



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
MESTRADO EM PATOLOGIA**

JOAMES KAUFFIMANN FREITAS LEAL

**DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA DE
BAIXA ENDEMICIDADE ATRAVÉS DO POC-CCA:
COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS E AVALIAÇÃO PÓS-
TRATAMENTO**

**FORTALEZA
2014**

JOAMES KAUFFIMANN FREITAS LEAL

DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA DE BAIXA
ENDEMICIDADE ATRAVÉS DO POC-CCA:
COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS E AVALIAÇÃO PÓS-TRATAMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Ceará como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Patologia com área de pesquisa em Parasitologia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

FORTALEZA
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- L471d Leal, Joames Kauffmann Freitas.
Diagnóstico da esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade através do POC-CCA: comparação com outros métodos e avaliação pós-tratamento/ Joames Kauffmann Freitas Leal. – 2014.
92 f. : il.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-graduação em Patologia, Fortaleza, 2014.
Orientação: Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra.
1. Schistosoma mansoni. 2. Diagnóstico. 3. Antígenos. 4. Ensaio de Imunoadsorção Enzimática.
I. Título.

CDD 616.963

JOAMES KAUFFIMANN FREITAS LEAL

DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA DE BAIXA
ENDEMICIDADE ATRAVÉS DO POC-CCA:
COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS E AVALIAÇÃO PÓS-TRATAMENTO.

Dissertação apresentada à Universidade
Federal do Ceará como um dos requisitos para
a obtenção do título de Mestre em Patologia
com área de pesquisa em Parasitologia.

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. José Mauro Peralta (membro)
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

Prof. Dra. Regina Helena Saramago Peralta (membro)
Universidade Federal Fluminense – UFF

Prof. Dr. Edson Teixeira Holanda (membro)
Universidade Federal do Ceará – UFC

A meus pais, exemplos de perseverança.

AGRADECIMENTOS

À Deus por as possibilidades a mim oferecidas e pela força para realizá-las;

À CAPES pela concessão da bolsa de fomento, responsável por minha dedicação exclusiva à pesquisa durante este trabalho.

À Universidade Federal do Ceará que por 7 anos está fazendo parte da minha rotina e me deu e continua me oferecendo toda base e experiência profissional e acadêmica;

Ao meu orientador Dr. Fernando Schemelzer Moraes Bezerra pela confiança, paciência, ensino, amizade, enfim pela orientação;

À minha grande colega de trabalho Marta Cristhiany por toda ajuda em todos os aspectos durante este trabalho;

Aos demais integrantes do querido Laboratório de Parasitologia e Biologia de Moluscos: Mariana Silva, João Victor, Thiago, Yasmim e Raquel;

Ao Professor Dr. Alberto do Departamento de Saúde Pública por ter colaborado com as análises estatísticas e sugestões preciosas;

Às queridas Mayara Amélia e Jenny Grangeiro por me fazerem dar boas risadas durante os momentos mais complicados, me fazendo focar nas melhores coisas de um trabalho árduo: os objetivos;

Aos que passaram pelo laboratório durante os dois anos do mestrado: Bia Lourenço, Mariana Leite, Anderson, Bia e Fernanda;

À Anielle Torres pelos muitos conselhos me oferecidos;

Eu teria um agradecimento especial a cada um de vocês, mas para não me alongar agradeço a todos pela amizade: Mayara Kércia, Bruno Cardoso, Emanuelle Barros, Henrique Pandatur, Lorely Freitas, Joás Torres, Rosanna Rafena, Dânya Lima.

Aos meus pais por seus exemplos e sua paciência.

À minha mãe, dedico este trabalho. Peço desculpas pela ausência e pela distância, sei que suas orações foram o que me deram força.

Aos meus irmãos por compreenderem minha ausência em alguns momentos e me ajudarem.

À minha família em geral por acreditarem em mim e me passarem valores honestos.

À minha avó, por todo amor;

À Célia, técnica de enfermagem do Posto de saúde da localidade e a Silvely, agente comunitária de Bananeiras, por suas ajudas inestimáveis na realização de todo o projeto.

E finalmente, à comunidade de Bananeiras e seus habitantes por sua hospitalidade e pela motivação de fazer um trabalho que traria benefícios ao local de onde descendo e que me traz tanta nostalgia.

RESUMO

A detecção de antígenos circulante vem se mostrando uma alternativa para os problemas com o diagnóstico da esquistossomose, doença que acomete cerca de 200 milhões de pessoas em 74 países. Um teste imunocromatográfico recém-desenvolvido para a detecção de CCA (POC-CCA, point-of-care) na urina mostrou-se de alta sensibilidade bem como de alta especificidade para o estudo da esquistossomose. A maioria dos estudos ocorreu em zonas de alta endemicidade, na África, e há a necessidade de mais trabalhos para se verificar a precisão diagnóstica do teste em zonas de baixa endemicidade para a esquistossomose e suas diferenças geográficas. Nosso objetivo foi avaliar a eficácia deste kit de diagnóstico para esquistossomose mansoni que detecta o CCA (antígeno Catódico Circulante), em comparação com um método parasitológico e um imunológico, e avaliá-lo como diagnóstico após tratamento quimioterápico, em moradores de uma área de baixa endemicidade. O estudo foi realizado na localidade de Bananeiras, Capistrano, Ceará num período de cerca de seis meses desde a entrada na comunidade até o resultado da 2ª reavaliação. Para a realização dos testes foram usados fezes (Kato-Katz), sangue (SWAP-ELISA) e urina (POC-CCA). A comunidade é composta por 297 habitantes, 285 destes aceitaram participar do estudo e 258 entregaram as três amostras - 118 indivíduos do sexo masculino e 140 do sexo feminino. enquanto que 4 indivíduos (1,6%) se apresentaram positivos segundo o método de Kato-Katz e 105 (40,7%) reativaram no ELISA-SWAP. A técnica POC-CCA é um método prático e rápido, assim se tornando uma ferramenta útil em campo. Os resultados obtidos em nosso estudo mostram alta sensibilidade e especificidade do método, entretanto o padrão-ouro escolhido para as comparações pode ter influenciado os resultados. Os pacientes foram tratados e reavaliados pelo teste imunocromatográfico, três e seis semanas após o tratamento. Utilizado o POC-CCA na avaliação pós-tratamento e comparando T=P com T=N, verificamos que um maior percentual de indivíduos negativou, quando T=P; embora todos os adultos tenham negativado, quando T=N.

Palavras-chave: Schistosoma mansoni. Diagnóstico. Antígenos. Ensaio de Imunoadsorção Enzimática.

ABSTRACT

The detection of circulating antigens has been an alternative to the problems with the diagnosis of schistosomiasis, the disease that affects approximately 200 million people in 74 countries, worldwide. A newly developed immunoassay to detection of CCA (POC-CCA, point-of-care) in urine have shown high sensitivity and specificity for the schistosomiasis study. However, the most of all studies was carried in areas of high endemicity in Africa, and there is a need for more studies to verify this test's diagnostic accuracy in low endemic areas and their geographical differences. Our aim was to evaluate the effectiveness of POC-CCA as diagnostic of schistosomiasis, comparing it with a parasitological method and a linked immunosorbent method and to evaluate how the POC-CCA behaves after chemotherapy, in residents of an area of low endemicity. The study was conducted for six months in Banananeiras, a village in Capistrano, Ceará, Brazil. Stool (Kato-Katz), blood (SWAP-ELISA) and urine (POC-CCA) were used to perform the tests. The community had 297 inhabitants, 285 of these agreed to participate in the study, and 258 (190 adults and 68 children) gave the three samples. Before treatment, the prevalence of *S. mansoni*, as determined by triplicate Kato-Katz, POC-CCA considering "P=trace", POC-CCA considering "N=trace" and SWAP-ELISA was 1,6%, and 40,7%, respectively. The Kato-Katz method had a sensitivity lower than was expected and SWAP-ELISA showed up discordant results. Nevertheless, the results of our study show high sensitivity and specificity of POC-CCA, however, the gold standard chosen for the comparisons may have influenced the results. The patients were treated and re-evaluated by immunoassay, three and six weeks after treatment. POC-CCA used in the post-treatment evaluation and when we compared "P=trace" against "N=trace", we found a higher percentage of individuals that became negative, considering "P=trace"; although all adults had negated, considering N=trace. Although, six weeks proved to be the best time for reassessment after treatment.

Keywords: Schistosoma mansoni. Diagnosis. Antigens. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Atual distribuição da esquistossomose no mundo, estratificada de acordo com estimativas de prevalência específicas de cada país	18
Figura 2	Mapa do estado do Ceará localizando o Município de Capistrano, 2013.	32
Figura 3	Localidade de Bananeiras vista de satélite, 2013.	33
Figura 4	Localidade de Bananeiras, aplicação do questionário e assinatura do TCLE, 2013.	33
Figura 5	Kit Helm-Test [®] , lâminas e lamínulas embebidas em verde malaquita, material necessário no procedimento do método Kato-Katz, 2013.	37
Figura 6	Kit Bilharzia (<i>Schistosoma</i>) da Rapidmedical Diagnostics [®] , 2013.	38
Figura 7	Procedimento do teste imunocromatográfico, 2013.	39
Figura 8	Fluxograma das etapas do estudo, 2013.	40
Figura 9	Esquema demonstrativo da quantidade de indivíduos que entregaram as amostras requisitadas (sangue, fezes e urina) e da quantidade de indivíduos que entregaram as três amostras, 2013.	43
Figura 10	Prevalência e distribuição do número de ovos de <i>S. mansoni</i> , por lâmina analisada através do método de Kato-Katz nas fezes dos indivíduos participantes do estudo, residentes na localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.	45
Figura 11	Prevalências da <i>S. mansoni</i> por grupo e por método utilizado nos indivíduos participantes do estudo, residentes na localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.	46
Figura 12	Percentagem de indivíduos reativos no decorrer do tempo, quanto ao método POC-CCA (CCA TP) na urina dos participantes do estudo - residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.	53
Figura 13	Percentagem de indivíduos reativos no decorrer do tempo, quanto ao método POC-CCA (CCA TN) na urina dos participantes do estudo - residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características do CAA e CCA ¹	29
Tabela 2. Possibilidades de diagnóstico comparando os testes realizados.	44
Tabela 3. Concordância entre o teste Kato-Katz e ELISA SWAP por grupos.	47
Tabela 4. Concordância entre o teste CCA TP e Kato-Katz por grupos.	48
Tabela 5. Concordância entre o teste CCA TP e Kato-Katz por grupos.	49
Tabela 6. Concordância entre o teste CCA TP e ELISA SWAP por grupos.	50
Tabela 7. Concordância entre o teste CCA TN e ELISA SWAP por grupos.	51
Tabela 8. Concordância entre o teste CCA TP e CCA TN por grupos.	52

LISTA DE ABREVIATURAS

C	Região Controle
CAA	Antígeno Anódico Circulante
CCA	Antígeno Catódico Circulante
CCA TP	Traços considerados como Reativos
CCA TN	Traços considerados com Não reativos
DO	Densidade Óptica
ELISA	"Enzyme Linked Immunosorbent Assay "
T	Reativo Traço
GASP	"Gut associated proteoglican"
IgG	Imunoglobulina G
kDa	Quilodalton
LPBM	Laboratório de Pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos
N	Não Reativo
P	Reativo Positivo
POC-CCA	"point-of-care" CCA
SEA	Antígeno solúvel de ovo de <i>Schistosoma mansoni</i>
SWAP	Antígeno solúvel de verme adulto
T	Região Teste, Linha Teste
TCA	Ácido Tricloroacético
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TTO	Tratamento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Histórico.....	13
1.2	Agente Etiológico – <i>Schistosoma mansoni</i>	14
1.3	Hospedeiro Intermediário	14
1.4	Ciclo Evolutivo	15
1.5	Transmissão.....	16
1.6	Epidemiologia.....	17
1.7	Esquistossomose no Ceará	19
1.8	Diagnóstico.....	20
1.9	Antígenos Circulantes na esquistossomose.....	26
2	OBJETIVOS	31
2.1	Objetivo Geral.....	31
2.2	Objetivos Específicos	31
3	METODOLOGIA	32
3.1	Tipo de estudo	32
3.2	Área de estudo e sua caracterização.....	32
3.2.1	<i>População</i>	34
3.2.2	<i>Critérios de Inclusão</i>	34
3.2.3	<i>Critérios de Exclusão</i>	34
3.3	Aplicação de Questionário Socioambiental	34
3.4	Grupo de estudo	35
3.5	Coleta de Material.....	35
3.5.1	<i>Coleta Parasitológica e urinária</i>	35
3.5.2	<i>Coleta Sorológica</i>	35
3.6	Método de Diagnóstico	36
3.6.1	<i>Método de Kato-Katz</i>	36
3.6.2	<i>ELISA</i>	37

3.6.3	<i>Pesquisa de Antígeno Catódico Circulante (CCA)</i>	38
3.7	Tratamento e Reavaliação.....	40
3.8	Análise Estatística	41
3.8.1	<i>Índice kappa</i>	41
3.9	Preceitos Éticos.....	41
4	RESULTADOS	43
4.1	Método Parasitológico Kato-Katz	45
4.2	Método Imunológico, ELISA-SWAP	45
4.3	Método imunocromatográfico, POC-CCA	45
4.4	Prevalência de cada método por grupos	46
4.5	Comparação entre os métodos coproscópicos realizados.....	47
4.5.1	<i>ELISA SWAP x Kato Katz</i>	47
4.5.2	<i>POC-CCA x Kato Katz</i>	48
4.5.3	<i>POC-CCA x ELISA SWAP</i>	50
4.5.4	<i>POC-CCA (CCA TP X CCA TN)</i>	52
4.6	Reavaliações pelo POC-CCA	53
5	DISCUSSÃO	55
6	CONCLUSÃO	62
7	RECOMENDAÇÕES	63
	REFERÊNCIAS	64
	APÊNDICES	80
	ANEXOS	90

1 INTRODUÇÃO

1.1. Histórico

A esquistossomose é uma parasitose que acompanha a espécie humana desde os primórdios da civilização, tendo sido encontrados ovos de *Schistosoma* em múmias egípcias de 3.500a.C.(COURA; AMARAL, 2004). No Brasil, esta doença provavelmente se estabeleceu durante o período colonial, por conta dos escravos parasitados trazidos da África para trabalhar nas lavouras (KATZ, 1992; MORGAN *et al.*, 2001). O primeiro relato só foi descrito entre os anos de 1907 e 1908, por Pirajá da Silva, no Estado da Bahia, que supriu as incertezas taxonômicas quanto ao parasita, surgindo a partir de então as investigações sobre a distribuição geográfica e dados parasitológicos da doença (ANDRADE, 2002). Todavia, sua importância só foi evidenciada na década de 50 com a realização, por Pellon & Teixeira, do grande inquérito coproscópico nacional de prevalência, inicialmente no nordeste do país e posteriormente em áreas supostamente não endêmicas do sul e sudeste. Desde então, houve um crescimento exponencial nas pesquisas sobre o *Schistosoma mansoni* e a doença por ele provocada (ANDRADE, 2002; COURA; AMARAL, 2004; KATZ; PEIXOTO, 2000).

A espécie existente no Brasil foi descrita, em 1907, pelo inglês Sambon, que a nomeou *Schistosoma mansoni* em homenagem a Manson. No mesmo ano, o brasileiro Pirajá da Silva estudou uma espécie encontrada na Bahia dizendo que, provavelmente, seria uma nova espécie e a chamou de *Schistosoma americanum*, mas Sambon já havia feito a sua descrição (KATZ; ALMEIDA, 2003).

Existem muitas espécies pertencentes ao gênero *Schistosoma*, causando doenças diferentes ao redor do mundo, como: *Schistosoma japonicum*, causador da esquistossomose japônica intestinal que ocorre na China, Japão, Indonésia, Filipinas e Tailândia; *Schistosoma haematobium*, causador da esquistossomose hematóbia, vesical ou urinária que ocorre na África, Oriente Próximo e Médio; *Schistosoma intercalatum*, causador de esquistossomose intestinal, típica de países da África Central; *Schistosoma mekongi*, causador de esquistossomose intestinal, comum no vale do Rio Mekong, no Laos e no Camboja; *Schistosoma bovis*, *Schistosoma mattheei*, *Schistosoma rodhaini*, causadores de esquistossomose em animais, eventualmente, acometem o homem na África e *Schistosoma mansoni*, causador de esquistossomose intestinal, única presente no Brasil. (KATZ; ALMEIDA, 2003).

1.2. Agente etiológico – *Schistosoma mansoni*

O *S. mansoni* chegou ao Brasil com os escravos africanos trazidos pela Colônia Portuguesa, embora os escravos africanos estivessem infectados por duas espécies do esquistossomo, *S. mansoni* e *S. haematobium*, somente a primeira se desenvolveu no Brasil. O ciclo evolutivo do *S. haematobium* não prosseguiu nas Américas, devido à falta do hospedeiro intermediário próprio dessa espécie (KATZ; ALMEIDA, 2003).

O gênero *Schistosoma* é composto por platelmintos trematódeos, dióicos, que apresentam diferentes estágios de desenvolvimento (vermes adultos, ovos, miracídios, esporocistos, cercárias e esquistossômulos), cada um deles com características intrínsecas ao estágio evolutivo (SIQUEIRA-BATISTA *et al.*, 1998). Os vermes adultos vivem nos vasos sanguíneos que ligam o intestino ao fígado (sistema porta-hepático) do hospedeiro vertebrado. O macho do *S. mansoni* é de cor esbranquiçada e mede de 6 a 13 mm de comprimento por 1,1 mm de largura; já a fêmea é cilíndrica, mais fina e mais longa que o macho, medindo de 10 a 20 mm de comprimento por 0,16 mm de largura. Como não apresentam órgão copulador, os vermes adultos copulam pela justaposição dos orifícios genitais feminino e masculino, quando a fêmea se aloja no canal ginecóforo (fenda longitudinal, no macho, que alberga a fêmea e onde ocorre a fecundação) (KATZ; ALMEIDA, 2003).

1.3 Hospedeiro intermediário

Os hospedeiros intermediários da doença são moluscos do gênero *Biomphalaria*. Este fato foi descrito inicialmente em 1913 por Miyaki e Suzuki que descreveram também o fato da cercária (larva do *Schistosoma*) transmitir a doença ao homem através da penetração em sua pele. A descrição do ciclo evolutivo das espécies *S. mansoni* e *S. haematobium* foi realizada, pela primeira vez, em 1915, pelo egípcio Leiper. Um ano depois, Adolfo Lutz estudou, no Brasil, a evolução do *S. mansoni* em caramujos da espécie *Biomphalaria olivacea*, atualmente denominada *Biomphalaria glabrata*. Esses estudos o levaram à descoberta de um novo hospedeiro intermediário, o *Biomphalaria straminea* (CARVALHO; COELHO; LENZI, 2008).

Estes moluscos apresentam concha do tipo discóide, com diâmetro variando de 7 a 40 mm, com uma zona central profunda, chamada umbigo, em ambos os lados da concha. Apresentam a hemolinfa vermelha, devido à hemoglobina solúvel e tubo renal em “J”. São

hermafroditas podendo autofecundar-se, mas preferencialmente realizam fecundação cruzada o que possibilita maior troca de material genético (VIANEY-LIAUD; DUSSART, 1994).

A transmissão da esquistossomose no Brasil depende da presença de três espécies de caramujo do gênero *Biomphalaria*: *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria straminea*. Pelo menos uma das três espécies já foi notificada em 25 das 27 unidades federativas do País (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2007).

Os habitats do molusco hospedeiro encontram-se geralmente às margens dos rios, lagos, lagoas, açudes, pântanos, bueiros, brejos, canais de irrigação e valas, associadas às horticulturas em geral. Ainda que a presença de moluscos possa ser frequente em coleções naturais, principalmente em riachos e brejos, sua densidade populacional costuma ser maior em criadouros artificiais (REY, 2000). É comum a ocorrência dos hospedeiros intermediários em áreas intimamente relacionadas às atividades humanas, que por alterações ambientais, formam canais de abastecimento, reservatórios de água para consumo e lazer, bem como valas de irrigação e bueiros. Em muitos municípios, principalmente em bairros periféricos, os criadouros de moluscos estão nas valas de hortas destinadas ao cultivo e provenientes de drenagens fluviais (REY, 2000; TELES 2005; TIBIRIÇÁ *et al.*, 2006).

