



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

FRANCISCA JANAÍNA DAMASCENO MORAIS

**AVALIAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS LEITURAS DO TESTE
IMUNOCROMATOGRÁFICO *Point-of-Care* (POC-CCA) REALIZADO EM UMA
ÁREA DE ALTA ENDEMICIDADE NO NORDESTE BRASILEIRO PARA
ESQUISTOSSOMOSE, MEDIANTE ANÁLISE DE IMAGENS.**

FORTALEZA

2024

FRANCISCA JANAÍNA DAMASCENO MORAIS

**AVALIAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS LEITURAS DO TESTE
IMUNOCROMATOGRÁFICO *Point-of-Care* (POC-CCA) REALIZADO EM UMA
ÁREA DE ALTA ENDEMICIDADE NO NORDESTE BRASILEIRO PARA
ESQUISTOSSOMOSE, MEDIANTE ANÁLISE DE IMAGENS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Área de concentração: Doenças Infectoparasitárias.

Orientador: Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

Coorientadora: Dra. Marta Cristhiany Cunha Pinheiro

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M825a Morais, Francisca Janaina Damasceno.

Avaliação e otimização das leituras do teste imunocromatográfico Point-of-care (POC-CCA) realizado em uma área de alta endemicidade no nordeste brasileiro para esquistossomose, mediante análise de imagens / Francisca Janaina Damasceno Morais. – 2024.

83 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2024.

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

Coorientação: Profa. Dra. Marta Cristhiany Cunha Pinheiro.

1. Cromatografia de Afinidade. 2. Fotografia. 3. Esquistossomose mansoni. 4. Diagnóstico. I. Título.

FRANCISCA JANAÍNA DAMASCENO MORAIS

**AVALIAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DAS LEITURAS DO TESTE
IMUNOCROMATOGRÁFICO *Point-of-Care* (POC-CCA) REALIZADO EM UMA
ÁREA DE ALTA ENDEMICIDADE NO NORDESTE BRASILEIRO PARA
ESQUISTOSSOMOSE, MEDIANTE ANÁLISE DE IMAGENS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Área de concentração: Doenças Infectoparasitárias.

Aprovada em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

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

Prof^a. Dra. Cristiane Cunha Frota
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Luciana Maria de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Vicente de Paulo dos Anjos Landim
Centro Universitário INTA - UNINTA

AGRADECIMENTOS

À Deus por Sua orientação e graça, que foram essenciais em minha jornada acadêmica, fortalecendo-me em cada desafio e inspirando-me em cada conquista.

Aos meus queridos pais Batista e Francisca por seu apoio inabalável e amor incondicional em minha jornada. Suas orações me deram força e sabedoria para chegar até aqui.

À minha querida irmã Natália por suas orações e seu constante apoio e amor incondicional.

Ao meu querido esposo Aníbal, pelo seu amor, apoio e compreensão ao longo da minha jornada acadêmica.

Aos meus queridos filhos, Sebastião e Sabrina, pela compreensão nos momentos em que não pude estar presente. Seu apoio incondicional e amoroso torna cada desafio mais leve e cada conquista mais significativa na minha jornada.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra, por me receber em seu grupo de pesquisa e pela confiança depositada em mim desde o início, abrindo portas importantes para minha vida profissional. Agradeço imensamente pelos valiosos ensinamentos e conhecimentos compartilhados, bem como por toda compreensão ao longo deste trabalho. Sua disposição em ensinar e compartilhar suas experiências de vida foi verdadeiramente inspiradora. Serei eternamente grata por tudo.

A minha coorientadora Dra. Marta Cristhiany Cunha Pinheiro, gostaria de dedicar um agradecimento especial, por ser minha fonte constante de apoio, força e encorajamento ao longo desta jornada desafiadora. Suas palavras de ânimo foram como luzes no fim do túnel nos momentos em que considerei desistir. Além disso, sua orientação e compartilhamento de conhecimento foram inestimáveis para o sucesso deste projeto. Sua paciência, amizade e comprometimento não passaram despercebidos, e sou profundamente grata por tê-la ao meu lado. Se hoje celebro a realização deste sonho, é graças a você. Muito obrigada por tudo querida.

Ao Prof. Dr. Thomas Foster Scherr pela valiosa contribuição desde o início do nosso trabalho. Sua generosidade em fornecer dados e subsídios foi fundamental para nossa análise de resultados. Estou profundamente grata por sua colaboração e apoio ao longo deste processo.

À Dra. Luciana Maria de Oliveira, pela sua valiosa contribuição durante esta fase final. Sua orientação e apoio foram de suma importância para a conclusão deste trabalho. Sou profundamente grata por todo o seu auxílio e dedicação.

Aos meus colegas de laboratório, Andréia, Deyse, Késia, Raquel, Katrine e Rêner. Vivemos juntos esta jornada, e a vocês minha sincera gratidão por toda a paciência e apoio ao longo do caminho. Agradeço também a cada um dos monitores e alunos de Iniciação Científica que passaram pelo laboratório durante este período. A jornada se tornou mais leve com a alegria e camaradagem de vocês. Obrigado por tornarem esta experiência tão enriquecedora e significativa.

À minha querida amiga Rosângela. Ao longo desta jornada, sua presença, apoio, amizade e companheirismo foram verdadeiramente inestimáveis. Em cada desafio enfrentado, você esteve ao meu lado, oferecendo suporte e encorajamento. Sua amizade trouxe luz aos meus dias e tornou os momentos difíceis mais suportáveis. Sou imensamente grata por ter você como amiga e por todo o apoio que me proporcionou. Obrigada por fazer parte desta jornada e por ser uma fonte constante de inspiração e conforto.

Aos amigos que a pós-graduação me deu: Gerson, Camila, Joyce, Tiago Nobre, Tiago Brasil e Vinicius. Grato por ter amigos que compartilharam não só conhecimento, mas também medos e incertezas, tornando esta jornada mais significativa e enriquecedora.

Aos membros da banca Dra. Luciana Maria de Oliveira e a Prof. Dra. Cristiane Cunha Frota, por aceitarem o convite para avaliação desse trabalho.

Aos professores do PPG em Patologia, por todo o conhecimento compartilhado.

À secretária do curso de PPG em Patologia, a querida Valéria Cordeiro, toda atenção e suporte, ao longo de todo esse tempo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 (concessão de bolsa).

RESUMO

A esquistossomose, causada pelo parasito *Schistosoma mansoni*, é uma Doença Tropical Negligenciada com alto impacto em países subdesenvolvidos. O Kato-Katz (KK), é o método recomendado pela Organização Mundial da Saúde, no entanto ele possui baixa sensibilidade, em áreas de baixa endemicidade. O POC-CCA, um teste imunocromatográfico que permite a detecção de antígenos parasitários na urina, vem se apresentando como uma alternativa sensível e rápida. Contudo, tal teste está sujeito a variações interleitores na interpretação da leitura visual dos resultados, principalmente quando a intensidade da resposta ao teste é fraca (traço), o que pode influenciar a determinação da prevalência. Portanto, o objetivo deste estudo foi quantificar a coloração dos resultados de testes POC-CCA para reduzir a subjetividade da leitura. Para isso, foi usado um banco com 158 imagens de testes POC-CCA, realizados com material de uma área de alta endemicidade para esquistossomose. O programa computacional de análise de imagens ImageJ[®] é um software público de processamento de imagens baseado em Java, disponível online, que foi usado para quantificar os pixels de intensidade da coloração dos resultados. A estratégia de leitura do POC-CCA por quantificação de pixels apresentou um bom desempenho com um poder satisfatório em discriminar resultados positivos e negativos (área sob a curva ROC igual a 0,859). O ponto de corte ideal foi de 0,042 pixels, o qual correspondeu ao J máximo de Youden igual a 0,656. Nessas condições, a sensibilidade ideal foi de 0,779 e a especificidade ideal igual a 0,877. Comparados aos resultados do Kato-Katz e às outras estratégias de leituras do POC-CCA, a quantificação por pixels mostrou prevalências de positivos e negativos similares às do método Kato-Katz e às da leitura qualitativa visual. Contudo, a prevalência de positivos foi menor do que as observadas com a estratégia de leitura por Score G (G1 a G10). Uma correlação positiva fraca ($r^2 = 0,4812$), porém estatisticamente significativa ($p < 0.0001$), foi identificada entre os resultados de OPG do teste Kato-Katz e a quantificação por pixels do teste POC-CCA. Foi observada uma boa concordância entre a estratégia de leitura por quantificação de pixels com o teste Kato-Katz (valor de Kappa = 0,6572, $p < 0.0001$), assim como com as estratégias de leituras estratificadas por Score G (valor de Kappa = 0,5498, $p < 0.0001$) e qualitativa visual (valor de Kappa = 0,5383, $p < 0.0001$). Apesar da técnica de processamento de imagens ter mostrado um desempenho satisfatório, há potencial para melhorias na usabilidade e execução, incluindo a otimização de parâmetros e métricas de corte do sinal. Conclui-se que a interpretação visual do teste POC-CCA é subjetiva, entretanto, a quantificação de pixels oferece uma leitura objetiva, eliminando a subjetividade e permitindo um corte mais preciso para a determinação dos resultados.

Palavras-chave: Imunocromatografia, Pixels, POC-CCA, Esquistossomose, Diagnóstico, Kato-Katz, *Schistosoma mansoni*.

ABSTRACT

Schistosomiasis, caused by the parasite *Schistosoma mansoni*, is a Neglected Tropical Disease with a high impact in underdeveloped countries. Kato-Katz (KK) is the method recommended by the World Health Organization, however it has low sensitivity in areas of low endemicity. POC-CCA, an immunochromatographic test that allows the detection of parasitic antigens in urine, has been presented as a sensitive and rapid alternative. However, such a test is subject to inter-reader variations in the interpretation of the visual reading of the results, especially when the intensity of the response to the test is weak (trace), which may influence the determination of prevalence. Therefore, the objective of this study was to quantify the coloration of POC-CCA test results to reduce the subjectivity of the reading. For this, a database with 158 images from POC-CCA tests was used, carried out with material from an area of high endemicity for schistosomiasis. The image analysis computer program ImageJ[®] is a public Java-based image processing software available online that was used to quantify the color intensity pixels of the results. The POC-CCA reading strategy by pixel quantification showed good performance with satisfactory power to discriminate positive and negative results (area under the ROC curve equal to 0.859). The ideal cutoff point was 0.042 pixels, which corresponded to Youden's J maximum of 0.656. Under these conditions, the ideal sensitivity was 0.779 and the ideal specificity was 0.877. Compared to the results of Kato-Katz and other POC-CCA reading strategies, pixel quantification showed prevalences of positives and negatives similar to those of the Kato-Katz method and visual qualitative reading. However, the prevalence of positives was lower than that observed with the G Score reading strategy (G1 to G10). A weak positive correlation ($r^2 = 0.4812$), but statistically significant ($p < 0.0001$), was identified between the OPG results of the Kato-Katz test and the pixel quantification of the POC-CCA test. A good agreement was observed between the reading strategy by pixel quantification with the Kato- test (Kappa value = 0.6572, $p < 0.0001$), as well as with the reading strategies stratified by G Score (Kappa value = 0.5498, $p < 0.0001$) and visual qualitative (Kappa value = 0.5383, $p < 0.0001$). Although the image processing technique has shown satisfactory performance, there is potential for improvements in usability and execution, including optimization of parameters and signal cutoff metrics. It is concluded that the visual interpretation of the POC-CCA test is subjective, however, pixel quantification offers an objective reading, eliminating subjectivity and allowing a more precise cut to determine the results.

Keywords: Immunochromatography, Pixels, POC-CCA, Schistosomiasis, Diagnosis, Kato-Katz, *Schistosoma mansoni*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Carga global de Doenças Tropicais Negligenciadas por país	14
Figura 2 –	Situação dos países endêmicos para esquistossomose – 2022..	16
Figura 3 –	Distribuição da esquistossomose no Brasil, segundo o INPEG 2010/2015	17
Quadro 1 –	Resultados dos três inquéritos para esquistossomose mansoni, realizados no Brasil	18
Quadro 2 –	Distribuição da esquistossomose no estado de Sergipe nos anos de maior (2011) e menor (2017) cobertura do PCE, segundo o INPEG 2008/2017	19
Quadro 3 –	Classificação dos métodos parasitológicos diretos e indiretos comumente utilizados para o diagnóstico da esquistossomose mansoni	21
Figura 4 –	Esquema ilustrativo das etapas do método de Kato-Katz	22
Figura 5 –	Desenho esquemático do teste POC-CCA	25
Figura 6 –	Desenho esquemático do teste POC-CCA – Positivo e Negativo	25
...
Figura 7 –	Resultados do teste POC-CCA®. A: Positivo. B: Traço e C: Negativo	26
Figura 8 –	Pontuações do G-Score (Escala G): conjunto de 10 cassetes POC-CCA composto por tiras produzidas artificialmente com diferentes intensidades de linha de teste e a correspondência na escala semiquantitativa (SQ)	29
Figura 9 –	Fotos da localidade de Siebra, Maruim – SE	37
Figura 10 -	Mapa destacando o município de Maruim, no qual se localiza a área endêmica do estudo (Siebra) e as Regiões Geográficas Imediatas	37
Figura 11 –	Imagem aleatoriamente selecionada para determinação da área de interesse (ROI) da análise de varredura, mostrando as respectivas medidas de comprimento e largura da janela de	

	leitura do teste que contém as bandas controle (C) e teste (T)	39
	...	
Figura 12 –	Esquema ilustrativo da imagem pseudocolorida e invertida, mostrando a ROI padronizada para as varreduras (15 x 2.0 pixels/mm) destacada em amarelo	40
Figura 13 –	Representação gráfica dos pares de coordenadas x,y (distância em mm; pixels em <i>gray_value</i>) e a respectiva lista de distâncias e pixels correspondentes	41
Figura 14 –	Curva ROC e área sob a curva (ASC) representativas do poder de predição da estratégia de leitura do teste POC-CCA por meio da quantificação de pixels. O ponto vermelho no gráfico indica o valor máximo do índice J de Youden que corresponde ao ponto de corte ideal que maximiza a taxa de verdadeiros positivos	45
Figura 15 –	Representação gráfica da estatística J de Youden mostrando o J máximo (ponto vermelho) correspondente à distância vertical máxima entre a linha de 45° (representada em vermelho pontilhado) e o ponto correspondente na curva ROC	46
Figura 16 –	Comparação da estratégia de leitura por quantificação por pixels com o teste Kato-Katz e as outras estratégias de leitura do POC-CCA em relação à prevalência de resultados positivos e negativos	47
Figura 17 –	Representação gráfica em diagramas de caixas (Boxplots) da estratificação dos resultados de intensidade de infecção no Kato-Katz por OPG (A), Escala Semiquantitativa (B) e Leitura Visual Direta (C) do teste POC-CCA, em comparação a quantificação de pixels	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Valores usados para ajuste da escala de pixels/mm da ROI	40
Tabela 2 –	Matriz de confusão construída pela comparação dos resultados do método alternativo de quantificação de pixels do método POC-CCA em relação aos obtidos com o método padrão de Kato-Katz	47

ABREVIATURAS E SIGLAS

CAA	<i>Antígeno Anódico Circulante</i> (Antígeno Anódico Circulante)
CCA	<i>Antígeno Catódico Circulante</i> (Antígeno Catódico Circulante)
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DALYs	<i>Disability-Adjusted Life Years</i> = Anos de Vida Perdidos por Incapacidade
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTN	Doença Tropical Negligenciada
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (Ensaio Imunoenzimático)
HTS	Helmintos Transmitidos pelo Solo
HPJ	<i>Hoffman, Pons e Janer</i>
IDH	Índices de Desenvolvimento Humano
IDHI	Índice de Desenvolvimento Humano ajustado pela Desigualdade
INPEG	Inquérito Nacional de Prevalência de Esquistossomose e Geohelminthoses
LPBM	Laboratório de Parasitologia e Biologia de Moluscos
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
OPG	Ovos por Grama de Fezes
POC-CCA	Point-of-Care CCA
RNA	Ácido Ribonucleico
SISPCE	Sistema Informatizado do Programa de Controle da Esquistossomose
TALE	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Universidade Federal do Ceará

SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	A esquistossomose: uma doença tropical negligenciada	14
1.2	Epidemiologia da esquistossomose	15
1.3	Diagnóstico da esquistossomose	20
1.3.1	<i>Método de Kato-Katz</i>	21
1.3.2	<i>Método imunocromatográfico POC-CCA (point-of-care circulating catodic antigen)</i>	24
1.4	Programa Computacional ImageJ®	29
2	JUSTIFICATIVA	32
3	OBJETIVOS	34
3.1	Objetivo geral	34
3.2	Objetivos específicos	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1	Desenho do estudo	36
4.2	Local de estudo e população do estudo que originou o banco de imagens	36
4.3	Banco de imagens	38
4.4	Crítérios de inclusão e exclusão das imagens	38
4.5	Leituras do POC-CCA	39
4.5.1	<i>Leitura por quantificação de pixels</i>	39
4.5.2	<i>Análise dos dados de varredura e do desempenho do teste ...</i>	41
4.6	Classificação dos resultados dos testes POC-CCA de acordo com as leituras qualitativas e semiquantitativa	43
4.6.1	<i>Leitura visual direta (VD)</i>	43
4.6.2	<i>Leitura qualitativa por Score G</i>	43
4.6.3	<i>Leitura semiquantitativa</i>	43
4.7	Análise estatística	43
4.8	Aspectos éticos	44
5	RESULTADOS	45
6	DISCUSSÃO	50
7	CONCLUSÃO	56

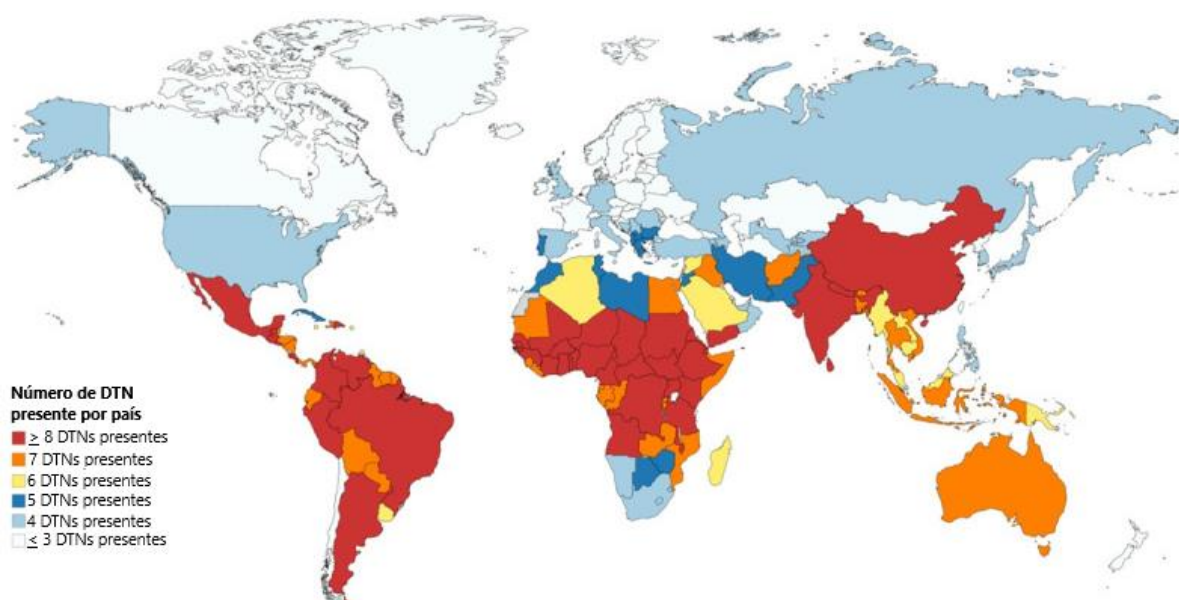
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) – RESOLUÇÃO 466/12	73
APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O RESPONSÁVEL LEGAL PELO MENOR DE 18 ANOS – RESOLUÇÃO 466/12	75
APÊNDICE C – TERMO DE ASSENTIMENTO DO MENOR	78

1 INTRODUÇÃO

1.1 A esquistossomose: uma doença tropical negligenciada

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) estão presentes em 149 países, especialmente na África, Ásia e América Latina, afetando mais de 1 bilhão de pessoas e mais de 1,6 bilhão de pessoas necessitando de intervenção, tanto preventiva quanto curativa (Figura 1) (WHO, 2024a).

