



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Alfenas. UNIFAL-MG  
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas/MG. CEP 37130-000  
Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063



**DENER PÁDUA PIMENTA**

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES METODOLOGIAS PARA O DIAGNÓSTICO  
PARASITOLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI.**

ALFENAS/MG  
2014

**DENER PÁDUA PIMENTA**

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES METODOLOGIAS PARA O DIAGNÓSTICO  
PARASITOLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas-MG. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.  
Orientador: Dr<sup>a</sup>. Raquel Lopes Martins Souza  
Coorientador: Dr. Marcos José Marques

ALFENAS/MG  
2014

Pimenta, Dener Pádua.

Avaliação de diferentes metodologias para o diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansoni / Dener Pádua Pimenta - 2014.

73 f. -

Orientadora: Raquel Lopes Martins Souza.

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2014.

Bibliografia.

1. Esquistossomose mansoni. 2. Diagnóstico. 3. Migrantes. I. Souza, Raquel Lopes Martins. II. Título.

CDD: 616.9

DENER PÁDUA PIMENTA

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES METODOLOGIAS PARA O DIAGNÓSTICO  
PARASITOLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI.**

A banca examinadora abaixo-assinada aprova a  
Dissertação apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em Biociências  
Aplicadas à Saúde pela Universidade Federal de  
Alfenas. Área de concentração: Doenças Infecciosas  
e Parasitárias.

Aprovada em: 25/04/2014

Prof. Edward José de Oliveira  
Instituição: CPqRR/FIOCRUZ

Assinatura:



Prof. Herminia Yoko Kanamura  
Instituição: UNIFAL - MG

Assinatura:



Prof. Raquel Lopes Martins Souza  
Instituição: UNIFAL - MG

Assinatura:



Dedico a Deus e a minha família pelo incentivo, e por mostrar que sempre existe uma solução para todas as adversidades da vida.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por proporcionar-me mais esta vitória.

Aos meus pais, pela oportunidade de estudar que me deram.

À minha família, pelo carinho, solidariedade e torcida.

À minha mãe, por auxiliar-me nos momentos difíceis e de decisão.

Aos meus avós, que sempre estiveram ao meu lado. Em especial à minha avó pela lição constante de fé e pelos sacrifícios que fez que culminaram com a realização deste sonho.

À minha namorada Kelly, pelo amor, carinho e companheirismo. Obrigado pelo incentivo e pela compreensão.

Ao Prof. Dr. Marcos José Marques pela carta de anuência cedida no período de afastamento da Prof<sup>a</sup> Raquel e pela coorientação.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Raquel Lopes Martins Souza, orientadora, pela dedicação, conhecimentos transmitidos e confiança depositada na realização deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Rosângela, pela imprescindível participação, pelos ensinamentos, pela ajuda na preparação e leitura das lâminas e pelo fornecimento de toda a infraestrutura laboratorial para a realização do estudo.

Ao Eric, pela prestativa ajuda com as análises estatísticas.

Ao Sinézio pelas valiosas contribuições dadas no exame de qualificação e pela solidariedade para findar o trabalho.

Ao Rubens, pela amizade e parceira na realização deste trabalho.

À todos que auxiliaram nas atividades do laboratório principalmente Amanda, Juliana e Naira.

À Pamela, auxiliar de laboratório, pelo apoio durante a realização dos exames.

À Daniele, pelo auxílio das primeiras coletas em Campos Gerais.

Ao Ronan, ajuda fundamental para realização das coletas e envio das amostras de Campos Gerais.

À Superintendência Regional de Saúde de Alfenas, pela mediação entre a Universidade e as Secretarias Municipais de Saúde.

À Secretaria Municipal de Saúde de Arceburgo, Senhor Joaquim, Kika, Rosemárcia que ajudaram nos trabalhos de campo e disponibilizaram toda infraestrutura para a realização de palestras e das ações educativas.

À Secretaria Municipal de Saúde de Botelhos.

À Secretaria Municipal de Saúde de Campos Gerais, à Jussara pela ajuda para execução do trabalho no município.

Aos Agentes Comunitários de Saúde sempre disponíveis a ajudar no que precisávamos.

Aos colegas da Pós-graduação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde.

À Universidade Federal de Alfenas, pela oportunidade oferecida.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,  
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre  
aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)



## RESUMO

A esquistossomose mansoni é uma das principais doenças parasitárias no mundo e é conhecida por ser endêmica em aproximadamente 54 países nos continentes americano e africano. No Brasil o número de pessoas infectadas é estimado em 7 milhões. Em suas diversas formas clínicas, a esquistossomose mansoni assemelha-se a muitas outras doenças; portanto, essa inespecificidade e a variação nos sintomas dificultam o seu diagnóstico apenas pelo exame clínico do paciente. A doença é diagnosticada por métodos parasitológicos de fezes. A técnica de Kato/Katz é o procedimento internacionalmente recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para o diagnóstico do *Schistosoma mansoni*, porque associa baixo custo à facilidade de execução. Atualmente, estão disponíveis Kits comerciais, a fim de minimizar as dificuldades de operacionalização e melhorar a sensibilidade do diagnóstico parasitológico, principalmente em áreas de baixa endemicidade. Este estudo avaliou comparativamente a efetividade de quatro técnicas parasitológicas de fezes em diagnosticar casos de esquistossomose mansoni. As amostras fecais foram examinadas pelas técnicas Kato/Katz, Sedimentação espontânea e pelos Kits Midi Parasep® e Paratest®. Foi coletada 1 amostra de cada indivíduo e para cada amostra foram preparadas 2 lâminas das quatro metodologias. Um total de 442 exames coproparasitológicos foram realizados em migrantes de áreas endêmicas para a esquistossomose, de três municípios sob jurisdição da Superintendência Regional de Saúde de Alfenas (SRS). A taxa de positividade da esquistossomose mansoni detectada pela técnica Kato/Katz foi de 1,8%. Pela técnica de Sedimentação espontânea e pelo Kit Paratest® foi detectada uma positividade de 0,45%. Pelo Kit Midi Parasep® a positividade foi de 0,23%. A menor efetividade da técnica de sedimentação espontânea e dos Kits Midi Parasep® e Paratest® pode ser comprovada pelo baixo grau de concordância diagnóstica com o exame referência (técnica Kato/Katz). As técnicas Kato/Katz e sedimentação espontânea apresentam os menores custos para realizar o exame de fezes, cerca de R\$ 0,82/exame e R\$ 0,48/exame, respectivamente. Entretanto, são as que apresentam o maior grau de exposição do analista à amostra biológica. Os Kits Midi Parasep® e Paratest® apresentam o menor grau de exposição à amostra fecal, mas são relativamente mais caros para realização do exame de fezes, cerca de R\$ 3,10/exame e R\$ 1,65/exame, respectivamente. Com relação as parasitoses intestinais, pelo “Padrão Ouro”, foram encontrados 97 (21,9%) indivíduos parasitados. As taxas de positividade das parasitoses intestinais detectadas pelas técnicas Kato/Katz, sedimentação espontânea, Midi Parasep® e Paratest®, foram respectivamente, 5,2%, 19,5%, 17,6% e 18,3%. Os resultados mostraram que a técnica de Kato/Katz apresentou melhor desempenho dos quatro testes no diagnóstico da esquistossomose mansoni. Assim, a vigilância epidemiológica através do exame censitário de todos os migrantes pela técnica Kato/Katz, deve ser implementada com o propósito de impedir o estabelecimento da transmissão da esquistossomose.