1.4 Ciclo evolutivo

A fêmea do *S. mansoni* produz centenas de ovos por dia, cada ovo contém um miracídio – larva ciliada – que secretam enzimas proteolíticas que ajudam o ovo a migrar para a luz do intestino, com o objetivo de ser eliminado nas fezes, permanecendo viáveis por até 07 dias. Em contato com a água, o ovo libera o miracídio que procura o hospedeiro intermediário, guiado pela luz e por estímulos químicos. Depois de penetrar no caramujo, o miracídio se multiplica assexuadamente em esporocistos multicelulares, que mais tarde darão origem as larvas cercarianas que possuem uma característica cauda bifurcada. As cercárias saem do caramujo 4-6 semanas depois da infecção e nadam livremente na água por até 72 horas procurando um hospedeiro definitivo apropriado. A liberação das cercárias é provocada pela luz e ocorre principalmente durante o período diurno. Um único caramujo infectado, por apenas um miracídio, pode liberar milhares de cercárias todos os dias durante meses (GRYSEELS *et al.*, 2006).

A cercária representa a segunda fase de vida livre do parasito. Na pele do homem, a penetração é consumada pela ação lítica e pela ação mecânica devido aos movimentos

intensos da larva. Nesse processo, que pode durar até 15 minutos, a cercária perde sua cauda. Depois de atravessar a pele, ela passa a ser chamada de esquistossômulo (KATZ; ALMEIDA, 2003). Os organismos, agora chamados esquistossômulos, absorvem uma variedade de proteínas do hospedeiro, incluindo antígenos eritrocíticos (glicopeptídeos na forma de antígenos de grupos sanguíneos), imunoglobulinas, antígenos principais de histocompatibilidade de classe I (MHC – classe I) e componentes do complemento, dentre outras; mascarando seu estado de estranheza perante o reconhecimento imunológico (CARVALHO; COELHO; LENZI, 2008). O seu metabolismo passa a glicólise e os esquistossômulos migram através dos capilares pulmonares para a circulação sistêmica, que os leva para as veias porta, onde se concluirá o amadurecimento sexual e a transformação em vermes adultos. Dentro da vasculatura portal, machos e fêmeas acasalam-se, com a entrada da fêmea no canal ginecóforo do macho. Juntos, eles migram ao longo do endotélio, contra o fluxo sanguíneo portal, às veias mesentéricas onde começam a produzir os ovos e a realizar a postura, momento em que o ciclo inicia-se novamente (BEHRMAN, 2009).

1.5 Transmissão

As precárias condições socioeconômicas, as dificuldades de acesso aos serviços de saúde, os movimentos migratórios e as más condições de tratamento de água e esgoto constituem os principais fatores para transmissão da esquistossomose em áreas endêmicas. A disseminação dos hospedeiros intermediários, a falta de educação em saúde e a cronicidade da doença têm facilitado a progressão da doença para suas formas mais graves (BARBOSA; GONÇALVES; MELO, 1995; MASSARA *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2004;).

No Brasil, não houve sucesso na interrupção da transmissão, tampouco na redução da prevalência a um nível inferior a 5,0%. Na Região Nordeste, concentram-se as prevalências mais elevadas (COURA; AMARAL, 2004). Fatores biológicos, sociais, políticos e culturais têm contribuído para a formação de quadros endêmicos específicos (SOUZA *et al.*, 2008).

As taxas e a intensidade da infecção sofrem influências dentro de uma população de acordo com seus padrões de contato com a água, da imunidade adquirida e dos fatores comportamentais, profissionais, culturais e religiosos. E em relação à idade, os índices aumentam desde a tenra idade para um pico na faixa etária de 8-15 anos e volta a diminuir nos adultos (GRYSEELS *et al.*, 2006).

O desenvolvimento na área de recursos hídricos tem levado a criação de

reservatórios, barragens, e a implementação de sistemas de irrigação, fatos que frequentemente levam a expansão do habitat do hospedeiro intermediário e, assim, criam novos locais potenciais para a transmissão da esquistossomose. Por outro lado, a realização de obras que visam a melhoria no abastecimento de água e no saneamento, pode quebrar o ciclo de transmissão através da redução do contato com as massas de água não tratadas e pela diminuição da contaminação ambiental com excrementos (STEINMANN *et al.*, 2006).

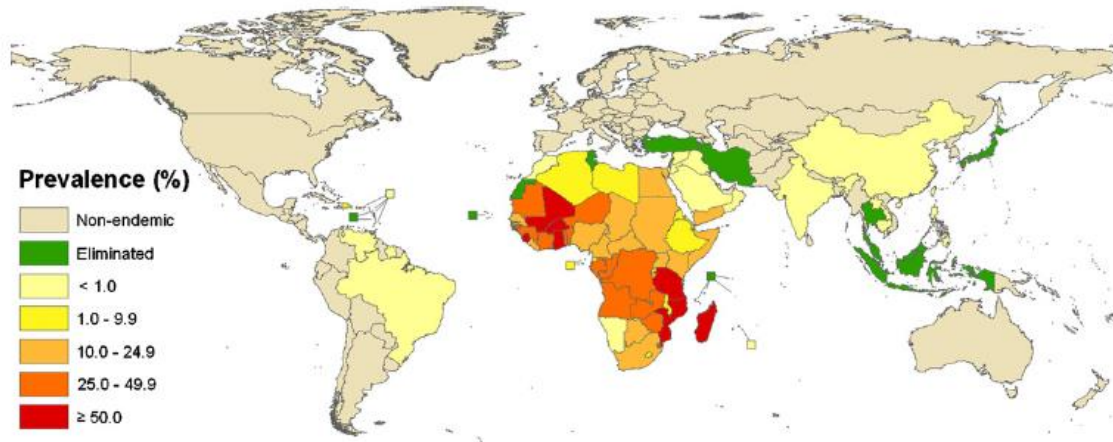
1.6 Epidemiologia

A esquistossomose é prevalente em áreas tropicais e subtropicais, especialmente nas comunidades pobres, sem acesso à água potável e saneamento adequado. Pelo menos 90% das pessoas com necessidade de tratamento para esquistossomose vivem na África (OMS, 2012).

Estima-se que 200 milhões de pessoas em 74 países têm esquistossomose, 85% dos quais vivem na África subsaariana, onde *S. haematobium*, *S. mansoni* e *S. intercalatum* são endêmicas (CHITSULO *et al.*, 2000). *S. haematobium* e *S. mansoni* também são encontrados no Egito e na Península Arábica. *S. haematobium* foi relatada na região Mahgreb (Marrocos, Argélia, Tunísia e Mauritânia). *S. mansoni* é endêmica no nordeste do Brasil, e também está presente na Venezuela, Suriname e Caribe. *S. japonicum* é endêmica na China e nas Filipinas, e também é encontrada em Sulawesi, na Indonésia. *S. mekongi* é encontrada no Camboja e Laos. (OMS, 2012)

A esquistossomose afeta particularmente as populações agrícolas e de pesca. Mulheres fazendo tarefas domésticas na água infestada, como lavar roupas, também estão em risco. Hábitos de higiene e lazer fazem as crianças especialmente vulneráveis à infecção. No nordeste do Brasil e da África, os movimentos de refugiados e migração para áreas urbanas estão introduzindo a doença para novas áreas. Aumentar o tamanho da população e as necessidades correspondentes de energia e água, muitas vezes resulta em planos de desenvolvimento e modificações ambientais que também levam ao aumento da transmissão. Com o aumento do ecoturismo e viagens, um número crescente de turistas está contraindo esquistossomose (OMS, 2012).

Figura 1. Atual distribuição da esquistossomose no mundo, estratificada de acordo com estimativas de prevalência específicas de cada país.



Fonte: Steinmann *et al.* (2006) e Utzinger *et al.* (2009).

A Figura 1 mostra a situação da esquistossomose no mundo atualmente. Dos 67 países com transmissão ativa, 46 estão na África, sendo esta, o lar de cerca de 97% de todos os infectados, comportando 85% da população mundial em risco para esta doença. Atualmente, 29 países africanos, o Brasil, e o Iêmen abrigam mais de um milhão de casos cada. E em termos globais, 3,4% (1,22 milhões) do total de pessoas em risco para a esquistossomose vivem nas Américas, a maioria no Brasil (STEINMANN *et al.*, 2006).

Dados ainda não publicados do Inquérito Nacional de Esquistossomose, iniciado em 2011 e em término este ano, indicam que cerca de 1,5 milhões de indivíduos se encontram infectados com a esquistossomose (informação verbal¹).

A região Nordeste e o estado de Minas Gerais foram as primeiras áreas endêmicas da esquistossomose mansoni no Brasil. A partir daí, a doença se espalhou pelo país. No Sudeste, surgiram focos isolados no Rio de Janeiro, Espírito Santo e em São Paulo. O norte do Paraná, no Sul do país, também se tornou uma área endêmica. Outros três focos da doença foram descritos em mais dois estados sulinos: dois em Santa Catarina e um no Rio Grande do Sul (KATZ; ALMEIDA, 2003).

A esquistossomose ainda é um problema de saúde pública no Brasil, amplamente disseminada nas regiões sudeste e nordeste, enquanto nas regiões norte e sul, as áreas endêmicas apresentam-se mais dispersas e isoladas. Ainda que as estimativas sobre o número de pessoas infectadas e sujeitas à infecção sejam um assunto controverso, sempre superam a casa de milhões. Na maioria das vezes a doença passe despercebida, em áreas endêmicas, isso devido

à maior chance da aquisição continuada de parasitos durante as exposições aos focos, e por conta disto os efeitos deletérios da esquistossomose manifestam-se com mais frequência nessas regiões (TELES, 2005).

Implantado no Brasil entre 1976 e 1993, o programa de controle da esquistossomose, reduziu significativamente a prevalência da doença e também da incidência de formas graves, porém, houve o surgimento de novos focos. Investigações mais detalhadas são necessárias a fim de verificar se a redução na prevalência da esquistossomose em áreas endêmicas representa realmente uma redução no número de indivíduos infectados; ou, ao invés disso, se simplesmente reflete uma diminuição na carga parasitária dos indivíduos das áreas tratadas, dificultando sua identificação devido à baixa sensibilidade dos métodos diagnósticos disponíveis atualmente. Resultados de estudos epidemiológicos reforçam a segunda hipótese (ENK *et al.*, 2008).

1.7 Esquistossomose no Ceará

No Estado do Ceará têm-se as primeiras notificações da Esquistossomose a partir dos trabalhos científicos publicados em 1925, no qual se encontrou positividade de 2,8% dos 114 marinheiros cearenses estudados; a seguir em 1934, no qual foi realizado diagnóstico da febre amarela em 7.387 amostras de fígado colhidas no Ceará e se encontrou positividade de 0,66% para *S. mansoni*; e também em 1938, quando se realizou diagnósticos para esquistossomose no município do Crato, sul do Estado, mas apenas em 1940 foi realizado o primeiro inquérito coproscópico no Estado quando se encontrou casos autóctones na cidade de Redenção, com positividade de 12,2% em 199 amostras estudadas (ALMEIDA, 1999).

Pontes *et al.* (1999), em um projeto financiado pelo Ministério da Saúde e pelo Banco Mundial para avaliação das ações de controle da esquistossomose e delimitação das áreas endêmicas, no período de 1977 a 1994, nos Estados do Ceará, Bahia, Pernambuco, Maranhão e Minas Gerais, apontaram quatro focos principais como área endêmica em nosso Estado: I) a Região Hidrográfica Pacoti-Choró-Pirangi, onde as maiores prevalências eram nas localidades banhadas pelo Rio Pacoti e Rio Choró. O Maciço do Baturité era o principal foco por abranger 10 municípios com altos índices de positividade; 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.

A análise dos coeficientes de prevalência da esquistossomose na área endêmica mostra que os municípios pertencentes à Região Hidrográfica do Pacoti-Choró-Pirangi (Aracoiaba; Aratuba; Baturité; Capistrano; Guaramiranga; Itapiúna; Maranguape; Mulungu; Pacatuba; Pacoti; Palmácia; Redenção), que vinham sendo trabalhados desde 1977-79, apresentaram um comportamento epidemiológico semelhante àquele observado no Estado, em geral, tinham elevados coeficientes de prevalência no levantamento inicial, mostrando uma importante redução nos anos subsequentes. 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).

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. (PONTES *et al.*, 1999).

1.8 Diagnóstico

Os métodos de diagnóstico disponíveis podem ser agrupados em categorias. Inicialmente, podem ser divididos em duas categorias: métodos de detecção direta - que detectam o parasito, ou componentes deste, como ovos, antígenos, moléculas ou fragmentos destas; e métodos de detecção indireta - identificam evidências indiretas da presença do parasito e dependem de marcadores clínicos, bioquímicos ou, especialmente, imunológicos associados à infecção. Uma outra divisão classifica os métodos como qualitativos ou quantitativos. Os métodos qualitativos, na maioria das vezes, mais fáceis e rápidos de serem feitos, porém não geram projeções sobre a dinâmica de uma infecção, informando somente a existência da infecção. Já métodos quantitativos são usados para calcular a carga parasitária e/ou mostrar a resposta imunológica de um indivíduo ou grupo populacional assim permitindo o estabelecimento de indicadores epidemiológicos em programas de controle (RABELLO *et al.*, 2008).

O diagnóstico laboratorial da esquistossomose mansoni é relativamente fácil e rápido. O método direto mais utilizado é o exame parasitológico de fezes, feito através da

constatação da presença de ovos do *S. mansoni* nas fezes do paciente. A eclosão de miracídios, as reações sorológicas, a biópsia retal e a biópsia hepática são métodos auxiliares. No entanto, os dois últimos são cada vez menos usados, sendo reservados para diagnósticos em condições muito especiais. A biópsia retal caiu no desuso por causar traumas físicos e também psicológicos e a biópsia hepática é utilizada apenas quando é necessário conhecer o quadro histológico do fígado ou em casos de diagnóstico diferencial. A OMS recomenda o método Kato-Katz em regiões de alta endemicidade, por ser o exame parasitológico de fezes mais sensível, rápido e de fácil execução, além de ser o mais preciso qualitativa e quantitativamente. Esse método é utilizado, atualmente, nos continentes africano, asiático e nas Américas (KATZ; ALMEIDA, 2003).

Em casos de cargas parasitárias baixas, as técnicas apresentam limitações. Estima-se que aproximadamente 200 ovos por casal são eliminados em 200g de fezes por dia. Apenas uma pequena amostra de 42mg de fezes é examinada por esta técnica, sendo que a probabilidade de se detectar ovos diminui significativamente em casos de baixa intensidade de infecção, o que ocorre na maioria das regiões brasileiras, regiões de baixa endemicidade. A probabilidade de se detectar uma infecção com um só casal de vermes por exame de uma só lâmina, pelo método de Kato-Katz, será de aproximadamente 1/24. Esta limitação, que afeta especialmente métodos quantitativos, pode ser superada pelo aumento do número de amostras (coleta de amostras de fezes em dias consecutivos) e também pelo aumento do número de lâminas examinadas por amostra (duas a três lâminas). Este procedimento é de grande importância na determinação de taxas de cura e na avaliação de drogas esquistossomicidas, quando se espera abrupto declínio na intensidade da infecção e conseqüentemente na quantidade de ovos eliminados nas fezes. Infecções com menos de 50-100 ovos por grama de fezes podem não ser detectadas e resultarem em superestimativa de taxas de cura de drogas esquistossomicidas. De novo, a alternativa para aumentar a sensibilidade deste método é aumentar a quantidade do material examinado, isto é, aumentando o número de amostras e de lâminas por amostra (PINHEIRO *et al.*, 2012).

Fatores limitantes da técnica de Kato-Katz foram descritos por diversos autores. Não se pode realizar o teste com amostras diarreicas, apesar de ser este um quadro comum na esquistossomose mansoni; possui baixa reprodutibilidade em diferentes lâminas do mesmo indivíduo e leituras desiguais são obtidas por examinadores diferentes (BERHE *et al.*, 2004; GENTILE *et al.*, 2011; KONGS *et al.*, 2001). Outra limitação é a necessidade de diferentes amostras do mesmo paciente para que se obtenha um resultado mais sensível, através da análise de múltiplas lâminas e em estudos epidemiológicos, exames repetidos se tornam pouco práticos

e economicamente inviáveis. E, ainda, em áreas de baixa prevalência, menor que 10%, ou no diagnóstico de indivíduos com baixa carga parasitária, se faz necessário o uso de metodologias complementares para que o nível de sensibilidade desse diagnóstico seja significativamente aumentado, ficando próximo da prevalência real (ENGELS; SINZINKAYO; GRYSEELS, 1996; ENK *et al.*, 2008; KONGS *et al.*, 2001; SIQUEIRA *et al.*, 2011).

Buscando melhoria no diagnóstico em regiões de baixa endemicidade, outros métodos coproscópico como o método do gradiente salínico ou método aranha (COELHO *et al.*, 2009), cujo fundamento se baseia no gradiente diferencial de sedimentação entre ovos do *S. mansoni* e o homogeneizado fecal; e o método Helmintex® que se processa através de uma sequência de sedimentação espontânea, tamisação e eliminação de detritos e gordura cujo princípio se baseia na afinidade dos ovos do verme com microesferas paramagnéticas (TEIXEIRA *et al.*, 2007), têm sido propostos. O método de gradiente salínico apresenta maior sensibilidade do que 12 lâminas de Kato-Katz de uma única amostra fecal de 500mg. Tais procedimentos se mostraram superiores ao Kato-Katz na detecção de ovos, porém a grande limitação destes testes é a necessidade de grande quantidade de amostra fecal e uma operacionalização mais laboriosa (PINHEIRO *et al.*, 2012).

Além de métodos parasitológicos os métodos moleculares, também métodos diretos, somam na busca de um diagnóstico confiável. Alguns métodos de PCR foram descritos como ferramentas diagnósticas para a esquistossomose mansoni (GOMES *et al.*, 2010; PONTES; DIAS NETO; RABELLO, 2002; PONTES *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2010), estes se baseiam em sequências de DNA abundantes no material genético do *S. mansoni*. Todos se mostraram eficientes na identificação dos casos positivos, mesmo em pacientes de baixa carga parasitária, e no correto diagnóstico dos casos negativos. Foram relatados pelos autores níveis de sensibilidade próximos a 90% e níveis de especificidade próximos a 100. Alguns trabalhos já mostraram o DNA específico do verme em moluscos (HANELT *et al.*, 1997; JANOTTI-PASSOS *et al.*, 1997), em águas contaminadas por cercárias (HAMBURGER *et al.*, 1998) e em fezes humanas (PONTES; DIAS-NETO; RABELO, 2002). Estudo utilizando PCR concluiu que a técnica molecular é mais sensível que o método de Kato-Katz, mesmo realizando a confecção de três lâminas de cada amostra no método coproscópico (CARNEIRO *et al.*, 2013).

Desvantagens associadas ao uso da PCR são semelhantes às encontradas em relação ao diagnóstico molecular de outras doenças. Mesmo não sendo o método diagnóstico de escolha, a PCR já se faz importante em análises individuais e na validação de novas

metodologias onde é necessário um procedimento confirmatório adicional de alto desempenho (RABELLO *et al.*, 2008).

Os ensaios imunológicos podem detectar anticorpos produzidos pelo homem contra o parasito ou antígenos liberados de diversos estágios do parasito e que se encontram na corrente sanguínea do hospedeiro. A maior parte dos métodos sorológicos descritos para o diagnóstico da esquistossomose são indiretos e se aplicam a detecção de anticorpos.

A positividade dos exames imunológicos não indica necessariamente infecção ativa por *S. mansoni*, pois os anticorpos circulantes permanecem após a cura da doença. Tais provas não são úteis para comprovação da eficácia do tratamento medicamentoso. Além disso, comumente apresentam reações cruzadas com outros helmintos e podem permanecer positivos durante anos após a cura quimioterápica (BRASIL, 2007).