Figura 1 – Carga global de Doenças Tropicais Negligenciadas por país.



Fonte: Dados do Controle de Doenças Tropicais Negligenciadas da Organização Mundial de Saúde. Modificado por BURGOS et al., 2020.

Os principais países com os menores Índices de Desenvolvimento Humano (IDH) e a maior carga de DTNs estão nas regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre (WHO, 2023a). Apesar de o Brasil ocupar a posição de 89º, com um IDH de 0,760 - considerado alto, existem grandes disparidades no país que levam a uma redução do IDH em 24,1%, resultando em um Índice de Desenvolvimento Humano ajustado pela Desigualdade (IDHI - Inequality-adjusted HDI) de 0,577 (UNDP, 2024 -

dados referentes a 2022). As regiões norte e nordeste apresentam o menor IDH e concentram o maior número de DTNs (ROCHA et al, 2023). Diante deste cenário podemos afirmar que a pobreza está intrinsecamente relacionada com a ocorrência de DTNs. Esta situação se agrava com a escassez de investimentos em pesquisas por novas drogas e vacinas e pela baixa eficácia dos programas de controle (PNUD, 2020).

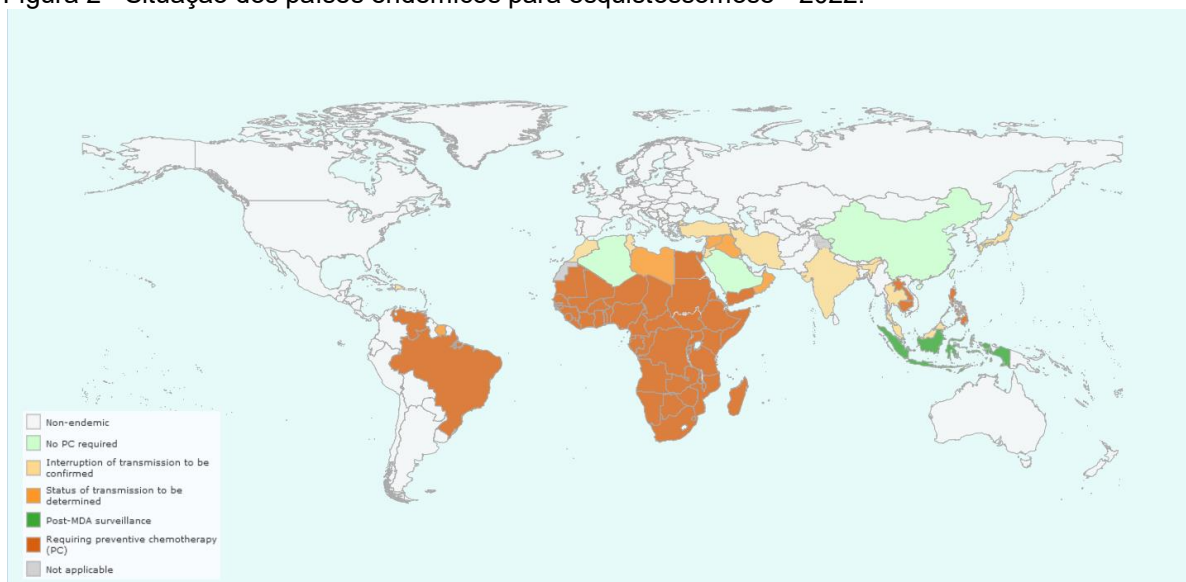
A eliminação da esquistossomose e outras doenças negligenciadas faz parte dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) traçado em 2015 pela Organização das Nações Unidas (UN, 2019). Em consonância com tais objetivos, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estipulou como meta a eliminação da esquistossomose como problema de saúde pública até 2030 (MENEZES et al., 2023). Contudo, ainda existem muitos entraves que comprometem o controle da doença nos países-membros que aderiram às metas globais da OMS, tais como: a falta de incentivo à pesquisa, desinteresse da indústria farmacêutica, necessidade de melhoria nas ferramentas diagnósticas e de investimento em saúde pública (OLIVEIRA et al., 2018). Portanto, se faz necessário uma ampla abordagem multidisciplinar que assista o tratamento da doença, o controle de caramujos, o saneamento básico e a higiene (TOOR et al., 2018). No mais, para que haja avanços, é de suma importância um aprimoramento nos testes diagnósticos para subsidiar a vigilância epidemiológica (LAND et al., 2019).

1.2 Epidemiologia da esquistossomose

Estima-se que a esquistossomose está presente em 78 países (Figura 2), sendo 51 considerados endêmicos, com 251,4 milhões de pessoas no mundo necessitando de tratamento preventivo em 2021, porém apenas mais de 75,3 milhões de pessoas foram relatadas como tratadas (WHO, 2023b). Essa parasitose causa cerca de 200.000 mortes anualmente em todo o mundo (WHO, 2024b) e a carga global da doença gira em torno de 1,64 milhão (1,04–2,64) de anos de vida ajustados por incapacidade (DALY - Disability-Adjusted Life Years), em grande parte devido à morbidade associada à infecção, e não às mortes prematuras (GBD, 2019).

Representa a segunda doença parasitária mais devastadora socioeconomicamente, ficando atrás apenas da malária (WHO, 2021a).

Figura 2 - Situação dos países endêmicos para esquistossomose - 2022.



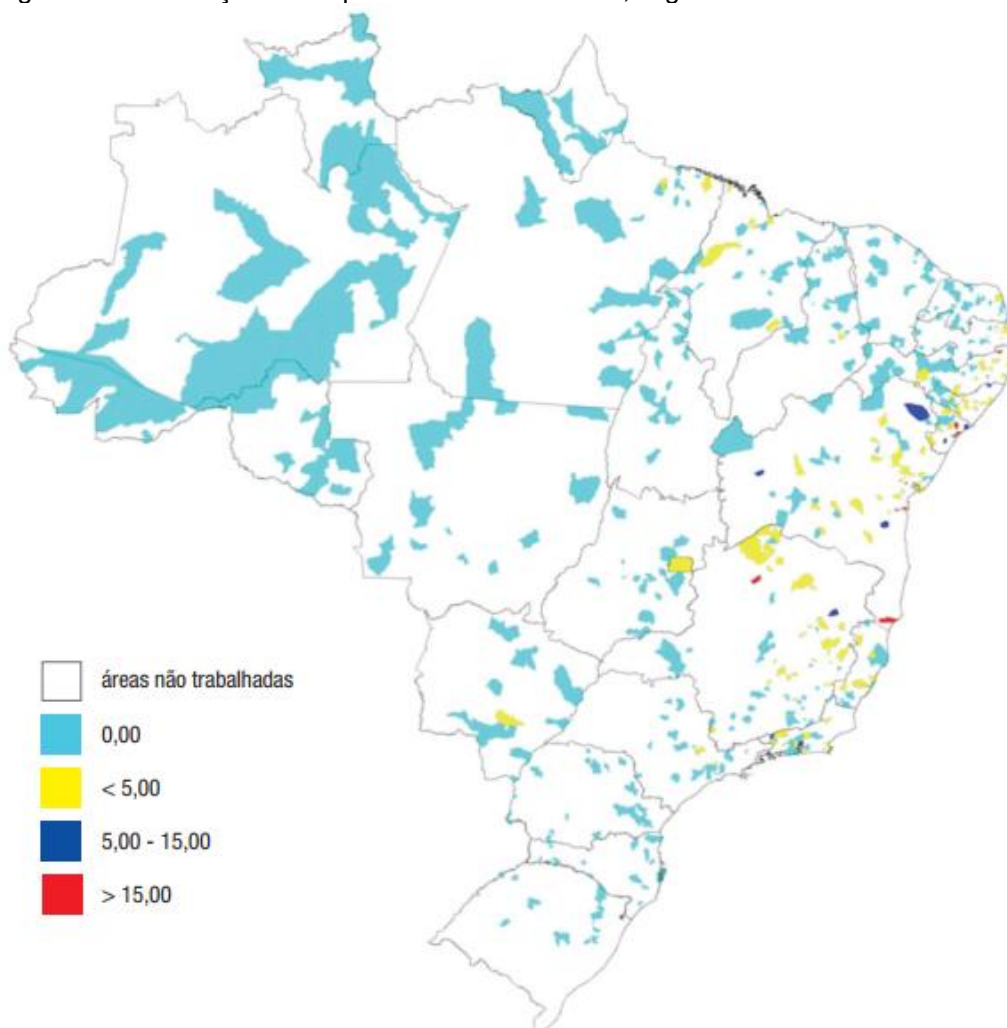
Fonte: WHO, 2023c.

No Brasil a doença atinge aproximadamente 1,5 milhão de pessoas e a estimativa de prevalência é de 1% (BRASIL, 2019; KATZ, 2018). Segundo o Boletim Epidemiológico sobre DTNs no Brasil, no quinquênio 2016-2020, a esquistossomose foi definida como causa múltipla (causa básica e associada) em 3.452 declarações de óbitos, resultando em uma média de 688 óbitos ao ano, com coeficiente médio de mortalidade relacionado à esquistossomose de 0,34 mortes/100.000 habitantes (BRASIL, 2024). Estudo que avaliou a mortalidade por esquistossomose no Brasil, no período de 2003 a 2018, mostrou que as regiões Nordeste e Sudeste, onde coexistem maior vulnerabilidade social, são as áreas com maior número de óbitos ao longo dos 16 anos avaliados (PINHEIRO, 2020).

Segundo dados publicados pelo Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose e Geo-helminthoses (INPEG), em concordância com o Ministério da Saúde (MS), durante os anos de 2010 a 2015 houve um avanço muito grande na distribuição geográfica da esquistossomose no Brasil. Índícios de transmissão são

observados em todas as regiões do país, distribuídos em 18 estados e no Distrito Federal (Figura 3). As regiões Sudeste e Nordeste apresentaram os mais elevados índices de positividade do país, com taxas de 1,27% e 2,35%, respectivamente (KATZ, 2018).

Figura 3 – Distribuição da esquistossomose no Brasil, segundo o INPEG 2010/2015.



Fonte: KATZ (2018).

Historicamente os estados mais endêmicos do Brasil são: Sergipe, Minas Gerais, Alagoas, Pernambuco, Bahia e Rio de Janeiro. Já as áreas de transmissão focal compreendem os estados do Ceará, Maranhão, Pará, Distrito Federal, São Paulo e Rio Grande do Sul. De acordo com Katz (2018), os estados com as maiores taxas

de positividade para a infecção por *S. mansoni* foram Sergipe (8,2%), Minas Gerais (3,9%), Alagoas (2,3%) e Bahia (2,2%).

Sergipe se destaca por apresentar as mais altas taxas de prevalência da doença em todos os inquéritos nacionais executados no país no período entre 1949 e 2015 (Quadro 1). Ressalta-se ainda que, no inquérito epidemiológico mais recente, a prevalência da infecção foi de 8,19%, superando o índice de positividade da região Nordeste (1,27%) e a do Brasil (1,79%) (KATZ, 2018).

Quadro 1 – Resultados dos três inquéritos para esquistossomose mansoni, realizados no Brasil.

Estados	Pellon & Teixeira (1949)		PECE (1977-81)		INPEG (2010/2015)	
	Nº examinados	% para <i>S. mansoni</i>	Nº examinados	% para <i>S. mansoni</i>	Nº examinados	% para <i>S. mansoni</i>
Maranhão	12.733	0,46	13.754	3,2	9.214	0,13
Piauí	10.424	0,04	8.518	0,0	7.004	0,001
Ceará	41.218	0,94	20.460	2,9	8.533	0,00
R. G. do Norte	18.808	2,32	11.870	0,6	8.918	0,02
Paraíba	21.715	7,49	10.294	5,8	8.415	0,18
Pernambuco	50.971	25,09	23.495	13,1	19.025	2,14
Alagoas	17.668	19,75	15.487	21,5	11.813	2,31
Sergipe	17.229	29,80	6.085	31,7	10.302	8,19
Bahia	74.590	16,55	NR	NR	28.382	2,19
Espírito Santo	12.939	1,62	11.057	2,6	6.554	0,71
Minas Gerais	162.491	4,96	55.785	10,1	29.689	3,86
Total Geral	440.786	10,09	176.805	9,24	147.849	1,79

Legenda: NR = não realizado.

Fonte: Katz, 2018.

Um cenário epidemiológico similar pode ser observado pela análise dos dados fornecidos pelo Sistema Informatizado do Programa de Controle da Esquistossomose (SISPCE) no período entre 2005 a 2014. De acordo com tal banco de dados oficiais, a taxa média de positividade no estado de Sergipe foi de 8,7%, superando a média nacional no mesmo período (5,9%). Os municípios General Maynard e Santo Amaro das Brotas apresentaram os maiores índices de positividade (KATZ, 2018).

De acordo com estudo que utilizou dados do SISPCE, no período de 2008 a 2017, a média ponderada da prevalência da doença foi de 8,6%, com um percentual de positivos com alta carga parasitária igual a 7,9%. Além disso, com relação à distribuição espaço-temporal (Quadro 2), chama atenção o número de municípios endêmicos que deixaram de aderir ao PCE no ano de 2017 (CRUZ, SALAZAR, & CORTE, 2020). Dentre os 30 e 49 municípios sem informação nos anos de 2011 e 2017, respectivamente, 24 são considerados indenes.

Quadro 2 – Distribuição da esquistossomose no estado de Sergipe nos anos de maior (2011) e menor (2017) cobertura do PCE, segundo o INPEG 2008/2017.

	2011: Ano de maior adesão ao PCE			2017: Ano de menor adesão ao PCE		
Sem Informação	30 municípios (40 %)			49 municípios (65 %)		
	45 municípios (60 %)			26 municípios (35 %)		
Área Endêmica	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta
	10 (22 %)	30 (67 %)	05 (11 %)	05 (19 %)	20 (77 %)	01 (4 %)

Fonte: Adaptado de CRUZ, SALAZAR, & CORTE, 2020.

A esquistossomose é endêmica em 51 dos 75 municípios do estado de Sergipe. A ocorrência da doença se dá de forma mais específica em municípios localizados circunjacentes à Zona da Mata e ao Litoral. De um modo geral, nos últimos anos as prevalências vêm se mantendo estáveis, contudo, em áreas rurais com índices de até 50% de positividade, houve um aumento nas taxas de infecção humana com perfil crônico, assim como casos recentes de infecção aguda nas áreas periféricas de eixos urbanos (SERGIPE, 2017).

Sergipe possui fatores favoráveis à instalação da infecção por *S. mansoni* devido à ampla distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários do parasito, a qual contribui para as altas taxas de disseminação da esquistossomose (SANTOS, 2020). O saneamento básico inadequado é outro fator impactante para o agravamento da infecção no estado, onde o número de domicílios com esgotamento sanitário inadequado (57,95%) é o dobro em comparação ao percentual nacional (33,05%) (SNIS, 2021).

Esse cenário associado aos baixos índices socioeconômicos das áreas endêmicas e as condições eco-epidemiológicas torna a endemia ainda mais agravante, enquanto problema de saúde pública no estado, em progressão para áreas não endêmicas (SANTOS, 2020).

1.3 Diagnóstico da esquistossomose

A esquistossomose mansoni assemelha-se, em suas diversas formas clínicas, a muitas outras doenças. Essa inespecificidade e a variação nos sintomas impossibilitam o seu diagnóstico apenas através de exames clínicos do paciente (RABELLO et al., 2008). Nesse contexto, há a necessidade de exames laboratoriais para se estabelecer o diagnóstico definitivo da doença. Todavia, estimar a prevalência exata de infecções tem sido uma dificuldade, pois existe uma escassez de ferramentas diagnósticas sensíveis, sobretudo em áreas de baixa endemicidade e baixa carga parasitária (WHO, 2021b; ERKO et al., 2013; SHANE et al., 2011; BERHE et al, 2004).

Podemos dividir os métodos diagnósticos para a esquistossomose em duas categorias: métodos de detecção direta – que identificam o parasito, ou componentes deste (antígenos, ovos, fragmentos ou moléculas) e métodos de detecção indireta – detectam evidências indiretas da presença do parasito e baseiam-se em marcadores clínicos, bioquímicos ou, singularmente, imunológicos referentes à infecção. Outra divisão possível é a classificação dos métodos em qualitativos e quantitativos (Quadro 3).

