



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

MARTA CRISTHIANY CUNHA PINHEIRO

**AVALIAÇÃO DE TRÊS MÉTODOS COPROSCÓPICOS PARA
DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM ÁREA DE
BAIXA ENDEMICIDADE NO ESTADO DO CEARÁ.**

FORTALEZA

2010

MARTA CRISTHIANY CUNHA PINHEIRO

AVALIAÇÃO DE TRÊS MÉTODOS COPROSCÓPICOS PARA
DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM ÁREA DE
BAIXA ENDEMICIDADE NO ESTADO DO CEARÁ.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Mestre em Patologia.

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

FORTALEZA

2010

P721a Pinheiro, Marta Cristhiany Cunha

Avaliação de três métodos coproscópicos para diagnóstico da esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade no estado do Ceará/ Marta Cristhiany Cunha Pinheiro. – Fortaleza, 2010.

82 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Pós-Graduação em Patologia. Fortaleza, Ceará.

1. ELISA. 2. *Schistosoma mansoni*. 3. Gradiente. I. Bezerra, Fernando Schemelzer de Moraes (orient.). II. Título.

CDD: 616.963

MARTA CRISTHIANY CUNHA PINHEIRO

AVALIAÇÃO DE TRÊS MÉTODOS COPROSCÓPICOS PARA
DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM ÁREA DE
BAIXA ENDEMICIDADE NO ESTADO DO CEARÁ.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Mestre em Patologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra (UFC)
Presidente

Prof. Dr. Paulo Marcos Zech Coelho (CPqRR – FIOCRUZ-MG)
Membro da Banca Examinadora

Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas (UFC)
Membro da Banca Examinadora

Prof.^a Dra. Maria de Fátima Oliveira (UFC)
Membro da Banca Examinadora

Dedico esta dissertação a Deus, a meus pais Francisco e Ideuzuila, a minha irmã, a meu esposo Alcides e meus filhos que tanto me apoiaram, e a memória de meu avô Aírton.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter possibilitado a conclusão desta dissertação.

Aos meus pais Prodamy e Ideuzuila, a quem devo tudo o que sou e o que ainda serei.

A minha irmã Rayanne, uma das minhas maiores incentivadoras.

A meu esposo Alcides e meus filhos Gabrielly e Prodamy Neto, pela paciência que tiveram comigo nos dias de estresse, pela compreensão quando da minha ausência e, é claro, pela força, carinho e amor dedicado.

Aos meus avôs que sempre confiaram em meu potencial. Em especial ao meu avô Airton que me ensinou a encarar a vida com alegria e os desafios com garra, e que por desígnios de Deus, não está mais entre nós no momento do término desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Fernando Schemelzer, pela orientação desta dissertação e por ter me apresentado ao mundo da ciência, ainda na Iniciação Científica.

À amiga Teiliane, pela amizade, pela paciência, pela ajuda nos experimentos e pela parceria inestimável na preparação e defesa deste trabalho.

Às colegas de laboratório: Natália, Sara, Aninha, Vanessa e Taís, pela amizade, pela paciência nos dias estressantes e pelo auxílio nas atividades referentes à minha dissertação.

Aos técnicos do Laboratório de Análises Clínicas: Sandra e Ivonildo, pelo apoio logístico durante a realização dos métodos diagnósticos.

À Secretaria de Saúde de Maranguape, na pessoa do Dr. Eduardo Maia - coordenador do Serviço de Controle de Zoonoses, assim como aos funcionários deste setor: José Wellington, Paulo Henrique, Severino, Ricardo, dentre outros, que me ajudaram nos trabalhos de campo e às simpáticas funcionárias do Posto de Saúde da Guabiraba, que estavam sempre disponíveis a ajudar no que precisávamos.

Ao Prof. Alfredo Góes, do departamento de Bioquímica da UFMG, por ter nos fornecido o antígeno (SWAP).

Ao Prof. Ajax e a Prof.^a Aparecida, pelo apoio técnico na etapa da sorologia, durante a padronização da técnica de ELISA.

À equipe do NUVET da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará: Dra. Lúcia Alencar, Dra. Vivian, Barbosinha e Dona Graça, pelo fornecimento do material e ajuda na realização do método de Kato-Katz.

Ao Prof. Paulo Marcos Zech Coelho, do Centro de Pesquisa René Rachou / FIOCRUZ-MG, por ter cedido o equipamento para a realização do método do Gradiente Salínico, pelo treinamento em seu laboratório e por ter aceitado o convite de participar da minha banca de avaliação.

Ao Prof. Carlos Graeff-Teixeira, do Laboratório de Biologia Parasitária da PUCRS, por ter cedido os materiais que possibilitaram a realização do método Helmintex.

À Cristiane Ceruti Franceschina, farmacêutica do Laboratório de Biologia Parasitária da PUCRS, pelas dicas extremamente úteis para a execução do método Helmintex.

Ao Prof. Vagnaldo, da UNIFAC-UFC, pela ajuda com as análises estatísticas.

A Prof.^a Fátima por seu carinho e apoio.

As amigas de turma do curso de mestrado, em especial, Sammara e Cecília, pelo apoio e incentivo.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Patologia pelos ensinamentos.

À coordenação do mestrado, que através do PROAP, possibilitou um treinamento técnico na FIOCRUZ-MG.

RESUMO

A Esquistossomose Mansônica é uma doença endêmica em 76 países e territórios. Em meados de 2003, calculou-se que 779 milhões de pessoas estavam dentro da população de risco para esquistossomose, e 207 milhões de pessoas estavam infectadas. O diagnóstico laboratorial dessa parasitose pode ser realizado através de métodos parasitológicos de fezes, desde os mais clássicos (Kato-Katz), a alguns que ainda estão em fase de validação. Este estudo foi realizado para avaliar dois novos métodos coproscópicos para diagnóstico da Esquistossomose Mansônica, em moradores de uma área de baixa endemicidade no Município de Maranguape, no Estado do Ceará, utilizando o método de Kato-Katz como referência e a sorologia (ELISA) para a triagem dos pacientes. Foram desenvolvidas as seguintes etapas: Reconhecimento da área e divulgação do projeto junto aos residentes na localidade; Visita domiciliar para assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e entrevista para coleta de dados epidemiológicos; Coleta de sangue para realização do método sorológico; Distribuição dos frascos para coleta de fezes, somente para os participantes que foram reativos no teste sorológico; recebimento das amostras de fezes e realização dos métodos coproscópicos e por fim, entrega dos resultados dos exames e tratamento dos indivíduos positivos. Comparando-se os resultados obtidos pelo método do Kato-Katz e do Gradiente Salínico viu-se que dos 13 positivos (23,2%) encontrados por ambos, 10 (76,9%) foram diagnosticados apenas através do Gradiente Salínico. Já quando comparou-se o método do Kato-Katz e do Helmintex, das 32 amostras analisadas, 16 foram positivos (50%) por ambos, porém, 12 (75%) destes indivíduos foram diagnosticados apenas pelo Helmintex. E ao compararmos o método do Gradiente Salínico com o Helmintex, nos 32 indivíduos que realizaram estes, 17 (53%) foram positivos em ambas as técnicas, sendo 11 (64,7%) positivos só no Helmintex. Assim, os métodos do Gradiente Salínico e Helmintex mostraram-se mais efetivos no diagnóstico da esquistossomose mansônica na localidade em estudo, quando comparados ao Kato-Katz, porém diante da forma de execução das técnicas, as mesmas podem não ser adequadas para grandes inquéritos epidemiológicos, mas para estudos pontuais em áreas onde o programa de controle não consegue atingir os objetivos.

Palavras-chave: ELISA. Kato-Katz. *Schistosoma mansoni*. Gradiente Salínico. Helmintex.

ABSTRACT

The Schistosomiasis is endemic in 76 countries and territories. In mid 2003, it was estimated that 779 million people were within the population at risk for schistosomiasis, 207 million people were infected. The laboratory diagnosis of schistosomiasis can be accomplished through methods for parasites, ranging from classics (Kato-Katz), a few that are still undergoing validation. This study was conducted to evaluate two coproscopic new methods for diagnosis of Schistosomiasis in residents of an area of low endemicity in Maranguape-Ceará, using the Kato-Katz as a reference and serology (ELISA) for screening of patients. We developed the following steps: knowing the area and dissemination of the project with residents in the locality; Home visit to signing the consent form and interview to collect epidemiologic data, blood collection for performing the serological method, distribution of the bottles for feces, only for participants who were reactive in serological testing, collection of stool samples and carrying out the methods coproscopic and finally, delivery of results of examinations and treatment of positive individuals. Comparing the results obtained by the Kato-Katz method and salt gradient was seen that the 13 positive (23.2%) found by both, 10 (76.9%) were diagnosed only by the saline gradient. Even when we compared the method of Kato-Katz and Helmintex of the 32 samples analyzed, 16 were positive (50%) for both, however, 12 (75%) of these individuals were diagnosed only by Helmintex. And when comparing the method the saline gradient with Helmintex in 32 individuals who completed these, 17 (53%) were positive by both techniques, 11 (64.7%) positive only in Helmintex. Thus, the methods of the Saline Gradiente and Helmintex were more effective in the diagnosis of schistosomiasis in locus study, when compared to the Kato-Katz, but on the way of implementing the techniques, they may not be suitable for large surveys epidemiological, but for specific studies in areas where the driver fails to achieve the goals.

Key-words: ELISA. Kato-katz. *Schistosoma mansoni*. Saline Gradient. Helmintex.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Distribuição global das várias espécies de <i>Schistosoma</i>	14
QUADRO 1	Espécies e subespécies de <i>Biomphalaria</i> descritas no Brasil, assinalando as espécies hospedeiras naturais, as potenciais e as não hospedeiras do <i>S. mansoni</i>	16
QUADRO 2	Classes de intensidade / carga parasitária* das infecções por Esquistossomíase.....	26
QUADRO 3	Classificação da comunidade segundo a prevalência* das infecções por Esquistossomíase.....	27
FIGURA 2	Mapa do Estado do Ceará com destaque para o município de Maranguape.....	30
FIGURA 3	Foto da localidade do Planalto do Cajueiro-Maranguape – CE.....	30
FIGURA 4	Preparação do método de Kato-Katz.....	36
FIGURA 5	Sistema para realização do método do Gradiente Salínico.....	37
FIGURA 6	Equipamento utilizado no método do Helmintex® para atração das esferas paramagnéticas.....	39
FIGURA 7	Faixa etária dos indivíduos participantes do estudo e residentes do Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.....	40
FIGURA 8	Distribuição por sexo dos indivíduos participantes do estudo e residentes no Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.....	41
FIGURA 9	Participantes segundo o grau de escolaridade - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.....	41
FIGURA 10	Participantes segundo a presença de infecção anterior por <i>Schistosoma mansoni</i> - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.....	42
FIGURA 11	Participantes segundo o conhecimento da forma de transmissão da doença - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.....	43
FIGURA 12	Percentual de casas com abastecimento de água e presença de banheiro dos participantes do estudo - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.....	43
FIGURA 13	Perfil de utilização da água pelos moradores do Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE participantes do estudo.....	44
FIGURA 14	Sorologia dos indivíduos que realizaram o teste ELISA para IgG anti- <i>S. mansoni</i> residentes do Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.....	45
FIGURA 15	Distribuição do número de ovos de <i>S. mansoni</i> nas fezes, por lâmina analisada, visualizados através do método de Kato – Katz - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.....	46
FIGURA 16	Presença de ovos de <i>S. mansoni</i> nas fezes, visualizados através do método do Gradiente Salínico - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE...	47
FIGURA 17	Presença de ovos de <i>S. mansoni</i> nas fezes, visualizados através do método Helmintex® - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.....	48
FIGURA 18	Prevalências da esquistossomose mansônica, detectadas através dos métodos de Kato – Katz, Gradiente Salínico e Helmintex® - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.....	49

LISTA DE TABELAS

1	Comparação entre os métodos Kato-Katz e Gradiente Salínico na detecção da esquistossomose mansônica. Dados analisados pelo teste de McNemar para variáveis categóricas emparelhadas.....	50
2	Comparação entre os métodos Kato-Katz e Helmintex [®] na detecção da esquistossomose mansônica. Dados analisados pelo teste de McNemar para variáveis categóricas emparelhadas.....	51
3	Comparação entre os métodos Gradiente Salínico e Helmintex [®] na detecção da esquistossomose mansônica. Dados analisados pelo teste de McNemar para variáveis categóricas emparelhadas.....	52
4	Número de ovos de <i>S. mansoni</i> (x) encontrados por lâmina analisada pela técnica de Kato – Katz.....	53
5	Distribuição do número de ovos de <i>Schistosoma mansoni</i> nos 11 pacientes diagnosticados através da técnica do Gradiente Salínico.....	54
6	Número de ovos de <i>Schistosoma mansoni</i> encontrados e média geométrica do OPG (G) dos 16 casos positivos pela técnica do Helmintex [®]	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Histórico.....	13
1.2 Agente etiológico da esquistossomose mansonica.....	14
1.3 Hospedeiros intermediários do <i>S. mansoni</i>.....	15
1.4 Ciclo evolutivo.....	17
1.5 Transmissão.....	18
1.6 Manifestações clínicas.....	19
1.7 Epidemiologia da esquistossomose.....	21
1.8 Esquistossomose no Ceará.....	22
1.9 Diagnóstico.....	24
2 OBJETIVOS.....	28
2.1 Objetivo geral.....	28
2.2 Objetivos específicos.....	28
3 METODOLOGIA.....	29
3.1 Delineamento do estudo.....	29
3.2 Área de estudo.....	29
3.3 População de estudo.....	31
3.4 Aspectos éticos.....	31
3.5 Critérios de inclusão e exclusão.....	32
3.5.1 Critérios de Inclusão.....	32
3.5.2 Critérios de Exclusão.....	32
3.6 Coleta do material biológico.....	32
3.6.1 Coleta de sangue.....	32
3.6.2 Coleta coproscópica.....	33
3.7 Métodos de diagnóstico.....	33
3.7.1 Método Sorológico.....	33
3.7.1.1 ELISA.....	33
3.7.2 Métodos Coproscópicos.....	35
3.7.2.1 Método de Kato – Katz.....	35
3.7.2.2 Método do Gradiente Salínico.....	36
3.7.2.3 Método do Helmintex®.....	38
3.8 Tratamento.....	39
3.9 Análise estatística.....	39
4 RESULTADOS.....	40
4.1 Perfil sócio-ambiental.....	40
4.2 Sorologia.....	44
4.2.1 Método de ELISA.....	44
4.3 Coproscopia.....	45
4.3.1 Resultados dos métodos coproscópicos avaliados.....	45
4.3.1.1 Primeiro método (Kato – Katz).....	45
4.3.1.2 Segundo método (Gradiente Salínico).....	46
4.3.1.3 Terceiro método (Helmintex®).....	47
4.3.1.4 Prevalências determinadas pelos métodos avaliados.....	48
4.4 Comparação entre os métodos coproscópicos realizados.....	49
4.4.1 Gradiente Salínico x Kato – Katz.....	49
4.4.2 Helmintex® x Kato – Katz.....	50

4.4.3 Gradiente x Helmintex®.....	51
4.5 Cargas parasitárias segundo os métodos avaliados.....	52
4.5.1 Kato – Katz.....	52
4.5.2 Gradiente Salínico.....	53
4.5.3 Helmintex®.....	54
5 DISCUSSÃO.....	56
6 CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	68
APÊNDICES.....	76

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico

Em 1852, Theodor Bilharz, ao realizar a necropsia de um jovem egípcio, se depara com um helminto na veia porta e descreve de forma minuciosa ambos os gêneros deste parasito, que recebe o nome de *Distomum haematobium* e posteriormente é denominado *Schistosoma haematobium*. Tendo sido, então, Bilharz o primeiro pesquisador a descrever este parasito com riqueza de detalhes, ficando, então, esta doença conhecida como Bilharzia ou Bilharziose (KATZ, 2008).

Através de observações feitas durante o acompanhamento de um paciente inglês que tinha residido nas ilhas das Antilhas durante 15 anos, Patrick Manson, em 1902, levanta a hipótese da existência de duas espécies diferentes de Bilharzia. Esta hipótese é comprovada pelas observações realizadas em outros locais e em março de 1907, durante uma sessão na Zoological Society de Londres, Sambon propõe a criação de uma nova espécie parasita do homem, e em dedicação aos estudos de Patrick Manson, denomina o parasito de *Schistosoma mansoni*. Porém, a pequena quantidade de vermes estudados por Sambon suscitou dúvidas sobre a validação do seu trabalho (KATZ, 2008).

Em paralelo, o médico brasileiro Pirajá da Silva, em 1908, descrevia uma possível espécie nova encontrada na Bahia, denominando-a *Schistosoma americanum*. No entanto, após publicar dois trabalhos científicos, resultados de uma série de autópsias de casos humanos de onde foram retirados vermes, além de numerosos exames de fezes realizados, viu que se tratava da mesma espécie relatada por Sambon (KATZ, 2008).

Conforme Gryseels *et al.* (2006), assim como o *S. mansoni*, existem várias espécies de trematódeos parasitando o homem em diversas regiões do mundo, dentre elas destacam-se:

O *Schistosoma haematobium*, que é o agente etiológico da esquistossomose vesical ou “hematúria do Egito”, encontrado no Norte da África, especialmente no Delta do Nilo, cujos hospedeiros intermediários são moluscos do gênero *Bulinus*. Também ocorre no Iêmen, Arábia Saudita e Oeste da Índia;

O *Schistosoma japonicum*, que é o causador da esquistossomose japônica ou moléstia de Katayama, que é uma esquistossomose intestinal, encontrada na China, Japão,

Filipinas e Sudeste Asiático, tendo como hospedeiro intermediário moluscos do gênero *Oncomelania*;

O *Schistosoma mansoni*, é o parasito causador da Xistose, ou Doença de Manson e Pirajá da Silva, outra forma de esquistossomose intestinal. Requer como hospedeiros intermediários caramujos do gênero *Biomphalaria* e está distribuída pela África, América do Sul, Central e Caribe.