Apesar dessas limitações, vários autores (COELHO; TAVARES, 1991; REY, 2001; DA FROTA *et al.*, 2011) salientam que métodos imunológicos indiretos são justificados em situações em que estão sendo estudadas áreas de baixa endemicidade, onde também é baixa a eficiência dos métodos parasitológicos. Sendo assim os testes imunológicos têm sido usados principalmente como métodos auxiliares em levantamentos epidemiológicos e para o controle de cura (BERGQUIST, 1992).

Deteção de anticorpos específicos contra as diferentes fases do parasita utilizando técnicas imunológicas tem sido sugerida como uma solução para minimizar o problema de baixa sensibilidade das técnicas parasitológicas (HAMILTON *et al.*, 1998; HANCOCK e TSANG, 1986; ROSSI *et al.*, 1991; VAN LIESHOUT *et al.*, 2000). No entanto, a sua menor especificidade na diferenciação de alta ou baixa taxa de infecção ou infecção ativa, persistência de anticorpos após o tratamento, bem como o seu custo, fazem estas técnicas inadequadas para estudos epidemiológicos e de programas de controle (DOENHOFF *et al.*, 1993; SPENCER *et al.*, 1991).

A elevada sensibilidade que pode ser atingida pelos ensaios imunológicos estimula sua utilização não somente para o diagnóstico de indivíduos de áreas endêmicas, mas em especial turistas que retornam infectados para suas cidades (DOENHOFF; CHIODINI; HAMILTON, 2004). Atualmente, a técnica mais utilizada é o método imunoenzimático *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA), que foi introduzido em 1971 por um grupo sueco (ENGVALL; JONSSON; PERLMANN, 1971) e outro holandês (VAN WEEMEN; SCHUURS, 1971).

Uma das dificuldades no desenvolvimento destes testes é a escolha dos antígenos apropriados. Muitos fatores influenciam a escolha de um antígeno ideal como: produtividade e facilidade de obtenção, elevada estabilidade em condições simples de estocagem e capacidade antigênica (RABELLO *et al.*, 2008). Os antígenos podem ser obtidos de diversos estágios evolutivos do parasito. Os mais utilizados são os extratos brutos, preparados mediante ruptura de vermes, cercárias ou ovos. O antígeno solúvel de vermes adultos (SWAP) é a fonte mais fácil e abundante de material antigênico (DOENHOFF; CHIODINI; HAMILTON, 2004). Antígenos de cercárias são menos frequentemente empregados devido a sua baixa sensibilidade e especificidade (LUNDE; OTTENSEN, 1980). O homogeneizado de ovos, conhecido como SEA, contém igualmente grande número de frações antigênicas, apesar de somente uma minoria desses constituintes ser liberada por ovos viáveis, como demonstrado por Ashton e colaboradores (2001). Sendo assim, os extratos brutos apresentam a grande vantagem de serem facilmente preparados, mas a utilização de antígenos purificados é uma possibilidade cada vez mais aceita. 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, 2013d).

Por serem de fácil preparo e terem resposta positiva no emprego em imunodiagnóstico, os extratos brutos apresentam a vantagem. 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.*, 2013a), Sm31/32 (NOYA *et al.*, 2001, 2003; SULBARAN *et al.*, 2010), RP26 (MAKAROVA *et al.*, 2003, 2005), e um antígeno larval de 37 kDa que demonstrou ser um bom marcador de susceptibilidade (WU, 2002).

Cada imunoensaio apresenta sua particularidade no diagnóstico da doença, porém, a associação de uma alta sensibilidade e especificidade para um diagnóstico preciso com simplicidade de execução é questionável (NOYA *et al.*, 1992; DOENHOFF *et al.*, 2004; GONÇALVES *et al.*, 2006; GARGIONI *et al.*, 2008; GRENFELL *et al.*, 2012b). Por exemplo:

o teste de ELISA respondeu melhor que métodos de imunofluorescência e imunoaglutinação mostrando resultados de sensibilidade e especificidade significativos (KINKEL *et al.*, 2012). Técnicas de ELISA e Western Blotting, que também tem mostrado ótimos resultados (SULAHIAN *et al.*, 2005), tem se tornado úteis no diagnóstico da esquistossomose através da pesquisa de anticorpos, adaptando-se a diversidade de antígenos disponíveis, atendendo aos critérios de sensibilidade e especificidade em áreas de baixa endemicidade (VALLI *et al.*, 1999; VENDRAME *et al.*, 2001; TURNER *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2005; SORGHO *et al.*, 2005; GONÇALVES *et al.*, 2006; GRENFELL *et al.*, 2013a, 2013c).

Os ensaios imunológicos mais promissores são, no entanto, os métodos considerados diretos por detectar antígenos do parasito ou moléculas de ácidos nucléicos em amostras de soro ou urina. Os antígenos excretados/secretados pelo *S. mansoni* na circulação do hospedeiro estão presentes exclusivamente em infecções ativas, e os níveis detectados podem ser correlacionados com a intensidade da infecção. Foi por meio da detecção de antígenos circulantes do parasito depositados nos tecidos de múmias egípcias, que hoje sabemos que a humanidade convive com a esquistossomose mansoni desde 3000 anos A.C. (MILLER; TULLOCH; KUNTZ, 1972). Adicionalmente, este achado demonstrou a grande estabilidade dos antígenos circulantes.

A grande maioria da pesquisa de antígenos circulantes é direcionada para dois antígenos principais, o CCA (Antígeno Catódico Circulante) e o CAA (Antígeno Anódico Circulante). Os métodos para detectá-los envolvem sua captura através de técnicas como ELISA, utilizando soro (DEELDER *et al.*, 1989; POLMAN *et al.*, 1998; AL-SHERBINY *et al.*, 1999) e, mais recentemente, o teste rápido-*dipstick* que usa um anticorpo monoclonal específico para uma das porções glicídicas do CCA para promover a detecção do antígeno em urina (van DAM *et al.*, 2004).

Num esforço para melhorar as técnicas para o diagnóstico de esquistossomose em nível de campo, Van Dam *et al.* (2004) avaliaram um teste imunocromatográfico desenvolvido para a detecção de CCA na urina e alegaram que tal teste possui alta sensibilidade bem como especificidade para o estudo da esquistossomose. No entanto, é de importância prática avaliar a eficácia de uma nova técnica em vários países endêmicos da esquistossomose antes de sua aplicação para o diagnóstico de rotina ou epidemiologia (LEGESSE; ERKO, 2007).

Estudos realizados para determinar a aplicabilidade em campo do teste-rápido imunocromatográfico para a detecção de CCA na urina no diagnóstico da esquistossomose têm demonstrado que o método é valioso para a detecção de *S. mansoni* em áreas endêmicas e que

mais trabalhos são necessários para avaliar a especificidade do teste em área tropical não-endêmica para esquistossomose (MIDZI *et al.*, 2009).

A avaliação do Antígeno Anódico Circulante (CAA) e do antígeno catódico circulante (CCA) no soro ou urina de indivíduos infectados utilizando ELISA tem sido proposto como uma técnica alternativa para superar os problemas inerentes à detecção de anticorpos (DEELDER *et al.*, 1989; VAN ETEN *et al.*, 1994; VAN LIESHOUT *et al.*, 1993, VAN LIESHOUT; POLDERMAN; DEELDER, 2000). No entanto, a aplicabilidade de técnicas baseadas em ELISA é menos visível numa situação do terceiro mundo onde há restrições financeiras e onde as configurações de laboratório não estão bem desenvolvidas. Além disso, o ELISA não pode ser rotineiramente utilizado no campo (LEGESSE; ERKO, 2007).

1.9 Antígenos circulantes na esquistossomose

Os parasitos excretam e secretam vários antígenos na circulação do hospedeiro. Esses antígenos podem ser classificados de acordo com o estágio evolutivo do parasito – antígenos cercarianos (ABDEL; PHILLIPS; ZODDA, 1983; HAYUNGA *et al.*, 1986), antígenos de verme adulto (antígenos do tegumento do verme (DARVERN *et al.*, 1990; HOUBA *et al.*, 1976) ou antígenos do intestino do parasito (DEELDER *et al.*, 1994), sendo estes os principais antígenos liberados na circulação do hospedeiro pela constante regurgitação de material não digerido (LIESHOUT, 1996)), e antígenos de ovo (principalmente liberados por fluidos advindos do ovo (HASSAN; BADAWI; STRAND, 1992; RIPERT *et al.*, 1988)).

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). O tubo digestivo abriga os principais antígenos circulantes produzidos pelos vermes. O uso de anticorpos monoclonais específicos contra os antígenos circulantes mostrou intensa marcação no ceco ramificado de vermes adultos, por microscopia confocal (DE WATER; FRANSEN; DEELDER, 1987; BORGES *et al.*, 1994).

Machos e fêmeas adultas, principalmente, ingerem uma grande quantidade de hemácias. O sangue digerido é hemolisado em seus intestinos: no caso das fêmeas adultas, cerca de 330 mil hemácias por hora, enquanto que nos machos adultos cerca de 30 mil hemácias por hora (LAWRENCE, 1973). No esôfago do verme há hemolisina que libera a hemoglobina para

o tubo digestivo, onde é catalisada em peptídeos ou aminoácidos livres, essenciais para o desenvolvimento, o crescimento e a reprodução dos parasitos. Estes peptídeos difundem-se para as células do trato gastro intestinal do parasito ou são incorporados por estas (BOGITSH, 1989). Da digestão da hemoglobina sobra a porção globina que é utilizada, e o produto final da oxidação do grupo heme, caracterizado como hemozoína, produto que é regurgitado devido aos movimentos peristálticos do parasito e que acaba acarretando a excreção/secreção de antígenos isolados pertencentes ao próprio sistema digestivo do parasito (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

Dentre tantos antígenos excretados/secretados pelo verme na corrente sanguínea do hospedeiro, destacam-se dois, o Antígeno Catódico Circulante (CCA) e o Antígeno Anódico Circulante (CAA), glicoproteínas carregadas eletronicamente em pH=8,2. Os estudos mais detalhados que datam de 1980 a 1985 se baseiam em análises de fluorescência - estudos feitos com camundongos infectados por cercárias de *S. mansoni* apresentaram os antígenos circulantes em macrófagos do fígado antes de três semanas após a infecção, sendo ainda reconhecidos após sete semanas (VAN MARCK; DEELDER; GILGASE, 1980; EL-DOSOKY; VAN MARCK; DEELDER, 1984; DEELDER *et al.*, 1985; AGNEW *et al.*, 1995), mostrando-se presentes na fase inicial da infecção e que da terceira a sétima semana de infecção, a quantidade de CCA e CAA aumenta gradativamente (DE WATER; FRANSEN; DEELDER, 1987). Testes *in vitro* resultaram no CCA sendo excretado/secretado por esquistossômulos imediatamente no início da cultura. Comparando a excreção de antígenos pelo sexo observou-se que fêmeas jovens e adultas produziram mais antígenos que machos, sendo a concentração de CCA superior a de CAA (VAN DAM *et al.*, 1996).

Já foi demonstrado que ambos antígenos são encontrados em grânulos ou corpos inclusos, similares morfológicamente a lisossomos, e em vesículas endocíticas nos macrófagos dos hospedeiros e que geralmente formam imunocomplexos e possuem significativa imunogenicidade com forte capacidade de ligação com anticorpos IgM e IgG, característica que os torna capazes de serem detectados em pacientes na fase aguda e crônica (DE WATER; FRANSEN; DEELDER, 1987).

A detecção desses antígenos na circulação de potenciais hospedeiros oferece um grande leque de métodos de diagnóstico, aplicações epidemiológicas. Pesquisas como a quantificação de carga parasitária; avaliação da eficácia quimioterápica para mensurar o impacto das ações de controle. A detecção dos antígenos circulantes pode fornecer junto à contagem de ovos, informações sobre a dinâmica da população de parasitos e isso pode, por exemplo, ser utilizado na avaliação de futuras vacinas, especialmente se estas tiverem impacto

sobre a produção de ovos dos parasitos, o que afetaria ainda mais a confiabilidade do diagnóstico parasitológico (LIESHOUT, 1996).

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 *Schistosoma japonicum*. Segundo Deelder *et al.*, 1976; Ismail, James e Webbe, 1984; Quian e Deelder, 1983; tais antígenos estão presentes na circulação de indivíduos parasitados por *S. mansoni*, *S. japonicum* e *S. hematobium*. Posteriormente, Berggren e Waler (1967) descreveram, um antígeno na urina de ratos e hamsters infectados com *Schistosoma mansoni*, este foi o objeto de estudo de Deelder *et al.*, 1976, 1980; Gold, Rosen e Weller, 1969; Nash *et al.*, 1974; Nash, Nasir e Jeanloz, 1977; Nash, Prescott e Neva, 1974 - trabalhos que resultaram em, ser este antígeno, uma glicoproteína termoestável, de alto peso molecular, fortemente negativa em pH 8,2 (devido sua mobilidade eletroforética sob pH neutro o antígeno foi nomeado de Antígeno Anódico Circulante (CAA), solúvel em ácido tricloroacético (TCA) e encontrados nos primórdios celulares do intestino em cercárias e nas células do intestino de esquistossômulos e vermes adultos.

Um segundo antígeno também termoestável e solúvel em TCA, porém com carga positiva em pH 8,2, foi descrito, independentemente, por Carlier *et al.* (1975) como antígeno "M" e por Deelder *et al.* (1976) como Antígeno Catódico Circulante, CCA (devido sua mobilidade eletroforética sob pH neutro), sendo este uma glicoproteína de baixo peso molecular cuja população de polissacarídeos contém repetidas unidades de trissacarídeos Lewis X (van DAM *et al.*, 1994), As características de cada antígeno circulantes estão sumariamente expostas na Tabela 1.

Tabela 1. Características do CAA e CCA¹

Características	Referências
<u>CAA</u>	
Antígeno Anódico Circulante	01
Também conhecido por GASP	02, 03, 04
Carregado negativamente	05
As cadeias de carboidratos são compostas por múltiplos dissacarídeos contendo N-acetil-galactosamina e ácido glucurônico	06
<u>CCA</u>	
Antígeno Catódico Circulante	01
Também conhecido por Antígeno M	07, 08
Carregado Positivamente	01
As cadeias de carboidratos consistem em múltiplos trissacarídeos: unidades contendo fucose e galactose (unidades Lewis X) e N-acetil-galactosamina	09
Contém alguns epítomos que apresentam reação cruzada com ovos de <i>Schistosoma</i>	10
<u>Ambos os Antígenos são</u>	
Gene específicos	08, 11
Solúveis em TCA	01, 08, 11
Termoestáveis	01, 05, 08
Sensíveis ao periodato	01, 08, 11
Produzidos no epitélio do sistema digestivo de vermes adultos	12, 13, 14, 15
Presentes nas células primordiais do sistema digestivo de cercárias e esquistossômulos	14, 15, 16
Presentes nos seguintes tecidos de hospedeiros:	
Soro e Urina	01, 05, 07, 17
Leite materno (somente CCA)	18
Rins, Fígado e Baço	13, 19, 20, 21
Extremamente estáveis, como demonstrado pela detecção de CAA em tecidos de múmias	22, 23

¹ Lieshout, LV. 1996.

Fontes: (01). DEELDER *et al.*, 1976; (02). VON LICHTENBERG; BAWDEN; SHEALEY, 1974; (03). NASH; NASIR; JEANLOZ, 1977; (04). NASH; DEELDER, 1985; (05). BERGGREN; WELLER, 1967; (06). BERGWERFF *et al.*, 1994; (07). CARLIER *et al.*, 1975; (08). CARLIER; BOUT; CAPRON, 1978; (09). van DAM *et al.*, 1994; (10). DEELDER *et al.*, 1996; (11). NASH; PRESCOTT; NEVA, 1974; (12). NASH, 1974; (13). DEELDER *et al.*, 1980; (14). DE WATER; FRANSEN; DEELDER, 1986; (15). DE WATER; FRANSEN; DEELDER, 1987; (16). ANDRADE; SADIGURSKY, 1978; (17). GOLD; ROSEN; WELLER, 1969; (18). SANTORO *et al.*, 1977; (19). DEELDER *et al.*, 1985; (20). EL DOSOKY; van MARCK; DEELDER, 1984; (21). SOBH *et al.*, 1987; (22). DEELDER *et al.*, 1990; (23). MILLER *et al.*, 1992.

Deelder e colaboradores (1985) sugerem que ambos antígenos circulantes se depositam no glomérulo renal. O CCA, com seu peso molecular em torno de 30 kDa, pode ser facilmente detectado na urina de pacientes infectados pelo *S. mansoni* (DE CLERCQ *et al.*, 1997). Em amostras de urina de camundongos infectados obtidas em sete semanas, o CCA novamente se mostrou o antígeno mais predominante dentre os circulantes (van DAM, 1995; van DAM *et al.*, 1996).

Para o diagnóstico em campo e acompanhamento de quimioterapia da esquistossomose, há necessidade urgente de testes simples e confiáveis, que sejam aplicáveis em áreas endêmicas (CHITSULO; LOVERDE; ENGELS, 2004; van LIESHOUT *et al.*, 1992, van LIESHOUT; POLDERMAN; DEELDER, 2000). A fim de responder a questão da simplicidade em imunodiagnóstico na infecção pelo esquistossomo, alguns testes usam urina, amostra em que o marcador apropriado, anticorpos ou antígenos, são expressos e podem ser detectados (REN LI; LIAN HUA; PING FANG, 2004).

Técnicas imunológicas que detectam os antígenos circulantes têm sido desenvolvidas e estão sendo usadas para fins de pesquisa (DEELDER *et al.*, 1994). A existência destes antígenos circulantes na urina e no soro, sem variação significativa ao longo de um período de tempo curto (DISCH *et al.*, 1997; POLMAN *et al.*, 1998) e depuração rápida após a quimioterapia bem sucedida inspirou alguns pesquisadores a desenvolver uma fita de diagnóstico simples e rápida como uma boa alternativa a outros métodos convencionais para o diagnóstico da esquistossomose com o princípio da imunocromatografia. Os anticorpos monoclonais usados no teste são espécie específicos, podendo detectar infecções por *Schistosoma mansoni*, *S. hematobium*, *S. japonicum* e *S. mekongi* (DE JONGE *et al.*, 1990; DEELDER *et al.*, 1994; KREMSNER *et al.*, 1994; van DAM *et al.*, 2004; van ETTEN *et al.*, 1994; VAN'T WOUT *et al.*, 1992), e de preferência o teste deve usar urina.

Com base nesses estudos surgiu um kit de diagnóstico que visa detectar o CCA na urina de indivíduos infectados Point-of-care – CCA (POC-CCA), tal procedimento vem sendo extensamente utilizado no continente africano, inclusive em trabalhos maiores feitos concomitantemente em 5 países do continente (COLLEY *et al.*, 2013; LEGESSE; ERKO, 2007; STOTHARD *et al.*, 2006; van DAM *et al.*, 2004; van LIESHOUT; POLDERMAN; DEELDER, 2000). Nós resolvemos avaliar esse kit em uma área de baixa endemicidade aqui no Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia de um kit de diagnóstico, antes e após tratamento específico, para esquistossomose mansoni que detecta o CCA (Antígeno Catódico Circulante), em comparação com um método parasitológico e um imunológico em moradores de uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará.

2.2. Objetivos específicos

1. Realizar o método imunocromatográfico para o diagnóstico do *S. mansoni*, na pesquisa de antígeno CCA na urina de moradores da comunidade em estudo;
2. Realizar o método parasitológico Kato-Katz para o diagnóstico do *S. mansoni* na comunidade em estudo;
3. Realizar o método imunológico ELISA para o diagnóstico do *S. mansoni*, em moradores da comunidade em estudo;
4. Comparar a eficácia do método de diagnóstico imunocromatográfico na pesquisa de antígeno CCA na urina com os outros métodos utilizados.
5. Mensurar o grau de confiabilidade dos testes pela concordância dos resultados encontrados utilizando o índice kappa (k).
6. Reavaliar o CCA com 3 e 6 semanas pós-tratamento e comparar com os resultados antes do tratamento.