Os métodos qualitativos são, geralmente, mais rápidos e fáceis de serem realizados, porém não geram projeções sobre a dinâmica de uma infecção, comunicando somente a existência da doença. Enquanto os métodos quantitativos são usados para determinar a carga parasitária e/ou mostrar a intensidade da resposta imunológica de um indivíduo ou grupo populacional. Os resultados de métodos quantitativos permitem o estabelecimento de indicadores epidemiológicos em programas de controle (RABELLO, et al., 2008).

Quadro 3 – Classificação dos métodos parasitológicos diretos e indiretos comumente utilizados para o diagnóstico da esquistossomose mansoni.

CATEGORIA	MÉTODOS	DETECÇÃO DE
Diretos	Exame de fezes ou biópsia de mucosa retal	Ovos eliminados pelas fezes
	Pesquisa de antígenos circulantes	Substâncias antigênicas presentes em tegumento ou material de regurgitação
	Reação em cadeia da polimerase	DNA de ovos, tegumento ou material de regurgitação
Indiretos	Clínicos: sintomas e sinais	Diarreia, sangue nas fezes, hepatoesplenomegalia
	Propedêutica clínica	Alterações ultra-sonográficas ou hemodinâmicas
	Imunológicos: reação intradérmica	Imunidade celular específica
	Imunológicos: sorológicos	Imunidade humoral específica

Fonte: Adaptado de RABELLO et al. (2008).

O diagnóstico adequado, precoce e fidedigno da infecção por *S. mansoni* é fundamental para se obter uma estimativa precisa da prevalência, auxiliar na avaliação da eficácia do tratamento, melhorar o gerenciamento do paciente, assim como para elaborar, implantar e manter programas de vigilância epidemiológica e de controle da esquistossomose mansoni (WHO, 2021b; ENK, et al., 2008). Sendo imprescindível o diagnóstico precoce dos casos e o tratamento adequado para que haja a interrupção da cadeia de transmissão da doença (WHO, 2021b).

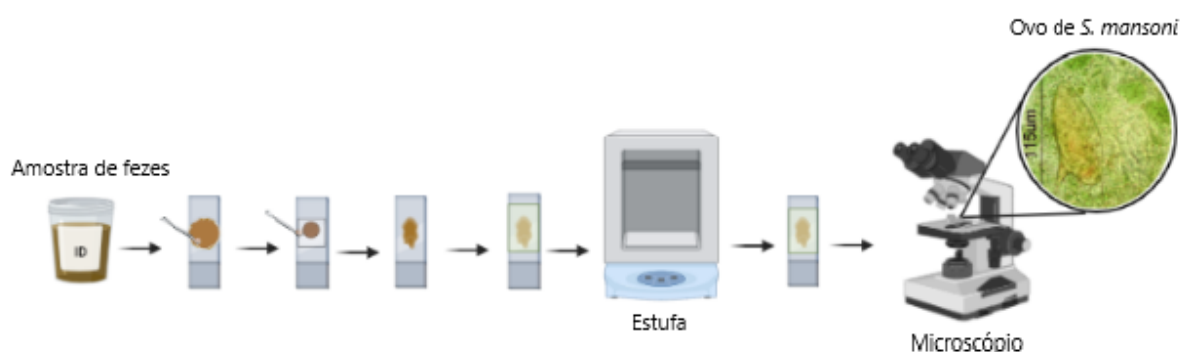
1.3.1 Método de Kato-Katz

O método de Kato-Katz (KK) foi desenvolvido por volta de 1950, pelos pesquisadores japoneses Kato e Miura (1954) e adaptado em 1972, por Katz, Chaves e Pellegrino, facilitando assim a elaboração do método (Figura 4).

Neste método, o qual permite estimar a carga parasitária, é produzida lâmina com aproximadamente 42mg de fezes, os quais são submetidos à clarificação,

por meio da utilização do corante verde malaquita embebido na lamínula de celofane, para posterior pesquisa e contagem de ovos sob microscopia. O número de ovos encontrado na lâmina deve ser multiplicado por 24, para obter o número de ovos por grama de fezes (OPG) (Erko et al., 2013).

Figura 4 - Esquema ilustrativo das etapas do método de Kato-Katz.



Fonte: Adaptado (ANDRADE, 2022).

A presença de um único ovo de *S. mansoni* nas fezes analisadas é evidência direta de infecção ativa; contudo a ausência de ovos nas fezes não descarta a infecção (CHIEFFI e KANAMURA, 1978). Além disso, a expressão dos resultados em OPG permite classificar em três categorias a intensidade de infecção: baixa (1-99 OPG), moderada (100-399 OPG) e alta (>400 OPG) carga parasitária (WHO, 2002).

O Kato-Katz é internacionalmente recomendado pela OMS, sendo também essa técnica a mais utilizada em inquéritos epidemiológicos para diagnóstico da esquistossomose intestinal (UTZINGER et al, 2015). Isto porque o método de Kato-Katz é de fácil execução e de baixo custo. O método também apresenta a possibilidade de armazenamento das lâminas por um longo período (WHO, 2013).

Embora o método Kato-Katz seja amplamente reconhecido e recomendado para o diagnóstico da esquistossomose, apresenta limitações em vários aspectos. Apesar de fácil execução para o preparo das lâminas, existe a necessidade de técnicos de laboratório bem treinados para um correto diagnóstico. Outra limitação é a consistência da amostra fecal, uma vez que, nas fezes aquosas é impossível o

processamento das lâminas e, a visibilidade dos ovos do helminto é comprometida em fezes muito ressecadas ou ricas em fibras (FELDMEIER e POGGENSEE, 1993).

Outra importante limitação é a variabilidade temporal da liberação de ovos nas fezes. Estudos demonstram a existência de uma grande variação na quantidade diária de ovos liberados nas fezes. Essa variabilidade interfere na sensibilidade do método (KELLER et al., 2020; ENGELS; SINZINKAYO; GRYSEELS, 1996), principalmente quando apenas uma única lâmina é examinada (BÄRENBOLD et al., 2018; ENK et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2018).

Essa baixa sensibilidade favorece resultados falso-negativos, os quais influenciam a determinação da prevalência e intensidade da infecção, assim como dos índices de cura (de VLAS & GRYSEELS, 1992; UTZINGER et al., 2001). Portanto, o desempenho desse método é comprometido em situações tais como: diagnóstico de infecções em áreas não endêmicas ou em comunidades que foram submetidas a tratamentos pregressos, assim como a detecção de infecções leves ou de pacientes em fase pré-latente (OKOYO et al., 2018).

Para aumentar a sensibilidade do método, é recomendável a coleta de três amostras de fezes em dias diferentes, sendo analisadas ao menos duas lâminas para cada amostra (BRASIL, 2014). Com a aplicação dessa estratégia, verifica-se uma melhora no desempenho do método (BÄRENBOLD et al., 2018; COLLEY et al., 2013; ENGELS; SINZINKAYO; GRYSEELS, 1996; ENK et al., 2008; SOUSA et al., 2019). Entretanto, o acréscimo no número de lâminas torna o mesmo economicamente inviável e pouco prático, principalmente quando empregado em levantamentos coproparasitológicos de campanhas nacionais para vigilância epidemiológica e controle da doença.

Portanto, faz-se necessário e urgente o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas que permitam transpor essas limitações (SIQUEIRA et al., 2011). Tais ferramentas devem ser sensíveis, precisas, práticas para aplicação em trabalhos de campo, de baixo custo e, preferencialmente, não devem utilizar procedimentos invasivos para obter amostras (SIQUEIRA et al., 2016).

1.3.2 Método imunocromatográfico POC-CCA (*point-of-care circulating catodic antigen*)

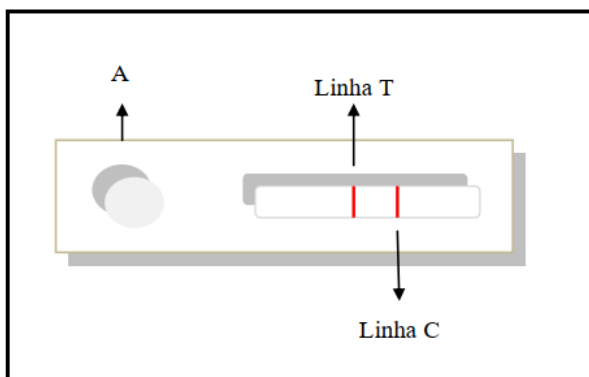
Um teste imunocromatográfico “*point-of-care*”, para detecção do antígeno catódico circulante (POC-CCA), vem sendo recomendado como um possível complemento ao método de Kato-Katz (GRENFELL et al, 2013). Desde 2008, o teste POC-CCA tornou-se comercialmente disponível, pela Rapid Medical Diagnostics (África do Sul), para o diagnóstico de infecção por *S. mansoni* na urina. Subsequente, desde o ano de 2017 o kit vem sendo montado e comercializado no Brasil pela Eco Diagnóstica e foi descontinuada sua produção no ano de 2022.

O fundamento do teste rápido na urina foi elaborado por Van Etten e colaboradores (1994), e seguidamente repetido por van Dam et al. (2004). O teste teve como base o método ELISA sanduíche, que utiliza a combinação de dois anticorpos monoclonais anti-CCA. É um método qualitativo que possibilita a detecção de infecções ativas por *S. mansoni* (van DAM et al., 2004).

O POC-CCA consiste em um teste imunocromatográfico de fluxo lateral, constituído por uma membrana de nitrocelulose com conjugado coloidal do anticorpo monoclonal específico para CCA. Na realização do teste (Figura 5), a amostra de urina é colocada no poço indicado por A e desloca-se, por capilaridade, ao longo da membrana de nitrocelulose até alcançar o conjugado coloidal, ao qual se liga por meio do anticorpo monoclonal contido na banda do teste (Linha T).

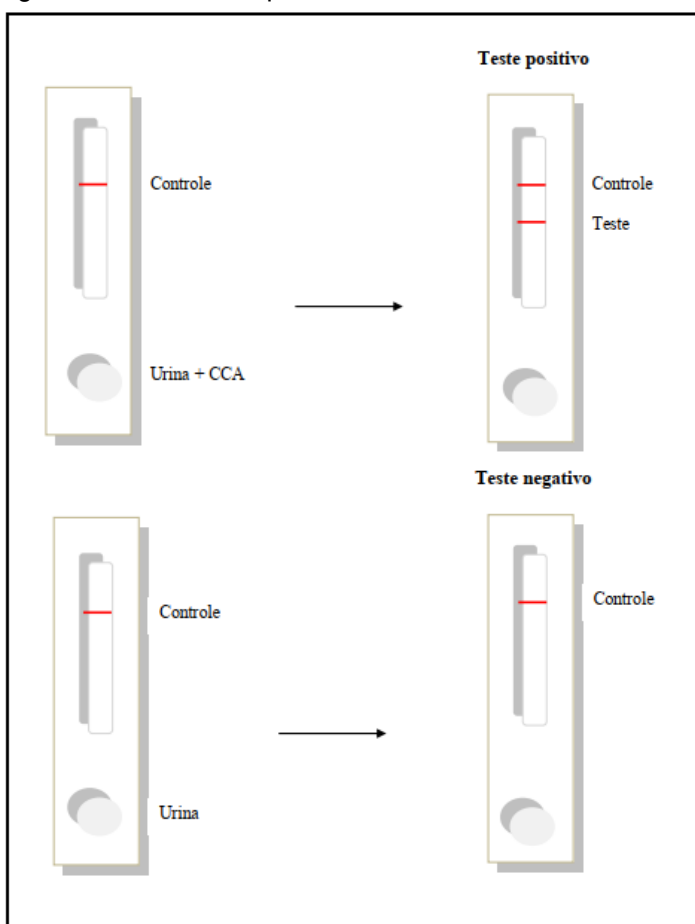
Todos os testes mostram a banda controle (Linha C), que confere a validação e correta execução do teste (cor avermelhada). O teste torna-se inválido caso não apareça essa banda teste na Linha C. O teste é considerado positivo quando a banda contida na Linha T do cassete se mostra na cor vermelha, logo abaixo da banda controle (Figura 6). Colorações de baixa intensidade da reação na linha teste, isto é, fracamente coradas, são denominados traços por pesquisadores da área (Figura 7).

Figura 5 - Desenho esquemático do teste POC-CCA.



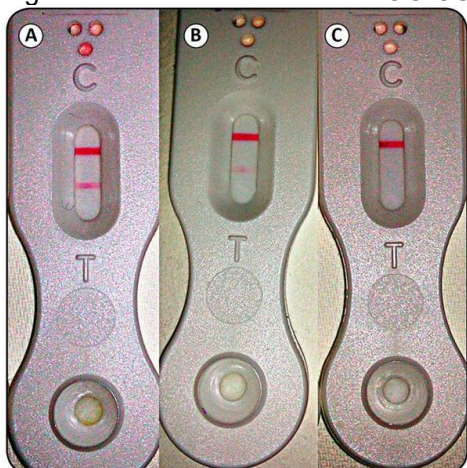
Fonte: FERREIRA, et al 2016.

Figura 6 - Desenho esquemático do teste POC-CCA – Positivo e Negativo



Fonte: Adaptado de FERREIRA, et al 2016.

Figura 7 - Resultados do teste POC-CCA®. A: Positivo. B: Traço e C: Negativo.



Fonte: SIQUEIRA, et al 2016.

O teste POC-CCA apresenta inúmeras vantagens: é de fácil execução, econômico e rápido, já que o resultado se apresenta disponível logo após 20 minutos de execução (BROOKER et al, 2005). E, ainda, a facilidade de manuseio do kit dispensa a necessidade de infraestrutura de laboratório e de técnicos especializados para a sua realização (TCHUEM TCHUENTÉ et al., 2012).

O custo estimado para cada teste é de 4,41 dólares ou 17,00 reais, com taxas já inclusas (estimativa de preço baseada em cotação realizada junto a ECO Diagnóstica em novembro/2018). A facilidade de execução/leitura do teste, o baixo custo e a possibilidade de produção em massa facilitam a utilização deste teste nos programas de controle e avaliação de cura após o tratamento (FOO et al., 2015).

Outra importante vantagem é a possibilidade da utilização de urina, pois a coleta é mais prática e menos invasiva do que a coleta de fezes e sangue. Porém, ao contrário do que o fabricante informa na bula do produto, não é recomendado o armazenamento das amostras por longo tempo, antes da realização dos teste, devido a redução da taxa de positividade em comparação aos testes realizados em urina fresca (FAVRE et al., 2022; MEWAMBA et al., 2021).

Estudos complementares indicam que a detecção de CCA proporciona algumas vantagens para o diagnóstico de esquistossomose: detecção mais sensível e rápida da esquistossomose, reconhecimento de infecções ativas e bom

desempenho diagnóstico, especialmente em indivíduos altamente infectados (SIQUEIRA et al., 2016).

Com relação ao desempenho do POC-CCA, estudos avaliaram a sensibilidade e a especificidade do mesmo usando urina e soro para diagnóstico da esquistossomose em diferentes contextos (COLLEY et al., 2013; TCHUEM TCHUENTÉ et al., 2012., BEZERRA et al., 2021).

Foi constatado que o teste é extremamente sensível e específico para a detecção de CCA de *S. mansoni* em regiões de alta endemicidade (STOTHARD et al., 2006; ADRIKO et al., 2014; DOENHOFF et al., 2004; van DAM et al., 2004; BEZERRA et al., 2021). Estudo realizado em área endêmica, no estado de Minas Gerais, mostrou que 100% dos indivíduos avaliados 30 dias após o tratamento da esquistossomose, se mostraram negativos para o CCA sérico (GRENFELL et al., 2013). Em adição a isso van Dam et al. (2015) mostraram que os níveis de CCA e CAA no sangue e na urina diminuem consideravelmente algumas semanas após o tratamento, estabelecendo-se como um potencial biomarcador para diagnóstico imunológico de infecção ativa e na avaliação de cura.

Em estudo multicêntrico (PIERI et al., 2023), realizado em diferentes áreas no Brasil, o teste POC-ECO® (POC-CCA produzido pela Eco Diagnóstica) não realizou a correta identificação do status de infecção individual, quando comparado com um método robusto de detecção de ovos (Helmintex®), além de não estimar de forma confiável a prevalência nas áreas de baixa a moderada endemicidade. Em área de baixíssima endemicidade avaliada, o teste POC-ECO® apresentou um número elevado de falsos positivos, classificando essa área como de alta endemicidade, o que levaria a localidade seguir um regime semestral de tratamento em massa, seguindo a recomendação da OMS (WHO, 2022). Em outra área avaliada nesse mesmo estudo, apenas dois dos 98 participantes foram positivos para ovos de *S. mansoni* e POC-ECO® apontou 42 resultados positivos. Em contrapartida, 280 (60,6%) dos 462 participantes nos quais foram detectados ovos de *S. mansoni*, pelos métodos de KK ou Helmintex que esse processo iria faltar, não foram detectados pelo POC-ECO®. Na análise geral desse estudo, a sensibilidade (taxa de verdadeiro-positivo) de POC-

ECO[®] foi superior a 80% (80,2%; 95% IC:76,1% - 83,9%), enquanto a especificidade (taxa de verdadeiro-negativo) foi menor do que 60% (55,0%; IC 95%:52,4% - 57,6%). Somado ao fato de estudo anterior, realizado em área não endêmica no Brasil (GRAEFF-TEIXEIRA et al., 2021), ter detectado elevado número de falsos-positivos por POC-ECO[®], os pesquisadores do estudo multicêntrico reiteraram as preocupações da OMS (WHO, 2021b) em relação à confiabilidade das formulações atuais do teste e optaram por não recomendar o POC-ECO[®] como ferramenta diagnóstica para monitoramento e avaliação das medidas de controle para eliminação da esquistossomose no Brasil.

Outras desvantagens desse teste em comparação ao Kato-Katz, estudos apontam a indeterminação da carga parasitária, além da necessidade de padronização e interpretação da leitura dos resultados, sobretudo em relação aos resultados com baixa intensidade de coloração (traço) (BEZERRA et al., 2021; DOENHOFF, CHIODINI, HAMILTON, 2004).