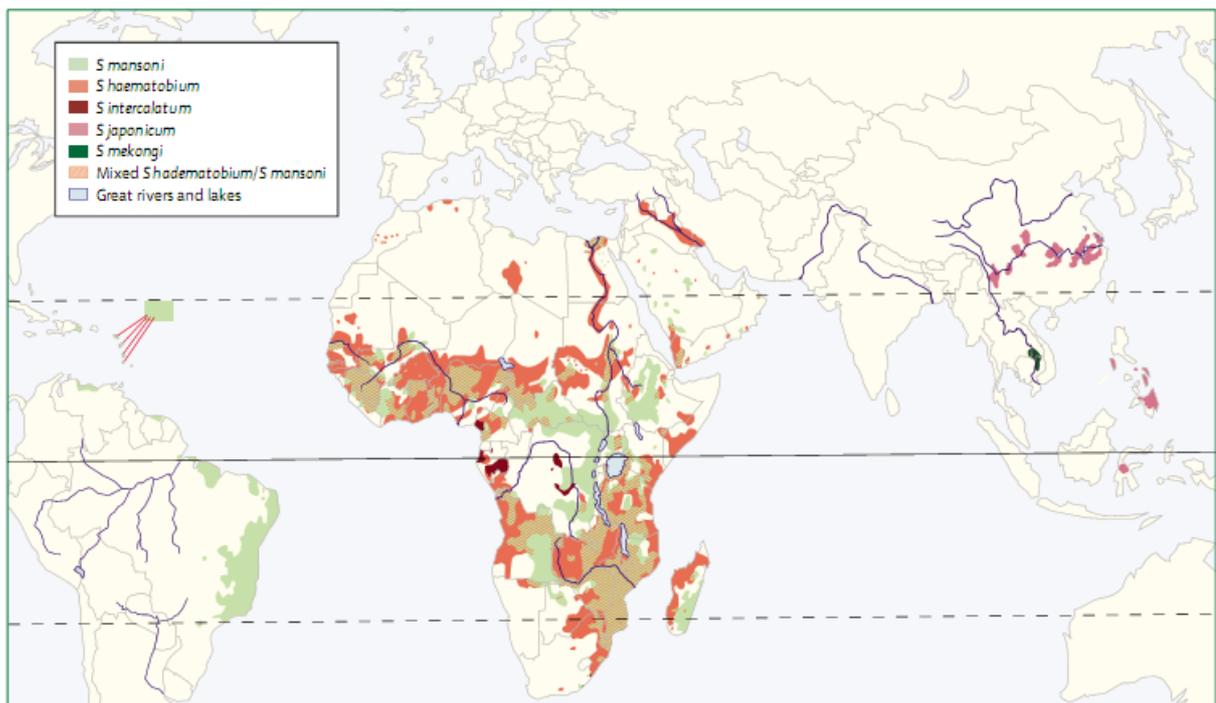


Figura 1 - Distribuição global das várias espécies de *Schistosoma*.

Fonte: GRYSEELS *et al.*, 2006.

1.2 Agente etiológico da esquistossomose mansônica

O *Schistosoma mansoni* Sambon (1907) é um trematódeo digenético (Trematoda: Digenea), pertencente à família *Schistosomatidae*, possui formas adultas dióicas, com duas ventosas, tubo digestivo formado inicialmente por esôfago único, o qual em seguida se bifurca para posteriormente se unir em um só ramo terminal, o ceco (MAURER, 2005).

O parasitismo humano por ele gerado parece ser decorrente de uma linhagem de parasitos que evoluiu anteriormente em roedores. Admite-se que esta espécie tenha surgido na Ásia e migrado para a África, ao longo desse processo evolutivo foram selecionadas

subpopulações devido ao desenvolvimento do helminto em diversas ordens de vertebrados e moluscos da família *Planorbidae*, que constituem seus hospedeiros intermediários (MAURER, 2005).

Em sua fase adulta, quando no hospedeiro definitivo, habita a luz dos vasos sanguíneos, preferencialmente as vênulas do plexo hemorroidário superior e os ramos mais finos das veias mesentéricas (MAURER, 2005). Já no hospedeiro intermediário, a forma evolutiva conhecida como esporocisto-mãe localiza-se em áreas expostas como a região cefalopodal, tentáculos, pseudobrânquia e colar do manto, enquanto que os esporocistos-filhos maduros localizam-se nos espaços intertubulares da glândula digestiva, local com abundante riqueza nutritiva (ANDRADE, 2009).

A introdução do *S. mansoni* no Brasil se deu, a partir de meados do século XVI, através da chegada de populações africanas, trazidas pelos portugueses, para trabalhar em regime de escravidão nas plantações de cana-de-açúcar no Nordeste (MAURER, 2005). Embora os escravos africanos estivessem infectados por duas espécies de *Schistosoma*: o *S. mansoni* e o *S. haematobium*, apenas o primeiro se desenvolveu no Brasil, pois o ciclo evolutivo do segundo não instalou-se nas Américas por falta do hospedeiro intermediário próprio dessa espécie (KATZ ; ALMEIDA, 2003).

1.3 Hospedeiros intermediários do *S. mansoni*

O gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 (Mollusca: Pulmonata, *Planorbidae*) possui 37 espécies já identificadas na África e na Região Neotropical. No Brasil foram reconhecidas 11 espécies (Quadro 1), dentre estas apenas três (*Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria straminea*) são encontradas naturalmente infectadas (PEPE *et al.*, 2006).

Estes caramujos apresentam concha do tipo discóide, com diâmetro variando de 7 a 40 mm, com zona central profunda, chamada umbigo, em ambos os lados da concha (Bis = duplo; Omphalos = umbigo). 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 (ANDRADE, 2009).

Hospedeiras naturais	<i>Biomphalaria glabrata</i> (Say, 1818)
	<i>Biomphalaria tenagophila</i> (Orbigny, 1835)
	<i>Biomphalaria straminea</i> (Dunker, 1848)
Hospedeiras potenciais	<i>Biomphalaria amazônica</i> Paraense, 1966
	<i>Biomphalaria peregrina</i> (Orbigny, 1835)
Não hospedeiras	<i>Biomphalaria intermédia</i> (Paraense & Deslandes, 1962)
	<i>Biomphalaria kuhniana</i> (Clessin, 1883)
	<i>Biomphalaria schrammi</i> (Crosse, 1864)
	<i>Biomphalaria oligoza</i> Paraense, 1975
	<i>Biomphalaria occidentalis</i> Paraense, 1981
	<i>Biomphalaria tenagophila guaibensis</i> Paraense, 1984

Quadro 1 - Espécies e subespécies de *Biomphalaria* descritas no Brasil, assinalando as espécies hospedeiras naturais, as potenciais e as não hospedeiras do *S. mansoni*.

Fonte: BRASIL, 2007.

Seu habitat natural é bastante variável, podendo ser lótico (desde rios até pequenas valetas) ou lênticos (de lagoas a pequenos poços). Já os focos de transmissão propriamente ditos geralmente têm características ecológicas semelhantes, sendo localizadas no peridomicílio de comunidades urbanas ou rurais desprovidas de água encanada ou saneamento (BRASIL, 2007).

Os biótopos revelam em sua maioria pH entre 6,0 e 8,0 que é ideal para a deposição de cálcio, necessária para a constituição das conchas. Densidades populacionais elevadas são, em geral, encontradas em águas com altas concentrações de cálcio. Quanto ao substrato, os moluscos ocorrem preferencialmente em substratos ricos em argila fina e detritos orgânicos, por possuírem muitos microrganismos epifíticos e epilíticos, que constituem a principal fonte de alimento destes moluscos. Estes substratos proporcionam, ainda, proteção à luz solar na forma de um abrigo denso e macio, mesmo em criadouros sem cobertura macrofítica (BRASIL, 2007).

Foram encontrados exemplares de *B. glabrata* vivendo em águas com salinidade 15 vezes superior ao máximo aceito para habitats dulcícolas (que é de 0,5g/l), bem como em concentrações de sulfatos até 489mg/l e de amônia até 39,2 mg/l. Experimentalmente foi verificado que *B. straminea* sobrevive em águas com até 3g/l de NaCl. E em condições naturais, já foram assinalados planorbídeos em biótipos com concentração de até 2,6g/l de cloro (SILVA *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 secreta 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 sete dias. Em contato com a água, o ovo libera o miracídio que procura o hospedeiro intermediário, 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 como característica uma 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).

Na busca por um hospedeiro, as cercárias penetram na pele utilizando a ventosa oral e ventral. Durante esta penetração as cercárias sofrem metamorfose perdendo a cauda e desenvolvem um tegumento heptalaminado, recebendo a partir deste momento a denominação de esquistossômulos, que migram através da pele intacta para as veias dérmicas e, ao longo dos próximos dias, para a vasculatura pulmonar. Os esquistossômulos absorvem uma variedade de proteínas do hospedeiro, incluindo antígenos eritrócíticos (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. O seu metabolismo passa a glicólise e os esquistossômulos migram através dos capilares pulmonares para a circulação sistêmica, que os levam para a veia porta, onde se conclui o seu 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 (CARVALHO *et al.*, 2008).

1.5 Transmissão

A transmissão da doença é hoje reconhecida em importantes áreas metropolitanas do Nordeste do Brasil, no Centro-Oeste da África e na Região Central da China. Tem sido inclusive observado, nessas áreas, que mulheres e crianças correm maior risco de infecção já que as coleções hídricas são usadas para fins domésticos e recreativos. Quando emigrantes rurais com uma elevada prevalência de esquistossomose vão para uma área peri-urbana, existe um alto risco de transmissão da doença, devido à contaminação dessas coleções de águas naturais (OMS, 2008).

Determinantes sociais da saúde, ambientais e culturais são conhecidos como fatores-chave na transmissão da esquistossomose. No entanto, nos últimos anos, o controle da doença baseou-se basicamente na distribuição em grande escala da quimioterapia específica. Esta estratégia provisória mostrou-se ser efetiva no controle da morbidade, conseguindo uma redução substancial nas taxas globais da doença. No entanto, é cada vez mais claro que essa abordagem por si só não é capaz de quebrar o ciclo de transmissão em comunidades de alta endemicidade e que a eliminação da esquistossomose depende de estratégias mais complexas e integradas (CURTALE *et al.*, 2010).

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. Em relação à idade, os índices aumentam na infância, com um pico na faixa etária de 8-15 anos, voltando 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 freqüentemente 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 à melhoria no abastecimento de água e no saneamento, pode quebrar o ciclo de transmissão através da redução do contato com os reservatórios de água não tratada e pela diminuição da contaminação ambiental com excrementos (STEINMANN *et al.*, 2006).

No Brasil a transmissão do *S. mansoni* acontece em ambientes hídricos de água doce habitados por caramujos planorbídeos das espécies *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, apesar de evidências experimentais demonstrarem a susceptibilidade de outras espécies de *Biomphalaria*. A presença dessas espécies é essencial para a introdução e manutenção dos focos da esquistossomose mansônica, mas o sucesso da instalação e

manutenção desses focos necessita da convergência de uma série de fatores biológicos e ambientais que, conforme a maior ou menor intensidade, determinam as diferentes prevalências e morbidades dessa infecção. A par de pormenores biológicos e ambientais, a transmissão do parasito também é favorecida pelas deficiências do saneamento básico (TELES, 2005).

Nas últimas décadas tem-se evidenciado a urbanização da doença no Brasil, com o surgimento de casos autóctones nas regiões periurbanas das grandes cidades brasileiras, este fato está fortemente associado a componentes socioeconômicos e comportamentais das populações dessas localidades (GUIMARÃES; TAVARES-NETO, 2006).

1.6 Manifestações clínicas

A esquistossomose mansônica induz diferentes manifestações clínicas nas fases aguda e crônica. Inicia-se com a penetração das cercárias, podendo ser assintomática ou desenvolver uma infecção aguda dentro de poucas horas após a penetração destas na pele, caracterizando-se por lesões maculopapular com intensa manifestação pruriginosa (dermatite cercariana) que perdura, em geral, de 24 a 72 horas, podendo chegar até no máximo 15 dias (PRATA, 2002).

A fase aguda ocorre várias semanas após a penetração das cercárias, sendo considerada uma reação alérgica toxêmica à migração e maturação das larvas do *S. mansoni*. Em geral os sintomas são febre, tosse seca, fraqueza, dor de cabeça, sintomas abdominais, urticária e/ou angioedema. A gravidade do quadro clínico varia de acordo com a carga parasitária e a resposta imune aos antígenos do parasito, sendo que imunocomplexos circulantes são encontrados em 55-93% dos pacientes com esquistossomose aguda. O padrão particular de citocinas apresentado, com altos níveis de citocinas pró-inflamatórias como Interleucina (IL)-1, IL-6 e Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α) e uma resposta pobre do tipo Th2 (IL-4 e IL-5), pode explicar o estado geral alterado durante esta fase. Além disso, a toxicidade direta dos eosinófilos também desempenha um papel importante, pois durante a ativação de células liberam o conteúdo dos seus grânulos, contribuindo para o agravamento da doença, afetando diretamente os vasos do coração e do cérebro (MOUNTFORD, 2005).

Muitos pacientes não têm uma forma clara de esquistossomose aguda, apresentando-se assintomáticos, ou com poucos sintomas e leves, ou ainda queixas inespecíficas. Esta fase sintomática aguda é descrita principalmente em indivíduos não-

imunes (muitas vezes turistas) expostos à água contaminada em áreas endêmicas (CORACHAN, 2002).

Manifestações neurológicas, pulmonares e cardíacas podem ocorrer durante a esquistossomose aguda, e algumas podem ser fatais. O envolvimento do cérebro durante esta fase por ser percebida como dor de cabeça, confusão mental, convulsões, perda da consciência, deficiências visual, ataxia, incontinência urinária ou paralisia motora. O envolvimento cardíaco foi demonstrado em um estudo realizado durante um surto no Brasil, por De Jesus *et al.* em 2002, com 31 pacientes dos quais 38,7% (12) apresentavam dor no peito e 19% (06) tinham um diagnóstico positivo na ecografia para pericardite. É de salientar que estas formas mais graves podem ocorrer durante a evolução espontânea da doença ou após o tratamento com praziquantel (JAURÉGUIBERRY *et al.*, 2007).

Os sintomas da fase aguda são normalmente observados antes da oviposição, postura e do aparecimento de reações granulomatosas em torno dos ovos, que define a fase crônica da doença. No entanto, as duas fases do ciclo podem sobrepor-se, pois o indivíduo pode fazer vários circuitos de esquistossômulos na circulação sistêmica e pulmonar, antes dos mesmos encontrarem o caminho para o sistema porta-hepático, podendo explicar também a variação no tempo, decorrido entre a penetração das cercárias na pele e a postura de ovos, de um estudo para outro. Isto é observado, também, em alguns pacientes que já apresentam ovos nas fezes embora alguns sintomas da fase aguda ainda estejam presentes (JAURÉGUIBERRY *et al.*, 2005).

Os sintomas da fase crônica podem apresentar-se meses ou até anos após a exposição principal, sendo resultado da resposta imunológica induzida pelo ovo, com formação de granulomas associado a alterações fibróticas. Este quadro é mais comum do que a forma aguda da doença, visto que as formas cercarianas e adultas do verme são minimamente imunogênicas, enquanto que os ovos são altamente imunogênicos. Durante a evolução da esquistossomose crônica, dependendo da maior ou menor susceptibilidade do indivíduo e da intensidade da infecção, podem ocorrer diversas formas clínicas como intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica (GRYSEELS *et al.*, 2006).

A retenção dos ovos e a formação de granulomas na parede intestinal podem causar diarreia sanguinolenta, cólicas e, eventualmente, polipose colônica inflamatória. Pacientes com grande envolvimento da parede intestinal tem um risco maior de infecção recorrente por *Salmonella* (PRATA, 2002).

Os ovos não eliminados, que são levados de volta para a circulação portal, induzem reações granulomatosas no trato portal, levando a severa fibrose periportal e

infecções com alta carga parasitária são mais propensas a produzir comprometimento hepático. Embora a função hepatocelular seja poupada, a fibrose periportal pode levar a hipertensão portal com seqüelas em potencial, incluindo esplenomegalia, ascite e hemorragia por varizes de esôfago. Devido a essas complicações os ovos podem atingir a circulação pulmonar e a granulomatose e a fibrose resultante pode levar à hipertensão pulmonar, que possui uma alta taxa de mortalidade (MELO; COELHO, 2005).

Deposição ectópica de ovos pode levar a síndromes clínicas adicionais, podendo atingir a pele, pulmão, cérebro, medula espinhal, músculo, glândulas supra-renais, órgãos genitais e olhos (MELO; COELHO, 2005).

1.7 Epidemiologia da esquistossomose

A esquistossomose é endêmica em 76 países e territórios. Em meados de 2003, calculou-se que 779 milhões de pessoas estavam dentro da população de risco para esquistossomose, e 207 milhões de pessoas estavam infectadas (OMS, 2008). Os programas de controle de morbidade aplicados em grande escala, o desenvolvimento sócio-econômico, bem como as alterações ambientais, incluindo, por vezes a introdução deliberada de espécies concorrentes para o caramujo, levaram a interrupção da transmissão ou eliminação da doença em nove países (Irã, Japão, Líbano, Malásia, Martinica, Montserrat, Tailândia, Tunísia e Turquia), bem como reduções consideráveis de pessoas infectadas e de morbidades atribuíveis à doença no Brasil, China, Egito, Marrocos, Filipinas, Venezuela, países do Caribe, bem como Camboja e Laos (STEINMANN *et al.*, 2006).

Dos 67 países com transmissão ativa, 46 estão na África, representando 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 vive nas Américas, a maioria no Brasil (STEINMANN *et al.*, 2006).

Alguns países da América Latina e Ásia e a maioria dos países do Caribe e do Oriente Médio baixaram os índices de prevalência da esquistossomose e impediram as morbidades graves da infecção, através de um esforço concentrado na saúde pública. Mas em muitos desses países, ainda existem regiões endêmicas e um potencial para o ressurgimento existe (OMS, 2008).

Após o primeiro relato de esquistossomose mansônica no Brasil, realizado por Pirajá da Silva em 1908, sua distribuição no território nacional só foi conhecida, quase meio século depois, quando Pellon & Teixeira em 1950 realizaram o primeiro grande inquérito coproscópico do país, evidenciando a existência da doença em 612 das 877 localidades pesquisadas na Região Nordeste e no Estado de Minas Gerais (GUIMARÃES; TAVARES-NETO, 2006).

