não possui
	1	2	3	4	5	6	7

5. CONTATO COM ÁGUAS (COLEÇÕES HÍDRICAS):

5.1.

Tem contato?	Sim	Não
	1	2

5.2.

Motivos e frequências de contato									
Motivos			Frequência						
	Sim	Não	Diária	Semanal	Quinzenal	Mensal	Outro		
Buscar água	1	2	1	2	3	4	5		
Lavar louça	1	2	1	2	3	4	5		
Lavar roupa	1	2	1	2	3	4	5		
Tomar banho/higiene pessoal	1	2	1	2	3	4	5		
Nadar (lazer)	1	2	1	2	3	4	5		
Pescar	1	2	1	2	3	4	5		
Atravessar	1	2	1	2	3	4	5		
Regar horta	1	2	1	2	3	4	5		
Trabalho na lavoura	1	2	1	2	3	4	5		
Retirar areia	1	2	1	2	3	4	5		
Outros	1	2	1	2	3	4	5		

5.2.1. SE OUTROS, QUAL? _____

6. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Sim	Não
-----	-----

6.1. JÁ RECEBEU ALGUMA INFORMAÇÃO SOBRE ESQUISTOSSOMOSE, XISTOSE, BARRIGA D'ÁGUA?

1	2
---	---

6.1.1. SE SIM, ONDE? _____ HÁ QUANTO TEMPO? _____

6.2. DOS SINTOMAS AQUI COLOCADOS, INDIQUE QUAIS SÃO CAUSADOS PELA ESQUISTOSSOMOSE:

DIARRÉIA	FEBRE	QUEDA DE CABELO
DOR NA BARRIGA	MAL-ESTAR	CEGUEIRA
FEZES COM SANGUE	DIARRÉIA COM SANGUE	AUMENTO DE PRESSÃO
BARRIGA D'ÁGUA	AGITAÇÃO	DOR NOS OLHOS
AUMENTO DO FÍGADO	COMER TERRA	MUITA SEDE
COCEIRA NA PELE	DORES MUSCULARES	SUOR EM EXCESSO

6.3. EXPLIQUE COMO PEGA A DOENÇA.

Sim	1
Não	2
Parcialmente	3

6.4. VOCÊ JÁ TEVE ESQUISTOSSOMOSE?

Sim	Não
1	2

6.4.1. SE SIM, HÁ QUANTO TEMPO TEVE A DOENÇA? _____

6.4.2. APRESENTOU SINTOMAS?

Sim	Não
1	2

6.4.3.

Sinais e sintomas apresentados		
	Sim	Não
Febre	1	2
Diarréia	1	2
Dor abdominal	1	2
Problemas pulmonares (tosse)	1	2
Hepatoesplenomegalia discreta	1	2
Ascite (barriga d'água)	1	2
Fezes com sangue	1	2
Coceira na pele ou vermelhidão	1	2
Outros	1	2

6.4.3.1. SE OUTROS, QUAIS? _____

6.5. REALIZOU ALGUM EXAME PARA A DOENÇA?

Sim	Não
1	2

6.5.1. SE SIM, QUAL? _____

6.6. RECEBEU ALGUMA INFORMAÇÃO SOBRE O(S) EXAME(S) QUE SERIA/SERIAM FEITO(S)?

Sim	Não
1	2

7. TRATAMENTO

7.1. JÁ FOI TRATADO PARA ESQUISTOSSOMOSE?

Sim	Não
1	2

7.1.1. Quando?

1	DATA EXATA:
2	Menos de 1 ano
3	Entre 1 e 2 anos
4	Mais de 2 anos

Anexo 1 – Critérios do item 6.3 para indicar se o participante sabe como ocorre a infecção da doença:

- Contato com a água;
- Presença do caramujo infectado.

Anexo 2 - Critérios usados para determinar o grau de contatos com as coleções hídricas:

VARIÁVEIS DE PONTOS ATRIBUÍDOS

1-

MOTIVO DE CONTATO	PONTOS
Tomar banho ou nadar	5
Lavar roupa	4
Regar horta, lavoura ou retirar areia	4
Buscar água e/ou lavar vasilhas	3
Lavar carro	3
Pescar ou atravessar o correço	2

2-

FREQUÊNCIA DE CONTATO	PONTOS
Diário	28
Semanal	4
Quinzenal	2
Mensal ou menos	1

3- NEGA CONTATOS: 0 pontos

**APÊNDICE D – QUESTIONÁRIO COMPLEMENTAR:
PESQUISA DE
CO-MORBIDADES, USO DE MEDICAMENTOS E
HÁBITOS DE VIDA**

Nº

Hipertensão: () Sim () Não () Não sabe

Tratamento: () Sim () Não

Qual?