Em áreas de baixa endemicidade, o resultado traço é muito frequente e vem gerando muitos questionamentos por parte da comunidade científica. Primeiramente a questão da subjetividade da leitura em termos de intensidade de coloração da banda teste, pois é comum um mesmo resultado ser interpretado de forma diferente por vários investigadores. Outra questão é se a coloração de fraca intensidade (traço) trata-se de um resultado falso-positivo ou um falso-negativo. Essas discussões têm suscitado a necessidade de desenvolvimento de um método alternativo a essa leitura visual e subjetiva do POC-CCA (CASACUBERTA-PARTAL et al., 2019; COLLEY, ANDROS & CAMPBELL, 2017).

Dessa forma, nos últimos anos tem-se utilizado uma escala intitulada semi-quantitativa, denominada de G-Score (G1-G10), na tentativa de padronização da classificação dos resultados. Nessa escala, é usada uma imagem impressa de diferentes cassetes apresentando 10 diferentes níveis padronizados de intensidade de cores na tira teste. O nível G1 é considerado como negativo e de G2 ao G10 são classificados como positivos, permitindo uma graduação em diferentes níveis de intensidade, como mostrado na figura 8 (CASACUBERTA-PARTAL et al., 2019).

Figura 8 - Pontuações do G-Score: conjunto de 10 cassetes POC-CCA composto por tiras produzidas artificialmente com diferentes intensidades de linha de teste e a correspondência na escala semiquantitativa (SQ).



Fonte: Adaptado de CASACUBERTA-PARTAL et al., 2019.

Apesar de permitir uma semiquantificação das reações da tira teste, a leitura visual ainda mantém o problema da subjetividade. Por esse motivo, seria muito útil o desenvolvimento de uma ferramenta que tivesse a capacidade de quantificar de maneira objetiva as reações das tiras testes dos cassetes (STOTHARD et al., 2016; LEGESSE E ERKO, 2007; STANDLEY et al., 2010).

1.4 Programa Computacional ImageJ®

Diferentes programas computacionais de processamento de imagens vêm sendo usados para quantificação de biomarcadores em diferentes aspectos da biomedicina (LARA et al., 2021; MEWAMBA et al., 2021). Estudos realizados por diferentes grupos de pesquisa ao redor do mundo vem buscando o desenvolvimento de tecnologias diagnósticas para esquistossomose e outros helmintos transmitidos pelo solo (HTS), baseados na análise de urina e fezes, por meio de dispositivos totalmente automatizados integrados a modelos de inteligência artificial (IA) confiáveis, que podem potencialmente mitigar as chances de erro humano e reduzir a necessidade de pessoal treinado para leituras (AGBANA et al., 2020; ARMSTRONG

et al., 2022; BOGOCH et al., 2014; DACAL et al., 2021; HOLMSTRÖM et al., 2017; LINDER et al., 2013; SUKAS et al., 2019).

Essas ferramentas alternativas à microscopia convencional para o diagnóstico da esquistossomose e HTS ainda necessitam de validação e padronização para utilização nos cuidados clínicos diários e na investigação médica. Os principais fatores limitantes atualmente são ambientes com recursos limitados, tanto em termos de infraestrutura para processamento de amostras, como de pessoal capacitado para interpretação das imagens antes que decisões conclusivas possam ser alcançadas (MEULAH et al., 2023).

O ImageJ® é um programa computacional de código aberto (*open source*) de domínio público (*public domain*) que permite o processamento e análise de imagens (RUEDEN et al., 2017; RASBAND, 2015; TAYLOR et al., 2013). Existem diversos programas secundários específicos (*plugins*), assim como uma variedade de bancos de dados disponíveis (incluindo IMB J, NH ImageJ e Microscope Image Browser) que permitem adaptar a aplicação do ImageJ® em diferentes áreas, tais como: biologia, medicina e ciências em geral, incluindo desde análise e processamento de imagens microscópicas de tecidos até de moléculas biológicas (SCHROEDER et al., 2021). Portanto, a facilidade e flexibilidade do programa tornam-no uma solução altamente acessível em comparação aos métodos tradicionais de diagnóstico, sendo amplamente usado tanto por pesquisadores quanto por clínicos (SCHINDELIN et al., 2012).

A precisão e confiabilidade no diagnóstico de doenças têm feito deste programa uma importante ferramenta de apoio com aplicabilidade na pesquisa científica e nos diagnósticos de difícil interpretação. Assim, a aplicação do ImageJ® pode ser uma alternativa para reduzir a subjetividade da leitura e, conseqüentemente, melhorar o diagnóstico da esquistossomose, principalmente em casos de reações fracas (Traço) no POC-CCA (CAI et al., 2021).

Um dos *plugins* mais utilizados é o que permite a quantificação de pixels em imagens digitais (SCHNEIDER et al., 2012).

As representações digitais de imagens consistem em matrizes bidimensionais de valores de intensidade de pixels, em que a dimensão da imagem é determinada pelo número de pixels nas direções horizontal (linhas) e vertical (colunas). Os pixels, que são os elementos fundamentais das imagens, armazenam valores numéricos (intensidades de pixel) que variam de preto a branco. A gama de intensidades, isto é, o intervalo de valores únicos de luminosidade presentes na imagem, é conhecida como profundidade de bits e indica o nível de precisão com que as intensidades são representadas (FERREIRA & RASBAND, 2012).

Esse comando realiza o cálculo das seguintes medidas relativas aos pixels ao longo de uma seleção em linha reta: média, mínimo, máximo e desvio padrão, assim como o comprimento e o ângulo da linha. Para tal quantificação, primeiramente a imagem original é convertida em imagem pseudocolorida.

A representação pseudocolorida (ou cor indexada) de uma imagem é aquela em que uma imagem de canal único em tons de cinza (com 8, 16 ou 32 bits) é associada a cores através de uma tabela de pesquisa ou LUT (Lookup Table), que consiste em uma lista predefinida de valores de cinza correspondentes aos componentes de cor no espaço tridimensional RGB (vermelho, verde, azul). Os tons de cinza são visualizados como pixels coloridos, onde variações de cor na imagem pseudocolorida indicam diferenças na intensidade do objeto, em vez de representarem variações na cor do espécime fotografado (FERREIRA & RASBAND, 2012).

Estudos têm demonstrado a eficácia do uso do ImageJ® na detecção precisa de resultados de teste POC-CCA, incluindo casos indeterminados ou ambíguos relacionados ao traço, e na melhora da capacidade de detecção da esquistossomose em estágios precoces. A utilização do programa para quantificação de pixels de teste POC-CCA tem resultado em aumento significativo na precisão do teste (MU et al., 2023a), assim como em melhora confiabilidade do diagnóstico, especialmente em áreas endêmicas onde a doença é prevalente (CAI et al., 2021).

2 JUSTIFICATIVA

Cada vez mais vários autores vêm trazendo à discussão métodos alternativos à técnica de Kato-Katz (PINHEIRO et al., 2012; INPANKAEW et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2018; KELLER et al., 2020). Dentre esses estão os métodos imunológicos que detectam antígenos parasitários nos fluidos corporais do hospedeiro.

O método POC-CCA vem demonstrando potencial para auxiliar no diagnóstico da esquistossomose. Porém, o mesmo tem apresentado algumas limitações, como falta de padronização na leitura dos cassetes, impossibilidade de determinar a carga parasitária dos indivíduos infectados (teste qualitativo), diferença de sensibilidade e especificidade quando utilizados comparativamente, em áreas de baixa e alta endemicidade, dentre outros fatores.

Uma limitação importante a ser destacada é a dificuldade de leitura e interpretação da reação quando ocorre o aparecimento de uma linha muito clara (denominada como “traço”) na área teste. Pois, nesses casos há uma grande variabilidade interleitores quando a leitura visual é realizada (KABBAS-PIÑANGO et al., 2023; STANDLEY et al., 2010), além disso, persiste o questionamento sobre a reação “traço” ser um resultado falso positivo ou falso negativo (COLLEY et al., 2017).

A transformação da leitura visual da intensidade da reação imunocromatográfica em valores absolutos poderá ajudar a resolver a questão da subjetividade e conseqüente variabilidade interleitores. Nesse contexto, é importante desenvolver ferramentas que possibilitem essa transformação para assim, melhorar o desempenho do teste POC-CCA no diagnóstico da esquistossomose.

Com esse intuito o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho da ferramenta computacional ImageJ® para quantificar as intensidades de coloração das linhas do teste em amostras de urinas provenientes de uma área de alta endemicidade para esquistossomose mansoni no nordeste brasileiro. E, também avaliar o índice de concordância entre os resultados da quantificação de pixels com as leituras visuais do teste POC-CCA, mantendo o resultado do exame parasitológico

Kato-Katz como parâmetro para comparar os resultados entre positivos e negativos reais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Quantificar a intensidade de coloração dos resultados do teste POC-CCA realizados em uma área de alta endemicidade para esquistossomose mansoni, e comparar o desempenho dessa quantificação com as leituras visuais (qualitativa direta, semiquantitativa por Score G).

3.2 Objetivos específicos

- Selecionar imagens fotográficas adequadas à quantificação de pixels, a partir de um banco de imagens de testes POC-CCA realizados com amostras de urina de residentes em uma área de alta endemicidade para esquistossomose mansoni;
- Realizar diferentes leituras das reações do teste POC-CCA, a partir das imagens selecionadas, através da leitura visual direta (Qualitativa); utilizando a escala de Score G para estratificação dos resultados de acordo com a escala semiquantitativa; quantificação de pixels pelo programa computacional ImageJ® (Quantitativa);
- Determinar os índices de sensibilidade e especificidade, assim como os valores preditivos positivos e negativos para a técnica de quantificação de pixels do teste POC-CCA;
- Determinar o ponto de corte (*cut-off*) ideal das intensidades de coloração das bandas testes do POC-CCA (quantificação por pixels) para o diagnóstico positivo da esquistossomose, de forma a maximizar os resultados verdadeiros-positivos e minimizar os resultados falsos-positivos, tendo como referência os resultados do teste padrão Kato-Katz;

- Calcular o índice de concordância entre a quantificação de pixels e os tipos de leituras visuais e semiquantitativos, tendo como referência os resultados do teste padrão Kato-Katz.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo transversal observacional de avaliação da precisão de testes diagnósticos para a esquistossomose, com base em dados secundários de exames imunocromatográficos, oriundos de um amplo estudo realizado em uma área de alta endemicidade para esquistossomose, no município Maruim, Sergipe.

4.2 Local de estudo e população do estudo que originou o banco de imagens

As imagens usadas nesse estudo foram obtidas a partir de resultados de exames POC-CCA do estudo intitulado “Antígenos Circulantes no Diagnóstico da Esquistossomose Mansonii em Residentes de Área de Alta Endemicidade no Nordeste do Brasil” (BEZERRA et al., 2021), desenvolvido pelo Laboratório de Pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos, (LPBM) localizado na Universidade Federal do Ceará (UFC) – Brasil.

O estudo foi realizado no período de julho de 2018 a março de 2019 na comunidade de Siebra (Figura 9), considerada uma área de alta endemicidade. De acordo com os dados da Secretaria Estadual de Saúde, a última intervenção realizada nesta localidade foi no ano 2008 e mostrou uma prevalência de 37,9 % para esquistossomose.

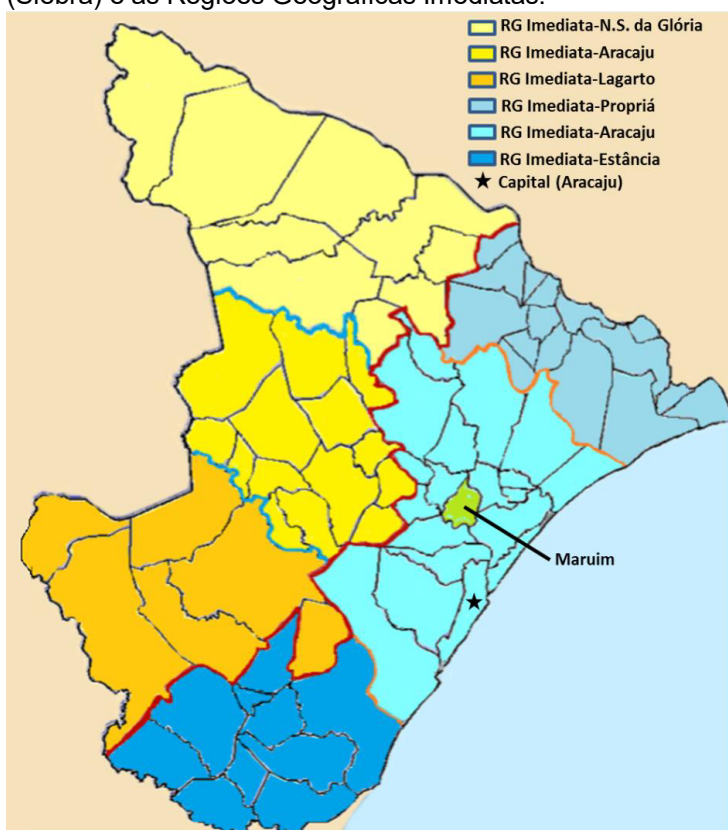
O estado de Sergipe é uma das 27 unidades federativas do Brasil, sendo o menor, ocupando no total uma área de 21.938 Km². Situa-se no litoral do nordeste brasileiro, mais ao Norte, fazendo fronteira com o estado de Alagoas, onde é cortado pelo rio São Francisco, já a Oeste e ao Sul limita-se com o estado da Bahia e a Leste com o oceano Atlântico. É composto por 75 municípios, os quais são agrupados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em seis Regiões Geográficas Imediatas (Aracaju, Estância, Propriá, Itabaiana, Lagarto e Nossa Senhora da Glória), sendo que as três primeiras formam a Região Geográfica Intermediária de Aracaju e as outras três formam a Região Geográfica Intermediária de Itabaiana (Figura 10) (IBGE, 2017).

Figura 9 – Fotos da localidade de Siebra – Maruim – SE, Brasil.



Fonte: Arquivos do LPBM, 2018.

Figura 10 – Mapa destacando o município de Maruim, no qual se localiza a área endêmica do estudo (Siebra) e as Regiões Geográficas Imediatas.



Fonte: Adaptado de IBGE (2017).

A comunidade de Siebra está localizada em área rural do município de Maruim, distante 30 km de Aracaju, capital de Sergipe (IBGE, 2022). Possui 179 moradores que residem, em sua maioria, em casas de alvenaria. No entanto, existem algumas habitações construídas em taipa. É uma região de clima mesotérmico úmido, subúmido, com períodos chuvosos entre março e agosto (de SOUSA, 2020).

4.3 Banco de dados de imagens

O acervo existente é composto por 179 fotografias, salvas em formato JPEG. As imagens foram obtidas imediatamente após o tempo de reação do teste POC-CCA, o qual foi realizado de acordo com as instruções do fabricante Rapid Medical Diagnostics (LOTE: 180703067), fabricado na África do Sul.

Assim, imediatamente após a inspeção visual do resultado de cada cassete (20 minutos após a realização do teste POC-CCA), as imagens foram obtidas de forma padronizada, buscando evitar variáveis no estudo. Foi fotografado um cassete por vez, sendo posicionado verticalmente com ângulo de 90° em relação ao solo e distância de 7.0 cm da câmera, com apoio de um tripé para fixar a câmera. Todos os cassetes foram fotografados nas mesmas condições de iluminação ambiente do laboratório, pelo mesmo pesquisador, utilizando câmera digital Panasonic Lumix DMC-FX37 e sem uso de flash. Em seguida, todas as fotografias foram armazenadas em computador no formato JPEG.

4.4 Critérios de inclusão e exclusão das imagens

A partir do banco original de imagens dos testes POC-CCA, foram selecionadas as que mostraram nitidez, foco e luminosidade adequados à análise para quantificação dos pixels.

No estudo original foram analisadas amostras de 179 pacientes, sendo selecionadas 158 para o presente estudo. Portanto, 21 fotografias foram excluídas por qualidade insuficiente para análise.

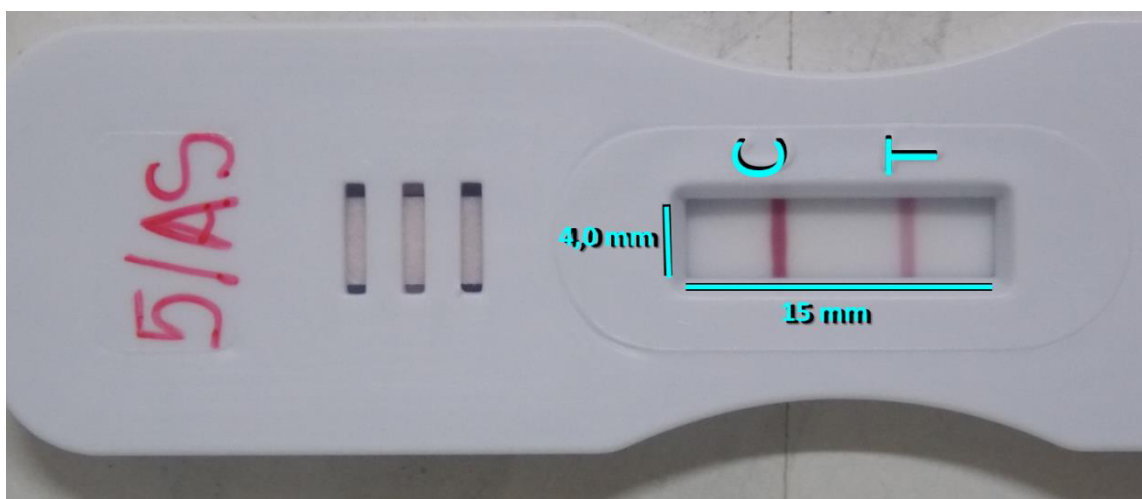
4.5 Leituras do POC-CCA

4.5.1 Leitura por quantificação de pixels

Para quantificação de pixels das imagens do POC-CCA foi usado o programa ImageJ®, sendo os arquivos de imagens abertos individualmente e convertidos em imagens pseudocoloridas de 32 bits (escala de cinza da tabela de correspondência LUT). Além disso, os tons de cinza (branco e preto) das imagens pseudocoloridas foram invertidos para adequar a conversão dos mesmos em dados numéricos positivos destinados à análise posterior.

Para padronizar a área da varredura, uma imagem do banco foi selecionada aleatoriamente e usada para determinar a área de interesse (ROI) na análise de varredura, sendo a mesma definida como a janela de leitura do cassete (cujas medidas correspondem a 15 mm de comprimento por 4.0 mm de largura) na qual se encontram as bandas controle (C) e teste (T) da reação (Figura 11).