No Brasil, tradicionalmente, esta doença é considerada uma endemia rural, mas nas últimas três décadas do século XX, observou-se a progressiva redução da prevalência da esquistossomose em muitas localidades e o crescente número de casos em cidades de maior porte. Essa mudança foi em grande parte decorrente do significativo êxodo rural, a partir dos anos 60, na busca por trabalho nas cidades de maior porte, onde estas pessoas são freqüentemente marginalizadas do processo econômico, e muitas vêm a residir em áreas urbanas sem as mínimas condições básicas de saneamento, onde existem cursos naturais de água com características adequadas para a presença de criadouros naturais dos planorbídeos, passando a ser focos de transmissão do *S. mansoni* (GUIMARÃES; TAVARES-NETO, 2006).

1.8 Esquistossomose no Ceará

No Estado do Ceará têm-se as primeiras notificações da esquistossomose a partir dos trabalhos científicos publicados por Maciel em 1925, no qual encontrou positividade de 2,8% dos 114 marinheiros cearenses estudados; a seguir em 1934, Davis realizando diagnóstico da febre amarela em 7.387 amostras de fígado colhidas no Ceará, encontrou positividade de 0,66% para *S. mansoni*; e também, Evandro Chagas em 1938 realizou diagnósticos para esquistossomose no município do Crato, sul do Estado. Mas apenas em 1940 foi realizado o primeiro inquérito coproscópico no Estado, por Alencar, que 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, em vários estados, 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.

No início das ações do Programa Especial de Controle da Esquistossomose – PECE no Ceará, segundo semestre de 1976, o município de Maranguape pertencia à Região da Bacia Hidrográfica Pacoti-Choró-Pirangi e possuía 283 localidades, destas 278 (98%) foram trabalhadas, apresentando 85 (31%) localidades positivas (PONTES *et al.*, 1999).

Em outro estudo apresentado pelos mesmos pesquisadores, em que são avaliados os indicadores epidemiológicos e o impacto das ações de controle sobre a doença, Maranguape apresenta inicialmente coeficiente de prevalência de 2,5%; decaindo 12,5 vezes nos anos seguintes e voltando a aumentar 7,5 vezes no último ano da pesquisa. O número de localidades positivas caiu para 29, porém é importante ressaltar que o número de localidades trabalhadas foi menos de 50% das estudadas inicialmente (PONTES *et al.*, 1999). Estes fatos nos levam a pensar na possibilidade de um agravamento da doença neste município.

Dados atuais do Programa de Controle da Esquistossomose – PCE, que substituiu o PECE a partir de 1979, tem demonstrado que o Estado do Ceará caracteriza-se como uma área de baixa prevalência, porém indicam também que o município de Maranguape possui a localidade com maior índice de positividade para a esquistossomose no estado, chamada Planalto do Cajueiro, cuja prevalência da doença tem aumentado a cada ano. Segundo os últimos levantamentos realizados no local, a prevalência era de 8,53% em 2006, passando para 13,76% em 2007, com aumento real de 64% no número de casos positivos em apenas um ano, visto que o número de exames realizados foi aproximadamente o mesmo. Daí a escolha deste local para a realização desse estudo.

1.9 Diagnóstico

Para fins de diagnóstico da esquistossomose mansônica é necessário a utilização de exames clínicos e laboratoriais.

O diagnóstico clínico baseia-se no exame clínico (palpação do abdômen, para verificar o crescimento do fígado e do baço), em informações sobre a história do paciente, do local de moradia, de estadia em áreas de risco e de contato com coleções hídricas possivelmente contaminadas e da sintomatologia apresentada (CARVALHO *et al.*, 2008).

O diagnóstico laboratorial da doença pode ser realizado através dos métodos diretos ou parasitológicos que se fundamentam na identificação dos ovos do parasito nas fezes ou em tecidos do paciente. Nesse grupo estão inseridos o exame parasitológico de fezes através do método de Kato-Katz, o Helmintex, eclosão, gradiente salínico e a biopsia retal.

O Método de Kato e Miura, modificado por Katz *et al.* (1972), se baseia na visualização, por microscopia, de ovos em esfregaços de fezes. É considerado pela Organização Mundial de Saúde o método de diagnóstico recomendado para a esquistossomose. No entanto, em caso de cargas parasitárias baixas, a técnica apresenta limitação. Apenas uma pequena amostra de 42 mg de fezes é examinada por esta técnica. 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 pode ser superada pelo aumento do número de amostras e também pelo aumento do número de lâminas examinadas por amostra (RABELLO *et al.*, 2008).

O Helmintex® tem como principal característica a identificação de ovos de *S. mansoni* em grandes quantidades de fezes (30 gramas), que são processadas através de uma seqüência de sedimentação espontânea, tamisação e eliminação de detritos e gordura, para posterior isolamento dos ovos através da interação com esferas paramagnéticas e exame microscópico (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

De acordo com o mesmo estudo, Teixeira *et al.* (2007), concluíram que esse método de detecção do *S. mansoni* pode melhorar significativamente o diagnóstico das infecções com baixa carga parasitária em áreas de recente introdução do parasita, em áreas com controle da transmissão bem sucedido, ou em viajantes infectados. Em uma aplicação preliminar do Helmintex para investigar o estabelecimento recente de focos no sudeste do Brasil, aproximadamente três vezes mais ovos foram detectados por esse método quando comparado ao método de Kato-Katz.

O Método de eclosão consiste em um dispositivo de incubação contendo um recipiente de coleta para detecção de miracídios que eclodem de uma suspensão de fezes quando o paciente é positivo. Apenas o recipiente de coleta é exposto a uma fonte luminosa para que haja uma atração desses miracídios para dentro do mesmo baseando-se no fototaxitismo positivo do parasito. Embora os métodos de incubação sejam sensíveis, eles apresentam uma limitação uma vez que as amostras de fezes devem estar frescas no momento do exame. Por outro lado, a suspensão de miracídios fixados em formol a 10% poderia ser analisada, pelo menos, 15 dias após a fixação sem perda significativa do número dos mesmos (JURBERG *et al.*, 2008).

A sensibilidade desse método foi de 100% quando comparado ao método de Kato-Katz que foi de 81,81%. Dessa forma, este método também é preconizado para a utilização em trabalho de campo, já que demonstrou bons níveis de sensibilidade, facilidade de manuseio em campo e baixo custo, dispensando a utilização do microscópio sendo também recomendado para avaliação de cura após tratamento, em estudos clínicos (JURBERG *et al.*, 2008).

O Método do Gradiente Salínico (batizado de “aranha”) consiste de um dispositivo simples baseado em um gradiente salínico para a detecção de ovos por exame microscópico. Sabidamente, soluções de diferentes concentrações salínicas criam uma sedimentação diferencial entre os ovos de *S. mansoni* e homogeneizados de tecidos ou fezes, assim os ovos permanecem na parte inferior do dispositivo, enquanto que os restos de baixa densidade são suspensos para o topo da coluna de gradiente (COELHO *et al.*, 2009);

A biópsia da mucosa retal constitui um procedimento invasivo, em que se retira, por retoscopia e biópsia, um fragmento da mucosa retal, para exame microscópico e verificação da presença de ovos. A dependência de pessoal treinado e o desconforto para o paciente limitam este método. Atualmente, a indicação da biópsia retal para o diagnóstico da esquistossomose mansoni restringe-se ao ensaio de drogas, pela demonstração precoce de modificações no oograma retal, método que permite a classificação dos ovos em imaturos, maduros e mortos (RABELLO *et al.*, 2008).

Estas técnicas parasitológicas variam consideravelmente quanto à sensibilidade, dependendo da quantidade de fezes examinadas, do número de ovos excretados e de fatores inerentes à perda intrínseca durante a realização do procedimento. O que gera uma dificuldade do diagnóstico por meio de um único exame de fezes, principalmente em inquéritos epidemiológicos e mesmo no diagnóstico individual de pacientes (GARGIONI *et al.*, 2008).

Nos métodos diretos, quando a carga parasitária é de intensidade moderada a alta (Quadro 2), todas as técnicas coprosópicas apresentam resultado satisfatório. Enquanto podemos observar que a maioria dos métodos atualmente utilizados tem grandes dificuldades na identificação de pacientes com baixa carga parasitária.

Intensidade / Carga Parasitária*	S. mansoni
Baixa intensidade	1 – 99 epg**
Moderada	100 – 399 epg
Alta	≥ 400 epg

Quadro 2 – Classes de intensidade / carga parasitária* das infecções por Esquistossomíase.

Fonte: OMS, 2002.

(*) por exame de amostras de fezes

(**) epg: ovos / grama de fezes

Além dos métodos diretos o diagnóstico da esquistossomose pode ser realizado através dos métodos indiretos, dentre eles o método imunoenzimático *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), método que visa a detecção de antígenos circulantes, o método molecular de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), descritos abaixo. Existe, ainda, a pesquisa de coproantígenos, utilizando anticorpos monoclonais contra antígenos de *S. mansoni*.

A técnica de ELISA utiliza enzimas ligadas a antígenos ou anticorpos para detecção de anticorpos ou antígenos, respectivamente (RABELLO *et al.*, 2008). Por possibilitar automação, além de proporcionar ensaios quantitativos, mostra-se melhor adaptado pra aplicação em estudos populacionais (OLIVEIRA *et al.*, 2003). No entanto, um dos grandes problemas da pesquisa de anticorpos é a ocorrência de reações cruzadas, principalmente observadas com o uso de antígenos brutos, que contêm frações antigênicas compartilhadas com diversos parasitos, como também com alguns protozoários e bactérias (RABELLO *et al.*, 2008).

A detecção de antígenos circulantes geralmente envolve a captura do antígeno por intermédio do ELISA utilizando anticorpos dirigidos a epítomos repetitivos. No entanto, essas técnicas passaram a oferecer maior sensibilidade quando a produção de anticorpos monoclonais favoreceu o processo de captura (RABELLO *et al.*, 2008). A elevada especificidade da detecção de antígenos circulantes, pela ausência de reações cruzadas com outros parasitos e pelo desaparecimento rápido após o tratamento específico, constitui a

principal vantagem desse método (DE JONGE *et al.*, 1989). Além disso, os níveis de antígenos circulantes geralmente se correlacionam com a intensidade da infecção e o número de ovos excretados (POLMAN *et al.*, 2001).

Os anticorpos circulantes permanecem após a cura da infecção, resultando em provas imunológicas positivas durante anos depois da cura. Sendo esta a principal limitação, por não diferenciar infecções passadas de infecções presentes, existe ainda o fato das reações cruzadas que aparecem em áreas endêmicas para *S. mansoni*, onde há uma alta prevalência de geohelmintos, resultando em co-infecções que podem comprometer a especificidade destes métodos (FLEMING *et al.*, 2006).

O método de PCR busca identificar o DNA dos ovos, tegumento ou material de regurgitação do *Schistosoma* nas fezes (RABELLO *et al.*, 2008). Esse método é utilizado por possuir uma alta sensibilidade quando comparado ao método do Kato-Katz (PONTES *et al.*, 2002). Nesse mesmo estudo, os autores observaram que usando uma amostra positiva de fezes para *S. mansoni*, o PCR foi capaz de detectar a presença de DNA do parasito em amostras onde os ovos não foram observados através do método de Kato-Katz.

Mesmo as promissoras ferramentas de diagnóstico molecular ainda são consideradas um método alternativo, pois é necessária uma extensa validação em áreas de baixa endemicidade (Quadro 3), além do fator custo que é um limitador para a execução de rotina desta técnica na maioria dos países. Assim, sistemas de detecção de ovos mais sensíveis são desejáveis como métodos para o diagnóstico definitivo e para serem utilizados na avaliação de métodos diagnósticos indiretos (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

Classificação da comunidade	Prevalência* obtida em inquérito com escolares
I – Alta prevalência	≥ 50% de infectados
II – Moderada prevalência	≥ 10 - < 50% de infectados
III – Baixa prevalência	< 10 % de infectados

Quadro 3 – Classificação da comunidade segundo a prevalência* das infecções por Esquistossomiase.

Fonte: OMS, 2002.

(*) obtida por exame de amostras de fezes

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar dois novos métodos coproscópicos para diagnóstico da Esquistossomose Mansônica, em moradores de uma área de baixa endemicidade no Município de Maranguape no Estado do Ceará, utilizando o método de Kato-Katz como referência e a sorologia (ELISA) para a triagem dos pacientes.

2.2 Objetivos específicos

Descrever o perfil sócio-ambiental da comunidade do Planalto do Cajueiro em Maranguape-CE;

Realizar o método sorológico ELISA para o diagnóstico da esquistossomose mansônica na localidade Planalto do Cajueiro em Maranguape-CE;

Realizar o método coproscópico de Kato-Katz para o diagnóstico da esquistossomose mansônica (como também para outras helmintoses) na localidade Planalto do Cajueiro em Maranguape-CE;

Realizar o método coproscópico do Gradiente Salínico para o diagnóstico da esquistossomose mansônica na localidade Planalto do Cajueiro em Maranguape-CE;

Realizar o método coproscópico Helmintex® para o diagnóstico da esquistossomose mansônica na localidade Planalto do Cajueiro em Maranguape-CE;

Avaliar as diferenças de positividade entre os métodos realizados, utilizando o método de Kato – Katz como referência.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, longitudinal, de intervenção (tratamento parasitário), realizada após os resultados dos exames. O período do estudo foi de maio de 2009 a março de 2010.

Esse estudo foi delineado para ser desenvolvido em cinco etapas:

- a) 1ª Etapa: Reconhecimento da área e divulgação do projeto junto aos residentes na localidade;
- b) 2ª Etapa: Visita domiciliar para assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e entrevista para coleta de dados epidemiológicos;
- c) 3ª Etapa: Divulgação das datas para coleta de sangue, realização da coleta do método sorológico;
- d) 4ª Etapa: Distribuição dos frascos para coleta de fezes, somente para os participantes que foram reativos no teste sorológico; recebimento das amostras de fezes e realização dos métodos coproscópicos.
- e) 5ª Etapa: Entrega dos resultados dos exames e tratamento dos indivíduos positivos nos métodos coproscópicos.

3.2 Área de estudo

O estudo foi realizado na comunidade do Planalto do Cajueiro, localizada no Município de Maranguape, na região Nordeste do Estado do Ceará (Figura 2).

A sede de Maranguape está situada no sopé da serra de mesmo nome, a uma altitude de 68,57 metros e conta com uma área territorial de 591 km² e uma população estimada de 110.523 habitantes (IBGE, 2009), distante 30 km de Fortaleza. O Índice de Desenvolvimento Humano é de 0,691 (ocupando o 13º lugar no ranking do Estado), a taxa de analfabetismo 23,75% e de pobreza 58,54% . Sua economia baseia-se principalmente na Indústria e nos Serviços (IBGE, 2009).

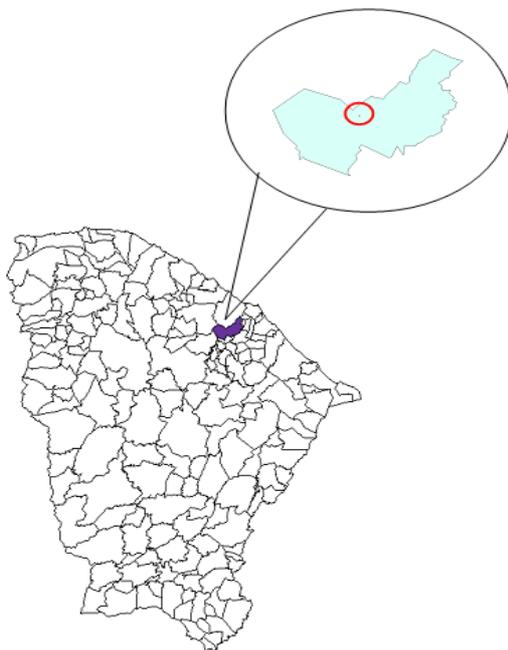


Figura 2 - Mapa do Estado do Ceará com destaque para o município de Maranguape.
Fonte: TABWIN.

O Planalto do Cajueiro, distante apenas 1,5 km da sede do município, é um pequeno povoado banhado por dois córregos (Figura 3), possui 903 habitantes, segundo o último levantamento da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), distribuídos em cinco quarteirões.



Figura 3 - Foto da localidade do Planalto do Cajueiro - Maranguape – CE.
Fonte: Arquivos do LPPBM.

3.3 População de estudo

Participaram deste estudo 250 indivíduos que responderam ao questionário socioeconômico e demográfico os quais realizaram coleta de sangue e de material fecal.

Os moradores desta localidade têm sua fonte de renda baseada, principalmente, na agricultura de subsistência, como também em algumas indústrias têxteis e de calçados que se instalaram recentemente no município.

Segundo dados da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (SESA-CE) a localidade possuía em 2006 uma prevalência para a esquistossomose de 8,53%, elevado-se para 13,76% em 2007. Sendo considerado, atualmente, o local com a maior taxa para esta infecção no Estado do Ceará.

3.4 Aspectos éticos

Este estudo é parte de um projeto mais amplo denominado “**Avaliação da Sensibilidade de Métodos para Diagnóstico da Esquistossomose Mansônica em Área de Baixa Endemicidade no Estado do Ceará**”, desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos (LPPBM), da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), da Universidade Federal do Ceará (UFC), em colaboração com pesquisadores do Instituto de Pesquisa René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), da Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul (PUC-RS).

O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC, recebendo parecer favorável de nº 165/09.

Os participantes foram informados, de acordo com os preceitos éticos previstos na Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, sobre os objetivos da pesquisa, a garantia de que não serão divulgados nomes ou qualquer outra informação que ponham em risco a sua privacidade, pois os resultados serão divulgados sob a forma de gráficos e dados estatísticos, e que a qualquer momento podem desistir da pesquisa, sendo necessário que os mesmos comuniquem ao pesquisador.

Obedecendo às normas éticas que regem a pesquisa em saúde e em seres humanos, após o esclarecimento das etapas do estudo, os indivíduos que concordaram em

participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndice A), seguido do preenchimento de um Questionário Socioambiental (Apêndice B).

No caso dos indivíduos menores de idade, a autorização na participação da pesquisa ficou a cargo dos pais ou do responsável pelas crianças.

3.5 Critérios de inclusão e exclusão

3.5.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo, adultos e crianças acima de dois anos de idade residentes no Planalto do Cajueiro.

3.5.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídas do estudo, as crianças menores de dois anos de idade; os indivíduos que não participaram da coleta de sangue; os indivíduos cujas amostras de sangue foram inviabilizadas (soro hemolisado) e que não retornaram para uma segunda coleta; e aqueles que não entregaram a amostra de fezes, como também os que não concordaram em participar do estudo.

3.6 Coleta do material biológico

3.6.1 Coleta de Sangue

A divulgação do dia para a coleta de sangue foi realizada pelos agentes de saúde que atendem a comunidade, em visitas domiciliares aos indivíduos participantes da pesquisa.