Palavras-chave: Esquistossomose mansoni. Diagnóstico. Migrantes.

## ABSTRACT

Schistosomiasis mansoni is a major parasitic disease in the world and is known to be endemic in about 54 countries in the American and African continents. In Brazil the number of infected is estimated at 7 million. In different clinical forms, schistosomiasis mansoni resembles many other diseases. So this lack of specificity and symptoms variety hinder its diagnosis only by clinical examination. The disease is diagnosed using stool examinations. The Kato/Katz technique is the procedure recommended by the World Health Organization (WHO) for the diagnosis of *Schistosoma mansoni*, because it associates low cost and easy execution. Currently, there are commercial Kits available, in order to minimize the operational difficulties and improve the sensitivity of parasitological diagnosis, especially in areas of low endemicity. This study comparatively evaluated the effectivity of four stool parasitological techniques in diagnosing cases of schistosomiasis. Stool samples were examined by the Kato/katz and spontaneous sedimentation techniques, Midi Parasep® and Paratest® kits. One sample was collected from each individual and for each sample were prepared two slides of the four methods. A total of 442 coproparasitological exams were accomplished with migrants from endemic areas for schistosomiasis, of three cities under Health Superintendence Office of Alfenas (HSO) jurisdiction. The positivity rate of Kato/Katz technique for schistosomiasis was 1,8%. The positivity rate schistosomiasis by the spontaneous sedimentation technique and Paratest® was of 0,45%. By Midi Parasep® Kit the positivity rate was of 0,23%. The lower effectivity of spontaneous sedimentation and Midi Parasep® and Paratest® can be demonstrated by low agreement diagnostic with the reference examination (Kato/Katz). Kato/Katz and spontaneous sedimentation techniques showed low cost for the exam stool, about R\$ 0,82 per exam and R\$ 0,48 per exam, respectively. However, are those with greatest degree of exposure of the expert to biological samples. Midi Parasep® and Paratest® Kits showed the lowest degree of exposure to fecal sample, but are relatively more expensive for perform the fecal exam, about R\$ 3,10 per exam and R\$ 1,65 per exam, respectively. Regarding intestinal parasites, by the "gold standard" were found 97 (21,9%) individuals parasitized. The positivity rates of intestinal parasitosis detected by the Kato/Katz, spontaneous sedimentation, Midi Parasep® and Paratest®, were respectively, 5,2%, 19,5%, 17,6% e 18,3%. The results showed that the Kato/Katz technique presented best of performance diagnosing of schistosomiasis mansoni. Thus, epidemiological surveillance should implement the Kato/Katz technique in order to prevent the establishment of transmission of schistosomiasis.

Key words: Schistosomiasis mansoni. Diagnosis. Migrants.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Casal de vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> .....	16
Figura 2 - Ovo de <i>Schistosoma mansoni</i> .....	17
Figura 3 - Ciclo de vida do <i>Schistosoma mansoni</i> .....	19
Figura 4 - Distribuição das espécies de <i>Schistosoma</i> . .....	20
Figura 5 - Distribuição global da esquistossomose .....	21
Figura 6 - Status de eliminação da esquistossomose .....	22
Figura 7 - Distribuição da esquistossomose mansoni, de acordo com o nível de prevalência, por município.....	24
Figura 8 - Processamento das amostras pela técnica Kato/Katz .....	40
Figura 9 - Processamento das amostras pela técnica de sedimentação espontânea.....	41
Figura 10 - Processamento das amostras pelo Kit Midi Parasep® .....	42
Figura 11 - Processamento das amostras pelo Kit Paratest®.....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis de concordância do índice Kapa. ....	45
Tabela 2 - Categorias de grau de exposição ao material fecal.....	46
Tabela 3 - Taxas de positividade da esquistossomose mansoni detectadas pelas quatro metodologias parasitológicas .....	47
Tabela 4 - Comparação entre a técnica de sedimentação espontânea e o “Exame referência” no diagnóstico da esquistossomose mansoni .....	48
Tabela 5 - Comparação entre o Kit Paratest® e o “Exame referência” no diagnóstico da esquistossomose mansoni .....	48
Tabela 6 - Comparação entre o Kit Midi Parasep® e o “Exame referência” no diagnóstico da esquistossomose mansoni .....	49
Tabela 7 - Concordância diagnóstica das diferentes metodologias em relação ao “Exame referência”, utilizando o índice kapa.....	49
Tabela 8 - Custo de material de consumo utilizado para realização do exame parasitológico de fezes.....	49
Tabela 9 - Graus de exposição ao material fecal .....	50
Tabela 10 - Taxas de positividade das parasitoses intestinais detectadas pelas quatro metodologias parasitológicas .....	51
Tabela 11 - Comparação da taxa de positividade de acordo com a metodologia diagnóstica, em 442 amostras fecais de migrantes de Arceburgo, Botelhos e Campos Gerais.....	52

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Categoria dos métodos diagnósticos.....	26
Quadro 2 – Classificação das técnicas imunológicas de diagnóstico da esquistossomose.....	29