Figura 11. Imagem aleatoriamente selecionada para determinação da área de interesse (ROI) da análise de varredura, mostrando as respectivas medidas de comprimento e largura da janela de leitura do teste que contém as bandas controle (C) e teste (T).



Uma varredura inicial da ROI, definida como 15 mm de comprimento, quantificou o número de pixels existentes nessa medida. O valor de pixels foi usado como base de cálculo para ajustar a escala de distância, convertendo as unidades de mm para pixels/mm (Figura 12 e Tabela 1).

Figura 12. Esquema ilustrativo da imagem pseudocolorida e invertida, mostrando a ROI padronizada para as varreduras (15 x 2.0 pixels/mm) destacada em amarelo.

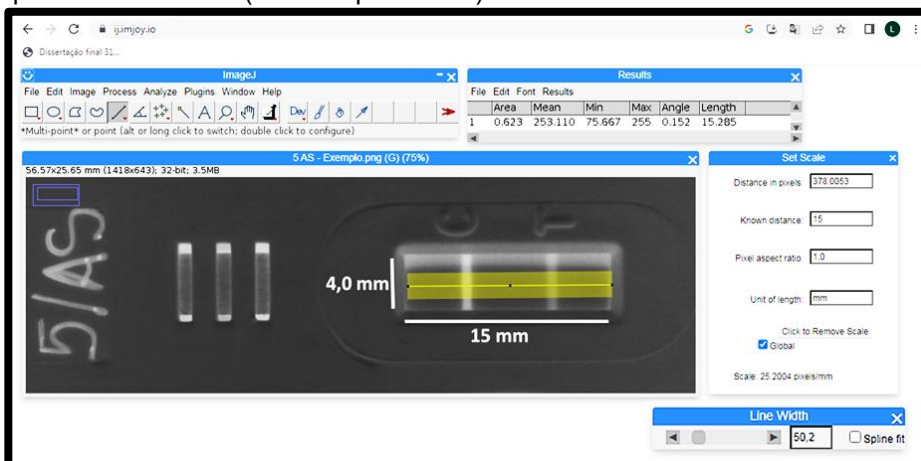
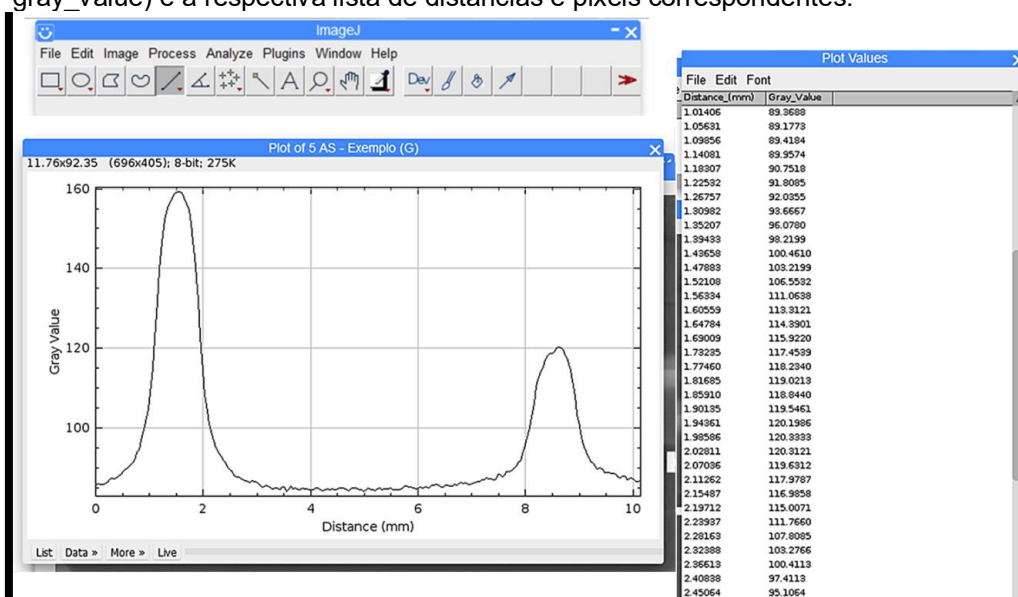


Tabela 1. Valores usados para ajuste da escala de pixels/mm da ROI.

Parâmetros a serem ajustados	Valores
Distância em pixels	378.0053
Distância conhecida	15.0
Proporção de pixels	1.0
Unidade de comprimento	mm
Escala	25.0668 pixels/mm
Espessura da linha	50.2

Em seguida, o valor de pixels/mm foi utilizado para ajustar a escala de varredura para uma largura da janela padronizada em pixels, equivalente a 2.0 mm. Essa distância foi assumida como adequada para reduzir os ruídos nos dados das imagens. Dessa forma, a ROI foi padronizada como uma área de varredura de 15 x 2.0 pixels/mm e aplicada a todas as imagens do banco. Para cada imagem, foram gerados gráficos de coordenadas X, Y e uma lista contendo as posições (mm) e as correspondentes intensidade de pixels (*gray value*) ao longo da varredura (Figura 13). Os dados foram exportados individualmente em formato CSV.

Figura 13. Representação gráfica dos pares de coordenadas X, Y (distância em mm; pixels em gray_value) e a respectiva lista de distâncias e pixels correspondentes.



4.5.2 Análise dos dados de varredura e do desempenho do teste

A lista de dados numéricos, contendo as posições (mm) e as correspondentes intensidade de pixels (*gray value*) ao longo da varredura, foram importados individualmente para programa de análise personalizado (escrito em Python v3.11.2).

Uma vez que a escala de comprimento das imagens e das varreduras foram convertidas para mm, o pico de linha do C e T foram identificados por suas localizações aproximadas, usando o algoritmo do próprio ImageJ®.

Em seguida, a área sob a curva dos picos C e T foram calculadas pelas respectivas integrais, usando a regra do trapézio. Para remover possíveis interferências, causadas pelo deslocamento do sinal devido à iluminação relativa, integrais da linha de base (trapézios conectando o início e o fim da integral do pico com o eixo x) foram calculadas e, posteriormente, subtraídas das integrais dos picos C e T.

Os resultados da quantificação de pixels foram expressos como uma razão de sinal (PX), isto é, a razão entre o valor da integral do pico da banda teste pelo valor da integral do pico da banda controle de cada cassete.

$$PX = \frac{\int T}{\int C}, \text{ onde: } \int T = \text{integral da banda teste; } \int C = \text{integral da banda controle}$$

Pontos de cortes foram aleatoriamente variados e, para cada valor do ponto de corte, os resultados da quantificação de pixels foram classificados como positivos ou negativos, dependendo se sua posição se encontrava acima ou abaixo do ponto de corte determinado. Uma matriz de confusão (tabela de contingência) foi construída pela comparação dos resultados do teste POC-CCA com os resultados do teste padrão Kato-Katz.

A partir dessa matriz foram calculadas, cada ponto de corte aleatoriamente determinado, as taxas de verdadeiros positivos (Sensibilidade) e falsos positivos (Especificidade - 1), usando-se as fórmulas:

$$Se = \frac{VP}{(VP+FN)}, \text{ onde: } Se = \text{sensibilidade, isto é, a probabilidade do teste classificar positivamente um indivíduo positivo no teste Kato-Katz.}$$

$$Es-1 = \frac{VN}{(VN+FP)}, \text{ isto é: a probabilidade do teste classificar negativamente um indivíduo negativo no testes Kato-Katz.}$$

O desempenho geral da estratégia de leitura de quantificação de pixels foi graficamente representado através da Curva Característica de Operação do Receptor (*Receiver Operating Characteristic Curve* – ROC) e a área sob a curva ROC (AROC) foi numericamente calculada utilizando a regra do trapézio.

A estatística J de Youden foi calculada como a soma das métricas sensibilidade e especificidade-1:

$$J = Se(c) + Es(c)-1, \text{ na qual, } Se(c) \text{ e } Es(c) \text{ denotam pares de valores de sensibilidade e especificidade para } n \text{ valores diferentes de pontos de corte (c).}$$

O valor máximo do J de Youden foi usado para determinar o ponto de corte (*cut-off*) que melhor maximiza a relação entre as métricas sensibilidade e especificidade-1. Isto é, o ponto de corte no qual temos o máximo de verdadeiros

positivos e o mínimo de falsos positivos. O valor máximo de Youden foi calculado pela fórmula:

$$J_{max} = \max(c)\{, \text{onde, } c \text{ denota o ponto de corte para o qual } J \text{ é máximo.}$$

4.6 Classificação dos resultados dos testes POC-CCA de acordo com as leituras qualitativas e semiquantitativa.

4.6.1 *Leitura visual direta (VD)*

Imediatamente após os 20 minutos de reação do teste, o resultado da linha teste de todos os cassetes válidos foram avaliados e classificados como negativos (ausência de coloração na linha teste) e positivos (presença de qualquer intensidade de coloração na linha teste).

4.6.2 *Leitura qualitativa por Score G*

Após os 20 minutos de reação do teste POC-CCA, todos os resultados válidos foram avaliados por comparação com os cassetes da escala Score G (Figura 8) e classificados de acordo com os níveis G1 a G10.

4.6.3 *Leitura semiquantitativa*

Os resultados da leitura qualitativa por Score G foram classificadas de acordo com uma escala semiquantitativa de 0 a 3+, conforme a Figura 8.

4.7 Análise estatística

Uma Curva Característica de Operação do Receptor (*Receiver Operating Characteristic Curve* – ROC) foi ajustada aos dados e a área sob a curva ROC (AROC) foi calculada utilizando a regra do trapézio.

Os resultados dos diagnósticos obtidos pelo emprego do método padrão Kato-Katz foram usados para os cálculos da taxa de verdadeiros positivos (sensibilidade) e da taxa de falsos positivos (1 - Especificidade).

O índice J de Youden foi usado para determinar o ponto de corte (*cut-off*) ideal para se obter a melhor relação entre sensibilidade e especificidade.

A variável categórica de prevalência foi expressa como valor absoluto e porcentagem. Os valores de PX positivos foram estratificados em três (baixa, moderada e alta), nove (G2-G10) ou quatro (Tr, 1+, 2+, 3+) níveis de intensidade de reação de acordo com o teste Kato-Katz ou as respectivas leituras visuais do POC-CCA (escala G).

A existência de diferenças entre as médias das classes estratificadas foi verificada pela aplicação do teste Não-Paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de contraste de Dunns. Para verificar e quantificar a existência de relação entre a quantificação de ovos (OPG) e a quantificação por pixels (PX) foi aplicado o teste de correlação linear de Pearson (r). A concordância entre OPG e PX, assim como as estratégias de leitura visuais foi avaliada pelo teste de Kappa. Todos os testes estatísticos foram aplicados com nível de significância $\alpha = 0,05$.

4.8 Aspectos éticos

O estudo foi realizado seguindo os princípios da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (autonomia, não maleficência, justiça e equidade). A pesquisa foi realizada com dados secundários (banco de imagens) obtidos de um estudo que já foi realizado e aprovado no dia 10 de maio de 2018, sob nº do parecer 2.647.566, no CEP da Universidade Federal do Ceará (UFC), e no CEP da Universidade Federal de Sergipe (UFS) sob nº do parecer 2.806.891 (Anexo A e B). Esse estudo anterior foi realizado com a anuência da Diretoria Estadual de Vigilância em Saúde do Governo de Sergipe e o apoio do Núcleo de Endemias da Vigilância Epidemiológica do estado de Sergipe.

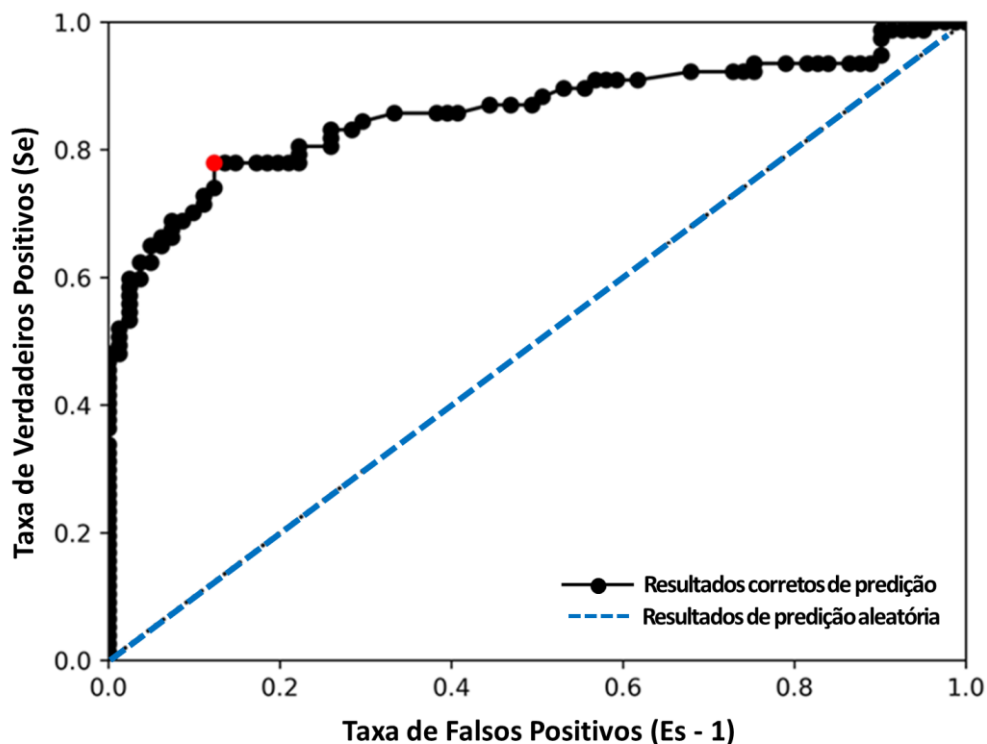
5 RESULTADOS

No total, 158 imagens de testes POC-CCA foram consideradas adequadas e selecionadas para a quantificação de pixels.

A estratégia de leitura do POC-CCA por quantificação de pixels (PX) resultou em uma área sob a curva ROC de 0,859 (Figura 14), mostrando uma melhora significativa em relação ao classificador de predição aleatória. Isto indica que esta estratégia de leitura apresentou um bom desempenho geral, com um poder satisfatório em discriminar entre resultados positivos e negativos.

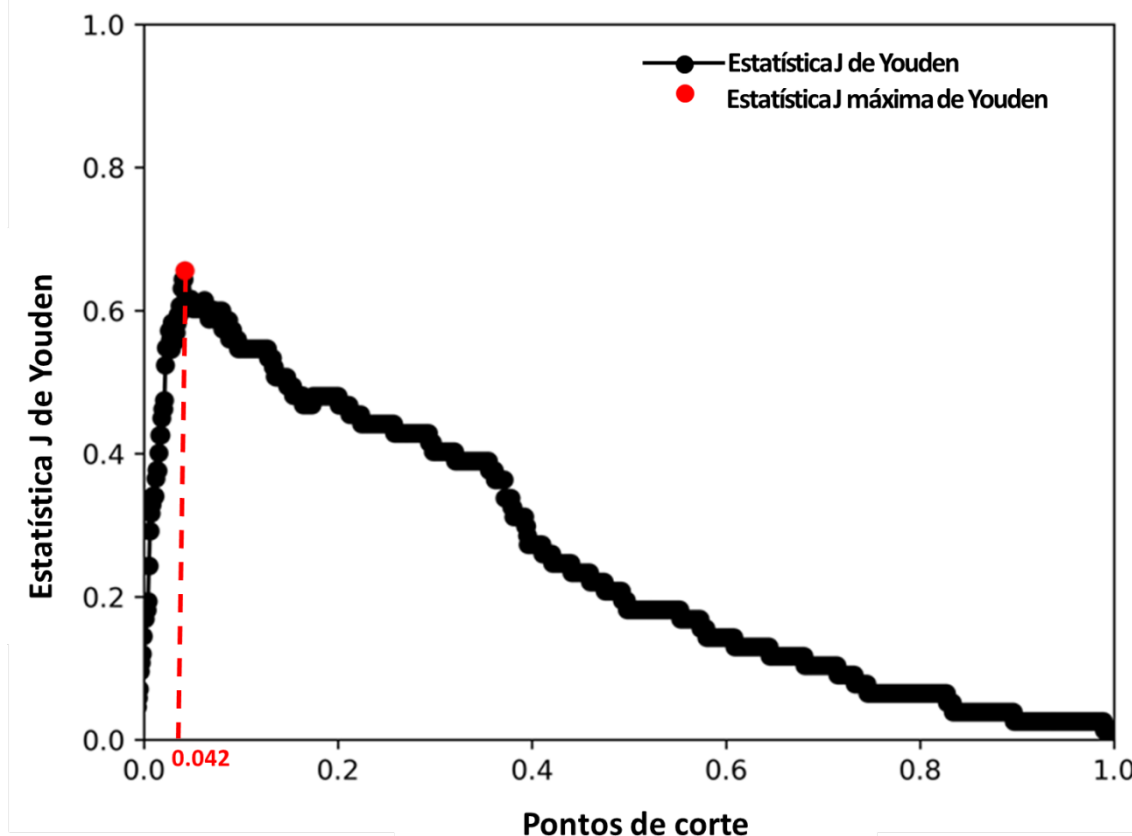
O melhor ponto de corte estimado pela estatística J de Youden foi de 0,042 PX. Nesse ponto de corte, que correspondeu ao J máximo de Youden igual a 0.656 (Figura 15), a estratégia de leitura apresentou uma sensibilidade ideal de 0,779 e uma especificidade ideal de 0,877.

Figura 14. Curva ROC e área sob a curva (ASC) representativas do poder de predição da estratégia de leitura do teste POC-CCA por meio da quantificação de pixels. O ponto vermelho no gráfico indica o valor máximo do índice J de Youden que corresponde ao ponto de corte ideal que maximiza a taxa de verdadeiros positivos.



Legenda: Se = Sensibilidade; Es - 1 = Especificidade - 1.

Figura 15. Representação gráfica da estatística J de Youden mostrando o J máximo (ponto vermelho) correspondente à distância vertical máxima entre a linha de 45° (representada em vermelho pontilhado) e o ponto correspondente na curva ROC.



O desempenho da estratégia de PX foi avaliada usando as métricas otimizadas (ponto de corte, sensibilidade e especificidade), sendo o resultado apresentado pela matriz de confusão representada na tabela 2.