A coleta foi realizada no posto de saúde da localidade, com a participação de técnicas do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Municipal de Maranguape.

Foram coletados 5 ml de sangue, por punção venosa, utilizando material a vácuo esterilizado e descartável. O soro foi separado por centrifugação, alíquotado, identificado e transportado sob refrigeração para o LPPBM da UFC. As amostras sorológicas foram armazenadas em freezer, a menos 70°C, para posteriores análises pelo método ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

3.6.2 Coleta Coproscópica

Foram distribuídos, na casa dos participantes da pesquisa, frascos de coleta (coletor universal) com tampa e espátula, identificados com nome e número de identificação para o domicílio. Decorridas 24 horas, os frascos foram recolhidos e levados ao LPPBM, onde as amostras foram alíquotadas para a realização dos métodos propostos.

Para a coleta do material fecal contamos com a participação de técnicos da FUNASA lotados na localidade, que participaram tanto na distribuição dos frascos coletores, quanto no recolhimento dos mesmos.

Após a realização dos exames de fezes, o restante do material foi descartado em sacos plásticos e levado para incineração junto ao lixo biológico do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) /UFC.

3.7 Métodos de diagnóstico

Foram realizados os seguintes métodos de diagnóstico: método sorológico, para triagem (screening) da população de estudo e métodos parasitológicos de fezes, usados para diagnóstico do *S. mansoni*.

3.7.1 Método Sorológico

3.7.1.1 ELISA

a) Fundamento

O método de ELISA combina a especificidade de um anticorpo a sensibilidade de um ensaio enzimático simples, tendo como princípio uma reação antígeno – anticorpo. Este ensaio se baseia no uso de um segundo anticorpo 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 entre a quantidade de cor produzida e a quantidade de analito presente.

A determinação da diluição dos soros foi obtida a partir de uma curva padrão com concentrações conhecidas de IgG.

b) Procedimento

Foram utilizadas placas de 96 poços com capacidade para 300 μ L, fundo chato maxisorp (NUNC®), sendo sensibilizadas pela adição, a cada poço, de 100 μ L do antígeno total de verme adulto de *S. mansoni* (que nos foi fornecido pelo Prof. Dr. Alfredo Goes, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais), na concentração de 5 μ g/mL de proteínas diluídas em tampão carbonato (pH 9,6). Foi escolhido este tipo de antígeno por sua característica antigênica, o que proporcionou uma sensibilidade maior para este teste. As placas foram seladas e mantidas em geladeira (4°C) overnight (18 horas). No dia seguinte, as placas foram lavadas 3 vezes com solução de lavagem Salina-Tween 0,05M e secas. Foram adicionados a cada poço 100 μ L de soro de cada amostra a ser testada, em duplicata, diluídos em 1:200 em solução diluente (PBS, contendo NaCl 0,5M e 0,2% de Tween 20). As placas foram seladas e incubadas por 1 hora e 30 minutos em estufa a 37°C. Após esse período, as placas foram novamente lavadas três vezes e secas. Foram adicionados 100 μ L de Anti-IgG conjugada com peroxidase (Sigma-Aldrich) por poço, diluído de 1:1.500 em solução diluente. As placas foram seladas e incubadas novamente por mais uma hora e meia em estufa a 37°C.

Após três lavagens, as placas foram secas e adicionado por poço 100 μ L de ortophenylenediamina - OPD (Sigma-Aldrich) diluído em tampão citrato (pH 5,0) e 0,03% de peróxido de hidrogênio. As placas foram então tampadas e protegidas da luz por 20 minutos, a temperatura ambiente e depois a reação foi interrompida com a adição de 20 μ L / poço de ácido sulfúrico 2N.

A densidade ótica foi medida em leitor automático de ELISA (BioTeck®), utilizando um filtro de 490nm.

Foram consideradas positivas as reações com densidade óptica (DO) acima de 0,283, que foi o valor do “cut off” determinado utilizando-se a média mais dois desvios padrões da leitura em DO obtida de 35 soros de um grupo controle, formado por indivíduos não provenientes de região endêmica para a esquistossomose.

3.7.2 Métodos Coproscópicos

A coproscopia foi baseada nas técnicas de Kato-Katz (KATZ *et al.*, 1972), Método do Gradiente Salínico (COELHO *et al.*, 2009) e Helmintex[®] (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

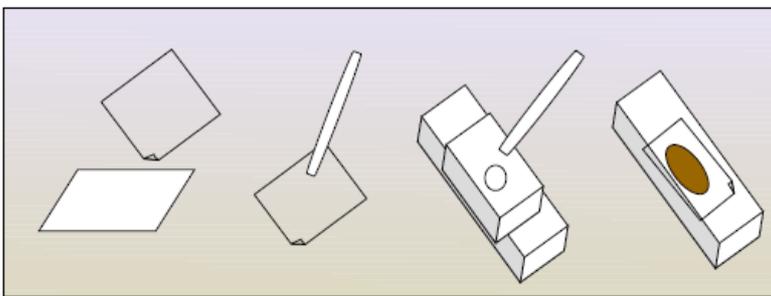
3.7.2.1 Método de Kato – Katz

a) Fundamento

O método de Kato – Katz é uma técnica qualitativa e quantitativa, que permite, pelo uso de material clarificante, a visualização dos ovos de *S. mansoni* porventura existentes nas fezes.

b) Procedimento

Este método foi realizado utilizando o Kit Helm-Test[®], onde foi colocada sobre as fezes uma tela, fornecida pelo kit, pressionando-as com o auxílio de uma espátula. Utilizando a espátula, foi colhida uma pequena quantidade (40 a 50mg) das fezes que passaram pela tela, depositando no orifício do cartão, que estava sobre uma lâmina. Após preencher completamente o orifício, o cartão foi retirado, deixando as fezes sobre a lâmina de vidro. As fezes foram cobertas com lamínula de celofane, previamente embebida em solução de verde-malaquita, a lâmina foi invertida em uma superfície lisa, pressionando-a para a formação de uma camada delgada entre lâmina e lamínula (Figura 4). Foram levadas para estufa a 40°C por 2 horas, em seguida foi realizada a leitura das mesmas ao microscópio, percorrendo toda a superfície delimitada pela lamínula, fazendo a contagem do número de ovos de *S. mansoni*. O número de ovos encontrados foi multiplicado pelo fator de conversão (24), o que corresponderá ao número de ovos por grama de fezes (a quantidade de fezes contida no volume que passa pelo orifício é de aproximadamente 41,7 mg, que multiplicado por 24 resulta em 1.000,8mg).



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

Figura 4 – Preparação do método do Kato – Katz.

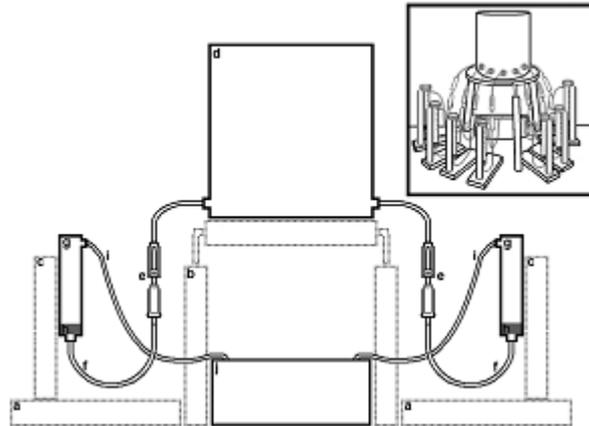
Fonte: Arquivos do LPPBM.

Foram preparadas três lâminas de cada indivíduo, através da técnica descrita acima, e a carga parasitária foi determinada pela média do número de ovos por grama de fezes (opg) e a média aritmética de opg calculada para as 3 lâminas ($OPG = \text{Soma do nº de ovos} \times 24 / \text{nº lâminas analisadas}$) determinando, assim, a intensidade da infecção por *S. mansoni*.

3.7.2.2 Método do Gradiente Salínico

a) Fundamento

Soluções salinas são amplamente utilizadas para suprimir a eclosão do miracídio de *Schistosoma* sp. Além disso, estas soluções foram utilizadas anteriormente por Rowan & Gram em 1959 e Ritchie & Berrios-Duran em 1961, para criar um gradiente diferencial de sedimentação entre ovos de *S. mansoni* e homogeneizado fecal ou de tecido. O aparelho desenhado para este método é uma modificação dos equipamentos utilizados pelos pesquisadores anteriormente citados, para a recuperação em massa de ovos do *S. mansoni* (Figura 5). Estes ovos permanecem na parte inferior do balão, enquanto os sedimentos de baixa densidade são suspensos para a parte superior da coluna de gradiente (COELHO *et al.*, 2009).



Desenho esquemático (visão lateral). Apenas duas das 12 colunas de separação (g) são mostradas. a: base; b: suporte; c: braço de apoio; d: reservatório de solução salina; e: pinça rolete; f: mangueira; g: colunas de separação; h: pedra porosa (cinza); i: mangueira de drenagem; j: recipiente para recolhimento dos detritos.

Figura 5 – Sistema para realização do método do Gradiente Salínico.

Fonte: COELHO *et al.*, 2009.

b) Procedimento

A braçadeira que interliga o reservatório contendo salina a 3% e a coluna de separação foi aberta, deixando que esta solução atingisse o nível superior da pedra porosa; foi interrompido o fluxo da solução salina a 3% para a ampola da coluna, fechando a braçadeira; com uma pipeta, foi descartado o excesso de salina logo acima da pedra porosa; a coluna de separação foi preenchida com uma suspensão de fezes previamente preparadas por diluição de 500mg de fezes da amostra teste em 3 mL de solução salina 0,9%. A braçadeira foi aberta, ajustando o fluxo de solução salina a 10 gotas/min. O fluxo lento e contínuo da solução salina a 3% do reservatório para a coluna de separação fazia com que os sedimentos de baixa densidade fossem suspensos e descartados do sistema, promovendo a limpeza do sedimento no fundo da coluna. Como os ovos têm uma densidade mais elevada, eles permaneceram na superfície da placa porosa. O sedimento final foi então transferido para lâminas de vidro e examinadas ao microscópio de campo claro e realizada a contagem dos ovos.

3.7.2.3 Método do Helmintex[®]

a) Fundamento

O método Helmintex[®] é uma técnica quantitativa, que permite, pelo uso de microesferas paramagnéticas, a purificação e a concentração dos ovos de *S. mansoni* e, assim, uma maior identificação do número de ovos deste parasito porventura existente nas fezes (TEIXEIRA *et al.*, 2007). Uma possível explicação da afinidade entre as esferas paramagnéticas e os ovos de *S. mansoni* é a presença do íon ferro (Fe) na membrana externa dos ovos, permitindo a interação destes com as esferas, na presença de um campo magnético externo (JONES; BALEN, 2007).

b) Procedimento

De cada amostra foi separada 30g de fezes em um recipiente e adicionado formol 10% e homogeneizada. O homogeneizado de fezes foi tamisado através de uma tela de nylon (500 μ m) em um copo de sedimentação, com auxílio de uma espátula e água destilada. A solução foi deixada em repouso por 1 hora em temperatura ambiente. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento re-suspenso em água destilada. Este procedimento foi repetido até obtenção de um sobrenadante límpido. Em seguida o sobrenadante foi desprezado e o sedimento tamisado através de tamises com diferentes espessuras: 100 (S1), 200 (S2) e 325 (S3) fios por polegada quadrada. A fração retida em S3 foi re-suspensa novamente em água destilada e realizada nova sedimentação espontânea por uma hora. O sedimento formado foi submetido ao método de Ritchie (descrito pelo mesmo em 1948), este procedimento foi repetido até se obter um sobrenadante límpido sem anel de detritos. O sedimento foi ajustado para um volume de 1,5mL e transferido para microtubos, onde foram adicionados 19 μ L da suspensão contendo as esferas super-paramagnéticas. A incubação foi realizada em agitador orbital (Phoenix) por 1 hora, a temperatura ambiente. Em seguida o microtubo contendo esta preparação foi conectado ao magneto (BioMag[®]) por 3 minutos, o sobrenadante foi removido e o sedimento retido na parede foi coletado e examinado ao microscópio para contagem dos ovos de *S. mansoni* (Figura 6).

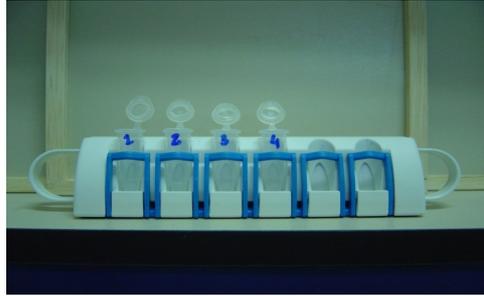


Figura 6 – Equipamento utilizado no método do Helmintex[®] para atração das esferas paramagnéticas.

Fonte: Arquivos do Laboratório de Biologia Parasitária – PUCRS.

3.8 Tratamento

Todos os pacientes com presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes, foram tratados com Praziquantel[®] na dose de 40 mg / kg / peso, em dose única.

O medicamento foi administrado sob supervisão médica e da enfermeira do Posto de Saúde da localidade. No caso de indivíduos que não puderam comparecer ao posto, o tratamento foi realizado na própria residência dos mesmos, sob supervisão dos pesquisadores.

Estes medicamentos foram disponibilizados pela SESA-CE, através do Programa de Controle da Esquistossomose - PCE.

Os pacientes que foram diagnosticados com outros helmintos receberam os resultados e foram orientados a procurar o posto de saúde da localidade para receber o tratamento.

3.9 Análise estatística

Um banco de dados foi elaborado com o auxílio do Programa Epi-Info 6.04 para organização e armazenamento dos dados pessoais, clínicos e laboratoriais. Os resultados dos diferentes métodos foram analisados utilizando-se o Programa SPSS versão 15, com a aplicação do teste de Mc Nemar para avaliar as proporções correlacionadas, sendo escolhido o teste do qui-quadrado para cálculo do valor de P. As cargas parasitárias individuais foram analisadas através do Programa Prisma versão 5, com a aplicação do teste de Friedman, sendo o pós-teste realizado através do teste de comparações múltiplas de Dunn's.

4 RESULTADOS

O nosso estudo foi desenvolvido a partir de uma triagem sorológica, empregando o método ELISA para a detecção de anticorpos IgG anti-*S. mansoni* contra antígenos do verme adulto.

4.1 Perfil sócio-ambiental

Através da aplicação de um questionário, traçamos o perfil sócio-ambiental dos participantes do estudo.

Quanto à faixa etária, 70 indivíduos (28%) estavam entre 26 e 46 anos, 57 (22,8%) entre 15 e 25 anos e 48 (19,2%) com 47 anos ou mais. Os demais grupos incluíam idades variadas, conforme figura abaixo. A divisão das faixas etárias seguiu o padrão utilizado pelo Programa de Controle da Esquistossomose do Ministério da Saúde.

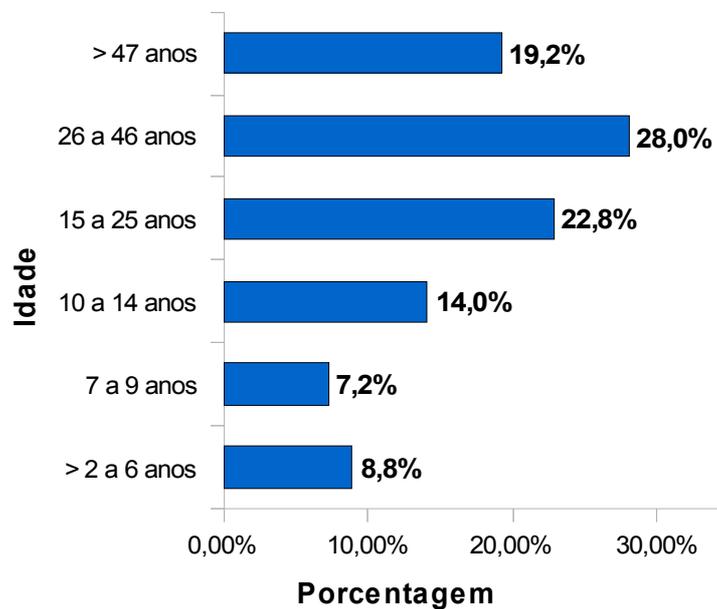


Figura 7 – Faixa etária dos indivíduos participantes do estudo e residentes do Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Ao realizarmos o cruzamento entre faixas etárias e positividade, observou-se que 2 (6,9%) positivos tinham de 7 a 9 anos; 8 (27,6%) de 10 a 14 anos; 2 (6,9%) de 15 a 25 anos; 11 (37,9%) de 26 a 46 anos e 6 (20,7%) tinham idade superior a 47 anos.

Quanto ao sexo, 100 (40%) eram do sexo masculino e 150 (60%) do sexo feminino (Figura 8). Ao realizarmos o cruzamento entre sexo e positividade, observamos que 15 (51,7%) infectados eram homens enquanto que 14 (48,3%) eram mulheres.

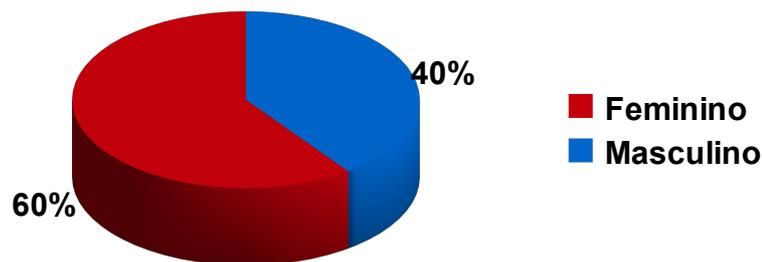


Figura 8 – Distribuição por sexo dos indivíduos participantes do estudo residentes no Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Quanto à escolaridade, 26 (10,4%) indivíduos possuíam o ensino médio completo, enquanto 142 (56,8%) possuíam o ensino fundamental incompleto e 38 (15,2%) não tinham estudo. A faixa etária maior de 2 a 6 anos estava incluída na população sem estudo (Figura 9).