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo longitudinal e intervencionista com três cortes.

3.2 Área de estudo e sua caracterização

O estudo foi realizado na localidade de Bananeiras, município de Capistrano, cidade localizada no sopé da serra, a 154 metros de altitude e situada a 140 km de Fortaleza com área de 194,797 km². O município conta com uma população estimada de 17.063 habitantes (Figura 2).

Figura 2. Mapa do estado do Ceará localizando o Município de Capistrano, 2013.



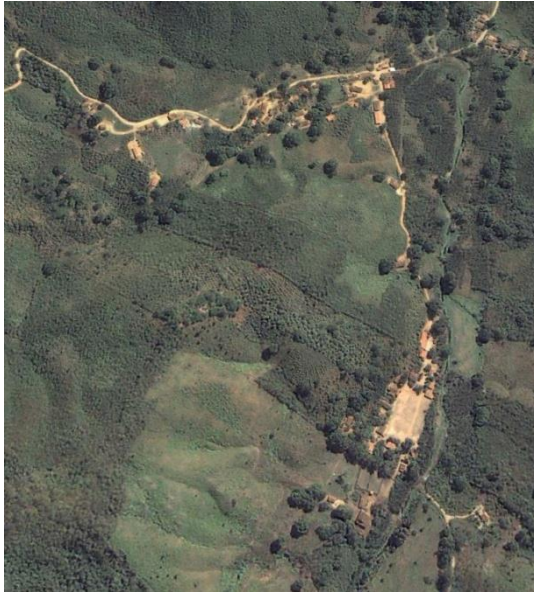
Fonte: Wikipédia, acessado em 06 de novembro de 2013.

Bananeiras é uma localidade rural (Figuras 3) composta por cerca de 300 habitantes. A agricultura e o comércio local são as principais atividades econômicas da comunidade que possui o Rio Aracoíaba como principal fonte de água, além de poços artesianos (Figuras 4). A maioria das casas possuem fossa sanitária e banheiro. Os cuidados básicos de saúde estão a cargo de uma equipe, que é formada por um agente e um técnico, alocados em um único Posto

de Saúde. Um médico e uma enfermeira atendem os pacientes do distrito duas vezes por mês. Os casos mais graves são enviados para Capistrano.

A região é endêmica para a esquistossomose e isto vem sendo documentado desde os primeiros inquéritos realizados no Ceará (PECE,1976), o que reforçou a escolha por ser essa a área de estudo.

Figura 3. Localidade de Bananeiras vista de satélite, 2013.



Fonte: Google Earth, 2013.

Figura 4. Localidade de Bananeiras, aplicação do questionário e assinatura do TCLE, 2013.



Fonte: Arquivos LPBM

3.2.1 População

Todos os moradores da localidade, 297 indivíduos, foram convidados a participar do estudo. Aceitaram participar do estudo 285 pessoas. Isso é resultado.

3.2.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo os moradores da localidade acima mencionada, com idade superior a 02 anos, de ambos os sexos, que concordaram em participar do projeto e que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). No caso dos indivíduos menores de idade, a autorização para participação da pesquisa ficou a cargo dos pais ou do responsável pelas crianças.

3.2.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os indivíduos que não disponibilizaram alguma das amostras solicitadas e/ou que não entregaram amostras suficientes para a realização dos procedimentos.

3.3 Aplicação de questionário socioambiental

Foi realizada uma palestra sobre Esquistossomose para a comunidade, quando foram repassadas algumas informações importantes sobre a doença. Foi explicada também a pesquisa em si assim como o Termo de Consentimento e esclarecidas todas as dúvidas. Os indivíduos que concordaram com a participação no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Foi aplicado um questionário socioambiental aos participantes da pesquisa, em visitas domiciliares. Sendo este material composto por perguntas a respeito das condições demográficas, sociais, de saúde do indivíduo e sobre alguns aspectos da esquistossomose.

Para os indivíduos menores de idade que participaram da pesquisa foi necessário que os pais autorizassem a participação dos mesmos, sendo estes os responsáveis pela assinatura do Termo de Consentimento destas crianças e pela resposta ao questionário socioambiental das mesmas. Contudo ainda, o indivíduo menor de idade que sabia ler e escrever assinou o Termo de Assentimento (Apêndice B).

3.4 Grupo de estudo

Com o objetivo de comparação futura com outros trabalhos, decidimos dividir os resultados obtidos de acordo com três grupos: total – todos os indivíduos participantes; crianças – indivíduos com idade igual ou inferior a 15 anos, e adultos – indivíduos com idade superior a 15 anos.

3.5 Coleta do material

3.5.1 Coleta parasitológica e urinária

Foram distribuídos, na casa de cada morador que concordou em participar da pesquisa, frascos de coleta (coletor universal), rotulados e identificados, com tampa e espátula: um frasco para fezes e outro para urina, constando o nome do morador, número de identificação e a data da coleta.

Decorridas 24 horas, os frascos foram recolhidos e levados ao posto de saúde da localidade onde foram confeccionadas 03 lâminas de Kato-Katz da amostra de fezes de cada paciente. Do frasco com urina foi realizado o teste imunocromatográfico.

Após a realização dos exames com as fezes e urina, parte do material armazenado para posterior análises e o restante foi descartado em sacos plásticos e mandado para incineração junto ao lixo biológico do Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Análises Clínicas /LACT / FFOE/ UFC.

3.5.2 Coleta sorológica

A coleta foi realizada na segunda visita à casa do participante do estudo, momento também da entrega do material fecal e urina pelos moradores. Para o exame sorológico foi necessário a coleta de 10mL do sangue venoso. A separação do soro foi feita no posto de saúde da comunidade, sendo posteriormente transportado sob refrigeração para o Laboratório de Parasitologia e Biologia de Moluscos da UFC (LPBM). As amostras sorológicas foram armazenadas em freezer, a menos 20°C, para posterior análise pelo método ELISA. Após essa análise os soros foram armazenados em biorepositório. Os soros foram enviados para o Instituto René Rachou, Belo Horizonte, Minas Gerais onde foi realizado o teste de ELISA.

3.6 Métodos de diagnóstico

Foram utilizados três tipos de métodos de diagnóstico: método coproscópico ou parasitológico usando fezes, método imunoenzimático usando soro e método imunocromatográfico usando urina.

3.6.1 Método de Kato-Katz

A coproscopia foi baseada na técnica de Kato-Katz (Katz *et al.*, 1972), com a alteração do número de lâminas, que passou de 1 para 3 em cada amostra.

A) Fundamento:

O método de Kato-Katz é uma técnica qualitativa e quantitativa que usa de material clarificante, verde malaquita, afim de favorecer uma boa visualização dos ovos de *S. mansoni* que podem existir na amostra fecal.

B) Procedimento:

Este método foi realizado utilizando o kit Helm-Test[®], Figura 5, onde foi colocada a tela, vinda com o kit, sobre as fezes, pressionando-as com o auxílio de uma espátula. O material passado pela tela foi colhido e depositado no orifício do cartão presente no kit, que deve estar sobre a lâmina. Depois de preenchido completamente o orifício, retirou-se o cartão, deixando as fezes sobre a lâmina de vidro, a quantidade que permanece sobre a lâmina corresponde a cerca de 43mg de fezes. Cobriram-se as fezes com lamínula de celofane, previamente embebida em solução de verde-malaquita, inverteu-se a lâmina sobre a bancada coberta com papel ofício pressionando-a contra o papel para a formação de uma camada delgada entre lâmina e lamínula. As lâminas foram levadas para a estufa seca e encaminhadas para o Laboratório de Parasitologia e Biologia de Moluscos da UFC para posterior análise ao microscópio. O exame consiste em percorrer toda a superfície delimitada por uma lamínula, fazendo a contagem do número de ovos de *S. mansoni*; multiplicar o número de ovos encontrados pelo fator de conversão (24), o que corresponderá ao número de ovos por grama de fezes.

Foram preparadas três lâminas de cada indivíduo, através da técnica descrita acima, para pesquisa dos ovos de *S. mansoni* e de outros helmintos.

Figura 5. Kit Helm-Test[®], lâminas e lamínulas embebidas em verde malaquita, material necessário no procedimento do método Kato-Katz, 2013.



Fonte: Arquivos LPBM

3.6.2 ELISA

O método sorológico utilizado foi o ELISA na detecção de IgG contra antígeno de verme adulto (SWAP).

A) Fundamento:

O método de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) tem como princípio a reação antígeno-anticorpo, cuja técnica combina a especificidade de um anticorpo à sensibilidade de um ensaio enzimático simples. Tal ensaio se baseia no uso de um antígeno conjugado com uma enzima, que ao reagir com seu substrato, dá origem a um produto colorido. Esta mudança de cor é monitorada com o uso de um espectrofotômetro para determinar a proporção de desvio da luz e referenciá-la com a quantidade de anticorpo presente.

B) Procedimento:

Microplacas de ELISA, contendo 96 alvéolos com capacidade para 200 μ L, foram sensibilizadas com 100 μ L do antígeno SWAP na concentração de 0,18 μ g/ μ L diluído no tampão carbonato-bicarbonato (pH 9,6) e então incubadas durante uma noite, sob proteção da luz, na

geladeira. Em seguida as placas foram lavadas quatro vezes com a solução de lavagem e secas. Foram adicionados 100µL de solução de bloqueio às placas já sensibilizadas com o respectivo antígeno, e levadas para a estufa de CO², a 37°C por 1 hora, em seguida foram lavadas por quatro vezes com solução de lavagem e secas. 100µL de soro diluído foi colocado em cada alvéolo e incubado por uma hora sob proteção da luz à temperatura ambiente. Após esse período, as placas foram novamente lavadas cinco vezes e secas. Foram então adicionados 100µL de conjugado (IgG humano conjugado com peroxidase) em cada alvéolo na diluição de 1/60.000. As placas foram incubadas novamente por mais uma hora em temperatura ambiente. Após cinco lavagens, foram secas e adicionado 100µL de revelador em cada poço e deixado 8 minutos em repouso, a reação foi então interrompida com a adição de 50µL da solução de parada em cada alvéolo.

As leituras foram realizadas no Leitor de ELISA a 450nm. Todas as análises foram feitas em duplicata. Foram consideradas positivas as reações com densidade óptica (DO) acima do valor do “cut off” = 0,448, o qual foi determinado usando-se a média mais dois desvios padrões da leitura em DO obtido de 32 soros do grupo controle.

3.6.3 Pesquisa de Antígeno Catódico Circulante (CCA)

Para o método de diagnóstico imunocromatográfico na pesquisa de antígeno CCA na urina usamos o kit Bilharzia (*Schistosoma*) da Rapidmedical Diagnostics® (Figura 6).

Figura 6. Kit Bilharzia (*Schistosoma*) da Rapidmedical Diagnostics®, 2013.



Fonte: Arquivos LPBM.

A) Fundamento:

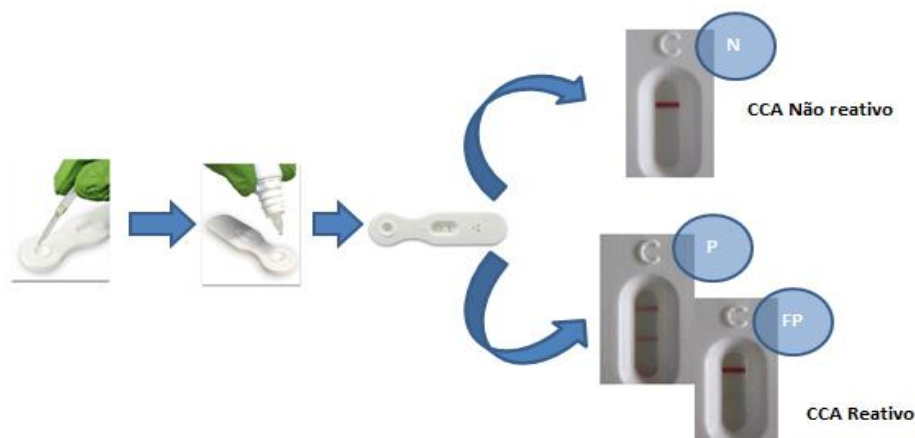
O antígeno presente na amostra se liga ao anticorpo monoclonal imobilizado no dispositivo provocando uma reação junto a solução tampão acarretando a coloração na região teste.

B) Procedimento:

Certo volume de urina foi retirado da amostra coletada e transferida uma gota para o recipiente circular do dispositivo de teste por meio de ampola vinda com o teste, foi adicionada uma gota do tampão e após vinte minutos, feita a leitura .

Após aplicação da urina, o antígeno CCA que podia estar presente nas amostras combinou-se com o anticorpo monoclonal imobilizados no tecido/membrana do dispositivo. A solução correu sobre a fita aonde o complexo de antígeno/anticorpo foi se combinar com o outro complexo de anticorpo imobilizado na fita de teste formando uma faixa cor de rosa. A segunda faixa foi a de controle processual, que deve sempre aparecer para confirmar que o dispositivo funciona da forma correta. A intensidade da linha é relativamente qualitativa à intensidade da infecção e nesse estudo de acordo com a intensidade as amostras reativas para o CCA foram classificadas em Reativas fracamente positivas (T) e reativas positivas (P), às amostras não reativas classificou-se como Negativas (N) A figura 7 exemplifica o procedimento do teste imunocromatográfico utilizado.

Figura 7. Procedimento do teste imunocromatográfico, 2013.



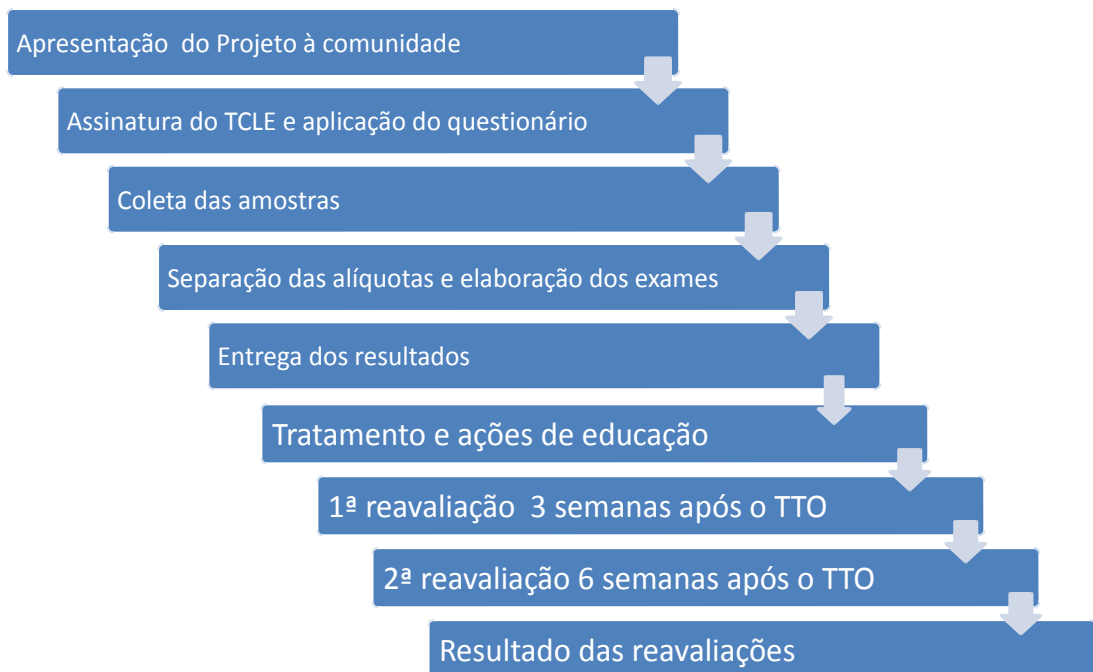
3.7 Tratamento e reavaliação

Após a realização dos exames todos os pacientes que apresentaram resultados positivos (Kato-Katz e CCA), para esquistossomose, foram tratados com Praziquantel® 60 mg / kg / DU, no caso de indivíduos com idade abaixo ou igual 15 anos e com a mesma droga na dosagem de 50mg / kg / DU no caso de indivíduos acima dessa idade. Esse medicamento foi disponibilizado pela Secretaria de Saúde do Estado do Ceará. A prescrição e administração foram supervisionadas pelo médico e enfermeiros da Atenção Básica de Saúde do Município de Capistrano.

O tratamento ocorreu em duas etapas: na 1ª etapa foram tratados os pacientes reativos para o CCA e Kato-Katz, e na segunda etapa foi disponibilizado o tratamento para os demais habitantes da comunidade e àqueles que não participaram da 1ª etapa.

Após 3 semanas do tratamento foi realizada uma 1ª reavaliação utilizando o diagnóstico imunocromatográfico na pesquisa de antígeno CCA, e após 6 semanas do tratamento uma 2ª reavaliação foi efetuada utilizando o mesmo procedimento. A figura a seguir esquematiza em fluxograma (Figura 8) as etapas do estudo:

Figura 8. Fluxograma das etapas do estudo, 2013.



Fonte: O autor.

3.8 Análise estatística

Um banco de dados foi elaborado com o auxílio do Programa Microsoft Office Excel 2010 para organização e armazenamento dos dados pessoais, clínicos e laboratoriais dos pacientes.

Os dados foram analisados utilizando o programa STATA 12 com a aplicação de testes para avaliar as proporções correlacionadas e o software online MedCalc versão 14.10.2. Diferenças foram consideradas significativas em um $P < 0,05$. O teste imunocromatográfico foi avaliado em termos de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo. O grau de concordância entre métodos de diagnóstico foi determinado pelo coeficiente kappa (k). VOCE FEZ VALOR PREDITIVO????

3.8.1 Coeficiente Kappa

O Coeficiente Kappa pode ser definido como uma medida de associação usada para descrever e testar o grau de concordância (confiabilidade e precisão) na classificação. Apesar de largamente utilizado para o estudo de confiabilidade, este método estatístico apresenta limitações na medida em que não fornece informações a respeito da estrutura de concordância e discordância, muitas vezes, não considerando aspectos importantes presentes nos dados. Landis; Koch caracterizaram diferentes faixas para os valores kappa, segundo o grau de concordância que eles sugerem: $k=0$, sem concordância; $k = 0-0.2$, concordância fraquíssima; $k = 0.21-0.4$, concordância fraca; $k = 0.41-0.6$, concordância moderada; $k = 0.61-0.8$, boa concordância; $k = 0.81-1.0$, concordância perfeita. (Landis e Koch, 1977).

3.9 Preceitos éticos

Todas as pessoas foram informadas sobre seus direitos que são assegurados pela Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e receberam os devidos esclarecimentos da pesquisa, do caráter participativo, e a garantia de que não haverá divulgação de nomes ou de qualquer outra informação que ponha em risco a sua privacidade.

O estudo foi submetido ao comitê de ética da Universidade Federal do Ceará e foi aprovado em 25 de março de 2013 sob o número do parecer: 302.204.