As prevalências de positivos e negativos encontrados para o teste Kato-Katz e para cada estratégia de leitura (quantificação por pixels, escala semiquantitativa e visual qualitativa) do teste POC-CCA foi representada graficamente na figura 16. Pode ser observado que as leituras por quantificação de pixels e a visual qualitativa tiveram valores de prevalência de positivos bem similares aos obtidos pelo teste Kato-Katz. Contudo, a leitura por escala semiquantitativa apresentou maior valor de prevalência de positivos.

Tabela 2. Matriz de confusão construída pela comparação dos resultados do método alternativo de quantificação de pixels do método POC-CCA em relação aos obtidos com o método padrão de Kato-Katz.

		Resultados do método padrão Kato-Katz (KK)	
		Positivo	Negativo
Resultados do método alternativo de quantificação por pixels (POC-CCA)	Positivo	VP = 77,92 % (60/77)	FP = 12,34 (10/81)
	Negativo	FN = 22,078 % (17/77)	VN = 87,65 % (71/81)

VP (verdadeiro positivo) = Ambos os testes têm resultados positivos;
 FP (falso positivo) = KK é negativo, mas a QP é positiva;
 FN (falso negativo) = KK é negativo, porém a QP é negativa;
 VN (verdadeiro negativo) = Ambos os testes têm resultados negativos.

Figura 16. Comparação da estratégia de leitura por quantificação por pixels com o teste Kato-Katz e as outras estratégias de leitura do POC-CCA em relação à prevalência de resultados positivos e negativos.

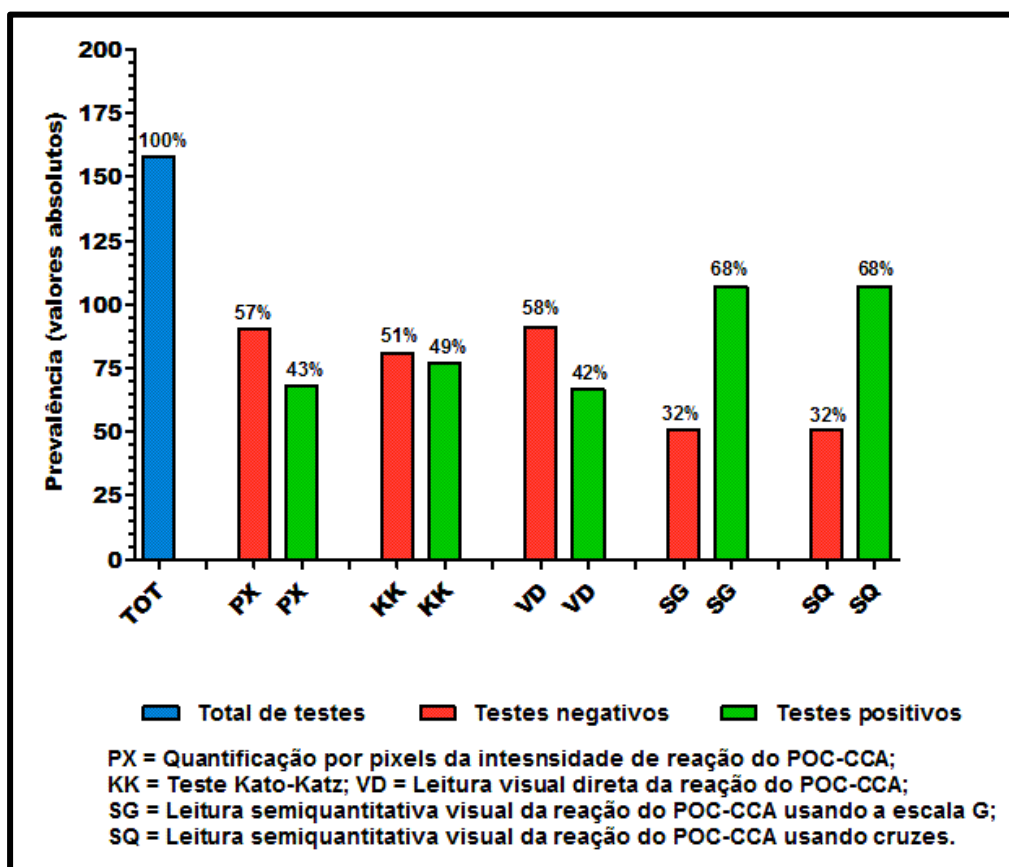
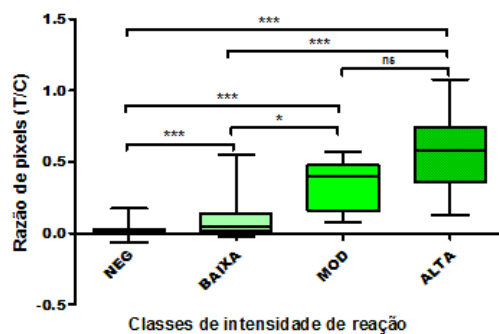
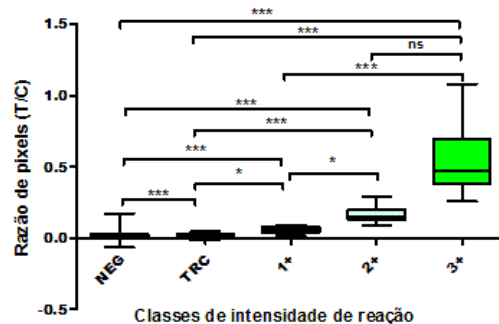


Figura 17. Representação gráfica em diagramas de caixas (Boxplots) da estratificação dos resultados de intensidade de infecção no Kato-Katz por OPG (A), Escala Semiquantitativa (B) e Leitura Visual Direta (C) do teste POC-CCA, em comparação a quantificação de pixels.

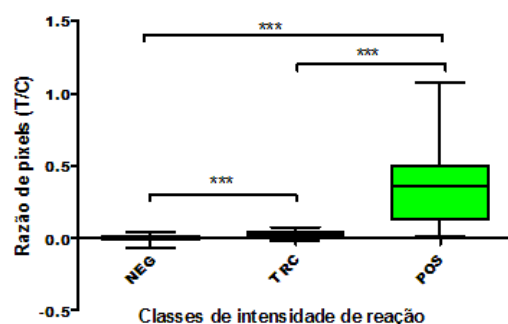
A) Estratificação da intensidade de reação (PX) de acordo com as classes de OPG do teste Kato-Katz padronizados pela OMS.



B) Estratificação da intensidade de reação (PX) de acordo com as classes de leitura visual da escala G.



C) Estratificação da intensidade de reação (PX) de acordo com as classes da leitura visual direta.



Legenda: ns = não significativo; * = 0,05 < p < 0,01; ** = 0,01 < p < 0,001; *** = p < 0,001.

Uma correlação positiva fraca ($r^2 = 0,4812$), contudo estatisticamente significativa ($p < 0.0001$), foi observada entre a intensidade de infecção determinada por OPG no teste Kato-Katz e a intensidade de reação quantificada por pixels no POC-CCA. Foi possível estratificar os resultados obtidos com a estratégia de leitura por quantificação por pixels de acordo com as classes de intensidade de reação de acordo as classes de intensidade de infecção baixa, moderada e alta padronizadas pela OMS para os resultados de OPG do Kato-Katz (Figura 17A). Da mesma forma, usando as classes de intensidade de reação do POC-CCA da leitura por escala semiquantitativa e a visual direta, foi possível estratificar os dados de pixels em quatro (Neg, traço, 1+ a 3+) ou três (Neg, traços e positivo) classes de reação, respectivamente (Figura 17B e 17C).

Vale destacar que, apesar de ser possível a estratificação em classes, houve grande variabilidade de valores em todas as classes, principalmente nas classes negativas e de resultados de baixa infecção pelo Kato-Katz ou de baixa reação (correspondentes aos traços) nas leituras do POC-CCA. Contudo, com a estratégia de leitura por quantificação por pixels, a subjetividade é eliminada, sendo substituída por valores numéricos. Além disso, a estratégia de quantificação por pixels permite modificar o ponto de corte, aumentando a sensibilidade ou a especificidade, de acordo com as características da população em estudo.

Foi observada boa concordância entre a quantificação por pixels e o teste de Kato-Katz (valor de Kappa = 0,6572, $p < 0.0001$). Da mesma forma, houve boa concordância entre a quantificação por pixels e as estratégias de leituras semiquantitativa por escala G (valor de Kappa = 0,5498, $p < 0.0001$) e qualitativa visual (valor de Kappa = 0,5383, $p < 0.0001$). A escala de replicabilidade adotada foi a de Bernard Rosner em *Fundamental of Biostatistics* (2006).

6 DISCUSSÃO

A cidade de Maruim tem sido historicamente um local de transmissão ativa da esquistossomose. Dados do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) mostram que a cidade apresenta prevalência consistentemente alta da doença. Nossa pesquisa mostrou que a prevalência da esquistossomose na cidade de Siebra em Maruim, nordeste do Brasil, é superior a 45%.

Os resultados obtidos por meio das leituras visuais direta e utilizando a escala de Score G corroboram a subjetividade destas leituras e a problemática relacionada à determinação e interpretação da resposta de intensidade traço (T). Segundo o fabricante, os resultados T devem ser considerados como positivos. No entanto, a interpretação do resultado T tem gerado ampla discussão entre os grupos de pesquisa que estão investigando o desempenho do POC-CCA em diferentes partes do mundo (BEZERRA et al., 2021; GRAEFF-TEIXEIRA et al., 2021; PERALTA; CAVALCANTI, 2018; COLLEY et al., 2013). Alguns autores afirmaram que, ao considerar o T como positivo, obtiveram um melhor desempenho do teste (DE SOUSA et al., 2020; ADRIKO et al., 2014), enquanto Coulibaly e colaboradores (2013) relataram o contrário. Essas divergências na interpretação dos resultados T refletem a complexidade e a necessidade de uma análise criteriosa para uma conclusão mais robusta sobre a eficácia do POC-CCA. No entanto, essa diferença na interpretação do T pode levar a uma situação em que uma amostra de indivíduos possivelmente infectados não receberá tratamento, ou, inversamente, um indivíduo não infectado receberá tratamento (COELHO et al., 2016).

Além do impacto da interpretação do teste na decisão de tratar ou não os indivíduos, outro problema é a divergência na classificação desses resultados por diferentes analistas, isto é, a ampla variabilidade interleitores, conforme apontado por Carvalho e colaboradores (2024). Frente a isso, a quantificação de pixels proposta em nosso estudo pode ser uma ferramenta bastante útil para afastar essa subjetividade, visto que a mesma possibilita a transformação dos resultados do POC-CCA em valores absolutos.

O estudo conduzido por Casacuberta-Partal e colegas (2019), realizado em países africanos, comparou a intensidade da reação imunocromatográfica das faixas de teste do POC-CCA com o resultado de OPG do teste Kato-Katz, revelando uma alta concordância entre eles quando o resultado T foi considerado positivo. Por outro lado, o estudo realizado por Bezerra e colaboradores (2021), em uma região endêmica no nordeste do Brasil, não conseguiu estabelecer essa correlação entre a intensidade das faixas de teste do POC-CCA e a carga parasitária dos indivíduos avaliados, especialmente nos casos de baixa carga parasitária. Em nosso estudo, quando comparados os dados da estratificação de carga parasitária (OPG) e a intensidade do POC-CCA por quantificação de pixels também obtivemos uma correlação positiva fraca, apesar da boa concordância entre o resultado do teste Kato-Katz e os resultados da quantificação por pixels do POC-CCA.

O presente estudo utilizou o software ImageJ® para obter a quantificação de pixels dos resultados dos testes POC-CCA selecionados, projetando resultados reais e absolutos. A análise quantitativa de imagens é uma técnica que vem sendo utilizada cada vez mais em estudos relacionados ao diagnóstico da esquistossomose (MU et al., 2023a; MEWAMBA et al., 2021), além de outras infecções parasitárias, como a Malária (MOORE et al., 2021; SCHERR et al., 2017) e a Toxoplasmose (FAN et al., 2024).

No estudo realizado por Mewamba et al. (2021), utilizando leitor de tiras de fluxo lateral POC-CCA (ESEQuant LR3), quantificou o antígeno CCA expressando em milivolts, obtendo forte correlação positiva quando comparado com a contagem de ovos (OPG) do método Kato-Katz e com as diferentes intensidades de reação do POC-CCA, por leitura visual direta e escala semiquantitativa. Apesar de apresentar melhores índices de correlação e significância, para essa estratégia de comparação descrita acima, do que em nossas análises estatísticas considerando a quantificação de pixels, contudo vale ressaltar que os resultados de base apresentam elevada divergência. Enquanto nós encontramos 48,7% (77/158) de positivos no Kato-Katz e 67,7% (107/158) no teste de POC-CCA, Mewamba et al. (2021) partiu de uma

diferença muito maior de positividade entre os resultados de Kato-Katz (9,4% - 71/759) e POC-CCA (40,7% - 309/759), isso demonstra que mesmo trabalhando diferentes ferramentas para auxiliar na padronização e quantificação da leitura do teste POC-CCA, a própria técnica do teste rápido precisa ser melhorada, pois apresenta alta variabilidade de resultados em diferentes cenários, como levantado em parágrafo anterior.

O uso de um leitor eletrônico de tiras de fluxo lateral pode permitir quantificação confiável e reproduzível de CCA em tiras POC-CCA, evitando as variações que são frequentemente observadas na interpretação visual dos resultados desse teste (FAN et al., 2024). Tem como principais vantagens a simplicidade e facilidade de uso, requer menos tempo para as análises de amostras em comparação com o ensaio KK. Como desvantagens principais temos a necessidade de eletricidade, o que ainda falta em muitas áreas endêmicas de esquistossomose, além do custo para aquisição do leitor, que custa cerca de 4.233 euros (MEWAMBA et al., 2021), valor que pode ser inacessível para alguns países de baixa renda. Alguns modelos de leitores necessitam de conexão com a internet para que seja possível a leitura dos resultados, além do problema da intercambialidade entre sistemas operacionais. Assim é necessário o desenvolvimento de uma tecnologia que permita funcionalidade semelhante off-line (MOORE et al., 2021).

A proposta tecnológica apresentada nesse estudo é bastante promissora, pois o algoritmo de processamento de imagem utilizado teve um desempenho satisfatório, no entanto, existem diversas áreas potenciais para melhoria em usabilidade e desempenho. Trabalhos anteriores demonstraram algoritmos de processamento de imagem capazes de extrair automaticamente uma varredura de linha a partir de uma fotografia de um teste diagnóstico (SCHERR et al., 2016; SCHERR et al., 2017; MOORE et al., 2021). Esse é um passo importante e necessário na avaliação de grandes coleções de fotografias de testes diagnósticos ou um caminho para uma aplicação da uniformização de leitura do POC-CCA mais amigável para uso em campo. Há ainda, a necessidade de melhor padronização da metodologia de quantificação, com relação às decisões-chave e aos parâmetros na cadeia de

processamento de imagem que incluem as etapas de pré-processamento da imagem, espaço de cores para avaliação, largura da linha da varredura de linha e parâmetros de processamento de sinais.

Os valores utilizados neste trabalho foram escolhidos principalmente para calibrar inicialmente a robustez do algoritmo, a fim de avaliar o catálogo de imagens disponíveis e para facilitar a interpretação dos resultados. Entretanto, tais parâmetros podem não representar condições operacionais ideais em todos os cenários. Por exemplo, tais parâmetros podem não se adequar à análise de outros bancos de imagens contendo fotos salvas em outros formatos (PNG, TIFF, ect.) E, a seleção de outros parâmetros poderá resultar em melhor desempenho diagnóstico.

A escolha da métrica para calcular o limite do sinal que funcionou como ponto de corte (*cut-off*) para classificar os resultados como "positivos" ou "negativos" na cadeia de processamento de imagem é outra área potencial de exploração. Em nosso estudo usamos o índice J máximo de Youden. Contudo, a aplicação de outras métricas de determinação de ponto de corte pode vir a melhorar o desempenho desta forma alternativa de leitura do teste POC-CCA.

Além disso, nesse estudo optamos por trabalhar com a razão entre as áreas de pico das linhas teste e das linhas controle. Conforme Moore e colaboradores (2021), o uso da razão entre as áreas de tais picos tem a vantagem de normalizar a iluminação e assim, evitar a variabilidade de iluminação entre fotografias em uma biblioteca de imagens. Contudo, observamos uma grande variabilidade na intensidade de reação da linha controle. Outras abordagens, tais como a utilização da razão entre a linha teste e o valor médio das linhas controles poderia melhorar o desempenho da estratégia de quantificação. Também seria possível considerar usar apenas a abordagem de reduzir, do valor da integral do pico do teste, o valor das integrais das linhas de base antes e depois do mesmo para a normalização da iluminação.

A utilização de um programa computacional de análise de imagem, como o ImageJ®, para leituras do POC-CCA através da quantificação de pixels possibilita a redução da variabilidade dos resultados por uso de diferentes lotes/tipos de cassetes,

em função da acuidade visual do analista ou do seu tempo de treinamento (nível de expertise), além de limitar problemas no tempo de desenvolvimento da cor e nas taxas de absorção das amostras (MU et al., 2023b). Em trabalhos de campo pode ser útil capturar as imagens dos resultados das tiras de POC-CCA utilizando smartphone no local e posteriormente carregar para computador e realizar a conversão em pixels para determinação do resultado. Dentro dessa perspectiva, surge uma opção a ser avaliada futuramente que é o sistema de análise de imagens desenvolvido recentemente por Schary e colaboradores (2022), baseado em código aberto, que inclui em seu pacote o software R Shiny com funções semelhantes ao ImageJ®, com ferramentas para edição de imagens, análise, extração de dados, calibração e quantificação dos ensaios de fluxo lateral. A combinação da captura de imagens de testes rápidos adicionalmente ao processamento através do software *R Shiny* utilizando apenas o próprio smartphone para fazer tudo isso e ao mesmo tempo aumenta ainda mais o potencial da aplicabilidade da quantificação de pixels em campo (MU et al., 2023a).

O presente estudo tem como limitação principal a falta de um “teste padrão ouro” para avaliar a precisão diagnóstica do modelo proposto nessa pesquisa. A técnica de KK foi utilizada como referência, porém sabidamente ela carece de melhor sensibilidade em infecções de baixa intensidade. Assim como observado por Casacuberta-Partal et al. (2019), o nosso estudo enfrenta desafios semelhantes ao que diz respeito a influência de diversos fatores, como variações na qualidade das imagens, condições de iluminação, e até mesmo na configuração dos parâmetros de processamento de imagem. Essas variações podem introduzir ruídos e afetar a precisão da quantificação de pixels, comprometendo a confiabilidade dos resultados.