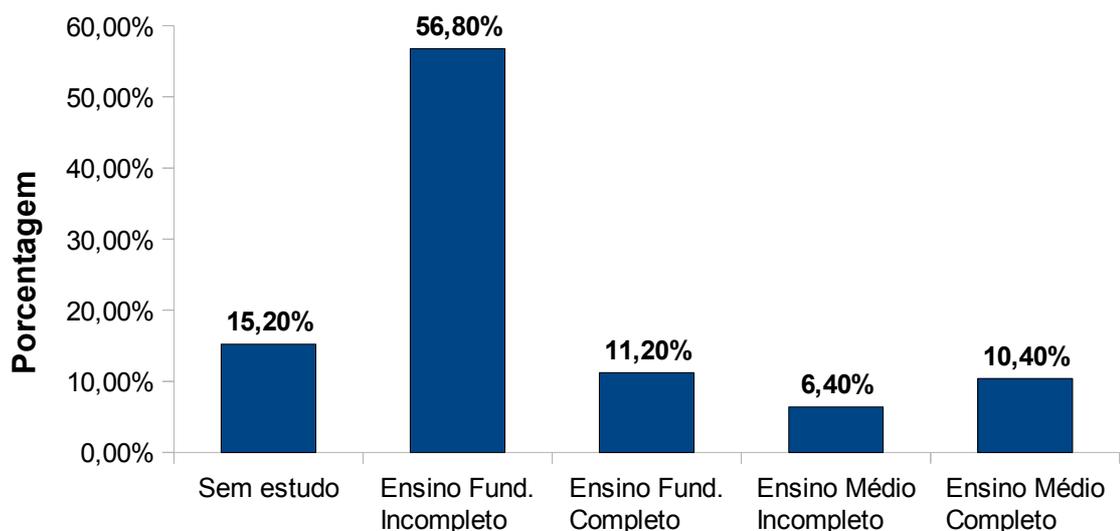


Figura 9 – Participantes segundo o grau de escolaridade - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Ao realizarmos o cruzamento entre escolaridade e positividade, observamos que 19 (65,5%) infectados possuíam o ensino fundamental incompleto; 6 (20,7%) fundamental completo e 4 (13,8%) médio incompleto.

Cinquenta e duas pessoas (20,8%) afirmaram que já tiveram esquistossomose (Figura 10). Ao analisarmos estes dados em relação aos pacientes positivos 23 (79,3%) afirmaram que não tiveram infecção prévia por esta doença e 6 (20,7%) afirmaram já ter tido.

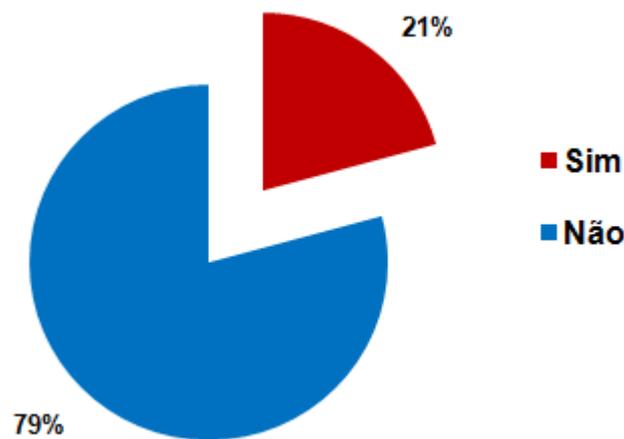


Figura 10 – Participantes segundo a presença de infecção anterior por *Schistosoma mansoni* - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Quanto ao conhecimento sobre como se adquire a doença, metade, ou seja, 127 (50,8%) afirmaram que sabiam e 123 (49,2%) que não (Figura 11). Dados semelhantes foram encontrados quando correlacionamos positividade com o dado supracitado, onde metade do número de indivíduos infectados disse que sabiam como se pega a doença e a outra metade que não.

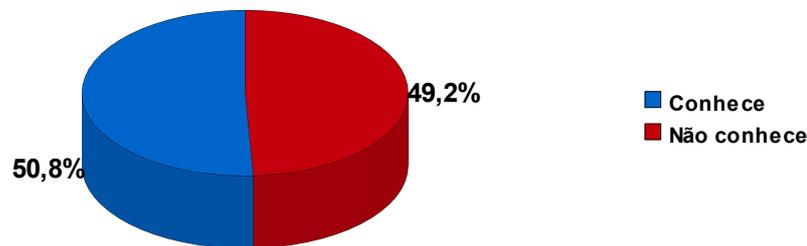


Figura 11 – Participantes segundo o conhecimento da forma de transmissão da doença - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Referente às condições sanitárias, o banheiro estava presente na residência de 237 (94,8%) entrevistados e a água encanada em 229 (91,6%) (Figura 12). Ao correlacionarmos estes dados com o número de positivos, observamos que 27 (93,1%) positivos possuíam banheiro e água encanada em suas residências.

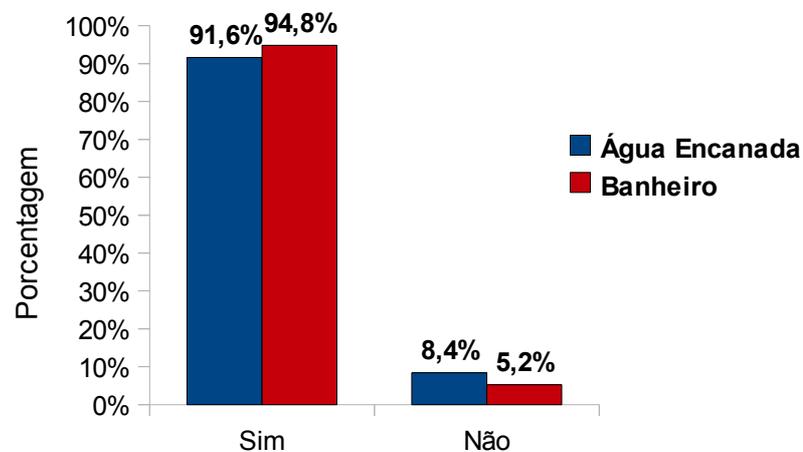


Figura 12 – Percentual de casas com abastecimento de água e presença de banheiro dos participantes do estudo - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Quanto ao perfil de utilização da água, 122 (48,8%) moradores afirmaram que não têm contato com os córregos que atravessam a comunidade, enquanto 65 (26%) afirmaram que utilizam a água para o lazer (pescar, nadar, etc.), 51 (20,4%) a utilizam para tomar banho e 34 (13,6%) para a realização de tarefas domésticas (lavagem de roupas e de utensílios domésticos), conforme figura abaixo.

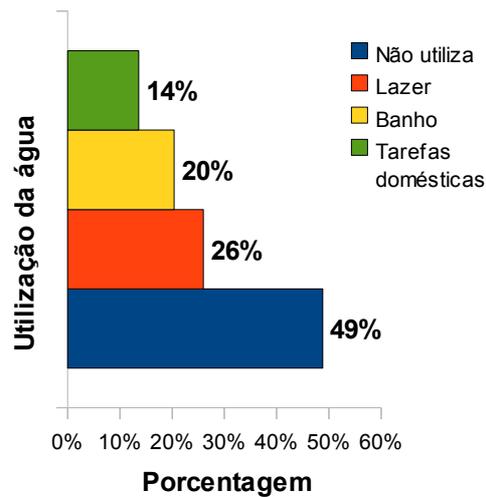


Figura 13 – Perfil de utilização da água pelos moradores do Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE participantes do estudo.

Ao estratificarmos estes dados em relação aos positivos, encontramos que 11 (37,9%) afirmaram não ter contato com a água do rio, 10 (34,6%) informaram que utilizam a mesma para o banho, 3 (10,3%) utilizam para a realização de tarefas domésticas, 3 (10,3%) utilizam como lazer e 2 (6,9%) têm contato com a água para a realização de atividades com fins econômicos.

4.2 Sorologia

4.2.1 Método de ELISA

Das 250 amostras analisadas pelo método ELISA, para detecção de anticorpo IgG contra antígeno de vermes adultos de *S. mansoni*, 118 (47,2%) foram reativas e 132 (53,8%) não reativas (Figura 14). O valor do “Cut off” (limiar de reatividade) determinado foi de 0,283 ($\pm 2DP$).

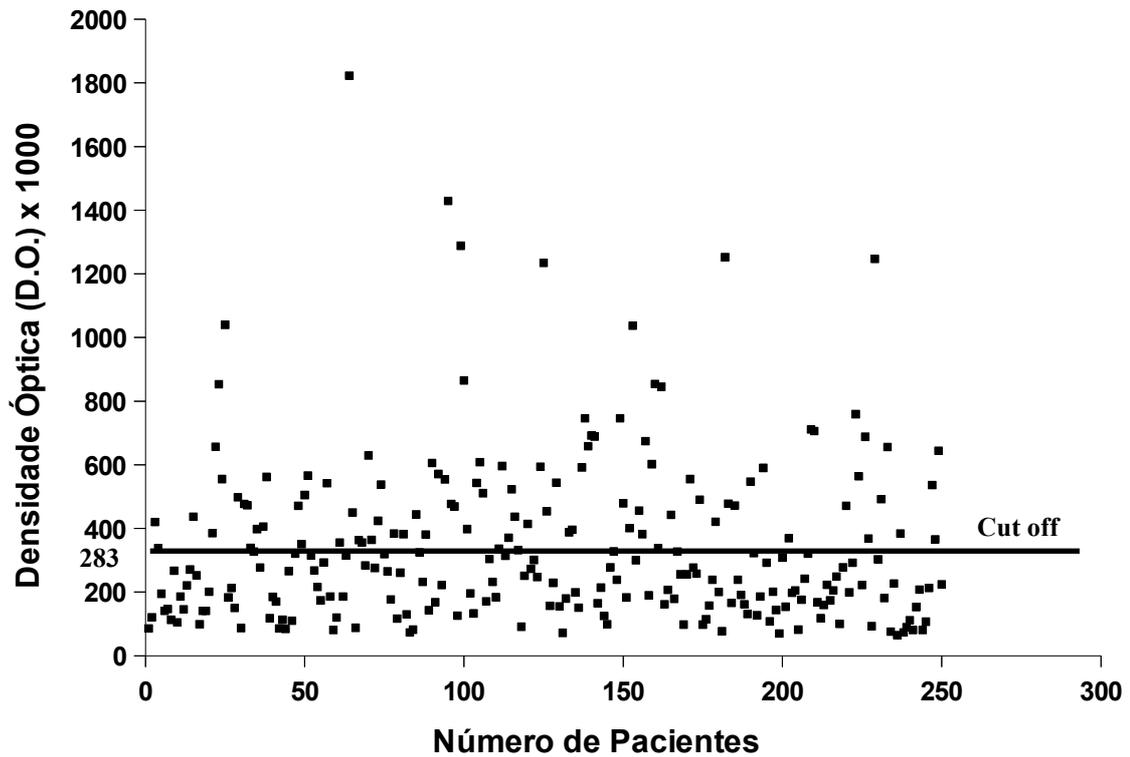


Figura 14 – Sorologia dos indivíduos que realizaram o teste ELISA para IgG anti-*S. mansoni* residentes do Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.

4.3 Coproscopia

Foram realizados três diferentes métodos coproscópicos, cujos resultados são apresentados a seguir.

4.3.1 Resultados dos Métodos Coproscópicos Avaliados

4.3.1.1 Primeiro Método (Kato - Katz)

Dos 118 indivíduos ELISA reativos, apenas 80 entregaram as amostras de fezes. Para o método de Kato – Katz foram preparadas três lâminas de cada amostra fecal. Foram encontradas 7 (8,75%) amostras positivas para *S. mansoni*, com apenas um positivo na primeira e segunda lâmina e cinco na terceira lâmina (Figura 15).

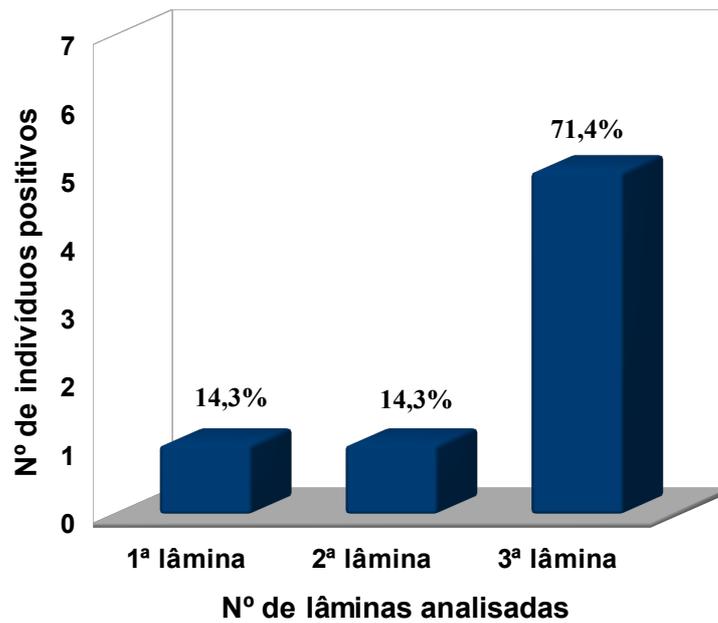


Figura 15 – Distribuição do número de ovos de *S. mansoni* nas fezes, por lâmina analisada, visualizados através do método de Kato – Katz - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.

Outros parasitos encontrados por este método foram: *Trichuris trichiura* em 5 pacientes (6,25%) e *Taenia* sp em 3 (3,75%).

4.3.1.2 Segundo Método (Gradiente Salínico)

Foram analisadas 61 amostras de fezes pelo método do Gradiente Salínico, destas 11 (18,0%) foram positivas para o *S. mansoni* (Figura 16).

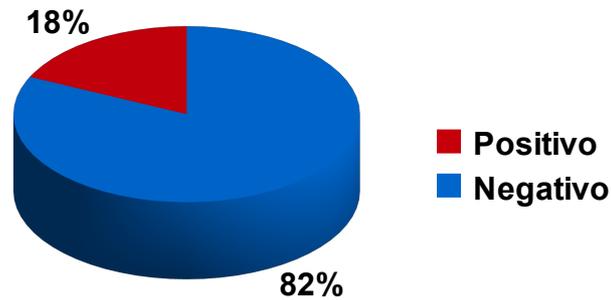


Figura 16 – Presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes, visualizados através do método do Gradiente Salínico - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.

Em relação às outras espécies de helmintos, 16 (26,2%) amostras foram positivas. Destas, 14 (87,5%) apresentaram a presença de Ancilostomídeos, 5 (31,2%) de *Trichuris trichiura*, 1 (6,2%) com *Taenia* sp e 1 (6,2%) com *Strongyloides stercoralis*.

®

4.3.1.3 Terceiro Método (Helmintex®)

Das 80 amostras de fezes recebidas, 34 tinham material suficiente para a

®

realização do método Helmintex®, pois o mesmo exige 30g de fezes.

Das 34 amostras analisadas, em 16 (47,1%) foram encontrados ovos de *Schistosoma mansoni* (Figura 17).

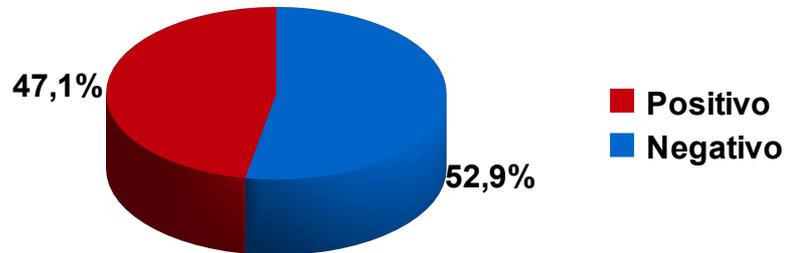


Figura 17 – Presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes, visualizados através do método [®] Helmintex - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.

Em relação às outras espécies de helmintos, 04 (11,8%) amostras foram positivas. Destas uma amostra apresentou ovos de Ancilostomídeos (25%), duas amostras tinham larvas de *Strongyloides stercoralis* (50%) e três com *Trichuris trichiura* (75%).

4.3.1.4 Prevalências Determinadas pelos Métodos Avaliados

Os três métodos coproscópicos avaliados apresentaram índices de prevalência diferentes, como mostra a figura a seguir.

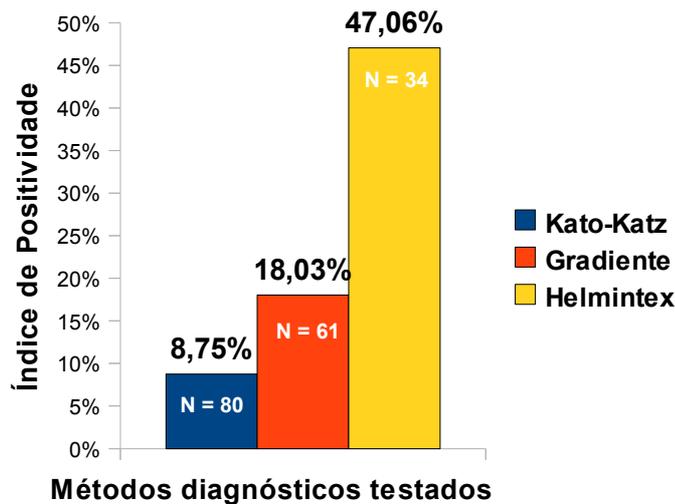


Figura 18 – Prevalências da esquistossomose mansônica, detectadas através dos métodos de Kato – Katz, Gradiente Salínico e Helmintex[®] - Planalto do Cajueiro, Maranguape-CE.

4.4 Comparação entre os métodos coproscópicos realizados

4.4.1 Gradiente Salínico x Kato – Katz

Dos 56 pacientes, que foram avaliados através do método de Kato – Katz e do Gradiente Salínico, 13 foram positivos, sendo 03 positivos no Kato – Katz e 11 no Gradiente Salínico, com apenas 01 paciente positivo em ambos os métodos.

Constatou-se diferença estatisticamente significante entre os métodos Kato-Katz e Gradiente Salínico em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose, ou seja, a proporção de detecções pelo método do Gradiente Salínico (19,64%) foi significativamente maior ($P = 0,039$) que a proporção de detecções pelo Kato-Katz (5,36%), como mostra a Tabela 1.

O método do Gradiente Salínico detectou 10 pacientes que não haviam sido detectados no método do Kato – Katz.

Tabela 1 – Comparação entre os métodos Kato-Katz e Gradiente Salínico na detecção da esquistossomose mansônica. Dados analisados pelo teste de McNemar para variáveis categóricas emparelhadas.

Gradiente	Kato-Katz		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	1	10	11 (19,64%)
Negativo	2	43	45
Total	3 (5,36%)	53	56

P = 0,039 (calculado através do Teste de Qui-Quadrado).