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.1	Agente etiológico da esquistossomose mansoni.....	15
1.2	Hospedeiros intermediários do <i>S. mansoni</i> .....	17
1.3	Ciclo evolutivo do parasito.....	18
1.4	Epidemiologia da esquistossomose no mundo.....	19
1.5	Epidemiologia da esquistossomose mansoni no Brasil.....	23
1.6	Epidemiologia da esquistossomose mansoni em Minas Gerais.....	24
1.7	Tratamento.....	25
1.8	Diagnóstico da esquistossomose mansoni.....	26
1.8.1	Diagnóstico molecular.....	27
1.8.2	Diagnóstico imunológico.....	28
1.8.3	Diagnóstico parasitológico.....	31
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>35</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>36</b>
3.1	Objetivo Geral.....	36
3.2	Objetivos Específicos.....	36
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....</b>	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
5.1	Caracterização das amostras.....	38
5.2	Coleta de amostras.....	39
5.3	Exames parasitológicos.....	39
5.3.1	Técnica de Kato/Katz.....	39
5.3.2	Técnica Sedimentação espontânea.....	40
5.3.3	Kit Midi Parasep®.....	41
5.3.4	Kit Paratest®.....	42
5.4	Análise estatística.....	43
5.4.1	Taxa de Positividade.....	43
5.4.2	Intensidade de infecção.....	43
5.4.3	Exame Referência.....	44
5.4.4	Concordância diagnóstica.....	44

5.4.5	Custo-efetividade .....	45
5.4.6	Grau de exposição .....	45
<b>6</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>47</b>
<b>6.1</b>	<b>Positividade da esquistossomose .....</b>	<b>47</b>
<b>6.2</b>	<b>Intensidade de infecção .....</b>	<b>47</b>
<b>6.3</b>	<b>Concordância das metodologias diagnósticas com o “Exame referência” .....</b>	<b>48</b>
<b>6.4</b>	<b>Análise de Custo-efetividade .....</b>	<b>49</b>
<b>6.5</b>	<b>Avaliação do Grau de exposição .....</b>	<b>50</b>
<b>6.6</b>	<b>Positividade das parasitoses intestinais .....</b>	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>60</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>61</b>
	<b>APÊNDICE .....</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença grave, de evolução crônica, causada por trematódeos do gênero *Schistosoma*. Afeta cerca de 200 milhões de indivíduos em 74 países do mundo. Destes, 120 milhões de indivíduos são sintomáticos e 20 milhões apresentam a forma grave da doença (CHITSULO et al., 2000). Entre as helmintoses, a esquistossomose representa a principal doença em termos de morbidade e mortalidade e causa perdas anuais de até 4,5 milhões em DALY (“disability adjusted to life year”) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

Nas Américas, o Brasil possui 95% dos casos e estima-se que cerca de 7 milhões de pessoas apresentam-se infectadas pelo *Schistosoma mansoni*, que é a única espécie transmitida no país (ROLLINSON et al., 2012). Outras 25 milhões vivem em regiões onde há transmissão da doença (CHITSULO et al., 2000). Sua distribuição no país ocorre em 19 estados, numa faixa contínua ao longo do litoral, desde os Estados do Rio Grande do Norte até a Bahia, alcançando o interior de Minas Gerais e Espírito Santo (BRASIL, 2005).

O programa especial de controle da esquistossomose (PECE/PCDEN), implantado no Brasil entre 1976 e 1993, sendo mais tarde chamado de Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), resultou em significativa redução da prevalência da doença e também da incidência de formas graves da doença (KATZ, 1998). Estes resultados merecem investigações mais aprofundadas, pois estudos sugerem que a prevalência da esquistossomose no Brasil está sendo subestimada, devido à dificuldade de se diagnosticar indivíduos com baixa carga parasitária (ENK et al., 2008b; SIQUEIRA et al., 2011a).

Para que se determine a prevalência da esquistossomose, o diagnóstico atualmente deve ser feito pelo exame de fezes, se possível, de toda a população, ou de grupos populacionais de maior risco (como nos escolares).

O diagnóstico parasitológico de fezes permanece como o instrumento mais utilizado, devido a sua alta especificidade, exigência de equipamentos relativamente simples e por seu baixo custo operacional (DE VLAS; GRYSSELS, 1992; RABELLO et al., 2008).

Quando há uma alta carga parasitária os métodos parasitológicos de fezes mostram resultados satisfatórios. Entretanto em áreas não endêmicas esses



métodos apresentam baixa efetividade de detecção de cargas parasitárias pequenas. Em função disto, várias novas metodologias estão sendo propostas, tendo em vista solucionar este problema.

Atualmente, o diagnóstico parasitológico pode ser realizado com o uso de Kits comerciais, que buscam diminuir o contato humano com o material biológico, reduzir o descarte de material de consumo, eliminar odores e conservar as fezes.

Sendo assim, a exigência e a complexidade do diagnóstico pode variar numa faixa entre o controle da morbidade em áreas de elevada prevalência e o controle da transmissão em áreas de baixa prevalência (RABELLO et al., 2008).

### **1.1 Agente etiológico da esquistossomose mansoni**

O *Schistosoma mansoni* pertence ao filo Platyhelminthes, classe trematoda e gênero *Schistosoma*. É um parasito dioico com diferentes estágios evolutivos – helmintos adultos machos e fêmeas, ovos, miracídios, esporocistos, cercárias e esquistossômulos. Seu ciclo evolutivo é heteroxeno com fases assexuadas e sexuadas de reprodução, sendo o homem o hospedeiro definitivo e moluscos aquáticos do gênero *Biomphalaria* os hospedeiros intermediários.

Os vermes adultos de *S. mansoni* são brancos ou acinzentados, com um corpo cilíndrico que possui duas ventosas, um tegumento complexo e ao contrário de outros trematódeos, têm sexos separados (GRYSSELS et al., 2006).

O macho mede cerca de 1 cm de comprimento com tegumento recoberto por minúsculos espinhos e tubérculos. Apresenta um sulco longitudinal ou canal ginecóforo, este nada mais é do que dobras das laterais do corpo, para albergar a fêmea e fecundá-la (FIGURA 1).