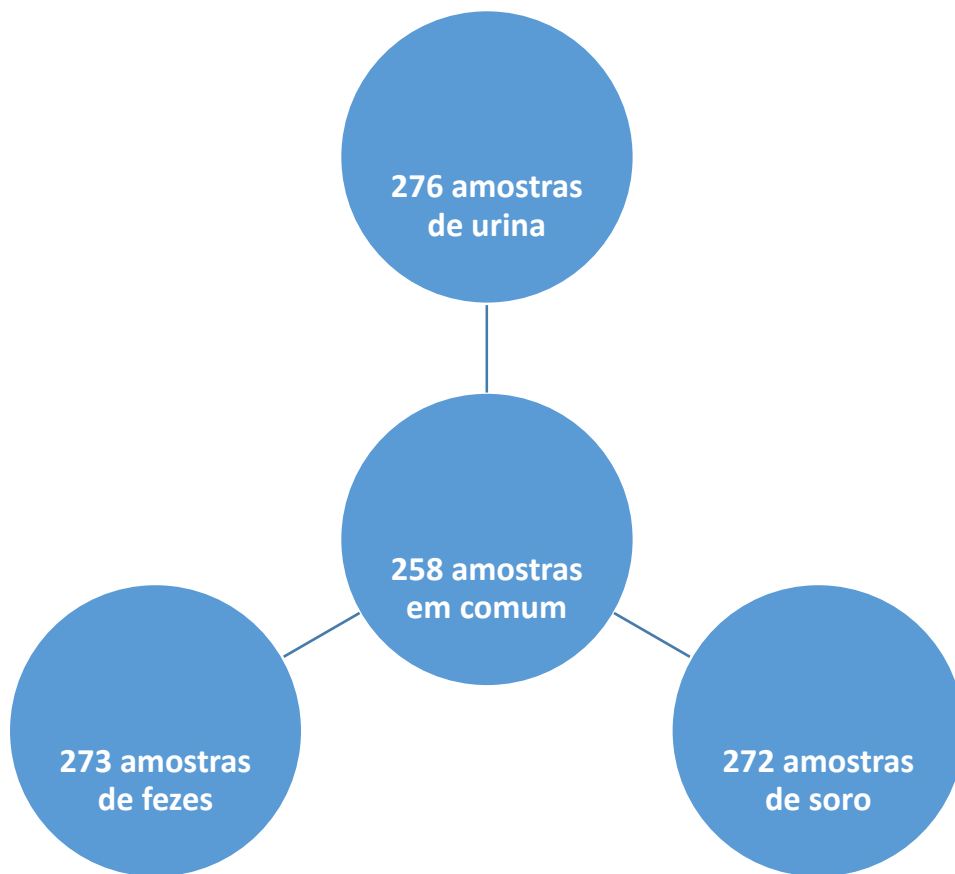
Obedecendo às normas éticas que regem a pesquisa em saúde e em seres humanos, o pesquisador antes apresentou e explicou o objetivo da pesquisa e após o esclarecimento e o consentimento por parte do entrevistado, o questionário foi respondido. O participante teve autonomia e liberdade para desistir a qualquer momento de participar da pesquisa, ressaltando que não houve desconfortos e nenhum tipo de risco para o mesmo.

Os pacientes que se apresentaram positivos no exame imunocromatográfico (CCA) foram avisados pessoalmente e orientados a receber o tratamento específico para a Esquistossomose. Cada paciente recebeu a dosagem da medicação adequada de acordo com seu peso e idade.

4 RESULTADOS

Aceitaram participar do estudo 285 indivíduos dos 297 habitantes da localidade, destes, 258 entregaram as três amostras requisitadas: urina, fezes e sangue (Figura 9).

Figura 9. Esquema demonstrativo da quantidade de indivíduos que entregaram as amostras requisitadas (sangue, fezes e urina) e da quantidade de indivíduos que entregaram as três amostras, 2013.



Fonte: O autor.

Dos 258 indivíduos analisados (grupo total), 190 tinham idade acima de 15 anos (grupo adultos) e 68 com idade entre 2 e 15 anos (grupo crianças).

Para efeito de comparação, utilizamos a combinação de resultados do Kato-Katz e dos resultados do CCA considerando os traços como negativo (CCA T=N) como sendo nosso padrão ouro. Cada grupo (total, crianças e adultos) teve seu próprio padrão ouro seguindo este parâmetro.

Comparando as possibilidades diagnósticas de cada teste temos os possíveis resultados em cada teste como por exemplo: o tempo de infecção, falsos resultados e a existência ou não da infecção (tabela 3):

Tabela 2. Possibilidades de diagnóstico comparando os testes realizados.

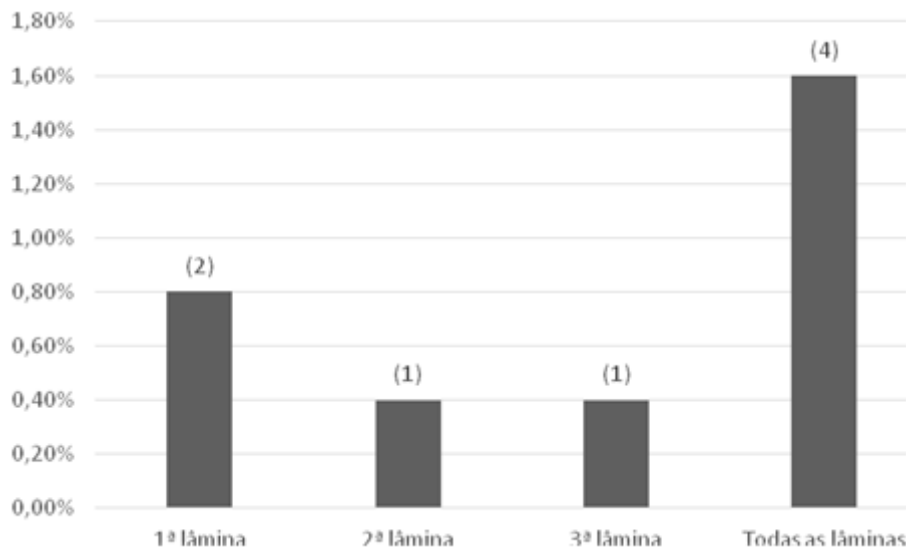
TÉCNICA	ELISA REATIVO	ELISA NÃO REATIVO
KATO-KATZ +	Infecção ativa	Infecção recente
KATO-KATZ -	Infecção passada, falso negativo, falso positivo	Sem infecção, falso negativo
	KATO-KATZ +	KATO-KATZ -
CCA REATIVO	Infecção ativa	Infecção recente, falso positivo
CCA NÃO REATIVO	Falso negativo	Sem infecção, falso negativo
	ELISA REATIVO	ELISA NÃO REATIVO
CCA REATIVO	Infecção ativa, Falso positivo	Infecção recente, falso positivo
CCA NÃO REATIVO	Infecção passada, falso negativo	Sem infecção, falso negativo

4.1 Método parasitológico Kato-Katz

No exame parasitológico, houve uma modificação da técnica, pois ao invés de uma lâmina de Kato-Katz foram preparadas três.

O número de amostras positivas para *S. mansoni* foram 4 (1,6%), sendo assim distribuídos: dois (2) positivos na 1ª lâmina (0,8%), um positivo na 2ª lâmina (0,4%) e uma amostra positiva na 3ª lâmina (0,4%) (figura 10).

Figura 10. Prevalência e distribuição do número de ovos de *S. mansoni*, por lâmina analisada através do método de Kato-Katz nas fezes dos indivíduos participantes do estudo, residentes na localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.



4.2 Método imunoenzimático - ELISA SWAP

Do total de indivíduos analisados no estudo com o ELISA SWAP, 105 se mostraram reativos e 153 não reativos.

4.3 Método imunocromatográfico – POC-CCA

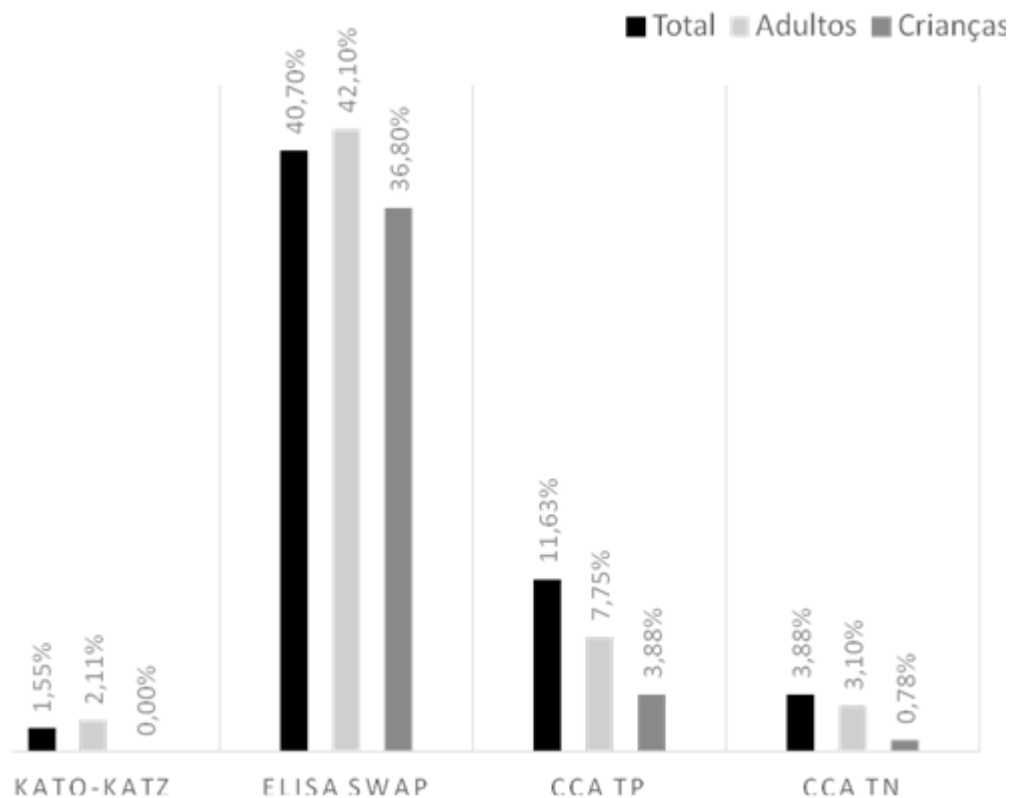
Tomando todos os reativos (P e T) dos 258 e 30(11,6%) indivíduos reativaram com o método imunocromatográfico.

Porém os elementos traço que correspondem a 20 indivíduos são resultados dúbios, podendo ser estes positivos ou negativos. Considerando-os como Não reativos temos que somente 10(3,88%) indivíduos reativaram com o POC-CCA.

4.4 Prevalência de cada método por grupos

As porcentagens de cada método utilizado no diagnóstico da doenças e por cada grupo(adultos e crianças) estão expostas no gráfico (Figura 11).

Figura 11. Prevalências da *S. mansoni* por grupo e por método utilizado nos indivíduos participantes do estudo, residentes na localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.



Dos 258 indivíduos analisados 1,55% destes foram Kato-Katz positivos, 40,70% (105 indivíduos) ELISA SWAP reativos, 11,63% (30 indivíduos) reativos no CCA TP e 3,88% (10 indivíduos) reativos no CCA TN.

Com o método Kato-Katz nenhuma crianças foi identificada como positiva, nos demais métodos a porcentagem foi de 36,80% (25 indivíduos), 3,88% (10 indivíduos) e 0,78% (2 indivíduos) foram reativos respectivamente para ELISA SWAP, CCA TP e CCA TN.

O grupo dos adultos mostrou positividade de 2,11% para o Kato-Katz e 42,10% (80 indivíduos), 7,75% (20 indivíduos) e 3,10% (8 indivíduos) de reatividade para o ELISA SWAP, CCA TP e CCA TN, respectivamente.

4.5 Comparação entre os métodos coproscópicos realizados

4.5.1 ELISA SWAP x Kato-Katz

Dos 258 pacientes, que foram avaliados através do método de Kato-Katz e do ELISA SWAP, 106 foram positivos, sendo 04 positivos no Kato-Katz e 105 no ELISA SWAP e 03 pacientes positivo em ambos os métodos.

Não se constatou diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose quando considerado o total de participantes ($p > 0,05$). A concordância medida pelo índice kappa foi baixa, sendo classificada como baixíssima. Houve uma elevação no número do kappa e diferença significativa quando se separou por grupos, como mostrado na tabela 3.

O método imunoenzimático reativou para 102 pacientes que não haviam sido detectados no método do Kato – Katz.

Tabela 3. Concordância entre o teste Kato-Katz e ELISA SWAP por grupos.

ELISA SWAP	RESULTADO	Kato-Katz		k*	p
		Positivo	Negativo		
Total	Positivo	3	102	0,026	0,159
	Negativo	1	152		
Adultos	Positivo	3	77	0,511	0,000
	Negativo	1	109		
Crianças	Positivo	0	25	0,766	0,000
	Negativo	0	43		

Estudo realizado em residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.

*k Indicador kappa: k=0, sem concordância; k = 0–0.2, concordância fraquíssima; k = 0.21–0.4, concordância fraca; k = 0.41–0.6, concordância moderada; k = 0.61–0.8, boa concordância; k = 0.81–1.0, concordância perfeita. (Landis e Koch, 1977).

p: significância estatística.

4.5.2 POC-CCA x Kato-Katz

Dos 258 pacientes, que foram avaliados através do método de Kato-Katz e POC-CCA, 33 foram reativos quando considerados os traços (T) como reativos, sendo 04 positivos no Kato-Katz e 30 no imunocromatográfico, e 1 paciente positivo em ambos os métodos.

Não se constatou diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose quando considerado o total de participantes ($p > 0,05$). A concordância medida pelo índice kappa foi baixa, sendo classificada como baixíssima. Houve uma elevação no número do kappa (concordância perfeita) e diferença significativa quando separou-se por grupos, como mostrado na tabela 4.

O método imunocromatográfico com traços considerados reativos reativou para 29 pacientes que não haviam sido detectados no método do Kato-Katz.

Tabela 4. Concordância entre o teste CCA TP e Kato-Katz por grupos.

CCA TP	Kato-Katz				
	RESULTADO	Positivo	Negativo	k*	p
Total	Positivo	1	29	0,032	0,400
	Negativo	3	225		
Adultos	Positivo	1	19	0,812	0,000
	Negativo	3	167		
Crianças	Positivo	0	10	0,903	0,000
	Negativo	0	58		

Estudo realizado em residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.

*k Indicador kappa: $k=0$, sem concordância; $k = 0-0.2$, concordância fraquíssima; $k = 0.21-0.4$, concordância fraca; $k = 0.41-0.6$, concordância moderada; $k = 0.61-0.8$, boa concordância; $k = 0.81-1.0$, concordância perfeita. (Landis e Koch, 1977).

CCA TP: Traço sendo considerado Reativo; p: significância estatística.

Quando se considerou os traços como não reativos (CCA TN), dos 258 pacientes, 13 foram reativos, sendo 04 positivos no Kato-Katz e 10 no POC-CCA, e 01 paciente positivo nos dois métodos.

Constatou-se diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose quando considerado o total de participantes ($p < 0,05$). A concordância medida pelo índice kappa foi baixa, sendo classificada como baixíssima, porém ocorreu uma elevação no número do kappa (concordância perfeita) e houve diferença significativa quando se separou por grupos, como mostrado na tabela 5.

O método imunocromatográfico com traços considerados não reativos reativou para 9 pacientes que não haviam sido detectados no método do Kato-Katz.

Tabela 5. Concordância entre o teste CCA TP e Kato-Katz por grupos.

CCA TN	Kato-Katz				
	RESULTADO	Positivo	Negativo	k*	P
Total	Positivo	1	9	0,123	0,027
	Negativo	3	245		
Adultos	Positivo	1	7	0,908	0,000
	Negativo	3	179		
Crianças	Positivo	0	2	0,980	0,000
	Negativo	0	66		

Estudo realizado em residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.

*k Indicador kappa: k=0, sem concordância; k = 0–0.2, concordância fraquíssima; k = 0.21–0.4, concordância fraca; k = 0.41–0.6, concordância moderada; k = 0.61–0.8, boa concordância; k = 0.81–1.0, concordância perfeita. (Landis e Koch, 1977).

CCA TN: Traço sendo considerado Não reativo; p: significância estatística.

4.5.3 POC-CCA x ELISA SWAP

Dos 258 pacientes, que foram avaliados através do método de ELISA SWAP e POC-CCA, 124 foram reativos quando considerados os traços (T) como reativos, sendo 105 positivos no ELISA SWAP e 30 no imunocromatográfico, e 11 pacientes positivo em ambos os métodos.

Não se constatou diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose quando considerado o total de participantes ($p > 0,05$). A concordância medida pelo índice kappa foi baixa (-0,022), sendo classificada como não concordante. Houve uma elevação no número do kappa e diferença significativa ($p < 0,05$) quando se separou por grupos, como mostrado na tabela 6.

O método imunocromatográfico com traços considerados reativos reativou para 19 pacientes que não haviam sido detectados no método do ELISA SWAP.

Tabela 6. Concordância entre o teste CCA TP e ELISA SWAP por grupos.

CCA TP	ELISA SWAP				k*	p
	RESULTADO	Positivo	Negativo			
Total	Positivo	11	19	-0,022	0,633	
	Negativo	94	134			
Adultos	Positivo	7	13	0,467	0,000	
	Negativo	73	97			
Crianças	Positivo	4	6	0,749	0,000	
	Negativo	21	37			

Estudo realizado em residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.

*k Indicador kappa: k=0, sem concordância; k = 0–0.2, concordância fraquíssima; k = 0.21–0.4, concordância fraca; k = 0.41–0.6, concordância moderada; k = 0.61–0.8, boa concordância; k = 0.81–1.0, concordância perfeita. (Landis e Koch, 1977).

CCA TP: Traço sendo considerado Reativo; p: significância estatística.

Quando se considerou os traços como não reativos (CCA TN), dos 258 pacientes, 111 foram reativos, sendo 105 positivos no ELISA SWAP e 10 no POC-CCA, e 04 pacientes foram positivos nos dois métodos.

Não se constatou diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose quando considerado o total de participantes ($p > 0,05$). A concordância medida pelo índice kappa foi baixa, sendo classificada

como baixíssima, porém ocorreu uma elevação no número do kappa e houve diferença significativa quando se separou por grupos, como mostrado na tabela 7.

O método imunocromatográfico com traços considerados não reativos reativou para 6 pacientes que não haviam sido detectados no método do Kato-Katz

Tabela 7. Concordância entre o teste CCA TN e ELISA SWAP por grupos.

CCA TN	ELISA SWAP				k*	P
	RESULTADO	Positivo	Negativo			
Total	Positivo	4	6		-0,001	0,963
	Negativo	101	147			
Adultos	Positivo	3	5		0,488	0,000
	Negativo	77	105			
Crianças	Positivo	1	1		0,766	0,000
	Negativo	24	42			

Estudo realizado em residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.

*k Indicador kappa: k=0, sem concordância; k = 0–0.2, concordância fraquíssima; k = 0.21–0.4, concordância fraca; k = 0.41–0.6, concordância moderada; k = 0.61–0.8, boa concordância; k = 0.81–1.0, concordância perfeita. (Landis e Koch, 1977).

CCA TN: Traço sendo considerado Não reativo; p: significância estatística.

4.5.4 POC-CCA (CCA TP x CCA TN)

Dos 258 pacientes, que foram avaliados através do método de POC-CCA, 30 foram reativos quando considerados os traços (T) como reativo (CCA TP) e 10 indivíduos reativos quando os traços foram considerados não reativos (CCA TN), portanto 20 pacientes estavam dentro dos traços (T).

Constatou-se diferença estatisticamente significativa quando se compararam as duas situações em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose quando considerado o total de participantes ($p < 0,05$). A concordância medida pelo índice kappa foi baixa (0,469), sendo classificada como moderada. Houve uma elevação no número do kappa e diferença significativa continuou ($p < 0,05$) quando se separou por grupos, como mostrado na tabela 8.

O método imunocromatográfico com traços considerados reativos reativou para 20 pacientes que não haviam sido detectados no método do ELISA SWAP.

Tabela 8. Concordância entre o teste CCA TP e CCA TN por grupos.

CCA TP	CCA TN				
	RESULTADO	Positivo	Negativo	k**	p
Total	Positivo	10	20	0,469	0,000
	Negativo	0	228		
Adultos	Positivo	8	12	0,900	0,000
	Negativo	0	170		
Crianças	Positivo	2	8	0,922	0,000
	Negativo	0	58		

Estudo realizado em residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.

*k Indicador kappa: k=0, sem concordância; k = 0–0.2, concordância fraquíssima; k = 0.21–0.4, concordância fraca; k = 0.41–0.6, concordância moderada; k = 0.61–0.8, boa concordância; k = 0.81–1.0, concordância perfeita. (Landis e Koch, 1977).