4.4.2 Helminx[®] x Kato – Katz

O método de Kato – Katz e o Helminx[®] foram realizados em 32 pacientes, dos quais 16 foram positivos. Destes, 04 foram positivos no Kato – Katz e 15 no Helminx[®], com 03 pacientes positivos em ambos os métodos.

Constatou-se diferença estatisticamente significativa entre os métodos Kato-Katz e Helminx[®] em relação à proporção de pacientes portadores da esquistossomose, ou seja, a proporção de detecções pelo método do Helminx[®] (46,87%) foi significativamente maior (P = 0,003) que a proporção de detecções pelo Kato-Katz (12,50%), como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 – Comparação entre os métodos Kato-Katz e Helmintex[®] na detecção da esquistossomose mansônica. Dados analisados pelo teste de McNemar para variáveis categóricas emparelhadas.

Helmintex [®]	Kato-Katz		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	3	12	15 (46,87%)
Negativo	1	16	17
Total	4 (12,50%)	28	32

P = 0,003 (calculado através do Teste de Qui-Quadrado).

O Helmintex[®] detectou 12 pacientes que não haviam sido detectados no método do Kato – Katz.

4.4.3 Gradiente x Helmintex[®]

Os métodos do Gradiente Salínico e Helmintex[®] foram realizados em 32 pacientes, dos quais 17 foram positivos, sendo 06 no Gradiente Salínico e 15 no Helmintex[®], com 04 pacientes coincidentes.

Constatou-se diferença estatisticamente significativa entre os métodos Gradiente Salínico e Helmintex[®] em relação à proporção de pacientes portadores de esquistossomose, ou seja, a proporção de detecções pelo método do Helmintex[®] (46,87%) foi significativamente maior (P = 0,022) que a proporção de detecções pelo Gradiente Salínico (18,75%), como mostra a Tabela 3.

O Helmintex[®] detectou 11 pacientes que não haviam sido detectados no método do Gradiente Salínico.

Tabela 3 – Comparação entre os métodos Gradiente Salínico e Helmintex[®] na detecção da esquistossomose mansônica. Dados analisados pelo teste de McNemar para variáveis categóricas emparelhadas.

Helmintex [®]	Gradiente Salínico		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	4	11	15 (46,87%)
Negativo	2	15	17
Total	6 (18,75%)	26	32

P = 0,022 (calculado através do Teste de Qui-Quadrado).

4.5 Cargas parasitárias segundo os métodos avaliados

4.5.1 Kato – Katz

A intensidade de infecção na população estudada avaliada através do cálculo da média geométrica (*G*) da contagem de ovos nas três lâminas analisadas neste método foi de 8 ovos por grama de fezes (OPG), sendo a mesma igual à intensidade da infecção individual na maioria dos pacientes, visto que todos apresentaram apenas um ovo por amostra, conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 – Número de ovos de *S. mansoni* (x) encontrados por lâmina analisada pela técnica de Kato – Katz.

Paciente	Amostra de fezes			OPG (\bar{x})
	L1	L2	L3	
E	0	0	1	8
I	0	0	1	8
M	0	0	1	8
N	0	0	1	8
P	0	1	0	8
T	1	0	0	8
Z	0	0	1	8
G				8

4.5.2 Gradiente Salínico

Neste método a carga parasitária individual variou de 02 a 12 OPG, enquanto a carga parasitária da população foi estimada em 4,1 OPG (Tabela 5).

Para o desenvolvimento do método empregam-se 500mg de fezes, sendo a carga parasitária individual calculada através da multiplicação do número de ovos encontrados no material examinado por dois.

Tabela 5 – Distribuição do número de ovos de *Schistosoma mansoni* nos 11 pacientes diagnosticados através da técnica do Gradiente Salínico.

Pacientes	Ovos (nº)	OPG
A	5	10
C	1	2
E	5	10
F	3	6
J	1	2
K	3	6
L	1	2
R	1	2
S	6	12
X	1	2
AB	2	4
G		4,1

®

4.5.3 Helmintex

Este método foi o que apresentou maior variação na carga parasitária individual, indo de 0,03 a 7,73, ficando a carga parasitária desta população estimada em 0,29 OPG (Tabela 6).

É importante ressaltar que neste método, por termos avaliado 30 g de fezes, para cálculo do OPG o número de ovos encontrados na amostra analisada foi dividido por trinta.

Tabela 6 – Número de ovos de *Schistosoma mansoni* encontrados e média geométrica do

OPG (G) dos 16 casos positivos pela técnica do Helmintex[®] .

Pacientes	Ovos (nº)	OPG
B	3	0,10
C	4	0,13
D	5	0,17
E	14	0,47
F	4	0,13
G	17	0,57
H	4	0,13
I	143	4,77
O	6	0,20
Q	19	0,63
S	232	7,73
T	6	0,20
U	6	0,20
W	1	0,03
Y	9	0,30
AA	4	0,13
G		0,29

5 DISCUSSÃO

A prevenção da infecção e re-infecção por *Schistosoma mansoni*, assim como a redução na incidência da infecção exigem atenção aos fatores sociais, dentre outros (ASAOLU; OFOEZIE, 2003). Fatores como idade e sexo, condições locais, incluindo infraestrutura, e fatores econômicos, como o emprego e ocupação, têm impacto direto sobre o risco de infecção e da transmissão da doença. Nas últimas décadas, os serviços de saúde e os programas de controle têm dado mais atenção a estes fatores, e aos desafios que surgem de suas interações (HUANG; MANDERSON, 2005).

Diante disso, visando conhecer o perfil epidemiológico da comunidade do Planalto do Cajueiro aplicou-se um questionário sócio-ambiental. Torna-se pertinente uma reflexão a respeito da não participação de 653 indivíduos, o que é indesejável principalmente em área de baixa endemicidade, na qual a detecção de positivos, por si só já é um problema, conforme afirma Gonçalves *et al.* (2005).

A decisão das pessoas da localidade de participar ou não desse estudo estava relacionada a fatores intervenientes como: não gostar de colher sangue, ter dificuldades de evacuar, não estar no domicílio nos horários de entrega/recolhimento dos frascos de coleta, falta de interesse por já terem participado de repetidos exames realizados pelo Programa de Controle da Esquistossomose, constrangimento relacionado à colheita das fezes e exposição destas à equipe de profissionais, etc. Em estudos futuros, todas essas causas de recusa e de viés precisam ser neutralizadas para que haja a colaboração do maior número possível de participantes. Os constrangimentos podem ser neutralizados, ainda que não se consiga eliminá-los, pela percepção dos benefícios individuais e coletivos que o diagnóstico pode propiciar e pela confiança nos indivíduos que realizam o estudo. Para estimular essa percepção, a informação deve atingi-los de modo a sensibilizá-los, resguardados os limites da ética. É necessário que eles percebam, sem serem constrangidos, que seus interesses individuais, apesar de legítimos, contrapõem-se a outros interesses igualmente legítimos: os do restante da comunidade, já que recusas ao diagnóstico e ao tratamento propiciam a disseminação local da esquistossomíase (GONÇALVES *et al.*, 2005).

A análise dos questionários dos 250 indivíduos, que compunham o nosso grupo amostral, mostraram que a maior parte desses estava entre as faixas etárias de 15 a 25 (22,8%) e 26 a 46 anos (28,0%). De acordo com Gazzinelli *et al.* (2006) em estudo realizado no Vale

do Jequitinhonha-MG a faixa etária de 15 a 29 anos foi a que apresentou maior prevalência (Razão de Prevalência = 1,56) para esquistossomose. Esse dados diferem do que obtivemos em nosso estudo, onde ao realizarmos o cruzamento das faixas etárias com positividade, observamos que os indivíduos de 26 a 46 anos foram os que apresentaram maior prevalência (37,9%). Embora essas diferenças não sejam significativas.

De acordo com Huang e Manderson (2005), na China há evidências de que a frequência de contato com a água, em geral, é maior nos homens do que nas mulheres, o que afeta a proporção de infecção pelo *Schistosoma* nos sexos, o que corrobora com nosso estudo, onde observou-se que 51,7% dos infectados eram homens enquanto que 48,3% eram mulheres, valendo ressaltar que a maioria da comunidade era do sexo feminino (60%).

Observamos ainda que, em relação a escolaridade, que a maior parte da comunidade (56,8%) possuía apenas o ensino fundamental incompleto. É importante salientar que a falta de informações pode levar à atitudes que contribuam para uma maior probabilidade de adquirir a doença, como mostra o estudo de Yin *et al.* (2000), que afirma existir uma correlação negativa entre os níveis de estudo e os índices de esquistossomose. Na comunidade em estudo observou-se que 65,5% dos infectados possuíam o ensino fundamental incompleto o que corrobora com os dados acima citados, sendo importante ressaltar que a maior parte da comunidade (56,8%) possui esse mesmo nível de escolaridade.

Em relação à infecção prévia, 20,8% das pessoas afirmaram ter tido esquistossomose anteriormente, sendo semelhante aos dados encontrados por Frota *et al.* (2008) em estudo realizado em Caititú de Cima-CE, onde 23,3% também fizeram a mesma afirmação. Ao analisarmos nossos dados em relação aos pacientes positivos 79,3% desses afirmaram que não tiveram infecção prévia por esta doença. Devemos ponderar que este dado foi obtido de informações dos próprios indivíduos o que pode ser subjetivo, como também pode ser subjetiva a presença ou não da infecção devido a baixa susceptibilidade do método de diagnóstico utilizado.

Quando foi perguntado se os indivíduos sabiam como se adquire a doença 50,8% afirmaram ter conhecimento e 49,2% não sabiam, sendo semelhante aos dados de Frota *et al.* (2008), que encontrou 50,16% que sabiam e 49,84% que não.

Apesar da maioria das pessoas possuírem banheiro (94,8%) e água encanada (91,6%), quando relacionamos estes dados com o número de positivos vimos que 93,1% destes possuíam banheiro e água encanada na residência, o que sugere a não utilização adequada dos mesmos.

Em relação ao perfil de utilização da água, boa parte da população (48,8%) afirmou que não utilizava a água dos córregos. Essa porcentagem foi muito próxima da encontrada entre os positivos, onde 37,9% afirmaram que não tinham contato com a água do rio. Isso nos leva a questionar a veracidade destas informações fornecidas pela comunidade, já que este fato contradiz a dinâmica de transmissão da doença.

A segunda maior porcentagem do grupo de positivos afirmou utilizar a água do rio para tomar banho (34,6%), o que era de se esperar, pois esta atividade expõe o corpo a forma infectante por mais tempo e com uma maior superfície de contato.

A realidade social desta comunidade é crítica, pois boa parte da população está situada em locais de risco para transmissão de doenças (como esquistossomose, leishmaniose, dengue, entre outras), devido às precárias condições de infra-estrutura e saneamento. A infância e adolescência não são beneficiadas por programas adequados para o direcionamento para o trabalho e cidadania. É possível, com relativa facilidade, encontrar pequenos grupos de crianças e adolescentes vagando pelas ruas e pela área de lazer utilizada pela comunidade, e até mesmo, em alguns momentos, utilizando substâncias entorpecentes.

Os métodos parasitológicos de fezes para diagnóstico da infecção por *Schistosoma mansoni* baseiam-se na detecção de ovos excretados, pois esses possuem morfologia facilmente identificáveis. O diagnóstico parasitológico de fezes tem as vantagens da alta especificidade e de exigir equipamentos relativamente simples e, em áreas de alta endemicidade, pessoal apenas com formação de base. No entanto, há algum tempo, tem sido reconhecido que a falta de sensibilidade de detecção por estes se deve a imprecisão na contagem de ovos (DE VLAS; GRYSSELS, 1992).

Alguns trabalhos tem mostrado a estratégia de definir objetivos para o controle de doenças infecciosas nos países em desenvolvimento por entidades governamentais e agências internacionais, em colaboração com a Organização Mundial de Saúde. Um considerável progresso tem sido feito, mas há uma tendência para enfatizar o tratamento e a prevenção através do uso de vacinas, com isso a importância de assegurar-se bons testes de diagnóstico é muitas vezes negligenciada (RIDLEY, 2006). No entanto, uma avaliação precisa da situação epidemiológica torna-se crucial para a obtenção de programas de controle bem sucedidos (BERQUIST *et al.*, 2009).

Ainda são necessários investimentos para o estudo e desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico para a esquistossomose, levando em consideração a importância dos esforços para controle da doença (RABELLO, 1997).

Os métodos imunológicos para o diagnóstico da esquistossomose assumem cada dia maior importância devido a sua especificidade, sensibilidade, rapidez e simplicidade. As técnicas de detecção de anticorpos continuam a constituir instrumento de valor indubitável a ser utilizada em estudos populacionais, assim, a sua incorporação aos programas de controle em área de baixa endemicidade é imprescindível (NOYA *et al.*, 1999). A técnica indicada para o diagnóstico em massa desta parasitose, tem sido a técnica de ELISA. Este ensaio cumpre os requisitos de baixo custo, reprodutibilidade, objetividade, resultados rápidos e automação.

É importante destacar que esse método realizado com antígeno bruto de *S. mansoni* superestima a prevalência da infecção, uma vez que não faz a distinção entre infecções ativa/passada devido a presença de falsos positivos, decorrentes de reações cruzadas com outros parasitos, como ancilostomídeos (NOYA *et al.*, 2006). Valendo ressaltar que quando utilizado como ferramenta para triagem a imunogenicidade do antígeno pode ser encarada como uma vantagem, visto que aumenta-se a probabilidade de detecção de um maior número de indivíduos reativos no grupo a ser trabalhado, já que a confirmação da doença será realizada por métodos mais específicos.

O teste IgG-ELISA têm sido proposto para aplicação no programa de controle da esquistossomose, pois acredita-se que ele seja mais sensível do que os métodos coprológicos, por ser mais rápido e de fácil execução. Sendo assim, sugeri-se a sua utilização na primeira etapa do estudo, onde deseja-se realizar uma vigilância e controle da doença, para triagem dos indivíduos. É importante destacar que os métodos de diagnósticos sorológicos e coproscópicos são complementares, assim não faz sentido comparar os mesmos, mas sim utilizar um de forma a auxiliar o outro (ZHOU *et al.*, 2007). Quando emprega-se somente o método parasitológico de fezes para diagnosticar a esquistossomose, a prevalência real da doença fica subestimada, tendo em vista a baixa eficiência deste método para detectar casos com pequeno número de ovos (ENGELS *et al.*, 1996).

A possibilidade de selecionar previamente os indivíduos a serem submetidos ao exame parasitológico de fezes, pela utilização de uma técnica sorológica comprovadamente mais sensível, permite confirmar a infecção através da insistência do exame parasitológico e assim determinar uma taxa de prevalência mais próxima da realidade (GARGIONI *et al.*, 2008).

Diante do exposto, utilizamos o ELISA como ferramenta na triagem sorológica da população do Planalto do Cajueiro, sendo utilizado antígeno do verme adulto de *S. mansoni*. Os casos reativos foram submetidos aos três métodos coproscópicos avaliados.

A triagem sorológica foi realizada em 250 indivíduos do Planalto do Cajueiro, destes 118 (47,2%) foram reativos e 132 (52,8%) não reativos, o que vem corroborar com o estudo de Gonçalves *et al.* (2006) que estudaram 269 indivíduos de Paracambi-RJ, uma área endêmica de baixa transmissão, encontrando 128 (48%) soros reativos.

A determinação da reatividade dos soros dos indivíduos direcionou, em nosso estudo, a definição da amostragem que foi submetida para ao três métodos coproscópicos a serem avaliados neste estudo.

A coprologia é imprescindível por: ser um método prático e de baixo custo; evidenciar o parasito diretamente; permitir a contagem de ovos, o que é indicativo da intensidade da infecção e oferecer possibilidade de comparação com outros trabalhos (GONÇALVES *et al.*, 2005). Apesar disso, as técnicas parasitológicas de fezes variam consideravelmente quanto a sensibilidade, dependendo da quantidade de fezes examinadas, do número de ovos eliminados e de fatores inerentes a perda intrínseca durante a realização do procedimento (ENGELS *et al.*, 1996).

Kato-Katz é o método internacionalmente recomendado pela Organização Mundial de Saúde para o diagnóstico do *S. mansoni* e de outras infecções intestinais por helmintos (WHO, 1994), por ser quantitativo, de fácil execução, necessitar de pouco material e ter uma alta especificidade (LIN *et al.*, 2008). Possibilita, ainda, o armazenamento e transporte das lâminas por meses sem prejuízo dos resultados (KATZ *et al.*, 1972). Atualmente estão disponíveis kits de material plástico descartável que permite que a técnica seja executada com maior biossegurança.

Na localidade em estudo foram encontradas 7 (8,75%) amostras positivas para *S. mansoni*, com apenas um ovo por lâmina. Na primeira lâmina foi encontrado um paciente positivo (14,3%), na segunda também um positivo (14,3%) e na terceira cinco positivos (71,4%). Nossos achados, em relação a primeira e segunda lâmina, foram similares aos observados por Enk *et al.* (2008) em estudo realizado em Chonim de Cima, Governador Valadares-MG, onde a prevalência foi de 11,2% quando realizada apenas uma lâmina, de 12,5% com duas lâminas, mas divergiram em relação ao número de detecções na terceira lâmina, quando os mesmos encontraram apenas 20,8% de positivos, embora as duas áreas trabalhadas sejam de baixa endemicidade.

Ao avaliarmos a carga parasitária da população, calculada através da média geométrica das três lâminas analisadas, obtivemos uma intensidade de infecção de 8 ovos por grama de fezes (OPG), valor superior ao identificado por Gargioni *et al.* (2008), que encontraram uma intensidade de infecção de 5,3 OPG, no município de Holambra, no Estado

de São Paulo. Vale destacar que, em nosso trabalho, o valor da carga parasitária populacional foi igual ao da carga individual, pois só foi encontrado um ovo nas análises de cada paciente positivo.

A estratégia metodológica nacional atualmente aplicada para o diagnóstico da esquistossomose mansônica, utilizando o método de Kato-Katz com uma amostra e uma lâmina, para determinar a taxa da infecção não possui a sensibilidade necessária para o diagnóstico, por conseqüência, os valores de prevalência da esquistossomose, em área de baixa endemicidade, ficam subestimados.

Essa técnica enfrenta o dilema de ter elevada especificidade, mas não possuir sensibilidade suficiente para o diagnóstico confiável da infecção por *Schistosoma* em área de baixa endemicidade (LIN *et al.*, 2008).