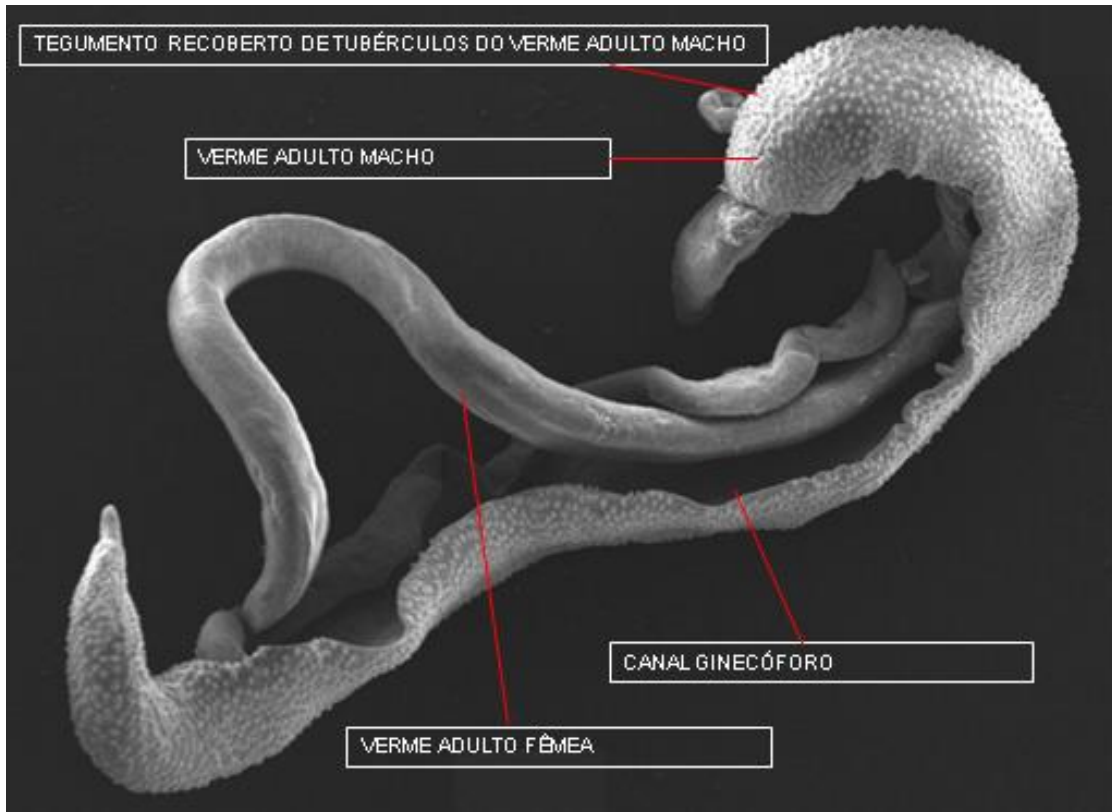


Figura 1 - Casal de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*.  
Fonte: Adaptado de JOÃO, 2011.

A fêmea apresenta um corpo mais fino e longo que o macho, medindo cerca de 1,5 cm, e com tegumento liso. Elas produzem aproximadamente 300 ovos por dia que são colocados na circulação mesentérica. Os ovos são organismos metabolicamente ativos, e altamente antigênicos (HAMS et al., 2013). Esses ovos são grandes (114-180  $\mu\text{m}$  de comprimento por 45-70  $\mu\text{m}$  de largura) e têm uma forma característica, com uma espícula lateral proeminente perto da extremidade posterior e a extremidade anterior é cônica e ligeiramente curvada (FIGURA 2).



Figura 2 - Ovo de *S. mansoni*.  
Fonte: Adaptado de JOÃO, 2011.

Parte desses ovos atravessam o endotélio dos vasos sanguíneos e mesentéricos e ficam retidos nos tecidos, provocando uma resposta inflamatória granulomatosa, responsável pela patologia da esquistossomose. Os ovos que passam através da parede intestinal são excretados nas fezes e alcançando a água doce, podem propagar o ciclo de vida do *S. mansoni* (HAMS et al., 2013).

## 1.2 Hospedeiros intermediários do *S. mansoni*

A distribuição da esquistossomose mansoni no território brasileiro coincide com a distribuição dos moluscos do gênero *Biomphalaria*. No país, temos dez espécies do gênero *Biomphalaria*, mas somente três espécies foram encontradas eliminando cercárias de *S. mansoni* em ambientes aquáticos naturais, que são: a *Biomphalaria glabrata*, a *Biomphalaria tenagophila* e a *Biomphalaria straminea*. Duas outras espécies, *B. amazonica* e *B. peregrina* podem ser infectadas com *S. mansoni* em condições experimentais (BRASIL, 2007).

A espécie *B. glabrata* é a de maior importância epidemiológica no Brasil, devido a sua ampla distribuição geográfica, por estar presente nos locais de maiores prevalência e pela sua eficiência na suscetibilidade pelo parasito (MORGAN, 2001; PARAENSE, 2001). A espécie *B. tenagophila* é a segunda em importância

epidemiológica no Brasil e *B. straminea* é encontrada em praticamente todos os estados brasileiros, com exceção de Amapá e Rondônia (BRASIL, 2007).