Embora a estratégia de leitura por quantificação de pixels tenha mostrado concordância satisfatória com o teste de Kato-Katz e as outras estratégias de leitura do POC-CCA, é importante ressaltar que essas comparações foram realizadas em um contexto específico e podem não ser diretamente aplicáveis a outras populações ou condições epidemiológicas. Diferenças na carga parasitária, características demográficas e epidemiológicas podem influenciar a performance da quantificação de

pixels e devem ser consideradas ao interpretar e generalizar os resultados deste estudo.

É importante reconhecer que a aplicação da quantificação de pixels como uma alternativa à leitura visual direta do POC-CCA pode requerer recursos adicionais, como equipamentos de imagem e software de processamento de imagem, que podem não estar disponíveis em todos os contextos de saúde. Além disso, a implementação bem-sucedida dessa técnica pode exigir treinamento especializado e investimentos em infraestrutura, o que pode limitar sua viabilidade em determinados contextos (MOORE et al., 2021).

Portanto, embora a estratégia de leitura por quantificação de pixels apresente potencial como uma ferramenta objetiva e reproduzível para o diagnóstico da esquistossomose, é fundamental reconhecer suas limitações e considerar cuidadosamente o contexto específico de sua aplicação antes de sua implementação em larga escala. Investigações adicionais são necessárias para elucidar essas limitações e explorar estratégias para mitigar seus impactos na interpretação e aplicação clínica dos resultados obtidos pela quantificação de pixels.

7 CONCLUSÃO

Diante dessas análises, podemos concluir que há uma subjetividade na leitura do teste imunocromatográfico POC-CCA quando realizada de forma visual direta. Contudo, quando utilizamos a escala de Score G para padronização das leituras e a classificação desses resultados por meio da Escala Semiquantitativa há uma melhora no nível de concordância dessas leituras, comparado aos resultados do Kato-Katz. A utilização da quantificação de pixels como padrão de leitura, nos fornece valores absolutos, afastando a subjetividade da interpretação dos resultados do POC-CCA por leitura visual, além de possibilitar o estabelecimento de um *cut-off* mais preciso, determinando desta forma valores reais para o diagnóstico da esquistossomose.

REFERÊNCIAS

ADRIKO, M. et al. Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-cassette assay as a survey tool for *Schistosoma mansoni* in different transmission settings within Bugiri District, Uganda. *Acta Tropica*, v. 136, p. 50-57, 2014. DOI: 10.1016/j.actatropica.2014.04.001.

AGBANA, T. E. et al. Detection of *Schistosoma haematobium* using lensless imaging and flow cytometry: a proof of principle study. In: COTÉ, G. L. (ed.). *Optical Diagnostics and Sensing XX: Toward Point-of-Care Diagnostics*. Bellingham, WA: SPIE, 2020. p. 112470F.

ANDRADE, L. S. A. Validação do método POC-CCA para o diagnóstico da infecção por *Schistosoma mansoni* em uma área urbana. 2022. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2022.

ARMSTRONG, M. et al. Point-of-care sample preparation and automated quantitative detection of *Schistosoma haematobium* using mobile phone microscopy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 106, n. 5, p. 1442–1449, 2022. DOI: 10.4269/ajtmh.21-1071.

BÄRENBOLD, O. et al. Translating preventive chemotherapy prevalence thresholds for *Schistosoma mansoni* from the Kato-Katz technique into the point-of-care circulating cathodic antigen diagnostic test. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 12, e0006941, 2018. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006941.

BEZERRA, D. F. et al. Diagnostic comparison of stool exam and point-of-care circulating cathodic antigen (POC-CCA) test for *Schistosoma mansoni* diagnosis in a high endemicity area in northeastern Brazil. *Parasitology*, v. 148, n. 4, p. 420–426, 2021. DOI: 10.1017/S0031182020002164.

BERHE, N. et al. Variations in helminth faecal egg counts in Kato-Katz thick smears and their implications in assessing infection status with *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, v. 92, n. 3, p. 205–212, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.06.011>.

BOGOCH, I. I. et al. Evaluation of portable microscopic devices for the diagnosis of *Schistosoma* and soil-transmitted helminth infection. *Parasitology*, v. 141, n. 14, p. 1811–1818, 2014. DOI: 10.1017/S0031182014000432.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. *Boletim Epidemiológico: Doenças Tropicais Negligenciadas no Brasil*.

Morbimortalidade e resposta nacional no contexto dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável: 2016-2020. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024. Versão eletrônica – versão 2. ISSN 9352-7864.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. *Guia de Vigilância em Saúde: volume único* [recurso eletrônico]. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. 740 p. il. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_3ed.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Vigilância da Esquistossomose mansoni: diretrizes técnicas*. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 144 p.

BROOKER, S. et al. Rapid assessment of *Schistosoma mansoni*: the validity, applicability and cost-effectiveness of the lot quality assurance sampling method in Uganda. *Tropical Medicine and International Health*, v. 10, p. 647–658, 2005.

BURGOS, L. M. et al. Neglected Tropical Diseases and other Infectious Diseases affecting the Heart (NET-Heart project). The NET-Heart Project: Rationale and Design. *Global Heart*, v. 15, n. 1, p. 60, 2020. DOI: 10.5334/gh.867.

CAI, P. et al. Performance of the point-of-care circulating cathodic antigen test in the diagnosis of *schistosomiasis japonica* in a human cohort from Northern Samar, the Philippines. *Infectious Diseases of Poverty*, v. 10, n. 1, p. 121, 2021. DOI: 10.1186/s40249-021-00905-5.

CARVALHO, R. G. et al. Immunochromatographic POC-CCA test for the diagnosis of intestinal *schistosomiasis* in a high endemic region in Brazil: differences in the interpretation of results. *Acta Tropica*, v. 254, 107181, 2024.

CASACUBERTA-PARTAL, M. et al. An innovative and user-friendly scoring system for standardized quantitative interpretation of the urine-based point-of-care strip test (POC-CCA) for the diagnosis of intestinal *schistosomiasis*: a proof-of-concept study. *Acta Tropica*, v. 199, 105150, 2019.

CASACUBERTA, M. et al. Evaluation and optimization of the Circulating Cathodic Antigen (POC-CCA) cassette test for detecting *Schistosoma mansoni* infection by using image analysis in school children in Mwanza Region, Tanzania. *Parasite Epidemiology and Control*, v. 1, n. 2, p. 105–115, 2016. DOI: 10.1016/j.parepi.2016.04.002.

CHIEFFI, P. P.; KANAMURA, H. Diagnóstico laboratorial da esquistossomose mansônica. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, v. 30, p. 77–97, 1978.

COELHO, P. M. Z. et al. Improvement of POC-CCA interpretation by using lyophilization of urine from patients with *Schistosoma mansoni* low worm burden: towards an elimination of doubts about the concept of trace. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 10, n. 6, e0004778, 2016. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004778.

COLLEY, D. G. et al. Schistosomiasis is more prevalent than previously thought: what does it mean for public health goals, policies, strategies, guidelines and intervention programs? *Infectious Diseases of Poverty*, v. 6, n. 1, p. 63, 2017. DOI: 10.1186/s40249-017-0275-5.

COLLEY, D. G. et al. A five-country evaluation of a point-of-care circulating cathodic antigen urine assay for the prevalence of *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 88, n. 3, p. 426–432, 2013. DOI: [10.4269/ajtmh.12-0639](https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0639).

COULIBALY, J.T. et al. Accuracy of urine circulating cathodic antigen test for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* in preschool-aged children before and after treatment. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 7, n. 3, p. e2109, 2013. doi: [10.1371/journal.pntd.0002109](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002109).

CRUZ, J. I. N.; SALAZAR, G. de O.; CORTE, R. L. Retrocesso do Programa de Controle da Esquistossomose no estado de maior prevalência da doença no Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 11, e202000567, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-6223202000567>. Acesso em: 6 fev. 2024.

DACAL, E. et al. Mobile microscopy and telemedicine platform assisted by deep learning for the quantification of *Trichuris trichiura* infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 15, n. 9, e0009677, 2021. DOI: [10.1371/journal.pntd.0009677](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009677).

DE SOUSA, M. A. A. Avaliação do teste imunocromatográfico POC-CCA (África do Sul e Brasil) usado no diagnóstico para esquistossomose em residentes de área de alta endemicidade no nordeste do Brasil. *Dissertação* (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

DE VLAS, S. J.; GRYSEELS, B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. *Parasitology Today*, v. 8, n. 8, p. 274-277, 1992. DOI: [10.1016/0169-4758\(92\)90144-g](https://doi.org/10.1016/0169-4758(92)90144-g).

DOENHOFF, M. J. et al. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? *Trends in Parasitology*, v. 20, n. 1, p. 35-39, 2004. DOI: [10.1016/j.pt.2003.10.019](https://doi.org/10.1016/j.pt.2003.10.019).

ENGELS, D. et al. Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 54, n. 4, p. 319-324, 1996. doi:[10.4269/ajtmh.1996.54.319](https://doi.org/10.4269/ajtmh.1996.54.319).

ENK, M. J. et al. 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 Tropica*, v. 108, n. 2-3, p. 222-228, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.09.016>.

ERKO, B. et al. Evaluation of urine-circulating cathodic antigen (Urine-CCA) cassette test for the detection of *Schistosoma mansoni* infection in areas of moderate prevalence in Ethiopia. *Tropical Medicine and International Health*, v. 18, n. 8, p. 1029-1035, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/tmi.12117>.

FAN, J. et al. Application of gold immunochromatographic assay strip combined with digital evaluation for early detection of *Toxoplasma gondii* infection in multiple species. *Parasites & Vectors*, v. 17, 81, 2024.

FAVRE, T. C. et al. Reliability of point-of-care circulating cathodic antigen assay for diagnosing schistosomiasis mansoni in urine samples from an endemic area of Brazil after one year of storage at -20 degrees Celsius. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 55, e0389–2021, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0389-2021>.

FELDMEIER, H. et al. Diagnostic techniques in schistosomiasis control. A review. *Acta Tropica*, v. 52, n. 4, p. 205-220, 1993. doi:[10.1016/0001-706x\(93\)90009-Z](https://doi.org/10.1016/0001-706x(93)90009-Z).

FERREIRA, F. T. Sensibilidade e especificidade do teste rápido na urina (POC-CCA) e avaliação da morbidade da esquistossomose mansônica em região de baixa prevalência. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

FERREIRA, T.; RASBAND, W. S. "ImageJ User Guide — IJ 1.46", 2010-2012. Disponível em: imagej.nih.gov/ij/docs/guide/. Acesso em: [02 de maio de 2023].

FOO, K. T. et al. Evaluation of point-of-contact circulating cathodic antigen assays for the detection of *Schistosoma mansoni* infection in low-, moderate-, and high-prevalence schools in western Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 92, n. 6, p. 1227-1232, 2015. DOI: [10.4269/ajtmh.14-0643](https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0643).

GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369

diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*, v. 396, n. 10258, p. 1204–1222, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9).

GRAEFF-TEIXEIRA, C. et al. Low specificity of point-of-care circulating cathodic antigen (POC-CCA) diagnostic test in a non-endemic area for *schistosomiasis mansoni* in Brazil. *Acta Tropica*, v. 217, 105863, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105863>.

GRENFELL, R. et al. New approaches with different types of circulating cathodic antigen for the diagnosis of patients with low *Schistosoma mansoni* load. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 7, n. 2, e2054, 2013. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002054.

INPANKAEW, T. et al. Simple fecal flotation is a superior alternative to quadruple Kato Katz smear examination for the detection of hookworm eggs in human stool. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 8, n. 12, e3313, 2014. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003313.

HOLMSTRÖM, O. et al. Point-of-care mobile digital microscopy and deep learning for the detection of soil-transmitted helminths and *Schistosoma haematobium*. *Global Health Action*, v. 10, Sup. 3, 1337325, 2017. DOI: 10.1080/16549716.2017.1337325.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Área Territorial Oficial 2018. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/estrutura-territorial/15761-areas-dos-municipios.html?edicao=24050>. Acesso em: 19 fev. 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Divisão regional do Brasil em regiões geográficas imediatas e regiões geográficas intermediárias: 2017 / IBGE, Coordenação de Geografia. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. 82 p.

KABBAS-PIÑANGO, E. et al. Reproducibility matters: intra- and inter-sample variation of the point-of-care circulating cathodic antigen test in two *Schistosoma mansoni* endemic areas in Uganda. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 378, n. 1887, 20220275, 2023. DOI: 10.1098/rstb.2022.0275.

KATZ, N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses. 22. ed. Belo Horizonte: CPqRR - FIOCRUZ, 2018. 76 p. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/sinan/inpeg/RelatorioINPEG.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2022.

KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 14, n. 6, p. 397–400, 1972.

KELLER, L. et al. Performance of the Kato-Katz method and real time polymerase chain reaction for the diagnosis of soil-transmitted helminthiasis in the framework of a randomised controlled trial: treatment efficacy and day-to-day variation. *Parasit. Vectors.*, v. 13, n. 1, 517, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04401-x>.

LAND, K. J. et al. REASSURED diagnostics to inform disease control strategies, strengthen health systems and improve patient outcomes. *Nat. Microbiol.*, v. 4, n. 1, p. 46-54, 2019. doi: 10.1038/s41564-018-0295-3.

LARA, H. et al. Quantitative Image Analysis for Tissue Biomarker Use: A White Paper From the Digital Pathology Association. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.*, v. 29, n. 7, p. 479-493, 2021. doi: 10.1097/PAI.0000000000000930.

LEGESSE, M. et al. Field-based evaluation of a reagent strip test for diagnosis of *Schistosoma mansoni* by detecting circulating cathodic antigen in urine before and after chemotherapy. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 101, n. 7, p. 668-673, 2007. doi: 10.1016/j.trstmh.2006.11.009.

LINDER, E. et al. On-chip imaging of *Schistosoma haematobium* eggs in urine for diagnosis by computer vision. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, v. 7, n. 12, e2547, 2013. doi: 10.1371/journal.pntd.0002547.

MENEZES, C. A. et al. FioSchisto's expert perspective on implementing WHO guidelines for schistosomiasis control and transmission elimination in Brazil. *Front. Immunol.*, v. 14, 1268998, 2023. doi: 10.3389/fimmu.2023.1268998.

MEULAH, B. et al. A review on innovative optical devices for the diagnosis of human soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis: from research and development to commercialization. *Parasitology.*, v. 150, n. 2, p. 137-149, 2023. [doi:10.1017/S0031182022001664](https://doi.org/10.1017/S0031182022001664)

MEWAMBA, E. M. et al. Field assessment in Cameroon of a reader of POC-CCA lateral flow strips for the quantification of *Schistosoma mansoni* circulating cathodic antigen in urine. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, v. 15, n. 7, e0009569, 2021. . [doi: 10.1371/journal.pntd.0009569](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009569).

MOORE, C. et al. mHAT app for automated malaria rapid test result analysis and aggregation: a pilot study. *Malar J.*, v. 20, n. 1, 237, 2021. [doi: 10.1186/s12936-021-03772-5](https://doi.org/10.1186/s12936-021-03772-5).

MU, Y. et al. Comparative assessment of the SjsAP4-incorporated gold immunochromatographic assay for the diagnosis of human schistosomiasis japonica. *Front. Public Health.*, v. 11, 1249637, 2023a. [doi:10.3389/fpubh.2023.1249637](https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1249637).

MU, Y. et al. Development and assessment of a novel gold immunochromatographic assay for the diagnosis of schistosomiasis japonica. *Front. Immunol.*, v. 14, 1165480, 2023b. [doi: 10.3389/fimmu.2023.1165480](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1165480).

OKOYO, C. et al. Comparing the performance of circulating cathodic antigen

and Kato-Katz techniques in evaluating *Schistosoma mansoni* infection in areas with low prevalence in selected counties of Kenya: A cross-sectional study. *BMC Public Health.*, v. 18, n. 1, 478, 2018. [doi: 10.1186/s12889-018-5414-9](https://doi.org/10.1186/s12889-018-5414-9).

OLIVEIRA, Á. A. et al. Evaluation of diagnostic methods for the detection of intestinal schistosomiasis in endemic areas with low parasite loads: Saline gradient, Helmintex, Kato-Katz and rapid urine test. *PLoS Negl Trop Dis.*, v. 12, n. 2, e0006232, 2018. [doi: 10.1371/journal.pntd.0006232](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006232).

PERALTA, J. M. et al. Is POC-CCA a truly reliable test for schistosomiasis diagnosis in low endemic areas? The trace results controversy. *PLoS Negl Trop Dis.*, v. 12, n. 11, p. 1-5, 2018.

PIERI, O. S. et al. Accuracy of the urine point-of-care circulating cathodic antigen assay for diagnosing *Schistosomiasis mansoni* infection in Brazil: A multicenter study. *Rev Soc Bras Med Trop.*, v. 56, e0238-2022, 2023. [doi: 10.1590/0037-8682-0238-2022](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0238-2022).

PINHEIRO, M. C. C. et al. Burden of schistosomiasis-related mortality in Brazil: epidemiological patterns and spatial-temporal distribution, 2003-2018. *Trop. Med. Int. Health.*, v. 25, n. 11, p. 1395-1407, 2020.

PINHEIRO, M. C. C. et al. The combination of three faecal parasitological methods to improve the diagnosis of schistosomiasis mansoni in a low endemic setting in the state of Ceará, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, v. 107, n. 7, p.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO (PNUD), Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), Fundação João Pinheiro (FJP). Atlas do desenvolvimento humano no Brasil: Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) e o Atlas do desenvolvimento humano no Brasil. Rio de Janeiro: PNUD, IPEA, FJP; 2020. Disponível em: <https://oestepr2030.org.br/wp-content/uploads/2020/11/Cartilha-Atlas-ODS.pdf>. Acesso em: 1 de setembro de 2021.

RABELLO, A. et al. Diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular da esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. *Schistosoma mansoni & esquistossomose: uma visão multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008. p. 895.

RAPID MEDICAL DIAGNOSTICS. Schisto POC-CCA®: rapid test for qualitative detection of bilharzia (schistosomiasis). 2018. Disponível em: https://www.rapid-diagnostics.com/downloads/updates15_07_09/RMD%20Pamphlet%20Portuguese.pdf. Acesso em: 9 dez. 2024.