Especialmente em áreas de baixa prevalência e baixa intensidade, a sensibilidade dos testes parasitológicos podem ser melhorada através do aumento da quantidade de material fecal e / ou do número de lâminas examinadas. Em Zhuxi, a proporção de positivos pelo Kato-Katz, aumentou de 47% utilizando uma única amostra de fezes, para 68% após análise de sete amostras. No entanto, em condições de campo a realização destes repetidos exames torna-se muito difícil (YU *et al.*, 1998).

Entre os métodos parasitológicos já empregados em estudos populacionais, destaca-se a técnica do Kato-Kato, que tem sido muito utilizada em inquéritos populacionais por apresentar facilidades operacionais e por possibilitar a estimativa das cargas parasitárias (KANAMURA *et al.*, 2001). Frente a falta de sensibilidade deste método, em áreas de baixa carga parasitária e baixa endemicidade, tem-se buscado novas técnicas diagnósticas alternativas que visem superar esta limitação, utilizando-se a técnica de Kato-Katz como referência na avaliação de novas técnicas (LIN *et al.*, 2008).

O Gradiente Salínico, é uma dessas novas técnicas alternativas para o diagnóstico da esquistossomose, que foi por nós utilizada. A técnica baseia-se na diferença de concentrações de soluções salínicas, para recuperação em massa de ovos de *S. mansoni*, sendo proposto para execução em campo. Consiste em um dispositivo simples, que foi desenvolvido para facilitar a detecção de ovos por exame ao microscópio, sendo de baixo custo, muito sensível, rápido e de fácil execução (COELHO *et al.*, 2009).

O método requer apenas água e cloreto de sódio, o dispositivo pode ser reutilizado quantas vezes forem necessárias, bastando lavá-lo cuidadosamente. Este método está em fase de melhoramento, conforme recomendações da OMS (2006), para ser utilizado como

ferramenta de diagnóstico da esquistossomose. Pesquisas de campo adicionais estão em andamento para validar seu uso em estudos populacionais (COELHO *et al.*, 2009).

Um aspecto importante é que ao compararmos o número de lâminas necessárias para ler-se todo o sedimento produzido pelo Gradiente Salínico, o qual utiliza 500mg de fezes, com o número de lâminas necessárias para a leitura dessa mesma quantidade de fezes através do Kato-Katz aumenta-se em média de 7 para 12 lâminas. Além disso, de acordo com Coelho *et al.*, (2009), o sedimento gerado pelo Gradiente Salínico requer geralmente 20 minutos para análise microscópica, enquanto neste mesmo tempo apenas 4 laminas de Kato-Katz são examinadas.

Durante a execução do método é possível processar 12 amostras por vez e os sedimentos de fezes obtidos pelo método do Gradiente Salínico podem ser mantidos em formol a 10%, por pelo menos 60 dias antes das análises, e assim armazená-los em laboratório para leitura posterior, facilitando a realização de grandes levantamentos epidemiológicos.

Ao realizarmos o método do Gradiente Salínico em 61 amostras de fezes, encontramos 11 (18,0%) indivíduos positivos para o *S. mansoni*. Esses dados diferem de Coelho *et al.* (2009), que ao empregarem este método em uma amostra de 40 indivíduos, em Córrego Fundo-MG, identificaram uma taxa de infecção de 35% para *S. mansoni*. Essa prevalência encontrada pode, provavelmente, ter sido maior do que a nossa devido os mesmos terem utilizado duas amostras por indivíduo, enquanto em nossas análises utilizamos apenas uma.

Apesar deste sistema ter se mostrado bastante vantajoso, algumas observações na sua operacionalização com o seu uso contínuo devem ser ressaltadas. Notamos que faz-se necessário a troca da conexão do reservatório da solução salina com a mangueira de borracha, pois a mesma, por ser de látex, ressecava após algum tempo de uso, o que impedia a passagem da solução. Outro aspecto observado foi em relação a coluna de sedimentação, que exigia lavagens do filtro poroso bem criteriosas para evitar-se a contaminação de uma amostra para a outra. Quanto a este problema, por último relatado, os inventores do sistema (COELHO *et al.*, 2009) já estão desenvolvendo uma coluna de separação descartável, o que facilitará a realização de um grande volume de exames.

Ao comparar-se os resultados obtidos pelo Kato-Katz e o Gradiente Salínico, vimos que a proporção de detecções pelo Kato-Katz foi 5,36% enquanto que no Gradiente Salínico foi de 19,64%, o que corrobora com os dados de Siqueira *et al.* (2009), em estudo realizado no município de Montes Claros-MG, classificado como área de baixa endemicidade, onde obteve 10,4% de prevalência para esquistossomose ao realizar apenas uma lâmina de

Kato-Katz e 14,4% pelo método do Gradiente Salínico. Assim, o método do Gradiente Salínico foi mais sensível do que o Kato-Katz em ambos os estudos realizados.

Utilizando-se a amostragem na qual foi realizado o método do Kato-Katz e do Gradiente Salínico para comparação dos resultados obtidos por estes, viu-se que dos 13 positivos (23,2%) encontrados por ambos, 10 (76,9%) indivíduos foram diagnosticados apenas através do Gradiente Salínico, sendo o mesmo mais efetivo na detecção de casos na localidade em estudo.

Em áreas onde os esforços para o controle da esquistossomose levaram a redução da carga parasitária dos indivíduos, os métodos parasitológicos clássicos não demonstram sensibilidade suficiente para o diagnóstico da doença (NOYA *et al.*, 2002). Sistemas mais sensíveis de detecção de ovos são desejáveis como método de diagnóstico definitivo. Como os ovos de *S. mansoni* são grandes e tem forma peculiar, com espículo lateral, são facilmente reconhecidos quando visualizados ao microscópio, o que garante um diagnóstico definitivo com poucas possibilidades de resultados falso-negativos. O aumento da quantidade de fezes ou do número de amostra ou do número de lâminas lidas, bem como o uso de métodos de concentrações fecais diferenciados, foram testados a fim de melhorar a sensibilidade do diagnóstico parasitológico, mas nenhuma destas abordagens tem sido suficientemente convincentes para justificar a sua extensa utilização (EBERL *et al.*, 2002).

Diante disso, recentemente, um novo método altamente sensível denominado Helmintex[®] têm sido proposto por Teixeira *et al.* (2007), visando a identificação de ovos de *S. mansoni* em grandes quantidades de fezes. Trinta gramas das amostras de fezes são processadas através de uma seqüência de sedimentação espontânea, método de tamisação e método de Ritchie (1948) e, em seguida, os ovos são isolados através da interação com esferas paramagnéticas e visualizados ao microscópio (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

Estudos recentes tem demonstrado que o íon ferro (Fe) possui um papel importante no metabolismo do *Schistosoma*, o que pode explicar a afinidade dos ovos desse por esferas paramagnéticas. Espectroscopia por energia dispersiva dos ovos de *S. japonicum* demonstrou que o ferro está incorporado na membrana do ovo (JONES *et al.*, 2007). Trabalhos anteriores mostraram que as fêmeas do *Schistosoma* acumulam ferro nos vitelócitos, células da linhagem germinal, que sintetizam os precursores da membrana do ovo (WOLDEMUSSE e BENNETT, 1982).

Graeff-Teixeira (2006), iniciou um projeto de pesquisa intitulado “Avaliação de métodos parasitológicos de extrema sensibilidade para a esquistossomose e outras helmintíases”, onde na descrição do mesmo afirma que o método de Helmintex é

extremamente promissor não somente para o monitoramento de medidas de controle visando erradicação da transmissão (como os focos isolados e de recente introdução), mas também para ser utilizado como padrão ouro na comparação entre métodos copro-parasitológicos e na avaliação de métodos sorológicos.

É importante ressaltar que Teixeira *et al.* (2007) mostrou que a sensibilidade desta técnica foi de 100% quando a carga parasitária era de 1,3 ovos por grama de fezes (OPG), decaindo para 25% de sensibilidade quando era de 0,1 OPG. Vale destacar que estes dados são referentes à análises realizadas em amostras semeadas em laboratório com ovos recuperados de camundongos infectados por *S. mansoni*.

Ao submetermos as amostras de fezes dos pacientes ELISA reativos a esta técnica, encontramos uma prevalência de 47,1%, tendo sido a mais alta por nós encontrada dentre os métodos aplicados, visto que o resultado do Kato-Katz foi de 8,75% e o do Gradiente Salínico foi 18%. Não é possível comparar estes dados com outros estudos realizados, pois fomos os primeiros a aplicá-los em inquérito epidemiológico.

Uma provável limitação dessa ferramenta de diagnóstico para o controle integrado da esquistossomose e de outras helmintoses, é que ainda não é possível afirmar se a migração que ocorre com os ovos de *S. mansoni* na presença de esferas paramagnéticas também ocorrerá com os ovos de nematoides (LAMMIE *et al.*, 2006).

Entretanto, em nossas análises, encontramos 11,8% das amostras parasitadas por outras espécies de helmintos. Destas, uma amostra apresentou ovos de ancilostomídeos, duas amostras tinham larvas de *Strongyloides stercoralis* e três ovos de *Trichuris trichiura*. Vale salientar que, dos pacientes parasitados por esses helmintos, dois apresentaram alta carga parasitária, sendo um deles com 200 larvas de *S. stercoralis* e outro com 224 ovos de *Trichuris trichiura*.

Outra característica do Helmintex é a exigência de uma grande quantidade de fezes para a sua realização (30 gramas), o que pode tornar-se um fator limitante devido ao fato de que a maioria dos indivíduos, mesmo que avisados da necessidade de coletar uma grande quantidade de material não o faz. Devido a grande quantidade de fezes requerida durante a primeira etapa do método, na fase de sedimentação, exige-se cerca de 5 lavagens, em média, para a obtenção de um sobrenadante límpido, tempo gasto entre estas lavagens, tornando a técnica bastante demorada.

Já na segunda etapa do método, o material era tamisado através de diferentes telas, que deveriam ser lavadas após cada utilização, gerando um risco de contaminação entre

as amostras se as lavagens destas telas não forem criteriosas. Uma sugestão para suprimir esse risco seria o desenvolvimento de telas descartáveis.

Em relação a etapa de leitura, para análise de todo o sedimento, de cada amostra, gerado por esta técnica era necessária em média a realização de 20 a 30 lâminas, o que aumenta o tempo dispendido para a realização desta etapa. Apesar da vantagem do sedimento ser límpido, o que facilita a leitura.

As esferas paramagnéticas utilizadas, nesta técnica, para atração dos ovos de *S. mansoni* ao campo magnético, quando acopladas a uma variedade de ligantes são utilizadas em outras aplicações, tais como a purificação de células inteiras, organelas, ácidos nucleicos, proteínas e outras moléculas (KRETZER *et al.*, 2007), bem como na detecção de antígeno de *S. mansoni* (GUNDERSON *et al.*, 2007). Entretanto o alto custo dessas esferas pode ser um fator limitante para que esta técnica seja utilizada de rotina nos programas de controle da esquistossomose.

A interação dos ovos com as esferas não é muito específica, visto que uma quantidade de detritos fecais também migra para o ímã, no entanto a redução do volume total de fezes e a concentração final de ovos no sedimento parece ser fundamental para o sucesso deste método (TEIXEIRA *et al.*, 2007).

O método do Helmintex mostrou-se mais sensível que a técnica do Kato-Katz, embora seja mais laborioso, relativamente caro (TEIXEIRA *et al.*, 2007) e exija equipamentos específicos. Assim, a aplicação deste método em trabalhos de campo se torna mais complexa.

Ao comparar-se os resultados obtidos pelo Kato-Katz e o Gradiente Salínico, vimos que a proporção de detecções pelo Kato-Katz foi 5,36% enquanto que no Gradiente Salínico foi de 19,64%, o que corrobora com os dados de Siqueira *et al.* (2009), em trabalho realizado no município de Montes Claros-MG, classificado como área de baixa endemicidade, onde obteve 10,4% de prevalência para esquistossomose ao realizar apenas uma lâmina de Kato-Katz e 14,4% pelo método do Gradiente Salínico. Assim, o método do Gradiente Salínico foi mais sensível do que o Kato-Katz em ambos os estudos realizados.

Utilizando-se a amostragem na qual foi realizado o método do Kato-Katz e do Gradiente Salínico para comparação dos resultados obtidos por estes, viu-se que dos 13 positivos (23,2%) encontrados por ambos, 10 (76,9%) indivíduos foram diagnosticados apenas através do Gradiente Salínico, sendo o mesmo mais efetivo na detecção de casos na localidade em estudo.

Em relação a comparação do método do Kato-Katz e do Helmintex, das 32 amostras analisadas 16 foram positivos (50%) por ambos, porém, 12 (75%) destes indivíduos foram diagnosticados apenas pelo Helmintex, assim o mesmo se mostrou mais efetivo para a detecção de casos na localidade em estudo.

Quando comparamos o método do Gradiente Salínico com o Helmintex, nos 32 indivíduos que realizaram estes, 17 (53%) foram positivos em ambas as técnicas, 11 (64,7%) só foram positivos no Helmintex. Demonstrando que este método foi mais eficiente na detecção de casos na área trabalhada.

Ao analisarmos a carga parasitária populacional obtida através da realização dos três métodos, observamos uma diferença muito grande entre as mesmas, visto que no Kato-Katz a média geométrica foi de 8 OPG, no Gradiente Salínico foi 4,1 OPG e no Helmintex 0,29. Verificamos que a carga parasitária diminui principalmente com o aumento da quantidade de lâminas ou de material fecal examinado, o que pode ser devido as amostras analisadas serem de indivíduos provenientes de área de baixa endemicidade e assim possuírem uma menor eliminação de ovos, o que foi semelhante ao observado por Enk *et al.* (2007).

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos podemos concluir que:

A comunidade do Planalto Cajueiro no município de Maranguape – Ceará apresenta um perfil sócio-ambiental que muito se assemelha às comunidades rurais e semi-urbanas do nordeste brasileiro;

O método de ELISA é uma ferramenta para a triagem de pacientes que tem ou tiveram contato com os antígenos do *S. mansoni*;

O Gradiente Salínico mostrou-se mais eficaz na detecção de portadores da esquistossomose em área de baixa endemicidade do que o Kato-Katz;

O Helmintex mostrou-se mais eficaz na detecção de portadores da esquistossomose em área de baixa endemicidade do que o Kato-Katz e o Gradiente Salínico.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, J. E. A Schistosomose no Ceará. **Ceará Med.**, v. 10/11, p. 16-20, 1940.

ALMEIDA, Y. M. de. Esquistossomose mansônica no Ceará: Notas bibliográficas, 1920 a 1977. **Rev. de Med. da UFC**, v. 39, n. 1/2, p. 18-20, 1999.

ANDRADE, N. M. **Sistema pigmentar extrategumentar de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) infectada e não infectada pelo *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) e as alterações histológicas ocorridas pós-infecção.** 2009. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

ASAOLU, S. O.; OFOEZIE, I. E. The role of health education and sanitation in the control of helminth infections. **Acta Trop.**, v. 86, p. 283-294, 2003.

BERQUIST, R.; JOHANSEN, M. V.; UTZINGER, J. Diagnostic dilemmas in helminthology: what tools to use and when? **Trends in Parasitology**, v. 25, n. 4, p. 1-6, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE). **Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica: Diretrizes Técnicas.** 2. ed. Brasília, DF, 2007.

CHAGAS, E. S. L. Estudos sobre as grandes endemias do Brasil. **O Hospital**, v. 14, n. 8, 1938.

COELHO, P. M. Z.; ANDRADE, Z. A.; BORGES, C. M. C.; RIBEIRO, F.; BARBOSA, L. Evolução do *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Intermediário. In: _____. ***Schistosoma mansoni* & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar.** Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008. p. 147-160.

COELHO, P. M. Z.; 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.

CORACHAN, M. Schistosomiasis and international travel. **Clin. Infect. Dis.**, v. 35, p. 446-450, 2002.

CURTALE, F.; MOHAMED, M. Y.; YOUSSEF, Z. M. Comprehensive primary health care, a viable strategy for the elimination of schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 104, n. 1, p. 70-72, 2010.

DAVIS, N. C. The microscopical examination of 29.593 human livens from Central and Northern Brazil, with special reference of Malaria and schistosomiasis. **Am. J. Hyg.**, v. 19, n. 3, p. 567-600, 1934.

DE JESUS, A. R.; SILVA, A.; SANTANA, L. B.; MAGALHÃES, A.; DE JESUS, A. A.; DE ALMEIDA, R. P.; RÊGO, M. A. V.; BURATTINI, M. N.; PEARCE, E. J.; CARVALHO, E. M. Clinical and imunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. **J. Infect. Dis.**, v. 185, n. 1, p. 98-105, 2002.

DE JONGE, N.; FILLIÉ, Y. E.; HILBERATH, G. W.; KRIJGER, F. W.; POLDERMAN, A. M.; DEELDER, A. M. Presence of the schistosome circulating anodic antigen (CAA) in urine of patients with *Schistosoma mansoni* or *S. haematobium* infections. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 41, p. 563-569, 1989.

DE VLAS, S. J.; GRYSSELS, B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. **Parasitol. Today**, v. 8, p. 274-277, 1992.

EBERL, M.; AL-SHERBINY, M.; HAGAN, P.; LJUBOJEVIC, S.; THOMAS, A. W.; WILSON, R. A. A novel and sensitive method to monitor helminth infections by faecal sampling. **Acta Trop.**, v. 83, p. 183-187, 2002.

ENGELS, D.; SINZINKAYO, E.; GRYSSELS, B. Day-to-Day Egg Count Fluctuation in *Schistosoma mansoni* Infection and its Operational Implications. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 54, n. 4, p. 319-324, 1996.

ENK, M. J.; LIMA, A. C. L.; DRUMMOND, S. C.; SCHALL, V. T.; COELHO, P. M. Z. 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, p. 222-228, 2008.

ENK, M. J.; LIMA, A. C. L.; MASSARA, C. L.; COELHO, P. M. Z.; SCHALL, V. T. A combined strategy to improve the control of *Schistosoma mansoni* in areas of low prevalence in Brazil. **Am. J. Med. Hyg.**, v. 78, n. 1, p. 140-146, 2008.

FLEMING, F. M.; BROOKER, S.; GEIGER, S. M.; CALDAS, I. R.; CORREA-OLIVEIRA, R.; HOTEZ, P. J.; BETHONY, J. M. Synergistic associations between hookworm and other helminth species in a rural community in Brazil. **Trop. Med. Intern. Health**, v.2, p. 56-64, 2006.