### 1.3 Ciclo evolutivo do parasito

O ciclo biológico do *S. mansoni* é complexo (Figura 3), pois é formado por duas fases parasitárias: uma no hospedeiro definitivo (vertebrado/homem) e outra no hospedeiro intermediário (invertebrado/caramujo) (KATZ; ALMEIDA, 2003). Entre as fases parasitárias há dois períodos de vida livre em meio aquático: as fases de miracídio e cercária (ROSS et al., 2002; BLANCHARD, 2004). As cercárias constituem a forma infectante para o hospedeiro vertebrado, e são liberadas por caramujos do gênero *Biomphalaria* infectados. Elas nadam ativamente e penetram na pele e/ou mucosa do homem. A penetração é consumada pela ação lítica e mecânica da larva. Nesse processo, que pode durar até 15 minutos, as cercárias perdem sua cauda e, depois de atravessar a pele, passam a ser chamadas de esquistossômulos. Estes permanecem na pele por até três dias e depois atingem a circulação venosa, alcançando o coração, pulmões e fígado. No fígado, as formas jovens crescem, diferenciam-se sexualmente, acasalam-se e migram para as veias mesentéricas inferiores do sistema porta hepático. Neste local, aproximadamente 35 dias após a infecção, as fêmeas iniciam a postura de centenas de ovos que são eliminados junto às fezes. No entanto, ovos ainda ficam retidos nos tecidos do hospedeiro, onde desencadeiam uma reação inflamatória granulomatosa, que é o principal fator causador da morbidade e mortalidade associada a esquistossomose mansoni (HAMS et al., 2013). Quando os ovos maduros atingem o ambiente aquático ocorre a ruptura da casca do ovo, permitindo a eclosão do miracídio. Após a eclosão esta forma larval procura o hospedeiro intermediário guiado por estímulos luminosos e químicos. Depois de penetrar no caramujo, o miracídio se multiplica assexuadamente em esporocistos multicelulares, transformando-se em esporocisto primário e em seguida em esporocisto secundário, que mais tarde darão origem às cercárias. As cercárias deixam o caramujo de 4 a 6 semanas após a infecção e nadam livremente por até 72 horas ao encontro de um hospedeiro definitivo adequado. A emergência das cercárias é influenciada pela luz e temperatura,

podendo um caramujo infectado, por apenas um miracídio, eliminar milhares de cercárias todos os dias durante meses (GRYSSELS et al., 2006).

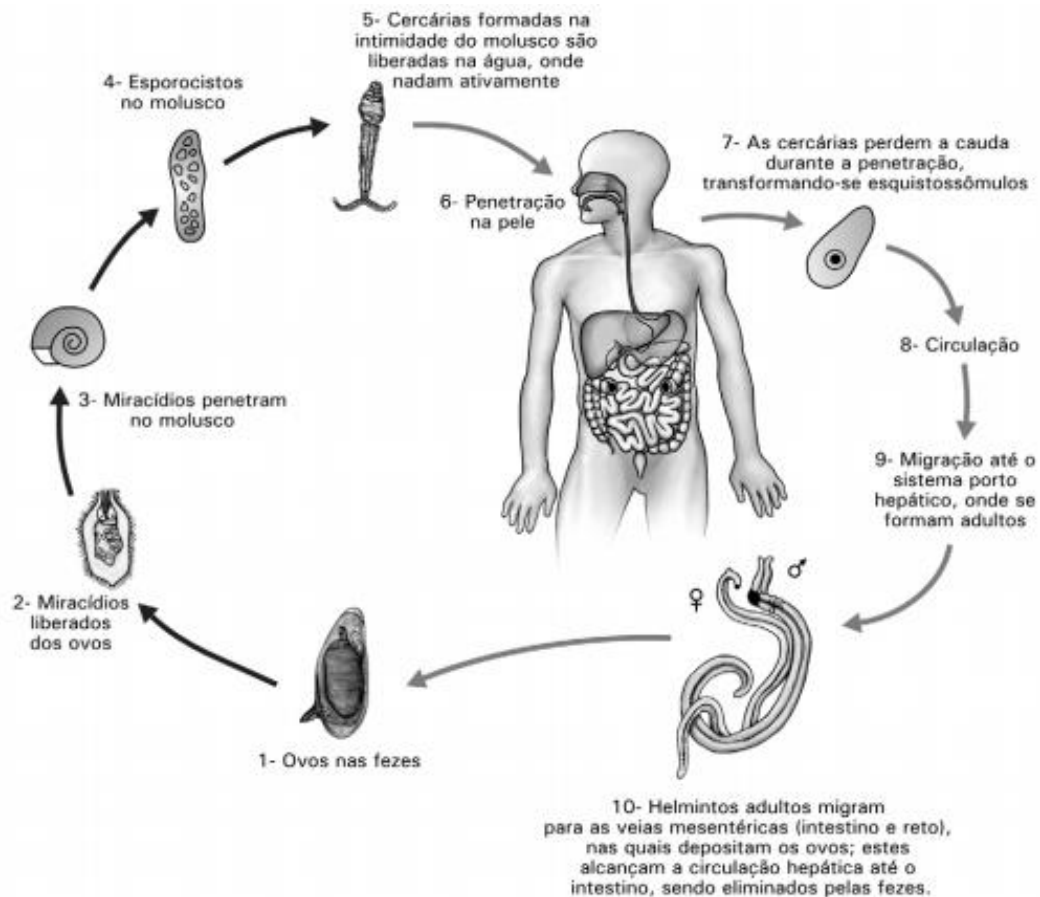


Figura 3 - Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni*.  
Fonte: SOUZA et al., 2011.

#### 1.4 Epidemiologia da esquistossomose no mundo

Aproximadamente 779 milhões de pessoas vivem em áreas de risco de contrair a doença segundo Steinmann et al. (2006), e estima-se que cerca de 280 mil pessoas morram por ano em todo o mundo, devido às consequências da infecção pelo *Schistosoma* (VAN DER WERF et al., 2003). As esquistossomoses são doenças que, para o homem, têm como principais agentes etiológicos as espécies *Schistosoma mansoni*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mekongi* (causadores das formas intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica) e *S. haematobium* (causador da forma urogenital) (FIGURA 4).