RASBAND, W. S. ImageJ. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997-2015. Disponível em: <http://imagej.nih.gov/ij>. Acesso em: 1 set. 2024.

ROCHA, M. I. F. et al. Mortalidade por doenças tropicais negligenciadas no Brasil no século XXI: análise de tendências espaciais e temporais e fatores associados. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 47, e146, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.146>. Acesso em: 1 set. 2024.

ROSNER, B. *Fundamentals of Biostatistics*. Publisher: Thomson-Brooks/Cole, Belmont, CA, 2006. Edition: 6th.

RUEDEN, C. T. et al. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, v. 18, p. 529, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>.

SANTOS, J. A. et al. Epidemiological characterization of cases of infection by *Schistosoma mansoni* in the state of Sergipe, Brazil, 2008-2017. *R. Soc. Development.*, v. 9, n. 10, e1899108303, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/8303>. Acesso em: 27 mar. 2024.

SCHARY, W. et al. Opensource, adaptable, all-in-one smartphone-based system for quantitative analysis of point-of-care diagnostics. *Diagnostics (Basel)*, v. 12, 589, 2022. [doi: 10.3390/diagnostics12030589](https://doi.org/10.3390/diagnostics12030589).

SCHERR, T. F. et al. An embedded barcode for "connected" malaria rapid diagnostic tests. *Lab. Chip.*, v. 17, n. 7, p. 1314-1322, 2017. [doi: 10.1039/c6lc01580h](https://doi.org/10.1039/c6lc01580h).

SCHERR, T. F. et al. Mobile phone imaging and cloud-based analysis for standardized malaria detection and reporting. *Sci Rep.*, v. 6, 28645, 2016. [doi: 10.1038/srep28645](https://doi.org/10.1038/srep28645).

SCHINDELIN, J. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat. Methods.*, v. 9, n. 7, p. 676-682, 2012. [doi: 10.1038/nmeth.2019](https://doi.org/10.1038/nmeth.2019).

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods.*, v. 9, n. 7, p. 671-675, 2012. [doi: 10.1038/nmeth.2089](https://doi.org/10.1038/nmeth.2089).

SCHROEDER, A. B. et al. The ImageJ ecosystem: Open-source software for image visualization, processing, and analysis. *Protein Sci.*, v. 30, n. 1, p. 234-249, 2021. [doi: 10.1002/pro.3993](https://doi.org/10.1002/pro.3993).

SHANE, H. L. et al. Evaluation of urine CCA assays for detection of *Schistosoma mansoni* infection in Western Kenya. *PLoS Negl Trop Dis.*, v. 5, n. 1, e951, 2011.

SERGIPE. Secretaria de Estado de Saúde de Sergipe. Esquistossomose: Sergipe possui 51 municípios considerados endêmicos. 2017. Disponível em:

<https://www.saude.se.gov.br/?p=15223>. Acessado em: 10 jul. 2019.

SIQUEIRA, L. M. et al. Evaluation of two coproscopic techniques for the diagnosis of schistosomiasis in a low-transmission area in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 106, n. 7, p. 844–850, 2011. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762011000700010>.

SIQUEIRA, L. M. V. et al. Performance of POC-CCA® in diagnosis of schistosomiasis mansoni in individuals with low parasite burden. *Rev. Soc. Bras. Med. Tropical*, v. 49, n. 3, p. 341–347, 2016. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0070-2016>.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO (SNIS). Água e esgoto. Brasília: DF, 2022. Disponível em: <https://www.aguaesaneamento.org.br/municipios-e-saneamento/se/aracaju>. Acesso em: 27 mar. 2024.

SOUSA, M. S. et al. Performance of an ultra-sensitive assay targeting the circulating anodic antigen (CAA) for detection of *Schistosoma mansoni* infection in a low endemic area in Brazil. *Front. Immunol.*, v. 10, Article 682, 2019. [doi: 10.3389/fimmu.2019.00682](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00682).

STANDLEY, C. J. et al. Performance of circulating cathodic antigen (CCA) urine-dipsticks for rapid detection of intestinal schistosomiasis in schoolchildren from shoreline communities of Lake Victoria. *Parasit. Vectors.*, v. 3, n. 1, p. 7, 2010. [doi: 10.1186/1756-3305-3-7](https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-7).

STOTHARD, J. R. et al. Use of circulating cathodic antigen (CCA) dipsticks for detection of intestinal and urinary schistosomiasis. *Acta Trop.*, v. 97, n. 2, p. 219–228, 2006. [doi: 10.1016/j.actatropica.2005.11.004](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2005.11.004).

SUKAS, S. et al. Development of a Lab-on-a-Disk Platform with Digital Imaging for Identification and Counting of Parasite Eggs in Human and Animal Stool. *Micromachines (Basel)*, v. 10, n. 12, 852, 2019. [doi: 10.3390/mi10120852](https://doi.org/10.3390/mi10120852).

TAYLOR, S. C. et al. A defined methodology for reliable quantification of Western blot data. *Mol. Biotechnol.*, v. 55, n. 3, p. 217–226, 2013. [doi: 10.1007/s12033-013-9672-6](https://doi.org/10.1007/s12033-013-9672-6).

TCHUEM TCHUENTÉ, L. A. et al. Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-tests for diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in Cameroon. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, v. 6, n. 7, e1758, 2012. [doi: 10.1371/journal.pntd.0001758](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001758).

TOOR, J. et al. Are we on our way to achieving the 2020 goals for schistosomiasis morbidity control using current World Health Organization guidelines? *Clin. Infect. Dis.*, v. 66, Suppl. 4, p. S245–S252, 2018.

UNITED NATIONS. National systems to support drinking-water, sanitation and hygiene: Global Status Report 2019. UN-Water global analysis and assessment of

sanitation and drinking-water (GLAAS) 2019 report. Geneva: World Health Organization, 2019.

UNITED NATIONS DEVELOPMENT PROGRAMME (UNDP). Data Center. Brazil. Human development summary capturing achievements in the HDI and complementary metrics that take into account gender gaps, inequality, planetary pressures and multidimensional poverty - 2022. New York: UNDP, 2024. Disponível em: <https://hdr.undp.org/data-center/specific-country-data#/countries/BRA>. Acesso em: 26 de março de 2024.

UTZINGER, J. et al. New diagnostic tools in schistosomiasis. *Clin Microbiol Infect.*, v. 21, n. 6, p. 529-542, 2015. [doi: 10.1016/j.cmi.2015.03.014](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.03.014).

UTZINGER, J. et al. Relative contribution of day-to-day and intra-specimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. *Parasitology*, v. 122, n. 5, p. 537-544, 2001. [doi: 10.1017/s0031182001007752](https://doi.org/10.1017/s0031182001007752).

van DAM, G. J. et al. Evaluation of banked urine samples for the detection of circulating anodic and cathodic antigens in *Schistosoma mekongi* and *S. japonicum* infections: A proof-of-concept study. *Acta Trop.*, v. 141, pt. B, p. 198-203, 2015. [doi: 10.1016/j.actatropica.2014.09.003](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.09.003).

van DAM, G. J. et al. Diagnosis of schistosomiasis by reagent strip test for detection of circulating cathodic antigen. *J. Clin. Microbiol.*, v. 42, n. 12, p. 5458-5461, 2004. [doi: 10.1128/JCM.42.12.5458-5461.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.12.5458-5461.2004).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Neglected tropical diseases. Geneva: WHO, 2024a. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1. Acesso em: 26 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Control of neglected tropical diseases. Epidemiological situation: Schistosomiasis. Geneva: WHO, 2024b. Disponível em: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/schistosomiasis/epidemiology>. Acesso em: 26 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global report on neglected tropical diseases 2023. Geneva: WHO, 2023a. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/365729/9789240067295-eng.pdf?sequence=1>. Acesso em: 26 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Schistosomiasis. Geneva: WHO, 2023b. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/schistosomiasis>. Acesso em: 26 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Status of schistosomiasis endemic countries: 2022. Geneva: WHO, 2023c. Disponível em: https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/sch/sch.html. Acesso em: 26 mar.

2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO guideline on control and elimination of human schistosomiasis. Geneva: WHO, 2022. 118 p. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240041608>. Acesso em: 26 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Schistosomiasis. Geneva: WHO, 2021a. Disponível em: <http://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/schistosomiasis>. Acesso em: 13 jun. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Diagnostic target product profiles for monitoring, evaluation and surveillance of schistosomiasis control programmes. Geneva: WHO, 2021b. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/344813/9789240031104-eng.pdf?sequence=1>. Acesso em: 02 mar. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Assessing the efficacy of anthelmintic drugs against schistosomiasis and soil-transmitted helminthiases. Geneva: WHO, 2013. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/79019>. Acesso em: 20 abr. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Expert Committee. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.*, 2002, v. 912, p. i-vi, 1-57, back cover. PMID: 12592987.

Você está sendo convidado por Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra, como participante da pesquisa intitulada “**ANTÍGENOS CIRCULANTES NO DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM RESIDENTES DE ÁREA DE ALTA ENDEMICIDADE NO NORDESTE BRASILEIRO**”. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Farei exames de fezes, de urina e de sangue visando identificar a presença do *Schistosoma mansoni* agente causador da Esquistossomose (doença transmitida por algumas espécies de caramujo), entre a população do estudo. Os exames de fezes e urina serão realizados em amostras coletadas em frascos que distribuirei aos participantes, logo após a coleta os frascos com as amostras devem ser embalados e guardados na geladeira, até o momento da entrega, que será feito em até 24 horas. Durante a coleta de fezes mesmo a amostra sendo sua, há um pequeno risco de contaminação caso ocorra à presença de parasitos nas fezes, assim no momento da coleta você deve evitar o contato direto com as fezes. As amostras serão preparadas e examinadas no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Ceará. Após a realização dos exames com as fezes e com as urinas, o material será descartado em saco plástico para lixo contaminado e encaminhado para incineração. O exame de sangue será feito através da coleta de sangue por punção capilar em um papel de filtro, a ser realizada em sua residência. O material será levado a um posto de saúde pré-estabelecido, onde passará por um processo de diluição para que o sangue fixado seja retirado do papel de filtro sendo, então, submetido ao teste sorológico. Para a realização da coleta de sangue é necessário dar uma pequena picada com uma lanceta descartável na ponta do dedo, usando uma para cada pessoa. Isto causa um pouquinho de dor que passará logo e poderá ou não causar uma mancha roxa no local da picada, a depender de cada participante. Também será aplicado um questionário contendo algumas perguntas que leva cerca de 10 minutos para ser respondido. O questionário contém perguntas sobre informações clínicas, pessoais, e sua renda. Trata-se de um estudo que proporcionará benefícios diretos para você, pois de acordo com os resultados obtidos terá um maior controle da doença nessa região evitando problemas maiores para a população. Os participantes que tiverem resultados positivos no exame de fezes, no de sangue e no de urina serão avisados pessoalmente e orientados a receber o tratamento fornecido pela Secretaria de Saúde do Estado de Sergipe. Cada participante receberá a dose do tratamento(s) de acordo com seu peso e idade.

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.

Você poderá ter acesso a todas as informações referentes à pesquisa e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem que isso lhe traga qualquer prejuízo. As informações conseguidas através da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto aos responsáveis pela pesquisa, e a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

Em qualquer etapa de estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Endereço do responsável pela pesquisa:

Nome: Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

Instituição: Universidade Federal do Ceará

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

Telefones para contato: (85) 3366.8242

ATENÇÃO! Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ.

Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 – Rodolfo Teófilo.

Fone: (85) 3366.8344 (Horário: 08-12hs de segunda a sexta-feira)

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

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

Fortaleza, _____ / _____ / _____

Nome do participante da pesquisa: _____

Assinatura do participante na pesquisa

Nome da testemunha (se o participante não souber ler): _____

Assinatura da testemunha

Nome do pesquisador: _____

Assinatura do pesquisador (que aplicou o TCLE)

**APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O
RESPONSÁVEL LEGAL PELO MENOR DE 18 ANOS RESOLUÇÃO 466/12**

O menor sob sua responsabilidade está sendo convidado (a) por Dr. Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra como participante da pesquisa: “**ANTÍGENOS CIRCULANTES NO DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM RESIDENTES DE ÁREA DE ALTA ENDEMICIDADE NO NORDESTE BRASILEIRO**”. Nesse estudo pretendemos avaliar testes rápidos que são utilizados para o diagnóstico do *Schistosoma mansoni* em uma área de grande transmissão da Esquistossomose (doença transmitida por algumas espécies de caramujo), no nordeste brasileiro. O motivo que nos leva a estudar esse assunto é chegar ao diagnóstico da Esquistossomose, antes mesmo dos sintomas aparecerem. Assim, esse estudo ajudará as pessoas infectadas a tratar a doença o mais cedo possível, diminuindo as chances da evolução da doença para as formas graves que atingem o fígado e o intestino.

Farei exames de fezes, de urina e de sangue visando identificar a presença do *Schistosoma mansoni*, entre a população do estudo. Os exames de fezes e urina serão realizados em amostras coletadas em frascos que distribuirei aos participantes, logo após a coleta os frascos com as amostras devem ser embalados e guardados na geladeira, até o momento da entrega, que será feito em até 24 horas. Durante a coleta de fezes mesmo a amostra sendo do menor sob sua responsabilidade, há um pequeno risco de contaminação caso ocorra à presença de parasitos nas fezes, assim no momento da coleta deve-se evitar o contato direto com as fezes. As amostras serão preparadas e examinadas no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Ceará. Após a realização dos exames com as fezes e com as urinas, o material será descartado em saco plástico para lixo contaminado e encaminhado para incineração. O exame de sangue será feito através da coleta de sangue por punção capilar em um papel de filtro, a ser realizada em sua residência. O material será levado a um posto de saúde pré-estabelecido, onde passará por um processo de diluição para que o sangue fixado seja retirado do papel de filtro sendo, então, submetido ao teste sorológico. Para a realização da coleta de sangue é necessário dar uma pequena picada com uma lanceta descartável na ponta do dedo, usando uma para cada pessoa. Isto causa um pouquinho de dor que passará logo e poderá ou não causar uma mancha roxa no local da picada, a depender de cada participante.

Será aplicado também um questionário contendo algumas perguntas que leva cerca de 10 minutos para ser respondido. O questionário contém perguntas sobre informações clínicas, pessoais, e a renda do participante. Para a participação do menor neste estudo, o senhor (a) como responsável pelo (a) menor, deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Não terá nenhum custo, nem qualquer vantagem financeira. A qualquer momento você poderá recusar a participação do (a) menor

sob sua responsabilidade. A participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a) pelo pesquisador que tratará a identidade do (a) menor com padrões profissionais de sigilo.

O menor não será identificado em nenhuma publicação. Este estudo apresenta risco mínimo isto é, o mesmo risco existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler etc. Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. O nome ou o material que indique a participação do (a) mesmo (a) não será liberado sem a permissão a sua permissão como responsável. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos e, após esse tempo, serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você como responsável.

Endereço do responsável pela pesquisa:

Nome: Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Endereço: Rua Pastor Samuel Munguba, 1210. Rodolfo Téofilo.

Telefones para contato: (85) 3366.8242

ATENÇÃO! Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ.

Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 – Rodolfo Teófilo.

Fone: (85) 3366.8344 (Horário: 08-12hs de segunda a sexta-feira)

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

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

Fortaleza, _____ / _____ / _____

Assinatura do (a) responsável

Assinatura do (a) pesquisador (a)

APÊNDICE C – TERMO DE ASSENTIMENTO DO MENOR

Você está sendo convidado (a) como participante da pesquisa: “**ANTÍGENOS CIRCULANTES NO DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM RESIDENTES DE ÁREA DE ALTA ENDEMICIDADE NO NORDESTE BRASILEIRO**”. Nesse estudo pretendemos avaliar testes rápidos que são utilizados para o diagnóstico do *Schistosoma mansoni* em uma área de grande transmissão da Esquistossomose (doença transmitida por algumas espécies de caramujo), no nordeste brasileiro. O motivo que nos leva a estudar esse assunto é chegar ao diagnóstico da Esquistossomose antes mesmo dos sintomas aparecerem. Assim, esse estudo ajudará as pessoas infectadas a tratar a doença o mais cedo possível, diminuindo as chances da evolução da doença para as formas graves que atingem o fígado e o intestino.

Farei exames de fezes, de urina e de sangue visando identificar a presença do *Schistosoma mansoni* agente causador da Esquistossomose, entre a população do estudo. Os exames de fezes e urina serão realizados em amostras coletadas em frascos que distribuirei aos participantes, logo após a coleta os frascos com as amostras devem ser embalados e guardados na geladeira, até o momento da entrega, que será feita em até 24 horas. Durante a coleta de fezes mesmo a amostra sendo sua, há um pequeno risco de contaminação caso ocorra à presença de parasitos nas fezes, assim no momento da coleta você deve evitar o contato direto com as fezes. As amostras serão preparadas e examinadas no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Ceará. Após a realização dos exames com as fezes e com as urinas, o material será descartado em saco plástico para lixo contaminado e encaminhado para incineração. O exame de sangue será feito através da coleta de sangue por punção capilar em um papel de filtro, a ser realizada em sua residência. O material será levado a um posto de saúde pré-estabelecido, onde passará por um processo de diluição para que o sangue fixado seja retirado do papel de filtro sendo, então, submetido ao teste sorológico. Também será aplicado um questionário contendo algumas perguntas que leva cerca de 10 minutos para ser respondido. O questionário contém perguntas sobre informações clínicas, pessoais, e sua renda. Para participar deste estudo, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou se recusar.

O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a) pelo pesquisador que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação.

Este estudo apresenta risco mínimo, isto é, o mesmo risco existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler etc. Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você.

Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos e, após esse tempo, serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você.

Endereço do responsável pela pesquisa:

Nome: Fernando Schemelzer de Moraes Bezerra

Instituição: Universidade Federal do Ceará

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

Telefones para contato: (85) 3366.8242

ATENÇÃO! Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ.

Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 – Rodolfo Teófilo.

Fone: (85) 3366.8344 (Horário: 08-12hs de segunda a sexta-feira)

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

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

Fortaleza, ____ de _____ de 20____.

Fortaleza, _____ / _____ / _____

Assinatura do (a) menor

Assinatura do (a) pesquisador (a)