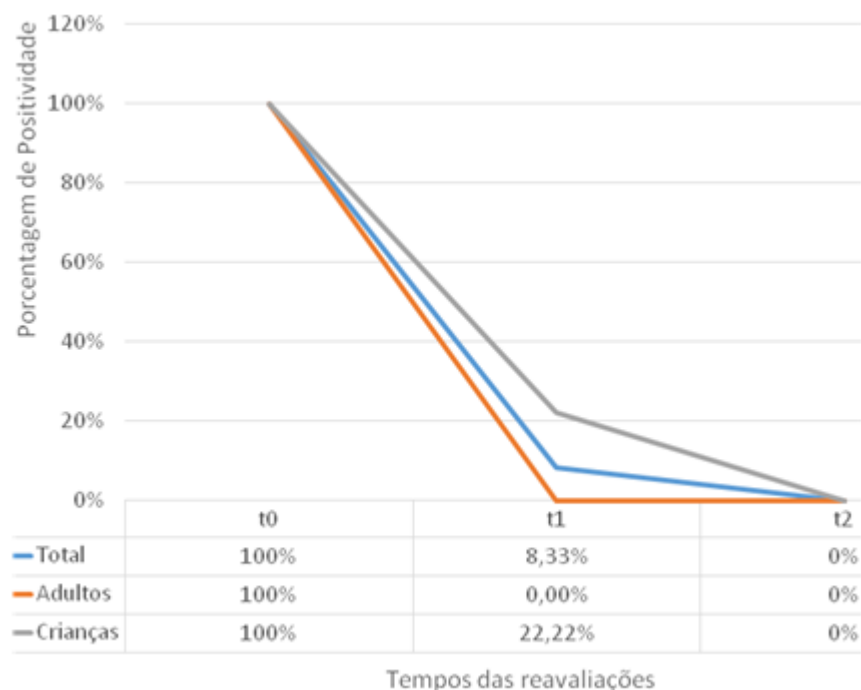
CCA TP: Traço sendo considerado Reativo; CCA TN: Traço sendo considerado Não reativo; p: significância estatística.

4.6 Reavaliações pelo POC-CCA

Após 3 semanas do tratamento dos pacientes reativos para o CCA (P e T) foi realizada a 1ª reavaliação destes a fim de verificar a persistência do antígeno pós-tratamento. Dos 30 reativos para CCA, 29 indivíduos foram tratados. A figura 12 apresenta os resultados do POC-CCA, considerando CCA TP, no decorrer das etapas do estudo: na avaliação do CCA, que ocorreu antes do tratamento (t0); na 1ª reavaliação (t1), ocorrida 3 semanas após o tratamento e na 2ª reavaliação (t2), ocorrida 6 semanas após o tratamento, etapas das quais participaram 24 indivíduos.

A Figura 12 mostra que das 24 pessoas reativas no POC-CCA antes do tratamento e que decidiram participar do estudo, 2 continuaram reativas na primeira reavaliação e nenhum na segunda reavaliação. A análise feita nos grupos mostrou que todos os 15 adultos participantes no começo das reavaliações negativaram na primeira reavaliação e continuaram na segunda reavaliação. Das 9 crianças, 2 continuaram reativas na primeira reavaliação, mas na segunda reavaliação todas negativaram.

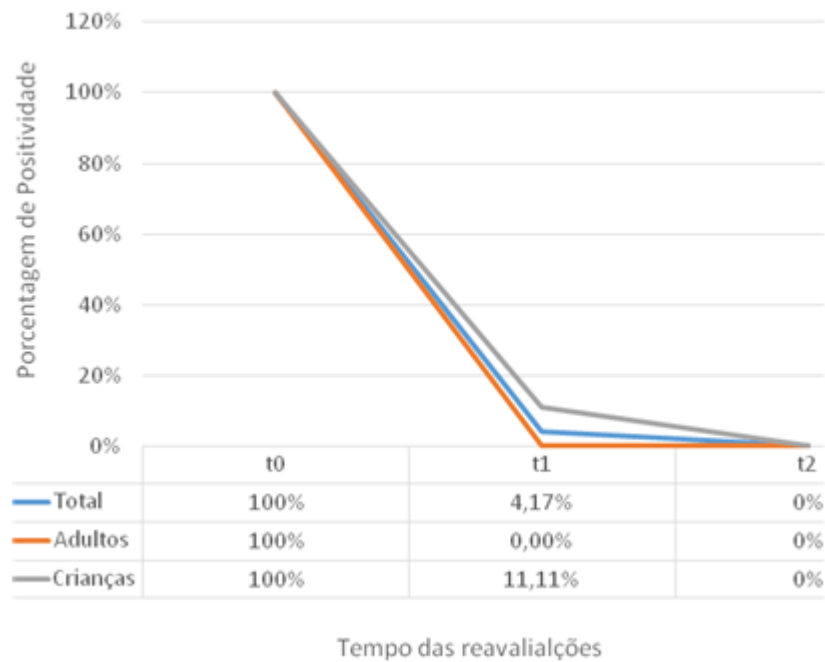
Figura 12. Percentagem de indivíduos reativos no decorrer do tempo, quanto ao método POC-CCA (CCA TP) na urina dos participantes do estudo - residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.



T0: tratamento; t1: 3 semanas após o tratamento; t2: 6 semanas após o tratamento.

Considerando CCA TN, 1 indivíduo com idade menor que 15 anos, continuou reativo na primeira reavaliação e todos negativaram na segunda reavaliação. Todos os adultos negativaram, como mostrado anteriormente. (Figura 13).

Figura 13. Percentagem de indivíduos reativos no decorrer do tempo, quanto ao método POC-CCA (CCA TN) na urina dos participantes do estudo - residentes da localidade de Bananeiras, Capistrano-CE, 2013.



t0: tratamento; t1: 3 semanas após o tratamento; t2: 6 semanas após o tratamento.

5 DISCUSSÃO

Bananeiras é historicamente um local de transmissão ativa da doença. Dados da Secretaria de Saúde do Ceará, por meio do Programa de Controle da Esquistossomose, mostraram a quantidade de positivos por ano trabalhado à partir de 2004, estes dados não revelaram a real prevalência e sim a taxa de positividade da comunidade, pois se utiliza de amostragem, como no caso do ano de 2009, quando o número de exames realizado (15 exames) foi muito pequeno para estimar a prevalência; contudo se pode concluir pelos resultados encontrados que se trata de uma região endêmica, pois sempre foram encontrados casos positivos durante os anos avaliados.

No ano de 2013, 87,7% da comunidade foi trabalhada durante nosso estudo o que acarreta números que chegam mais próximos da real prevalência da doença no local. A prevalência encontrada com o Kato-Katz foi de 1,6% caracterizando a localidade como sendo de baixa endemicidade; localidades dos municípios de Pacoti e Maranguape, também no estado do Ceará, que foram estudadas de 2011 e 2012 mostraram prevalência da doença de 3,8 e 8,75, respectivamente (DA FROTA *et al.*, 2011; PINHEIRO *et al.*, 2012). A prevalência maior que 5% encontrada por Pinheiro e colaboradores caracterizou a localidade do município de Maranguape como sendo a de maior endemicidade dentre os municípios cearenses.

No Brasil, o perfil da esquistossomose sofreu mudanças no decorrer do tempo devido aos programas de controle; pois apesar da redução na mortalidade e morbidade, por conta do sucesso do tratamento, houve expansão geográfica da doença. Além disso, a prevalência está subestimada nas áreas consideradas de baixa endemicidade, como a que foi trabalhada, muitas dessas áreas apresentam registros de casos de outras formas da doença, como a esquistossomose ectópica. (FERRARI *et al.* 2004; LAMBERTUCCI *et al.* 2005).

O método parasitológico Kato-Katz (KATZ *et al.*, 1972) devido sua especificidade, simplicidade, ter baixo custo e praticidade, principalmente em inquéritos epidemiológicos, quando as situações laboratoriais muitas vezes são precárias; é o método recomendado pela OMS em áreas de alta endemicidade (ENK *et al.*, 2008; CARNEIRO *et al.*, 2012; PINHEIRO *et al.*, 2012). Esse método não só é eficaz na avaliação do sucesso do tratamento como também detecta a intensidade e serve como um indicador seguro da infecção ativa. Apesar de tantos prós, problemas potenciais de sensibilidade e falha em identificar indivíduos com baixa carga parasitária o torna obsoleto quando aplicado em regiões de baixa endemicidade. Além de redução ou ausência de ovos nas fezes outros motivos para a baixa sensibilidade do método

são: infecções recentes ou imaturas, infecções unissexuais, inconstante, e massa fecal com poucos ovos já que muitos ficam retidos devido à fibrose da mucosa e submucosa intestinal.

A sensibilidade de uma única lâmina de Kato-Katz varia entre 25% e 50%, principalmente quando são lidas antes de uma hora da preparação; porém no caso deste estudo, o número muito baixo na prevalência pode ser explicada pelo fato da presença de ovos de *S. mansoni* em uma amostra de fezes variar mais entre dias diferentes do que entre lâminas preparadas, sendo assim, o exame de fezes obtido de amostras de diferentes dias seria ideal para se estimar a prevalência com maior precisão (UTZINGER *et al.*, 2001; BOOTH *et al.*, 2003), o que não foi feito no presente estudo, seguindo nossa metodologia. Das fezes coletadas foram preparadas 3 lâminas da mesma amostra. Assim, Kato-Katz negativos com poucas amostras e lâminas, não descartaram definitivamente a possibilidade de serem resultados falso-negativos.

Para o grupo das crianças a prevalência e intensidade das infecções por *Schistosoma* é baixo. Assim, o Kato-Katz e outros métodos de diagnóstico direto têm limitações quando se trata de diagnóstico individual preciso. Além disso, a consistência das fezes em crianças muito jovens é diarréica o que torna a preparação de da lâmina difícil, desafiando assim um diagnóstico preciso. As restrições de uso diarréico fezes, bem como fezes de bebês amamentados no diagnóstico de helmintos tem sido relatados em outros lugares. A esse respeito, é preciso considerar que nas regiões tropicais as infecções virais, bacterianas, e outras infecções parasitárias que causam diarréia, são muito comuns, e que as crianças são particularmente propensas a tais infecções. Por isso, a técnica tem de Kato-Katz lacunas para diagnóstico de helmintos neste grupo etário.

Utilizando esta técnica foram encontrados, ainda, 3 (1,2%) paciente positivos para *Ascaris lumbricoides* e 4 (1,6%) pacientes positivos para *Taenia sp.* Mostrando ainda a vantagem do Kato-Katz que abrange o diagnóstico de outras parasitoses.

Para ensaios epidemiológicos, exames repetidos se tornam pouco práticos e economicamente inviáveis. Dessa forma, esse método vem se mostrando limitado para a realização de inquéritos parasitológicos principalmente em áreas de baixa endemicidade, onde a transmissão é baixa e existem indivíduos submetidos a constantes tratamentos. A não identificação de indivíduos infectados subestima a prevalência contribuindo para o aumento da transmissão da doença.

Dos 258 pacientes, analisados com o teste imuno-enzimático ELISA-SWAP, 105 indivíduos foram reativos, indicando que 40,7% dos pacientes tiveram contato com o parasito, e desses, 23,8% eram crianças. Em outro trabalho também realizado em região de baixa

endemicidade para esquistossomose no Ceará mostrou reatividade com o ELISA-SWAP em 47,2% dos participantes do estudo (CARNEIRO *et al.*, 2012). Os resultados mostraram concordância e significância estatística somente quando se avaliou os grupos das crianças e adultos, mostrando uma concordância entre os resultados sendo boa no caso das crianças e baixa no caso dos adultos, como demonstrado na tabela 6.

Os ensaios imunológicos são necessários em algumas situações, sendo mais empregadas na fase crônica da doença (PEREIRA, 2003), apesar de também serem usados para identificar a fase pré-patente (são positivas a partir do 25º dia).

De acordo com a literatura, o estágio de desenvolvimento do parasito utilizado na produção do antígeno tem se relacionado a fase clínica da doença, de modo que, formas jovens de desenvolvimento conseguem diagnosticar a fase inicial da infecção. Esse resultado foi demonstrado em testes de ELISA utilizando SmTeg, SWAP e SEA, com alto grau de relevância para o diagnóstico precoce (GRENFELL *et al.*, 2012, 2013a, 2013b). O ELISA-SWAP possui alta sensibilidade, porém a sensibilidade do método não chega a números altos devido à ocorrência de reatividade cruzada, contudo Grenfell *et al.* (2013c) mostraram resultados em que o SWAP é melhor que o SEA em pacientes crônicos de uma área endêmica devido à menor taxa de reação cruzada.

Apesar de apresentarem maiores vantagens que o método parasitológico os imunoenaios ainda ocupam posição secundária no diagnóstico da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade; situação que aos poucos vem mudando, principalmente quando se trabalha em programas de controle da transmissão da doença (ALARCÓN DE NOYA *et al.*, 2007; FERRARI, 2010). A inclusão dos métodos imunológicos em programas de controle da esquistossomose em área de baixa endemicidade tem mostrado ser crucial para averiguar a situação da doença localmente. (ALARCÓN DE NOYA *et al.*, 1999)

A associação das técnicas moleculares e imunológicas aos testes parasitológicos mostram sensível e promissora melhoria na identificação da infecção em amostras com resultados croscópicos negativos (KINKEL *et al.*, 2012; SANDOVAL *et al.*, 2006; CAVALCANTI *et al.*, 2013).

Assim como a detecção de antígenos a detecção de anticorpos é uma estratégia que complementa o diagnóstico da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade.

Já a análise com o POC-CCA nesse estudo levou em consideração os Traços como Reativos (CCA TP) e também como Não Reativo (CCA TN).

Para este método seguiu-se as normas do fabricante do Kit Bilharzia (*Schistosoma*) da Rapidmedical Diagnostics®. Das 258 amostras de urina, 30 (11,63%) mostraram-se reativas para CCA, levando-se em consideração os Traços como Reativos (CCA TP), ver tabela 8.

A tabela 9 mostra os resultados achados com o POC-CCA considerando que CCA TN, os dados são estatisticamente significantes e a concordância entre os métodos segundo o coeficiente kappa foi alto; no total foram 10 pacientes Reativos para o CCA (3,87%), sendo 8 destes, crianças.

A prevalência encontrada com o POC-CCA, considerando que “CCA TP”, em estudos também em aldeias banhadas pelo Lago Victoria, no continente africano, localidades classificadas como de baixa endemicidade para esquistossomose; foram de 52,2%, 42,6%, 71,3% e 45,9% respectivamente (TCHUENTÉ *et al.*, 2012; STOTHARD *et al.* 2011; STANDLEY *et al.*, 2010; SOUSA-FIGUEIREDO *et al.*, 2013). Estes trabalhos foram realizados com crianças com idade inferior a 15 anos.

As discordâncias, demonstrando CCA reativo e Kato-Katz negativo, reforçam a baixa sensibilidade do método parasitológico. Coulibaly, 2011 e Obeng, 2006 afirmaram que a ocorrência de falsos-positivos no POC-CCA pode acontecer devido inflamações no trato urinário, deterioração, contaminação ou troca da amostra de urina. Casos de falso-negativo também podem ocorrer, como no caso ocorrido em outros estudos, a causa não foi elucidada.

Tem se demonstrado que o diagnóstico indireto (POC-CCA) é uma alternativa válida em detrimento dos testes diretos e que o kit comercial que detecta Antígeno Catódico Circulante (CCA) na urina é um teste promissor no diagnóstico da esquistossomose, principalmente em crianças (STOTHARD *et al.*, 2011; COULIBALY *et al.*, 2011; SHANE *et al.*, 2011; VERANI *et al.*, 2011; SOUSA-FIGUEIREDO *et al.*, 2013; STOTHARD *et al.*, 2006). O teste avalia a existência do antígeno (CCA) na urina de pacientes infectados. O antígeno também pode ser detectado no soro, seus níveis são marcadores da intensidade da infecção e a quantidade de antígeno decai algumas semanas após o tratamento, não sendo mais detectado nos testes (VAN LIESHOUT *et al.*, 1993; VAN LIESHOUT *et al.*, 1994; VAN DAM *et al.*, 1996; COULIBALY *et al.*, 2011; SHANE *et al.*, 2011; STOTHARD *et al.*, 2011)

A praticidade de seu uso e resultado rápido (em 20 min) são alguns dos benefícios que o teste traz para o diagnóstico da esquistossomose, além de detectar infecção da esquistossomose intestinal e urinária.

O CCA é liberado quando os vermes (jovens e adultos) regurgitam o que ingeriram e daí o antígeno cai na circulação, é depurado pelos rins e então pode ser capturado pelo POC-

CCA (VAN DAM *et al.*, 2004). Quando se correlaciona a carga parasitária (ovos por grama de fezes) com a intensidade da cor da banda formada no teste precisa se levar em consideração que a produção de ovos e de regurgitação terão diferentes dinâmicas diárias, que podem ocorrer infecções unissexuais e que há proporções variáveis de vermes que põem ovos (STADNLEY *et al.*, 2010). Uma pesquisa realizada em primatas não humanos verificou que aproximadamente até 17 pares de vermes adultos podem estar presente durante a infecção, porém os testes de Kato-Katz ou POC-CCA não conseguem detectar a sua presença (WILSON *et al.*, 2006).

O POC-CCA baseia-se teste de urina simples, que pode ser realizada por pessoal não especializado. Assim, ele pode ser empregado em áreas rurais remotas que não tenha acesso à mínima infraestrutura e manuseado por pessoas minimamente treinados. A coleta de amostras para o POC-CCA é mais simples e menos invasiva do que a coleta de fezes para Kato-Katz, pois o material a ser analisado é a urina, o que em si é mais fácil obter do que várias amostras de fezes para que se aumente a sensibilidade do Kato-Katz, o que torna o método imunocromatográfico vantajoso na condução de mapeamento rápido de uma região endêmica, por exemplo. O tempo gasto no campo quando comparado com a preparação do Kato-Katz ou ELISA é outro ponto a favor (cerca de 20 min para POC-CCA contra várias horas na preparação das outras técnicas). Outra vantagem é que o teste POC-CCA é capaz de detectar infecções pré-patente, enquanto o Kato-Katz só pode detectar infecções quando os vermes adultos liberam ovos (patente). O POC-CCA é um dispositivo facilmente transportável e rápido e, portanto, existe o potencial de se mapear todo o campo rapidamente, diminuindo custos em geral: diárias, salários, material de coleta, e mão de obra intensiva na preparação e leitura de Kato-Katz e outros métodos de diagnóstico.

O uso do POC-CCA é controverso devido não só pelos resultados divergentes que vem apresentando, como também pelas vantagens de se utilizar o Kato-Katz em situações como por exemplo: diagnosticar outros helmintos durante a leitura da lâmina, mensurar quantitativamente a prevalência por meio da contagem de ovos por lâmina o que se torna interessante, em levantamentos epidemiológicos e programas de controle, baratear o custo, apesar de ambos os testes terem valores próximos (aproximadamente US\$ 1.75 um único teste de CCA e US\$ 1.70 o custo para se preparar uma lâmina de Kato-Katz), porém quando se extrapola esse valor para programas que requerem grande número de exames o de menor custo se sobressai (SPEICH *et al.*, 2010; COULIBALY *et al.*, 2013). Contudo, o método parasitológico necessita de infraestrutura e material mínimo para se poder efetuar sua preparação e sua leitura: microscópio, luvas, pessoal treinado para a preparação e leitura. Já o

POC-CCA não necessita de nenhum equipamento adicional, somente uma pessoa para a leitura (COULIBALY *et al.*, 2013), como também a urina pode ser colhida, congelada e transportada para ser posteriormente analisada.

Uma dificuldade encontrada com relação ao método POC-CCA foi a leitura, que se torna muito subjetiva quando se varia o leitor, pois a análise de Traço (T) e Positivo (P) pode ser difícil de ser classificada. Na bula que acompanha o kit do teste imunocromatográfico há a informação de qual é o teste Positivo e qual o teste negativo, além de trazer também informações sobre quando o teste não funciona devidamente, mas falha ao não exemplificar os traços ou em não graduar as diferentes nuances de cor dos testes Positivos, dificultando assim a classificação quanto a reatividade do POC-CCA.