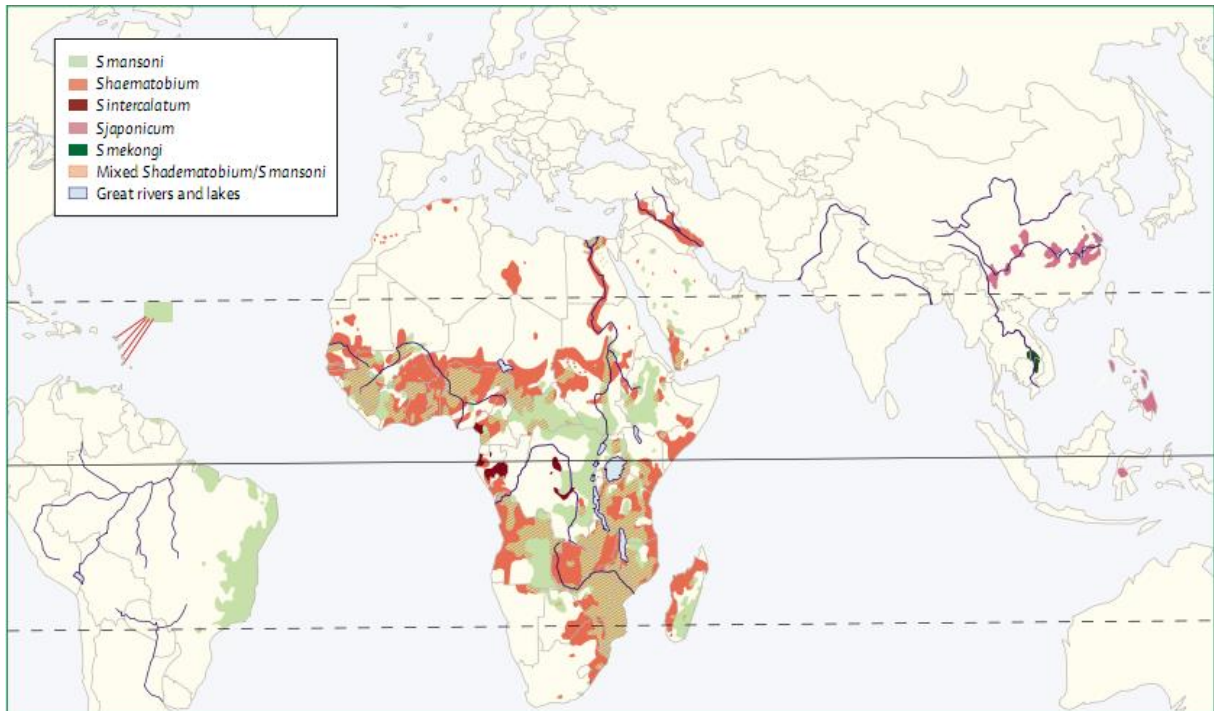


Figura 4 - Distribuição das espécies de *Schistosoma*.  
 Fonte: GRYSSELS et al., 2006.

Estimativas sugerem que um número alarmante de 201,5 milhões de casos de esquistossomose podem ocorrer só na África, e que mais de 90% de todos os casos de esquistossomose são encontrados na África Subsaariana (STEINMANN et al., 2006; UTZINGER et al., 2009)(FIGURA 5).

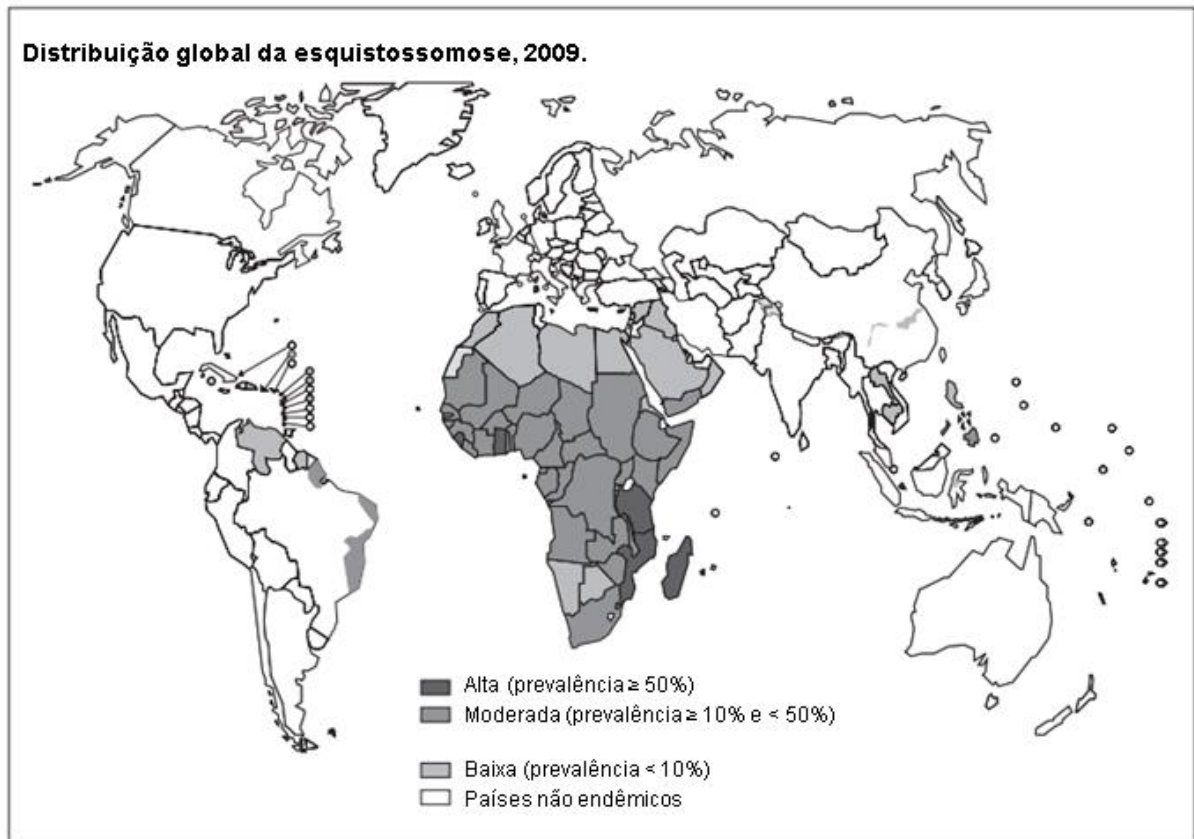


Figura 5 - Distribuição global da esquistossomose.  
Fonte: Adaptado de WHO, 2011.

Embora a esquistossomose continue sendo um problema de saúde pública na África subsaariana, devido à grande demografia e transformações ecológicas, a incidência foi reduzida em muitos países e a eliminação local tem sido alcançada em alguns países (ROLLINSON et al., 2012) (FIGURA 6).