Doença Cardiovascular importante: () Sim () Não () Não sabe

Qual?

Tratamento: () Sim () Não

Qual?

Diabetes: () Sim () Não () Não sabe

Tratamento: () Sim () Não

Qual?

Doença Renal Crônica Prévia: () Sim () Não () Não sabe

Qual?

Tratamento: () Sim () Não

Qual?

História de infecção urinária de repetição: () Sim () Não () Não sabe

Tratamento: () Sim () Não

Qual?

Litíase renal: () Sim () Não () Não sabe

Tratamento: () Sim () Não

Qual?

HIV: () Sim () Não () Não sabe

Tratamento: () Sim () Não

Qual?

Uso de AINES: () Sim () Não () Não sabe

Qual (is)?

Tempo de

uso:

Frequência de

uso:

Fumante: () Sim () Não () Não sabe

Etilista: () Sim () Não () Não sabe

Outras co-morbidades

Outros Medicamentos

ANEXO

ANEXO A – PARECERES CONSUBSTANCIADOS DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Teste imunocromatográfico para o diagnóstico de esquistossomose mansoni antes e após o tratamento em indivíduos de uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará.

Pesquisador: Mariana Silva Sousa

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 22932713.7.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 480.719

Data da Relatoria: 05/12/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma pesquisa para avaliar a acurácia de um novo método para o diagnóstico da Esquistossomose Mansoni, que utiliza urina e soro para pesquisa de antígeno anódico circulante (CAA), antes e depois de tratamento específico, em moradores de uma área de baixa endemicidade, na localidade de Bananeiras, município de Capistrano no Estado do Ceará, Brasil, tendo o método de Kato-Katz como parâmetro de comparação, assim como os resultados da técnica de PCR em tempo real para detecção de fragmentos de DNA de *S. mansoni* em amostras de fezes.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a acurácia de um método de diagnóstico imunocromatográfico para esquistossomose mansoni que detecta o CAA (Antígeno Anódico Circulante), em comparação com um método parasitológico e um molecular antes e após tratamento quimioterápico, em moradores de uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará - Brasil.

Objetivo Secundário:

1. Realizar o método imunocromatográfico para o diagnóstico do *S. mansoni*, na pesquisa de antígeno CAA no soro e na urina de moradores da

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-270

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Parecer: 480.719

comunidade em estudo; 2. Realizar o método parasitológico de Kato-Katz para o diagnóstico do *S. mansoni* na comunidade em estudo; 3. Realizar o método molecular da PCR em fezes para o diagnóstico do *S. mansoni* em moradores da comunidade em estudo; 4. Avaliar a acurácia do método de diagnóstico imunocromatográfico na pesquisa de antígeno CAA no soro e na urina em comparação com os outros métodos utilizados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Para os sujeitos da pesquisa: Com a retirada de sangue podem ocorrer dores, inchaço e aparecimento de manchas roxas no braço. Caso ocorram essas situações o paciente receberá atendimento de primeiros socorros. Para os pesquisadores: há risco biológico nível 2 inerentes a execução da metodologia.

Benefícios:

Educação em saúde e diagnóstico da esquistossomose na população estudada, tratamento dos indivíduos positivos, e demonstração da acurácia de um novo método de diagnóstico para a esquistossomose mansoni para a comunidade científica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de muita relevância. O *S. mansoni* tem causado no Brasil um número expressivo de mortes em pessoas infectadas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em conformidade

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-270

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação renal glomerular em pacientes infectados por *Schistosoma mansoni* antes e após o tratamento: uso de novos biomarcadores renais

Pesquisador: Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 22786919.9.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.706.472

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo que pretende avaliar se os pacientes infectados por *Schistosoma mansoni* apresentam alterações renais glomerulares antes do tratamento detectadas apenas por novos biomarcadores urinários mais sensíveis e específicos e estas permanecem mesmo após o tratamento quimioterápico específico.