Quanto as reavaliações o que se pode perceber de acordo com os dados encontrados é que quando se compara o percentual de indivíduos que negativaram considerando CCA TP e CCA TN é que houve uma maior taxa de indivíduos reativos no primeiro grupo, demonstrando que os antes Reativos Traços (T) também negativaram o que leva a crer que há algum indício de infecção pelo *Schistosoma*, mas não podemos afirmar.

Coulibaly *et al.* (2013), considerando CCA TP verificou que 40,7% das crianças analisadas em seu estudo permaneceram reativando no POC-CCA 3 semanas após o tratamento específico, já nosso trabalho mostrou que 22,22% desse mesmo grupo continuava apresentando reatividade para o CCA. Considerando os traços como negativos o mesmo autor verificou que 23,3% das crianças analisadas em seu estudo permaneceu reativando para o POC-CCA 3 semanas após o tratamento; no nosso estudo somente 11,11% das crianças permaneceu reativo.

O grupo de adultos sofreu queda mais brusca na taxa de positividade em ambos os casos, chegando a negativarem em ambas as análises, demonstrando o sucesso terapêutico do Praziquantel. No grupo das crianças o comportamento de queda na positividade também ocorreu, porém não tão acentuado como nos adultos e na análise total. Questões de falta de aderência ao tratamento foram levantadas para se explicar a persistência de casos positivos: a falta de uma formulação líquida; tamanho dos comprimidos; quantidade de comprimidos; perda na quantidade ingerida, pois macerávamos e misturávamos ao suco ou água o comprimido a fim de melhorar a deglutição; sabor da formulação e enjoos após a administração acarretando casos de vômitos.

Alguns estudos mostram que mesmo após o tratamento, os ovos podem continuar a serem expelidos do corpo do verme morto (STADNLEY *et al.*, 2010) e que há registros em estudos que o CCA permanece na circulação algumas semanas após o tratamento, o que,

eventualmente, leva a ambiguidades nos resultados (VAN DAM *et al.*, 1996; LEGESSE *et al.*, 2007; NIBBELING *et al.*, 1998). Contudo no segundo tempo de reavaliação (seis semanas após tratamento) todos os indivíduos se mostraram não reativos ao POC-CCA o que reafirma o sucesso do tratamento.

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos podemos concluir que:

- A técnica de Kato-Katz teve sensibilidade já esperada;
- O método de ELISA mostrou-se com resultados não concordantes com os do padrão ouro;
- A técnica POC-CCA é um método prático e rápido sendo uma ferramenta útil em campo. Os resultados obtidos em nosso estudo mostram alta sensibilidade e especificidade do método;
- Seis semanas demonstrou ser um melhor tempo para a reavaliação pós tratamento;
- Utilizado o POC-CCA na avaliação pós-tratamento e comparando CCA TP versus CCA TN, verificamos que um maior percentual de indivíduos negativou, quando CCA TP.

7 RECOMENDAÇÕES

O aumento do número de lâminas de Kato-Katz colabora para o aumento da probabilidade se encontrar casos positivos como já visto em trabalhos anteriores, sendo esta uma medida eficaz para aumentar a sensibilidade do teste. O acompanhamento de pacientes negativos em regiões endêmicas pelo ELISA pode detectar novas infecções,

A leitura dos testes imunocromatográficos deve ser feita de maneira comparativa com padrões pré-estipulados a fim de se evitar viés de leitura já que essa etapa é muito subjetiva, variando de acordo com o leitor;

Com relação às avaliações pós-tratamento utilizando o POC-CCA, o tempo ideal para a leitura precisa ser estimado, levando em consideração que 6 semanas pareceu ser um período limite onde todos negativaram quanto à apresentação do Antígeno Catódico Circulante;

Uma formulação infantil para o Praziquantel é necessária para a melhor aderência do tratamento, haja visto que houve dificuldade quanto essa etapa do estudo tanto pela resistência à deglutição quanto ao medo de ocorrer efeitos colaterais e adversos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL, S.K.H.; PHILLIPS, S.M.; ZODDA, D.M. *Schistosoma mansoni*: detection and characterization of antigens and antigenemia by inhibition enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Exp. Parasitol.**, v. 55, p. 219-232, 1983.
- 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.
- 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, p. 41-49, 2007.
- ALARCÓN DE NOYA, B.; BALZAN, C.; ARTEAGA, C.; CESARI, I.; NOYA, O. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: features and evolution. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 136-146, 1999.
- 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>>. Acesso em: 20 abr. 2012.
- AL-SHERBINY, M.M.; OSMAN, A.M.; HANCOCK, K.; DEELDER, A.M.; TSANG, V.C.; Application of immunodiagnostic assays: detection of antibodies and circulating antigens in human schistosomiasis and correlation with clinical findings. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 60, n. 6, p. 960-966, 1999.
- ANDRADE, Z. A. A esquistossomose no Brasil após quase um século de pesquisas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, p. 509-513, 2002
- ANDRADE, Z. A.; SADIGURSKY, M. Immunofluorescence studies of schistosome structures which share determinants with circulating schistosome antigens. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 72, p. 316-317, 1978.
- ASHTON, R.A.; STEWART, B. T.; PETTY, N.; LADO, M.; FINN, T.; BROOKER, S.; KOLACZINSKI, J. H. Accuracy of circulating cathodic antigen tests for rapid mapping of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infections in Southern Sudan. **Trop. Med. Int. Health**, v. 16, n. 9, p. 1099-1103, 2011.
- BALZAN, C.; ARTEGA, C.; CESARI, I.; NOYA O. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: features and evolution. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 136-146, 1999.
- BARBOSA, F. S.; GONÇALVES, I. F.; MELOM M. C. V. Formas Hepatoesplênicas da Esquistossomose Mansônica no Interior do Nordeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 11, n. 2, p. 325-331, 1995.
- BEHRMAN, A. J. **Schistosomiasis**. 2009. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/788867-overview>>. Acesso em: 9 maio 2012.

BERGGREN, W.L.; WELLER, T.H. Immunoelectrophoretic demonstration of specific circulating antigen in animals infected with *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 16, p. 606-612, 1967.

BERGQUIST, N. R. Present aspects of immunodiagnosis in schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 29-38, 1992.

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 threonin-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.

BERHE, N.; MEDHIN, G.; ERKO, B.; SMITH, T.; GEDAMU, S.; BEREDED, D.; MOORE, R. Variations in helminth faecal egg counts in Kato-Katz thick smears and their implications in assessing infection status with *Schistosoma mansoni*. **Acta Trop.**, v. 92, n. 3, p. 205-212, 2004.

BOGITSH, B. J. Observation on digestion in schistosomes or 'blood and guts'. **Trans. Am. Microscopical Soc.**, v. 108, p. 1-5, 1989.

BOOTH, M.; VOUNATSOU, P.; GORAN, E.K.N.; TANNER, M.; UTZINGER, J. The influence of sampling effort and the performance of the Kato-Katz technique in diagnosing *Schistosoma mansoni* and hookworm co-infections in rural Cote d'Ivoire. **Parasitology**, v. 127, p. 525-531, 2003.

BORGES, J.J.; NIBBELING, H. A.; VAN MARCK, E. A.; DEELDER, A. M. Immunofluorescent visualization of the excretory and gut system of *Schistosoma mansoni* by confocal laser scanning microscopy. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 50, p. 612-619, 1994.

BOUKLI, N.M.; DELGADO, B.; RICAURTE, M., *et al.* *Fasciola hepática* and *Schistosoma mansoni*: Identification of common proteins by comparative proteomic analysis. **J. Parasitol.**, v.97, p.852-861, 2011.

BRASIL. Centro de Vigilância Epidemiológica. Coordenadoria do Controle de Doenças. **Vigilância Epidemiológica e Controle da Esquistossomose: Normas e Instruções** Controle da Esquistossomose do Estado de São Paulo/PCE-SP. 2007.

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. Further studies on the circulating M antigen in human and experimental *Schistosoma mansoni* infections. **Ann. Immunol.**, v. 129C, n. 6, p. 811-818, 1978.

CARNEIRO, T.R.; PINHEIRO, M.C.; DE OLIVEIRA, S.M.; HANEMANN, A. L.; QUEIROZ, J. A.; BEZERRA, F. S. 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**, 2014. No prelo.

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, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. *Schistosoma mansoni* & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

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.**, p. S1471-4922, 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.

CHITSULO, L.; ENGELS, D.; MONTRESOR, A.; SAVIOLI, L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Trop.**, v. 77, p. 41–51, 2000.

CHITSULO, L.; LOVERDE, P.; ENGELS, D. Schistosomiasis. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 2, n. 1, p. 12-13, 2004.

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. Z.; TAVARES, C. A. P. Diagnóstico imunológico. In: CASTRO, L. P.; ROCHA, P. R.S.; CUNHA, A. S. **Tópicos em gastroenterologia**. Rio de Janeiro: Medsi, 1991.

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.

COULIBALY, J.T.; KNOPP, S.; N'GUESSAN, N.A.; SILUÉ, K.D.; FURST, T.; LOHOURIGNON, L. K.; BROU, J. K.; N'GBESSO, Y. K.; VOUNATSOU, P.; N'GORAN, E. K.; UTZINGER, J. Accuracy of urine circulating cathodic antigen (CCA) test for *Schistosoma mansoni* diagnosis in different settings of Côte d'Ivoire. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 5, p. e1384, 2011.

COURA, J. R.; AMARAL, R.S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, supl 1, p. 13-19, 2004.

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 Tropica**, v. 120, p. S138-S141, 2011.

DAVERN, K.M.; TIU, W.U.; SAMARAS, N.; GEARING, D.P.; HALL, B.E.; GARCIA, E.G.; MITCHELL, G.F. *Schistosoma japonicum*: monoclonal antibodies to the Mr 2 6.0 0 0 schistosome glutathione S-transferase (Sj26) in an assay for circulating antigen in infected individuals. **Exp. Parasitol.**, v. 70, p. 293- 304, 1990.

DE CLERCQ, D.; SACKO, M.; VERCRUYSSSE, J.; VANDEN BUSSCHE, V.; LANDOURÉ A, DIARRA, A.; GRYSEELS B. Circulating anodic and cathodic antigen in serum and urine of mixed *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* infections in Office du Niger, Mali. **Trop. Med. Int. Health**, v. 2, n. 7, p. 680-685, 1997.

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.; FELDMEIER, 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.; FRANSEN, J.A.M.; DEELDER A.M. Ultrastructural localization of the circulating anodic antigen in the digestive tract of *Schistosoma mansoni* using monoclonal antibodies in an immunogold labeling procedure. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 35, p. 549 – 558, 1987.

DE WATER, R.; FRANSEN, J.A.M.; DEELDER, A.M. Ultrastructural localization of the circulating cathodic antigen in the digestive tract of various life-cycle stages of *Schistosoma mansoni*. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 72, p. 635-646, 1986.

DEELDER, A.; 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, 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. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, 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, p.189, 1976.

DEELDER, A.M.; KORNELIS, D. *Schistosoma mansoni*: demonstration of two different circulating antigens and the immunological response to these antigens in mouse, hamster and human infections. **Exp. Parasitol.**, v. 50, p. 16, 1980.

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 ETEN, 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. Geograph. Med.**, v. 46, p. 233-238, 1994.

DEELDER, A.M.; VAN DAM, G.J.; KORNELIS, D.; FILLIÉ, Y.E.; VAN ZEYL, R.J.M. *Schistosoma*: analysis of monoclonal antibodies reactive with the circulating antigens CAA and CCA. **Parasitology**, v. 112, p. 21-35, 1996.

DISCH, J.; GARCIA, M.M.; KRIJGER, G.W.; AMORIM, M.N.; KATZ, N.; DEELDER, A.M.; GRYSEELS, B.; RABELLO, A. Daily fluctuation of levels of circulating cathodic antigen in urine of children infected with *Schistosoma mansoni* in Brazil. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 91, n. 2, p. 222-225, 1997.

DOENHOFF, M.J.; BUTTERWORTH, A.E.; HAYES, R.J.; STURROCK, R.F.; OUMA, J.H.; KOECH, D.; PRENTICE, M.; BAIN, J. Seroepidemiology and serodiagnosis of schistosomiasis in Kenya using crude and purified egg antigens of *Schistosoma mansoni* in ELISA. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 87, p. 42-48, 1993

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

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.

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. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, p. 491-497, 1984.

ENGELS, D.; SINZINKAYO, E.; GRYSEELS B. Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 54, p. 319-324, 1996.

ENGVALL, E.; PERLMAN, P.; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. **Immunochemistry**, v.8, n. 9, p. 871-874, 1971.

ENK, M.J.; LIMA, A.C.; DRUMMOND, S.C.; SCHALL, V.T.; COELHO, P.M. The effect of the number of stool samples on the observed prevalence and the infection intensity with *Schistosoma mansoni* among a population in an area of low transmission. **Acta Trop.**, v. 108, n. 2/3, p. 222-228, 2008.

FERRARI, T.C. A laboratory test for the diagnosis of neuroschistosomiasis. **Neurol. Res.**, v. 32, p. 252–2629, 2010.

FERRARI, T.C.; MOREIRA, P.R.; CUNHA, A.S. Spinal cord schistosomiasis: a prospective study of 63 cases emphasizing clinical and therapeutical aspects. **J. Clin. Neurosci.**, v. 11, p. 246-253, 2004.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica. In: _____. **Programa de vigilância e controle da Esquistossomose (PCE):** diretrizes técnicas. 2. ed. Brasília, 2007.

GARGIONI, C.; SILVA, R.M.; THOMÉ, C.M.; QUADROS, C.M.S; KANAMURA, H.Y. Utilização de método sorológico como ferramenta diagnóstica para implementação da vigilância e controle da esquistossomose no Município de Holambra, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 373-379, 2008.

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, 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, 2010.

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.

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. São Paulo**, v.55, n.2, p.75-78, 2013a.

GRENFELL, R.F.; MARTINS, W.; ENK, M.; OLIVEIRA, A.; SIQUEIRA, L.; SILVA-MORAES, V.; OLIVEIRA, E.; CARNEIRO, N. F.; COELHO, P. M. *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, 2013c.

GRENFELL, R.F.; MARTINS, W.H.; SILVA-MORAES, V.; BARATA, S.V.; RIBEIRO, E.G.; OLIVEIRA, E.; COELHO, P. M. Antigens of worms and eggs showed a differentiated detection of specific IgG according to the time of *Schistosoma mansoni* infection in mice. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.45, n.4, p.1-5, 2012.

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.

GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, p. 1106-1118, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T1B-4KY3RPD-M/2/f3cb308764aa6a841ab0b2ca2b3d576c>>. Acesso em: 09 maio 2012.

HAMBRUGER, J.; TURETSKI, T.; KAPPELLER, I.; DERESIEWICZ, R. Highly repeated short DNA sequences in the genome of *Shistosoma mansoni* recognized by a species-specific probe. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v.44, p.73-80, 1991.

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.

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.

HANELT, B.; ADEMA, C. M.; MANSOUR, M. H.; LOKER, E. S. Detection of *Schistosoma masoni* in *Biomphalaria* using nested PCR. **J. Parasitol.**, v. 83, n.3, p. 387-394, 1997.

HASSAN, M.M.; BADAWI, M.A.; STRAND, M. Circulating schistosomal antigen in diagnosis and assessment of cure in individuals infected with *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 46, p. 737-744, 1992.

HAYUNGA, E.G.; MÖLLEGARD I.; DUNCAN, J.R.J.F.; SUMNER, M.P.; STEK, J.R.M.; HUNTER, J.R.K.W. Development of circulating antigen assay for rapid detection of acute schistosomiasis. **Lancet**, v. 2, p. 716-718, 1986.

HOCKLEY, D. J. Ultrastructure of the tegument of *Schistosoma mansoni*. **Adv. Parasitol.**, v. 11, p. 233-305, 1973.

HOUBA, V.; KOECH, D.K.; STURROCK, R.F.; BUTTERWORTH, A.E.; KUSEL, J.R.; MAHMOUD, A.A. Soluble antigens and antibodies in sera from baboons infected with *Schistosoma mansoni*. **J. Immunol.**, v.117, p. 705-707, 1976.

ISMAIL, M.M.; JAMES, C.; WEBBE, G. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of circulating antigen and antibody in *Schistosoma haematobium* infected baboons. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 75, p. 542, 1984.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. et al. PCR amplification of the mitochondrial DNA minisatellite region to detect *Shistosoma mansoni* infection in *Biomphalaria glabrata* snails. **J. Parasitol.**, v.83, n. 3, p. 395-399, 1997

KATZ, N. Brazilian contributions to epidemiological aspects of schistosomiasis mansoni. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 87, Suppl. 4, p. 1-9, 1992.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Ciênc. Cultura**, São Paulo, v. 55, n. 1, jan. 2003. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000967252003000100024&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 06 maio 2012.

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.; PEIXOTO, S.V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.33, n. 3, p. 303-308, 2000.

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.948-53, 2012.

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.; 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.

LAMBERTUCCI, J. R.; PEREIRA, S. R.; SILVA, L. C. Myeloradiculopathy in acutew schistosomiasis mansoni. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 3, p. 277-278, 2005.

LANDIS, J.R.; KOCH, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, p. 159–174, 1977.

LAWRENCE, J.D. The ingestion of red blood cells by *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 59, p. 60-63, 1973.

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.

LEGESSE, M.; ERKO, B.; Field-based evaluation of a reagent strip test for diagnosis of schistosomiasis mansoni by detecting circulating cathodic antigen (CCA) in urine in low endemic area in Ethiopia. **Parasite**, v. 15, p. 151–155, 2008.

LIESHOUT, L. V. **Detection of the circulating antigens CAA and CCA in human *Schistosoma* infections: immunodiagnostic and epidemiological applications.** (Doctoral Thesis) - Leiden University Medical Center, Faculty of Medicine, Leiden University, 1996. Disponível em: <https://openaccess.leidenuniv.nl/bitstream/handle/1887/17689/proefschrift_lisette_van_lieshout.pdf?sequence=1>. Acesso em: 2 dez. 2014.

LUNDE, M.N.; OTTENSEN, E.A.; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting IgM and IgE antibodies in human schistosomiasis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 29, p. 82-85, 1980.

- MAKAROVA, E.; GOES, T.S.; LEITE, M.F.; *et al.* 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.
- MASSARA, C. L.; AMARAL, G.L.; CALDEIRA, R.L.; DRUMMOND, S.C.; ENK, M.J.; CARVALHO, O. S. Esquistossomose em área de ecoturismo do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 7, p. 1709-1712, 2008.
- 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.**, p. 45-51, 2009.
- MILLER, F.H.; TULLOCH, G.S.; KUNTZ, R.E. Scanning electron microscopy of integumental surface of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 58, p. 693-698, 1972.
- MILLER, R.L.; ARMELAGOS, G.J.; IKRAM, S.; DE JONGE, N.; KRIJGER, F.W.; DEELDER, A.M. Palaeoepidemiology of *Schistosoma* infection in mummies. **Br. Med. J.**, v. 304, p. 555 – 556, 1992.
- MORGAN, J.A.T.; DEJONG, R.J.; SNYDER S.D.; MKOJI G.M.; LOKER, E.S. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: past history and future trends. **Parasitology**, v. 123, p. 211-228, 2001.
- 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.; DEELDER, A.M. Comparison off our schistosome excretory-secretory antigens: phenol-sulfuric test active peak, cathodic circulating antigen, gut-associated proteoglycan, and circulating anodic antigen. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 34, p. 236-241, 1985.
- 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.
- NIBBELING, H.A.; VAN LIESHOUT, L.; DEELDER, A.M. Levels of circulating soluble egg antigen in urine of individuals infected with *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 92, p. 675–677, 1998.
- De NOYA, B. A.; SPENCER, L.; NOYA, O. Pre-and post treatment immunodiagnostic evaluation in human schistosomiasis mansoni. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 87, Suppl.4, p.271-276, 1992.