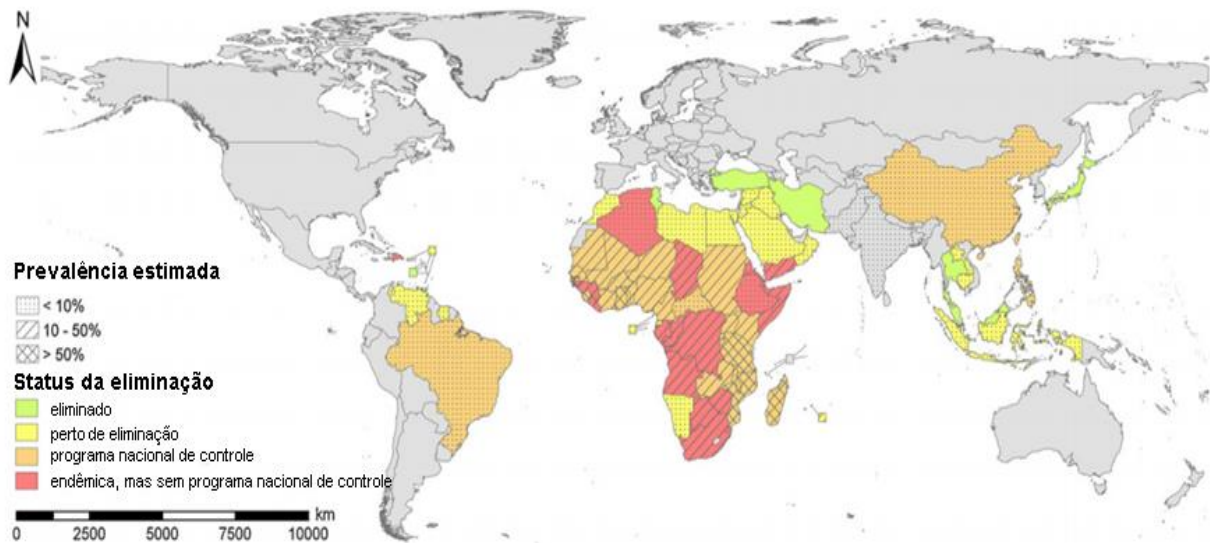


Figura 6 - Status de eliminação da esquistossomose.  
 Fonte: Adaptado de ROLLINSON et al., 2012.

A reprodução continuada da esquistossomose não pode ser explicada através da abordagem puramente biologicista, pois esta tem se mostrado insuficiente no entendimento e controle da doença, que deve ser compreendida como um processo histórico, gerador de uma estrutura epidemiológica, onde estão contidos os vários níveis determinantes de sua ocorrência (BARBOSA et al., 1996). A transmissão da doença é o resultado não só da interação entre os seres humanos, caramujos e parasitas, mas também de um complexo processo demográfico, ambiental, biológico, político, socioeconômico e cultural (WHO, 2008). Estes fatores, além de contribuir para a formação de quadros endêmicos específicos são essenciais para o sucesso dos programas de eliminação (BARBOSA et al., 1996; AAGAARD-HANSEN et al., 2009).

A eliminação da esquistossomose foi alcançada nas ilhas do Caribe, Tunísia, Turquia, Irã, Tailândia, Malásia e Japão conforme mostrado na Figura 6, mudando o mapa epidemiológico graças ao progresso no controle da doença. Várias estratégias são utilizadas nos programas de controle e eliminação da esquistossomose. No Brasil, a partir de 1993 o PCE foi descentralizado, sendo responsabilidade dos municípios executarem as atividades de controle. As atividades de controle exercidas são: diagnóstico coparassitológico pela técnica de Kato/Katz; tratamento dos portadores da infecção por *S. mansoni*; melhoria das condições sanitárias; inspeção das coleções de água doce e tratamento com moluscicida (ação pouco



empregada) e educação em saúde, atividade que visa conscientizar a população sobre o problema da esquistossomose (ROLLINSON et al., 2012; SIQUEIRA, 2011b).

### **1.5 Epidemiologia da esquistossomose mansoni no Brasil**

No Brasil, o *Schistosoma mansoni* foi introduzido no estado da Bahia, durante o tráfico de escravos infectados, e os movimentos migratórios desordenados da região Nordeste para as regiões Sudeste e Sul contribuíram significativamente para a expansão da infecção. Outro fator que contribuiu para expansão da esquistossomose foi a cultura da cana de açúcar (CONCEIÇÃO; COURA, 2012). Além disso, a presença de hospedeiros intermediários susceptíveis, caramujos do gênero *Biomphalaria*, e as precárias condições de saúde, falta de saneamento básico e pobreza de um grande segmento da população do país favoreceram a manutenção da infecção e o desenvolvimento de novas áreas endêmicas (AMARAL et al., 2006).

No país, a doença está presente em 19 estados e apresenta um perfil heterogêneo. Minas Gerais e Bahia possuem as maiores áreas endêmicas. Os municípios que têm os mais altos níveis de prevalência estão espalhados ao longo da região costeira do Nordeste e projetam-se para o interior da Bahia até chegarem em Minas Gerais no Sudeste. Há também focos isolados no Distrito Federal e nos estados do Pará, Piauí, Goiás, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Além disso, há casos importados de áreas endêmicas registrados em quase todo o território nacional, principalmente, em estados considerados pontos de migração, como Rondônia (COURA; AMARAL, 2004; BRASIL, 2005) (FIGURA 7).