Objetivo da Pesquisa:

Geral: Avaliar a função renal glomerular em pacientes infectados por *Schistosoma mansoni* antes e após tratamento quimioterápico em uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará - Brasil.

Específicos:

1. Detectar possíveis alterações renais glomerulares em grupos de indivíduos infectados antes e um, dois e três anos após o tratamento para esquistossomose mansoni;
2. Dosar novos biomarcadores renais urinários associados à inflamação (MCP-1) e à injúria de podócitos (VEGF).
3. Correlacionar as concentrações dos biomarcadores de dano renal glomerular com as de antígeno anódico circulante (CAA).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Este estudo apresenta risco mínimo. Na entrega de amostras pode ocorrer o derramamento

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.706.472

do material caso seja mal tampado. Para que isso seja evitado, recomenda-se ter atenção em fechar corretamente os frascos, podendo estes ser colocados de preferência em sacolas separadas. Alguns participantes podem sentir desconfortos em entregar esse tipo de material, principalmente fezes.

Benefícios: A participação nesse estudo poderá levar à descoberta da Esquistossomose, antes mesmo dela aparecer. Assim, esse estudo ajudará o paciente a tratar a doença o mais cedo possível, diminuindo as chances da evolução da doença para as formas graves que atingem o fígado e o intestino; também terá uma avaliação da função dos seus rins.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo prospectivo, longitudinal e intervencionista (tratamento farmacológico) com quatro cortes transversais: antes (baseline), 1, 2 e 3 anos após o tratamento, que será realizado na localidade de Bananeiras, município de Capistrano, cidade localizada no sopé da serra de Baturité. Serão convidados a participar da pesquisa todos os indivíduos residentes na localidade de Bananeiras, perfazendo cerca de 300 indivíduos, com idade superior a 02 anos, de ambos os sexos, que concordarem em participar do projeto e que assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Serão aplicados dois questionários aos participantes da pesquisa, em visitas domiciliares: (I) socioambiental: composto por perguntas a respeito das condições demográficas, sociais, de saúde do indivíduo e sobre alguns aspectos da doença em estudo; (II) Co-morbidades, uso de medicamentos e hábitos de vida. Serão coletadas amostras de urina e de fezes. O diagnóstico da infecção por *S. mansoni* será realizado através da técnica parasitológica de Kato-Katz (fezes) e da detecção de antígeno anódico circulante (CAA) na urina. Creatinina e albuminúria serão quantificadas por imunoturbidimetria (Cobas C111, ROCHE®), proteinúria pelo método colorimétrico (Labtest®), estresse oxidativo urinário pela determinação do malonaldeído urinário (MDA) que reage com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) e o biomarcador urinário de lesão podocitária (VEGF) e o de inflamação glomerular (MCP-1) por imunoenensaio (ELISA, R&D Systems®). Todos serão expressos pela razão de creatinina urinária. Os pacientes que apresentarem resultados positivos para esquistossomose serão tratados com Praziquantel® preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados de forma adequada: carta de encaminhamento, folha de rosto; cronograma; orçamento; declaração dos pesquisadores; declaração de infraestrutura (Departamento de Análises

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.706.472

Clínicas); declaração da Secretaria de Saúde do Município e TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador deve enviar a este CEP, relatórios parciais e o relatório final ao concluir a pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1439922.pdf	04/11/2019 11:16:11		Aceito
Outros	AnuenciaMunicipio.pdf	04/11/2019 11:15:06	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO.pdf	04/11/2019 11:11:08	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
Outros	CurriculoLattes.pdf	23/09/2019 15:22:14	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
Outros	CARTA_APRECIACAO_CEPUFC.pdf	23/09/2019 15:20:58	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_ASSENTIMENTO_MENOR_DE_IDADE.pdf	23/09/2019 15:13:49	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	23/09/2019 15:13:11	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	23/09/2019 15:12:12	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_PESQUISADORES.pdf	23/09/2019 15:11:59	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AUTORIZACAO_DA_INSTITUICAO.pdf	23/09/2019 15:11:42	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	23/09/2019 15:11:21	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.706.472