NOYA, O.; ALARCÓN DE NOYA, B.; GUZMÁN, F.; BERMUDEZ, 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.; ALARCON DE NOYA, B.; LOSADA, S.; COLMENARES, C.; GUZMAN, N.C.; LORENZO, M.A.; BERMUDEZ, H. Laboratory diagnosis of schistosomiasis in areas of low transmission. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 167-169, 2002.

NOYA, O.; DE NOYA, B.A.; BALLEEN, D.E.; 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.

OBENG, B.B.; ARYEETAY, Y. A.; DE DOOD, C. J.; AMOAH, A. S.; LARBI, I. A.; DEELDER, A. M.; YAZDANBAKHS, 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, p. 625–663, 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, E. J.; KANAMURA H.Y.; LIMA, D.M. Efficacy of an enzyme-linked immunosorbent assay as a diagnostic tool for schistosomiasis mansoni in individuals with low worm burden. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.100, n.4, p.421-425, 2005.

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. F.; D'AVILA, J. C.; TORRES, C. R.; OLIVEIRA, P. L.; TEMPONE, A. J.; RUMJANEK, F. D.; BRAGA, C. M.; SILVA, J. R.; DANSA-PETRETSKI, M.; OLIVEIRA, M. A.; DE SOUZA, W.; FERREIRA, S. T. Haemozoin in *Schistosoma mansoni*. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 111, p. 217-221, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Schistosomiasis**. 2014.

Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>>. Acesso em: 2 dez. 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Disease Watch Focus: Schistosomiasis**.

<http://www.who.int/tdr/publications/disease_watch/schisto/en/>. Acesso em: 02 maio 2012.

PEREIRA, R. A. T. **Diagnóstico parasitológico e sorológico da toxocaríase, esquistossomose mansoni e parasitoses intestinais**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

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.

POLMAN, K.; ENGELS, D.; FATHERS, L.; DEELDER, A.M.; GRYSEELS B. Day-to-day fluctuation of schistosome circulating antigen levels in serum and urine of humans infected with *Schistosoma mansoni* in Burundi. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 59, n. 1, p. 150-154, 1998.

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.**, Baltimore, 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. Disponível em: < <http://www.revistademedicina.ufc.br/v39/v395.htm>> Acesso em: 20 abr. 2012.

QUIAN, Z. L.; DEELDER, A. M. *Schistosoma japonicum*: immunological characterization and detection of circulating polysaccharide antigens from adult worms. **Exp. Parasitol.**, v. 55, p. 168, 1983.

RABELLO, A. Diagnosing Schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 5, p. 669-676, 1997.

RABELLO, A.; PONTES, L.A.; DIAS-NETO, A. Recent advances in the diagnosis of schistosoma infection: the detection of parasite DNA. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 171-172, 2002.

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. 895.

REN LI, Z.; LIAN HUA, H.; PING FANG, W. Detection of IgG antibody and subclass from urine patients infected with *Schistosoma japonicum*. **China Tropical Medicine**, v. 4, n. 2, p. 156-158, 2004.

REY, L. Parasitos e doenças parasitárias nas Américas e na África. In: REY, L. **Parasitologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REY, L. *Schistosoma* e esquistossomíase: a doença. *Schistosoma* e esquistossomíase: epidemiologia e controle. In: REY, L. (Org.). **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

RIBEIRO, P. J.; AGUIAR, L. A. K.; TOLEDO, C. F.; BARROS, S. M. O.; BORGES, D. R. Programa educativo em esquistossomose: modelo de abordagem metodológico. **Rev. Saúde Pública**, v. 38, n. 3, p. 415-421, 2004.

RIPERT, C.; COMBE, A.; DAULOUEDE, S.; APPRIOU, M.; TRIBOULEY-DURET, J.; TRIBOULEY, J.; MOYOU-SOMO, R.; SAME-EKOBO, A.; AMBASSA, P. Detection with a monoclonal antibody of an antigen characteristic of the genus *Schistosoma* excreted in the urine. **Trop. Med. Parasitol.**, v. 39, p. 131-135, 1988.

ROLLINSON, D.; JOHNSON, D.A. Schistosomiasis: A persistent parasitic disease. **Interdiscip. Sci. Rev.**, v. 21, p.140-154, 1996.

ROSSI, C. L.; TSANG, V. C. W.; PILCHER, J. B. Rapid, low-technology field- and laboratory-applicable enzyme-linked immunosorbent assays for immunodiagnosis of *Schistosoma mansoni*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 29, p. 1836-1841, 1991.

SANDOVAL, N.; SILES-LUCAS, M.; PÉREZ-ARELLANO, J. L.; CARRANZA, C.; PUENTE, S.; LÓPEZ-ABÁN, J.; SANDOVAL, N. 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, 2006.

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.

SHANE, H. L.; VERANI, J.R.; ABUDHO, B.; MONTGOMERY, S.P.; BLACKSTOCK, A.J.; MWINZI, P. N.; BUTLER, S. E.; KARANJA, D. M.; SECOR, W. E. Evaluation of urine CCA assays for detection of *Schistosoma mansoni* infection in western Kenya. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 5, p. e951, 2011.

SIQUEIRA-BATISTA, R. *et al.* O *Schistosoma mansoni*. In: HUGGINS, D.W. *et al.* (Ed.). Esquistossomose mansoni. São Paulo: Grupo Editorial Moreira Jr, 1998. p. 26-32.

SIQUEIRA, L. M.; COELHO, P. M.; OLIVEIRA, Á. A.; MASSARA, C. L.; CARNEIRO, N. F.; LIMA, A. C.; 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.

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 Intern.**, v. 31, p. 1006 – 1011, 1987.

SORGHO, H.; BAHGAT, M.; PODA, J.N.; SONG, W.; KIRSTEN, C.; DOENHOFF, M. J.; ZONGO, I.; OUÉDRAOGO, J. B.; RUPPEL, A. Serodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infections in an endemic area of Burkina Faso: performance of several immunological tests with different parasite antigens. **Acta Trop.**, v. 93, n. 2, p. 169-180, 2005.

SOUSA-FIGUEIREDO, J. C.; BETSON, M.; KABATEREINE, N. B.; STOTHARD, J.R. The urine circulating cathodic antigen (CCA) dipstick: a valid substitute for microscopy for mapping and point-of-care diagnosis of intestinal schistosomiasis. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 7, n. 1, p. e2008, 2013.

SOUZA, M.A.A.; BARBOSA, V.S.; WANDERLEI, T.N.G.; BARBOSA, C.S. Criadouros de Biomphalaria, temporários e permanentes, em Jaboatão dos Guararapes, PE. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 41, n. 3, p. 252-256, 2008.

SPEICH, B.; KNOPP, S.; MOHAMMED, K.A.; KHAMIS, I.S.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G.; ROLLINSON, D.; UTZINGER, J. Comparative cost assessment of the Kato-Katz and FLOTAC techniques for soiltransmitted helminth diagnosis in epidemiological surveys. **Parasit. Vectors**, v. 3, p. 71, 2010.

SPENCER, L.; ALARCON DE NOYA, B.; NOYA, O.; MASROUA, G. Comparative analysis between the circumoval precipitin test and ELISA with raw antigens for the diagnosis of schistosomiasis in Venezuela. **G.E.N.**, v. 45, p. 77-83, 1991

STANDLEY, C. J.; LWAMBO, N. J.; LANGE, C. N.; KARIUKI, H. C.; ADRIKO, M.; STOTHARD, J. R. Performance of circulating cathodic antigen (CCA) urine-dipsticks for rapid detection of intestinal schistosomiasis in schoolchildren from shoreline communities of Lake Victoria. **Parasit. Vectors**, v. 3, p. 7, 2010.

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 Infect. Dis.**, v. 6, p. 411-425, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6W8X-4K72H8D-X/2/a4eda6b84deb2e711f45a14e666c2a43>>. Acesso em: 09 May 2012.

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.

STOTHARD, J. R.; SOUSA-FIGUEREIDO, J. C.; BETSON, M.; ADRIKO, M.; ARINAITWE, M.; ROWELL, C.; BESIYGE, F.; KABATEREINE, N. B. *Schistosoma mansoni* infections in young children: when are schistosome antigens in urine, eggs in stool and antibodies to eggs first detectable? **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 5, p. e938, 2011.

STOTHARD, J.R.; KABATEREINE, N.B.; TUKAHEBWA, E.M.; KAZIBWE, F.; ROLLINSON, D.; MATHIESON, W.; WEBSTER, J.P.; FENWICK, A. Use of circulating cathodic antigen (CCA) dipsticks for detection of intestinal and urinary schistosomiasis. **Acta Trop.**, v. 97, p. 219-228, 2006.

SULAHIAN, A.; GARIN, Y.J.; IZRI, A.; VERRET, C.; DELAUNAY, P.; VAN GOOL, T.; DEROUIN, F. Development and evaluation of a Western Blot Kit for diagnosis of schistosomiasis. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v.12, n.4, p.548-551, 2005.

TCHUEM TCHUENTÉ, L. A.; KUETÉ FOUODO, C. J.; KAMWA NGASSAM, R. I.; SUMO, L.; DONGMO NOUMEDEM, C.; KENFACK, C. M.; GIPWE, N. F.; NANA, E. D.; STOTHARD, J. R.; ROLLINSON, D. Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-tests for diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in Cameroon. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, v. 6, p. e1758, 2012.

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, e73, 2007.

TELES, H.M.S. Distribuição geográfica das espécies dos caramujos transmissores de *Schistosoma mansoni* no Estado de São Paulo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 5, p. 426-432, 2005.

TIBIRIÇÁ, S.H.C.; BESSA, E.C.A.; MITTHEROFHE, A.; CASTRO, M.F.; CARVALHO, O.S.; CALDEIRA, R.L.; PASSOS, L.K.J.; MATTOS, A.M.M.; PINHEIRO, I.S.; SILVA, D.S.; BASTOS, F.O.; ANDREOLLI, G.Q.; BONATO, G.; COIMBRA, E.S. Biomphalaria spp. (Preston, 1910) snails in the municipality of Zona da Mata Mineira mesoregion, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, Suppl. 1, p. 179-184, 2006.

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.

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.

UTZINGER, J.; BOOTH, M.; N'GORAN, E.K.; MÜLLER, I.; TANNER, M.; LENGELER, C. Relative contribution of day-to-day and intra specimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. **Parasitology**, v. 122, p. 537-544, 2001.

VALLI, L.C.; KANAMURA, H.Y.; DA SILVA, R.M.; RIBEIRO-RODRIGUES, R.; DIETZE, R. Schistosomiasis mansoni: immunoblot analysis to diagnose and differentiate recent and chronic infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.61, n.2, p.302-307, 1999.

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, 1996.

VAN DAM, G. J. **Circulating gut-associated antigens of *Schistosoma mansoni***: biological, immunological, and molecular aspects. (Doctoral Thesis) - Leiden University Medical Center, Faculty of Medicine, Leiden University Leiden, 1995.

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.; WICHERS, J.H.; FALCO 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 ETTEN, L.; FOLMAN, C.C.; EGGELTE, T.A.; KREMSNER, P.G.; DEELDER A.M. Rapid diagnosis of schistosomiasis by antigen detection in urine with a reagent strip. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, p. 2404-2406, 1994.

VAN LIESHOUT, L.; DE JONGE, N.; EL-MASRY, N.; MANSOUR, M.M.; BASSILY, S.; KRIJGER, F. W.; DEELDER, A. M. Monitoring the efficacy of different doses of praziquantel by quantification of circulating antigens in serum and urine of schistosomiasis patients. **Parasitology**, v. 108, p. 519–526, 1994.

VAN LIESHOUT, L.; DE JONGE, N.; EL MASRY, N.A.; MANSOUR, M.M.; KRIJGER, F.W.; DEELDER A.M. Improved diagnostic performance of the circulating antigen assay in human schistosomiasis by parallel testing for circulating anodic and cathodic antigens in serum and urine. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.47, p. 463-469, 1992.

VAN LIESHOUT, L.; DE JONGE, N.; MANSOUR, M.M.; BASSILY, S.; KRIJGER, F.W.; DEELDER, A.M. Circulating cathodic antigen levels in serum and urine of schistosomiasis patients before and after chemotherapy with praziquantel. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 87, p. 311-312, 1993.

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.; GILGASE, P.L.J. Schistosomal glomerulopathy: Role of the circulating anodic polylsaccharide antigen. In: VAN DEN BOSSCHE, H. **The host-invader interplay**. Amsterdam: Elsevier, 1980.

VAN WEEMEN, B. K.; SCHUURS, A. H. M. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. **Febs Lett.**, v. 15, p. 232-236, 1971.

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, p. 410-413, 1992

VENDRAME, C. M.; CARVALHO, M. D.; YAMAMOTO, C. R.; NAKHLE, M. C.; CARVALHO, S. A.; CHIEFFI, P. P. Evaluation of anti-*Schistosoma mansoni* IgG antibodies in patients with chronic schistosomiasis mansoni before and after specific treatment. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v.43, n.3, p.153-159, 2001.

VERANI, J. R.; ABUDHO, B.; MONTGOMERY, S. P.; MWINZI, P. N. M.; SHANE, H. L.; BUTLER, S. E.; KARANJA, D. M. S.; SECOR, W. E. Schistosomiasis among Young Children in Usoma, Kenya. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 84, n. 5, p. 787–791, 2011.

VIANEY-LIAUD, M.; DUSSART, G. Starvation, desiccation and use of allosperm in the hermaphrodite, freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Pulmonata). **J. Mol. Study**, v. 60, n. 3, p. 255-262, 1994.

VON LICHTENBERG, F.; BAWDEN, M.P.; SHEALEY, S.H. Origin of circulating antigen from the schistosome gut. An immunofluorescent study. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 23, n. 6, p. 1088-1091, 1974.

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.

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

Apêndice A - Questionário

Nº

_____, ____/____/____

1. IDENTIFICAÇÃO DO ENTREVISTADO

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

1.1. NOME: _____

1.2. DATA DE NASCIMENTO ____/____/____ IDADE _____ anos

1.3.

Sexo	Masculino	Feminino
	1	2

1.4.

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

1.5. NATURALIDADE: _____ UF _____

1.6.

Zona	Urbana	Rural
	1	2

Área endêmica	Sim	Não
	1	2

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

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

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

4.3.

4.3.1. SE OUTRO, QUAL? _____

4.4. EM CASO DE FORNECIMENTO PÚBLICO:

Frequência	Diariamente	Dias alternados	1 vez na semana	Outro
	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

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

Sim	Não
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 indivíduo 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 hídras.

**CRITERIOS USADOS PARA DETERMINAR O GRAU DE CONTATOS COM AS
COLECOES 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 agua e/ou lavar vasilhas	3
Lavar carro	3
Pescar ou atravessar o córrego	2

2-

FREQUÊNCIA DE CONTATO	PONTOS
Diário	28
Semanal	4
Quinzenal	2
Mensal ou menos	1

3- NEGA CONTATOS: 0 pontos

Apêndice B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa – Teste imunocromatográfico para diagnóstico e avaliação do tratamento da esquistossomose através da detecção de antígeno catódico circulante (CCA) na urina, em área de baixa endemicidade, no Estado do Ceará, Brasil. – que tem por objetivo verificar a situação da Esquistossomose nos moradores da localidade de Bananeiras e avaliar um novo método diagnóstico, que usa urina, para esta doença; 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.

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.

DESPESAS 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. O principal investigador é Joames Kauffmann Freitas Leal que pode ser encontrado nos telefones: (85) 9920-4235 e (85) 8848-5428.” “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 / /

Apêndice C - Termo de Assentimento do Menor

Você está sendo convidado para participar da pesquisa Teste imunocromatográfico para diagnóstico e avaliação do tratamento da esquistossomose através da detecção de antígeno catódico circulante (CCA) na urina, em área de baixa endemicidade, no Estado do Ceará, Brasil. Seus pais permitiram que você participe. Queremos saber situação da Esquistossomose, doença transmitida por um caramujo que existe no rio da localidade de Bananeiras.

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.

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 ao pesquisador Joames Kauffmann Freitas Leal. Eu escrevi os telefones na parte de baixo desse texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa Teste imunocromatográfico para diagnóstico e avaliação do tratamento da esquistossomose através da detecção de antígeno catódico circulante (CCA) na urina, em área de baixa endemicidade, no Estado do Ceará, Brasil., 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. 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. O principal investigador é Joames Kauffmann Freitas Leal que pode ser encontrado nos telefones: (85) 9920-4235 e (85) 8848-5428.”

“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)

Anexo A – Parecer Consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ PROPESQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Teste Imunocromatográfico para diagnóstico e avaliação do tratamento da esquistossomose através da detecção de antígeno catódico circulante (CCA) na urina, em área de baixa endemicidade, no Estado do Ceará, Brasil.

Pesquisador: Joames Kauffmann Freitas Leal

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

Versão: 3

CAAE: 06457013.2.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 302.204

Data da Relatoria: 23/05/2013

Apresentação do Projeto:

O estudo será realizado na localidade Bananeiras no Município de Capistrano - CE. Serão distribuídos, na casa de cada morador que concordar em participar da pesquisa, frascos de coleta (coletor universal) com tampa e espátula, rotulados e identificados: um frasco para fezes e outro para urina, constando o nome do morador e a data. Decorridas 24 horas, os frascos serão recolhidos e levados ao posto de saúde da localidade ou para o Laboratório de pesquisa em parasitologia e biologia de moluscos da Universidade Federal do Ceará (LPPBM), onde serão confeccionadas 03 lâminas de Kato-Katz da amostra de cada fezes. Do frasco com urina será também efetuado o teste. A coleta sanguínea será realizada na primeira ou segunda visita à casa do participante do estudo. Para o exame sorológico será necessário a coleta de 5mL do sangue venoso. A separação do soro será feita no posto de saúde da comunidade, sendo posteriormente transportado sob refrigeração para o LPPBM. As amostras sorológicas serão armazenadas em freezer, a menos 20°C, para posteriores análises pelo método ELISA. Após essa análise os soros serão armazenados em soroteca. Serão utilizados três tipos de métodos de diagnóstico: métodos coproscópicos ou parasitológicos, métodos sorológicos e método Imunocromatográfico. Após a

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

Continuação do Parecer: 303.204

realização dos exames todos os pacientes que apresentarem resultados positivos, para esquistossomose serão tratados com Praziquantel® (60mg/kg/DU). Esse medicamento será disponibilizado pela Secretaria de Saúde do Município de Baturité, a prescrição e administração serão supervisionadas pelo médico do Posto de Saúde Municipal. Os pacientes tratados após 2 semanas, será feita uma 1ª reavaliação utilizando o diagnóstico Imunocromatográfico na pesquisa de antígeno CCA e após 4 semanas do tratamento uma 2ª reavaliação será efetuada.

Objetivo da Pesquisa:

PRIMÁRIO: Avaliar a eficácia de um kit de diagnóstico para esquistossomose mansoni que detecta o CCA (antígeno Catódico Circulante), em comparação com um método parasitológico e um Imunológico antes e após tratamento quimioterápico, em moradores de uma área de baixa endemicidade no Estado do Ceará.
SECUNDÁRIO: 1.Realizar o método Imunocromatográfico para o diagnóstico do S. mansoni, na pesquisa de antígeno CCA na urina de moradores da 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 Imunológico ELISA para o diagnóstico do S. mansoni, em moradores da comunidade em estudo;4.Avaliar a eficácia do método de diagnóstico Imunocromatográfico na pesquisa de antígeno CCA na urina em comparação com os outros métodos utilizados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS: Para os sujeitos da pesquisa foi incluído no TCLE os riscos da punção venosa. Para os executores da pesquisa: há risco biológico nível 2 inerentes a execução da metodologia.

Benefícios: Diagnóstico da esquistossomose na população estudada, demonstração da eficácia de um novo método de diagnóstico para a esquistossomose.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é importante e relevante, está bem descrita e atende à resolução 196/96.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos e declarações foram devidamente apresentados, bem como refeto o TCLE e apresentado o Termo de Assentimento.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências atendidas.

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: comape@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ PROPESQ



Continuação do Parecer: 302.204

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

FORTALEZA, 12 de Junho de 2013

Assinador por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

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: conep@ufc.br