FROTA, S. M. **Utilização de Métodos Coproscópicos e Sorológicos na Detecção de Casos de Esquistossomose Mansônica em Área de Baixa Endemicidade no Estado do Ceará – Brasil**. 2008. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

GARGIONI, C.; DA SILVA, R. M.; THOMÉ, C. M.; QUADROS, C. M. da 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.

GAZZINELLI, A.; MELENDEZ, V. G.; CRAWFORD, S. B.; LO VERDE, P. T.; OLIVEIRA, R. C.; KLOOS, H. Socioeconomic determinants of schistomiasis Iná poor rural are in Brazil. **Acta Tropica**, v. 99, p. 260-271, 2006.

GONÇALVES, M. M. L.; BARRETO, M. M. G.; JÚNIOR, A. M.; MAIONE, V. R.; REY, L.; SOARES, M. S. Fatores sócio-culturais e éticos relacionados com os processos de diagnóstico da esquistossomíase mansônica em área de baixa endemicidade. **Cad. Saúde Pública**, v. 21, n. 1, p. 92-100, 2005.

GONÇALVES, M.M.L; BARRETO, M.G.M.; PERALTA, R.H.S.; GARGIONE, 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 Tropica**, v. 100, p. 24-30, 2006.

GRAEFF-TEIXEIRA, C. **Avaliação de métodos parasitológicos de extrema sensibilidade para a esquistossomose e outras helmintíases**. 2006. Descrição de projeto em andamento - Informação retirada do curriculum do pesquisador - Plataforma lattes. Disponível em: <<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.jsp?id=K4787517D8>>. Acesso em: 9 fev. 2009.

GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, p. 1106-1118, 2006.

GUIMARÃES, I. C. S.; TAVARES-NETO, J. Transmissão urbana de esquistossomose em crianças de um bairro de Salvador, Bahia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 5, p. 451-455, 2006.

GUNDERSEN, S. G.; HAAGENSEN, I.; JONASSEN, T. O.; FIGENSCHAU, K. J.; DE JONGE, N., DEELDER, A. M. Magnetic bead antigen capture enzyme-linked immunoassay in microtitre trays for rapid detection of schistosomal circulating anodic antigen. **J. Immunol. Methods**, v. 148, p. 1–8, 1992.

HUANG, Y. X.; MANDERSON, L. The social and economic context and determinants of schistosomiasis japonica. **Acta Tropica**, v. 96, p. 223-231, 2005.

JAURÉGUIBERRY, S.; PEREZ, L.; PARIS, L.; BRICAIRE, F.; DANIS, M.; CAUMES, E. Invasive schistosomiasis. **Presse Med.**, v. 34, n. 21, p. 1641-1645, 2005.

JAURÉGUIBERRY, S.; ANSART, S.; PEREZ, L.; DANIS, M.; BRICAIRE, F.; CAUMES, E. Acute neuroschistosomiasis: two cases associated with cerebral vasculitis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 76, n. 5, p. 964-966, 2007.

JONES, M. K.; BALEN, J. Magnetic Beads for Schistosomiasis Diagnosis. **PLOS Negl.Trop.Dis.**, v. 1, n. 3, e159, 2007.

JURBERG, A. D.; OLIVEIRA, A. A.; LENZI, H. L.; COELHO, P. M. Z. A new miracidia hatching device for diagnosing schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 103, n.1, p. 112-114, 2008.

KANAMURA, H. Y.; DIAS, L. C. S.; GLASSER, C. M.; SILVA, R. M.; NEVES, V. L. F. C.; GARGIONI, C., *et al.* Estudo de anticorpos IgM para vigilância epidemiológica da esquistossomose em área de baixa endemicidade. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 60, Suppl 1., p. 1-10, 2001.

KATZ, N. The discovery of *Schistosomiasis mansoni* in Brazil. **Acta Tropica**, v. 108, n. 2/3, p. 69-71, 2008.

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

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, Xistose, Barriga d'água. **Ciênc. Cultura**, v. 55, n. 1, p. 38-43, 2003.

KRETZER, J. W.; LEHMANN, R.; SCHMELCHER, M.; BANZ, M.; KIM, K.; KORN, C.; LOESSNER, M. Use of high-affinity cell wall-binding domains of bacteriophage endolysins for immobilization and separation of bacterial cells. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 73, p. 1992–2000, 2007.

LAMMIE, P. J.; FENWICK, A.; UTZINGER, J. A blueprint for success: integration of neglected tropical disease control programmes. **Trends Parasitol.**, v. 22, p. 313–321, 2006.

LIN, D. D.; LIU, J. X.; LIU, Y. M.; HU, F.; ZHANG, Y. Y.; XU, J. M.; LI, J. Y.; JI, M. J.; BERGQUIST, R.; WU, G. L.; WU, H. W. Routine Kato-Katz technique underestimates the prevalence of *Schistosoma japonicum*: a case study in an endemic area of the People's Republic of China. **Parasitol. Int.**, v. 57, n. 3, p. 281-286, 2008.

MACIEL, H. Índice endêmico da sSchistosome intestinal no Brasil. **Science**, v. 3, p. 144-150, 1925.

MANSON, P. Report of a case of bilharzia from the West Indies. **Br. Med. J.**, v. 2, p. 1894-1895, 1902.

MAURER, R. L. **Caracterização morfológica e análise por microssatélites de DNA de isolados de campo do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, obtidos em Esteio, Rio Grande do Sul.** 2005. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Curso de Zoologia, Faculdade de Biociências, Porto Alegre, 2005.

MELO, A. L. de; COELHO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni* e a Doença. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana.** 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 494.

MOUNTFORD, A. P. Immunological aspects of schistosomiasis. **Parasite Immunol.**, v. 27, n. 7/8, p. 243-246, 2005.

NOYA, B. A.; 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. 139-146, 1999.

NOYA, B. A.; GUEVARA, R. R.; COLMENARES, C.; LOSADA, S.; NOYA, O. Low transmission areas of schistosomiasis in Venezuela: consequences on the diagnosis, treatment, and control. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, Suppl. 1, p. 29-35, 2006.

NOYA, O.; ALARCÓN-DE-NOYA, B.; LOSADA, S.; COLMENARES, C.; GUZMÁN, C.; LORENZO, M. A.; BERMÚDEZ, H. Laboratory diagnosis of schistosomiasis in areas of low transmission. A review of a line of research. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, Suppl. 1, p. 167–169, 2002.

OLIVEIRA, E. J.; KANAMURA, Y. H.; DIAS, L. C. de S.; SOARES, L. C. B.; LIMA, D. M. C.; CIARAVOLHO, R. M. de C. Elisa-IgM para diagnósticos da esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade. **Cad. Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 255-261, 2003.

OMS. **Bench AIDS for the diagnosis of intestinal parasites**. Geneva, 1994.

OMS. **Report of the scientific working group meeting on schistosomiasis for the special programme for research and training in tropical diseases**. Geneva, 2006, 123 p.

OMS. **The Social Context of Schistosomiasis and its Control: an Introduction and Annotated Bibliography**. Geneva, 2008.

PELLON, A. B.; TEIXEIRA, I. **Distribuição da esquistossomose mansônica no Brasil**. Rio de Janeiro: Departamento Nacional de Saúde – Divisão da Organização Sanitária, 1950.

PEPE, M. S.; CARVALHO, O. S.; CALDEIRA, R.L.; PASSOS, L. K. J.; MÜLLER, G.; RODRIGUES, A. P.; AMARAL, H. L. C.; BERNE, M. E. A. Identificação de espécies de *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae) na Região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, 15., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Editora da UFPEL, 2006.

PIRAJÁ DA SILVA, M. A. La Schistosomose a Bahia. **Arch. Parasitol.**, v. 13, p. 281-300, 1908.

POLMAN, K.; DE VLAS, S. J.; VAN LIESHOUT, L.; DEELDER, A. M.; GRYSEELS, B. Evaluation of density-dependent fecundity in human *Schistosoma mansoni* infections by relating egg counts to circulating antigens through Deming regression. **Parasitology**, v. 122, p. 161-167, 2001.

PONTES, R. J. S.; NATIONS, S.; MARILYN, K; ARDO, 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 I): Evolução das ações de controle e delimitação da área endêmica, 1977 – 1994. **Rev. Med. UFC**, v. 39, n. 1/2, p. 21 – 36, 1999.

PONTES, L. A.; DIAS-NETO, E.; RABELLO, A. PCR detection Of *Schistosoma mansoni* DNA in human fecal and serum samples. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 66, p. 157–162, 2002.

PRATA, A. Esquistossomose mansônica. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Doenças Infeciosas e Parasitárias**. 2. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2002. p. 838-855.

RABELLO, A.L.T. Diagnosing schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 92, n 5, p. 669-676, 1997.

RABELLO, A.; PONTES, L. A.; ENK, M. J.; MONTENEGRO, S. M. L.; MORAIS, C. N. L. Diagnóstico Parasitológico, Imunológico e Molecular da Esquistossomose Mansoni. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L.(Org.) *Schistosoma mansoni e equistossomose: uma visão multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008. p. 897-925.

RIDLEY, R. G. Diagnostics take centre stage. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 4, Suppl. 9, 2006.

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. **Bull. US Army Med. Dept.**, v. 8, p. 326, 1948.

RITCHIE, L. S.; BERRIOS-DURAN, L. A. A simple procedure for recovering schistosomose eggs in mass from tissues. **J. Parasitol.**, v. 47, p. 363-365, 1961.

ROWAN, W. B.; GRAM, A. L. Quantitative recovery of helminth eggs from relatively large samples of feces and sewage. **J. Parasitol.**, v. 45, p. 615-621, 1959.

SILVA, P. B.; BARBOSA, C. S.; PIERI, O.; TRAVASSOS, A.; FLORENCIO, L. Aspectos físico-químicos e biológicos relacionados à ocorrência de *Biomphalaria glabrata* em focos litorâneos da esquistossomose em Pernambuco. **Quím. Nova**, v. 29, n. 5, p. 901-906, 2006.

SIQUEIRA, L. M. V.; MASSARA, C. L.; OLIVEIRA, Á. A.; COELHO, P. M. Z.; ENK., M. J. Avaliação de um novo método diagnóstico para esquistossomose mansoni em uma área de baixa endemicidade no município de Montes Claros, Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 21.; ENCONTRO DE PARASITOLOGIA DO MERCOSUL, 2., 2009, Foz do Iguaçu. **Anais...Foz do Iguaçu**, 2009.

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

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 Field. **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.

TEODORO, T. M.; JANOTTI-PASSOS, L. K.; CARVALHO, O. S.; CALDEIRA, R. L. Occurrence of *Biomphalaria cousini* (Mollusca: Gastropoda) in Brazil and its susceptibility to *Schistosoma mansoni* (Platyhelminths: Trematoda). **Mol. Phylogenet. Evol.**, 2010. *In press*. doi: 10.1016/j.ympev.2010.05.019.

WOLDEMUSIC, E.; BENNETT, J. L. Plasma spectrometric analysis for Na, K, Ca, Mg, Fe, and Cu in *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum*. **J. Parasitol.**, v. 68, p. 48–52, 1982.

YIN, Z.C., LAI, J., QIAN, X.H., WU, Z.S. Relationship between effect of schistosomiasis control and economic and educational development in Sichuan province. In: ZHENG, Q.; ZHENG, J. (Ed.). **Social medicine and Schistosomiasis**. Tianjin, China: Tianjin Science and Technology Press, 2000. p. 101–102.

YU, J. M.; DE VLASS, S. J.; YUAN, H. C.; GRYSEELS, B. Variations in fecal *Schistosoma japonicum* egg counts. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 59, p. 370–375, 1998.

ZHOU, Y.; YANG, M.; WANG, Q.; ZHAO, G.; WEI, J.; PENG, W.; JIANG, Q. Field comparison of immunodiagnostic and parasitological techniques for the detection of *Schistosomiasis japonica* in the people's republic of China. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 76, n. 6, p. 1138–1143, 2007.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Marta Cristhiany Cunha Pinheiro, Farmacêutica, aluna do curso de mestrado em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, estou realizando uma Pesquisa cujo nome é: “Avaliação de Três Métodos Coproscópicos para Diagnóstico da Esquistossomose Mansônica em Área de Baixa Endemicidade no Estado do Ceará”. Farei exames de fezes e de sangue em amostras da população da área em estudo. O método de exame de fezes recomendado pelo Ministério da Saúde para diagnóstico da esquistossomose (Kato-Katz) pode vir a não detectar ou detectar poucos ovos nas fezes, devido à baixa carga de vermes nas pessoas residentes nessa área, devido a isso serão realizados os outros métodos de exames nas amostras de fezes para verificar qual será o mais adequado a este tipo de população. O exame de fezes será feito por amostras coletadas em frascos que distribuirei a população e serão examinados no laboratório de Parasitologia da UFC. Após a realização dos exames com as fezes, o material será descartado em sacos plásticos e estes levados para serem destruídos com o lixo do Hospital Universitário Walter Cantídio. O exame de sangue será feito através da coleta de 5 mL do sangue, na Unidade Básica de Saúde que atende esta comunidade. Neste mesmo local será separado o soro e o restante do sangue será descartado com as agulhas e as seringas para ser destruídos com o lixo do Hospital Municipal de Maranguape. Após a realização desse exame, o soro dos pacientes será levado e armazenado em freezer em uma soroteca no laboratório de Parasitologia da UFC. Para a realização da coleta de sangue é necessário dar uma pequena picada com uma agulha descartável no braço, usando uma para cada pessoa. Isto causa um pouquinho de dor que passará logo e poderá ou não causar um hematoma no local da picada, a depender de cada indivíduo. Trata-se de um estudo comparativo que proporciona benefício direto para você, pois de acordo com os resultados obtidos terá um maior controle da doença nessa região evitando problemas maiores para a população. Os pacientes que forem diagnósticos nos exames de fezes e na sorologia serão avisados pessoalmente e orientados a receber o tratamento específico para a Esquistossomose pela Secretaria de Saúde do município de Maranguape. Cada paciente receberá a dosagem da medicação adequada de acordo com seu peso e idade.

Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar da

pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificado com um número.

Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade.

Firmo um compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Em qualquer etapa de estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a Dra. Marta Cristhiany Cunha Pinheiro, que pode ser encontrada na Rua Capitão Francisco Pedro 1210, Rodolfo Teófilo, ou pelo Telefone (085) 9673.7290 e tendo como orientador do projeto o Professor Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra que pode ser encontrado na Rua Capitão Francisco Pedro 1210, Rodolfo Teófilo ou pelo Telefone (085)3366-8265. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Ceará, na Rua Coronel Nunes de Melo 1127, Rodolfo Teófilo que pode ser encontrado pelo Telefone (085)3366-8338.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para participar deste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data:/...../.....

Fui suficientemente esclarecido a respeito do que li ou do que foi lido para mim sobre o estudo acima. Ficaram claros quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também, que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso ao tratamento quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer

momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Assinatura do sujeito da pesquisa/responsável legal

Data: /...../.....

Assinatura da testemunha*

Data: /...../.....

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

APÊNDICE B

Questionário

F: _____

C: _____

Local:	S ____° ____' ____"
	W/O ____° ____' ____"
Elevação:	_____ m

Data de coleta das informações: _____

I – Identificação

1. Localidade: _____ N _____ Casa Nº _____

2. Nome: _____ Apelido: _____

3. Nome da mãe: _____

4. Data de nascimento: _____ Idade: _____

5. Sexo: () Masculino () Feminino. 6. Estado Civil: _____

7. Profissão: _____

8.1. Município de nascimento: _____ UF _____

8.2. Procedência: _____

8.3. Área endêmica: () Sim () Não

8.4. Tempo de residência no município (em anos): _____

8.5. Outros municípios onde residiu:

* Município _____-UF _____. Área endêmica () Sim () Não

II – Dados Sócio-Econômicos

9. Anos de estudo? _____

10. Grau de escolaridade: Nenhum () Fundamental completo () Médio ()
Fundamental incompleto () Superior ()11. Renda Familiar em salários mínimos: menos de 1 salário () 1-3 salários ()
3-5 salários () mais que 5 salários ()

12. Características familiares e domiciliares:

12.1. Domicílio: () 1 = Próprio; 2 = Alugado; 3 = Cedido; 4 = Outro

12.2. Nº. de pessoas: _____. 12.3 Nº. de cômodos _____.

12.4. Paredes: () 1 = Alvenaria; 2 = Madeira; 3 = Pau-a-pique; 4 = Mista e 5= outro

12.5. Cobertura: () 1 = Telha; 2 = Zinco; 3 = Palha; 4 = Mista com palha; 5 = Mista sem palha e 6 = Outra

III – Manifestações Clínicas:

13. Você já teve a Xistose? () Sim () Não

14. A quanto tempo você tem a doença? _____

15. Assintomático () ou Sintomático ()

16. Sintomatologia apresentada:

Febre: () Sim () Não

Problemas pulmonares (Tosse): () Sim () Não

Dores abdominais: () Sim () Não

Hepatoesplenomegalia discreta (aumento do fígado e baço): () Sim () Não

Ascite (barriga d'água): () Sim () Não

17. Teve alguma vermelhidão ou coceira na pele: () Sim () Não

IV – Dados Epidemiológicos:

18. Possui fossa? () Sim () Não

19. Possui cisterna no domicílio? () Sim () Não

20. Caso possua, existe água encanada para o domicílio? () Sim () Não

21. Usa água do rio? () Sim () Não. Para que atividades? _____

22. Possui banheiro? () Sim () Não

23. Faz uso? () Sim () Não

24. Distância da casa ao rio: _____ (em metros)

25. Faz uso de bebida alcoólica? () Sim () Não. Como? _____

26. Sabe o que é esquistossomose? () Sim () Não

27. Sabe como se pega? () Sim () Não

28. Recebeu alguma informação sobre a Esquistossomose? () Sim () Não, onde?
_____. A quanto tempo? _____

VI – Dados Laboratoriais

29. Realizou algum tipo de exame para a doença? () Sim () Não. Quais:

30. Recebeu alguma informação sobre os tipos de exames realizados e o motivo pelo qual esta sendo feito? () Sim () Não

VII – Tratamento

31. Faz uso de algum medicamento regularmente? () Sim () Não. Quais?

32. Já foi tratado para Esquistossomose? () Sim () Não

33. Quando: _____

34. Quantas vezes: _____