Folha de Rosto	FolhadeRosto_CEP.pdf	23/09/2019 15:10:41	Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra	Aceito
----------------	----------------------	------------------------	---------------------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 14 de Novembro de 2019

Assinado por:

FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE **Município:** FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

ANEXO B – ARTIGO PUBLICADO



Performance of an Ultra-Sensitive Assay Targeting the Circulating Anodic Antigen (CAA) for Detection of *Schistosoma mansoni* Infection in a Low Endemic Area in Brazil

Mariana Silva Sousa^{1,2}, Govert J. van Dam^{3*}, Marta Cristhiany Cunha Pinheiro², Claudia J. de Dood⁴, Jose Mauro Peralta⁵, Regina Helena Saramago Peralta⁶, Elizabeth de Francesco Daher⁷, Paul L. A. M. Corstjens⁴ and Fernando Schmalzer Moraes Bazzera^{1,2,4*}

OPEN ACCESS

Edited by:
Diego Almeida Pereira,
Stanford University, United States

Reviewed by:
Deborah Negri-Corle,
Federal University of Minas Gerais,
Brazil

Edward Oliveira,
Focus Research Center Renti
Ribeira, Brazil

***Correspondence:**
Fernando Schmalzer Moraes Bazzera
basm@ufc.br
Govert J. van Dam
g.j.van_dam@lumc.nl

Specialty section:
This article was submitted to
Microbial Immunology,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 20 September 2018

Accepted: 12 March 2019

Published: 04 April 2019

Citation:
Sousa MS, van Dam GJ,
Pinheiro MC, de Dood CJ,
Peralta JM, Peralta RP, Daher EF,
Corstjens PLAM and Bazzera FMB
(2019) Performance of an
Ultra-Sensitive Assay Targeting the
Circulating Anodic Antigen (CAA) for
Detection of *Schistosoma mansoni*
Infection in a Low Endemic Area in
Brazil. *Front. Immunol.* 10:682.
doi: 10.3389/fimmu.2019.00682

¹Medical Sciences Post Graduate Program, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil, ²Parasitology and Molecular Biology Research Laboratory, Department of Clinical Analysis and Toxicology, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil, ³Department of Parasitology, Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands, ⁴Department of Cell and Chemical Biology, Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands, ⁵Department of Immunology, Institute of Microbiology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, ⁶Department of Pathology, Fluminense Federal University, Niterói, Brazil, ⁷Pathology Post Graduate Program, Department of Pathology and Legal Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil

Techniques with high sensitivity and specificity are required for an accurate diagnosis in low-transmission settings, where the conventional parasitological methods are insensitive. We determined the accuracy of an up-converting phosphor-lateral flow circulating anodic antigen (UCP-LF CAA) assay in urine and serum for *Schistosoma mansoni* diagnosis in low-prevalence settings in Ceará, Brazil, before and after praziquantel treatment. Clinical samples of a total of 258 individuals were investigated by UCP-LF CAA, point-of-care—circulating cathodic antigen (POC-CCA), soluble worm antigen preparation (SWAP)-ELISA and Kato-Katz (KK); a selection of 128 stools by real-time PCR technique. Three and 6-weeks after treatment, samples were collected and evaluated by detection *Schistosoma* circulating antigens (CAA and CCA). The UCP-LF CAA assays detected 80 positives (31%) with urine and 82 positives (31.8%) with serum. The urine POC-CCA and serum SWAP-ELISA assays detected 30 (11.6%) and 107 (40.7%) positives, respectively. The Kato-Katz technique revealed only 4 positive stool samples (1.6%). Among the 128 individuals with complete data records, 19 cases were identified by PCR (14.8%). Sensitivities and specificities of the UCP-LF CAA assays, determined versus a combined reference standard based on CCAMK/PCR positivity, ranged from 60–68% to 68–77%, respectively. In addition only for comparative purposes, sensitivities of the different assays were determined vs. a comparative reference based on CCAMK/PCR positivity, showing the highest sensitivity for the urine CAA assay (80%), followed by the serum CAA (70.9%), SWAP-ELISA (43.6%), PCR (34.5%), POC-CCA (29.1%), whilst triplicate Kato-Katz thick smears had a very low sensitivity (3.6%). CAA concentrations were higher in serum than in urine and were significantly correlated.