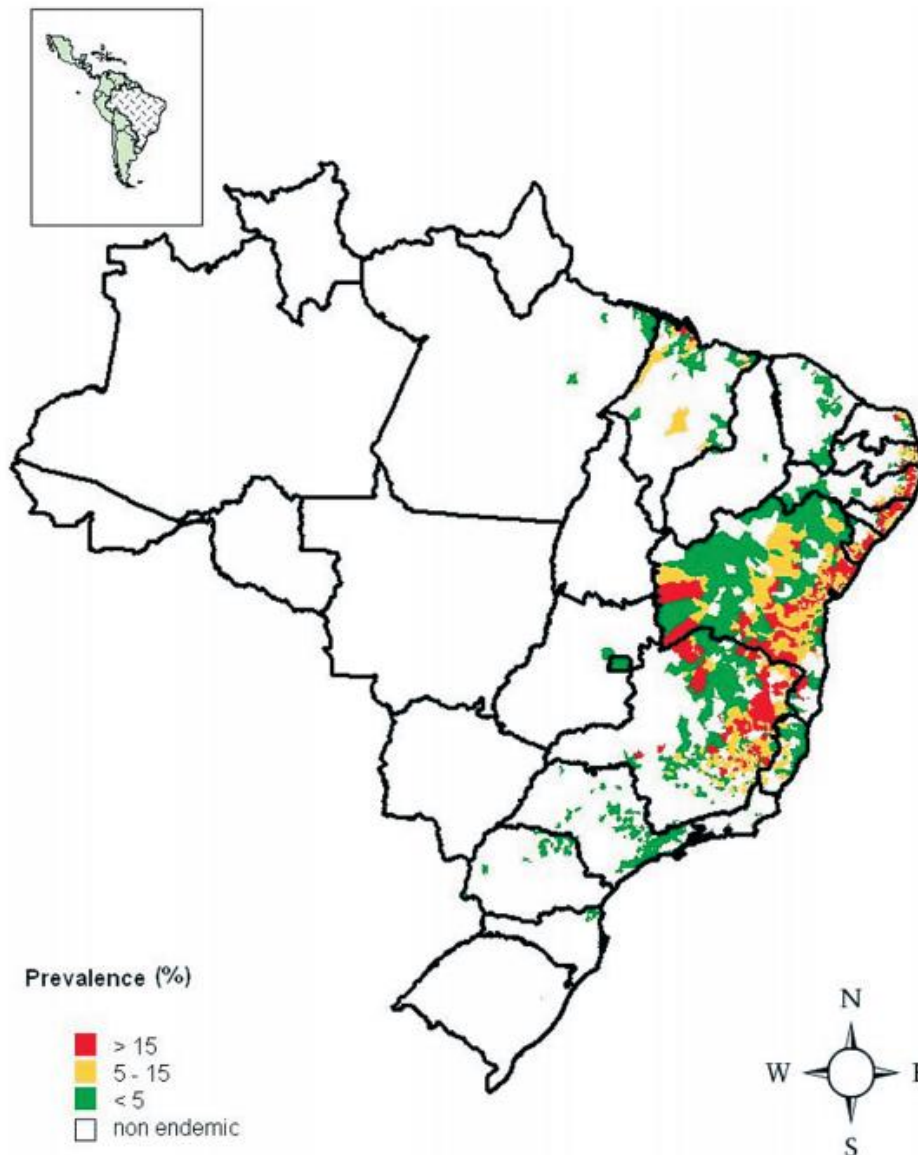


Figura 7 - Distribuição da esquistossomose mansoni, de acordo com o nível de prevalência, por município.

Fonte: AMARAL et al., 2006.

### 1.6 Epidemiologia da esquistossomose mansoni em Minas Gerais

A introdução da esquistossomose em Minas Gerais ocorreu, provavelmente, no início do século XVIII com a migração dos escravos, durante o ciclo do ouro e do diamante (CARVALHO et al., 1987).

Neste estado, a distribuição da esquistossomose é irregular, intercalando-se áreas de maior prevalência com outras onde a transmissão é baixa ou nula. Segundo Drummond et al. (2010), em Minas Gerais 523 (61%) dos 853 municípios apresentam transmissão ativa da doença e quase 11 milhões de pessoas vivem em

áreas endêmicas. A região sul do estado, com exceção de Itajubá (Katz; Carvalho, 1983), o Triângulo Mineiro e o nordeste de Minas Gerais, com exceção de Paracatu (Carvalho et al., 1988), são áreas não-endêmicas (Katz, 1998; Drummond et al., 2010). Entretanto, a prevalência da esquistossomose tem sido subestimada em áreas consideradas não endêmicas.

## 1.7 Tratamento

A quimioterapia é a principal medida utilizada para a redução da morbidade da esquistossomose, porém não cessa a transmissão. O controle da transmissão é essencial para a erradicação da esquistossomose, pois visa interromper o ciclo evolutivo do parasito (ARAÚJO, 2010).

O controle da esquistossomose através do tratamento, por si não é eficaz, devido principalmente a grande extensão das áreas endêmicas, a possibilidade do surgimento de resistência do parasito aos fármacos, as constantes reinfecções dos indivíduos e a falta de saneamento básico (KING et al., 2006). No entanto o controle da morbidade e a redução da mortalidade são possíveis por meio da quimioterapia.

No Brasil, assim como em outros países afetados, o praziquantel é a droga de escolha para o tratamento de indivíduos positivos (KATZ; ALMEIDA, 2003; FAVRE et al., 2012). A efetividade do praziquantel contra *S. mansoni* é bem documentada, mas o seu modo de ação não está definitivamente esclarecido. Acredita-se que o praziquantel aumente a permeabilidade da membrana do helminto, causando perda de cálcio intracelular, contrações e paralisia da musculatura do parasito, que se desprende da parede dos vasos. Também atue no sistema excretor, além de provocar vacuolização e desintegração do tegumento do verme, causando sua morte (OLIVEIRA et al., 2006; COUTO et al., 2010).

Atualmente, o praziquantel é fornecido pela Far-Manguinhos/Fiocruz em comprimidos de 600 mg, ao custo de US\$ 0,15 por comprimido (FAVRE et al., 2012). O PCE/Ministério da Saúde recomenda uma dose oral única de 60mg/kg para crianças de 2-15 anos e 50 mg/kg para adultos (BRASIL, 2005). O praziquantel é o fármaco eleito pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para o tratamento da esquistossomose, por apresentar atividade contra todas as espécies de *Schistosoma* (GRYSSELS et al., 2006), apresentar alto percentual de cura, ser de

baixa toxicidade, não apresentar risco genotóxico, ser ativo em dose única por administração oral e ser de baixo custo (ARAÚJO, 2010).

### 1.8 Diagnóstico da esquistossomose mansoni

Em suas diversas formas clínicas, a esquistossomose mansoni assemelha-se a muitas outras doenças; portanto, essa inespecificidade e a variação nos sintomas dificultam o seu diagnóstico apenas pelo exame clínico do paciente (RABELLO et al., 2008). Por esse motivo, o diagnóstico definitivo é dado por exames laboratoriais.

Os métodos laboratoriais de diagnóstico da esquistossomose mansoni são agrupados em duas categorias: métodos diagnósticos diretos e indiretos. São considerados diretos os métodos que detectam o parasito ou suas partes, como ovos, substâncias antigênicas ou fragmentos moleculares. E métodos indiretos aqueles que, identificam evidências indiretas da presença do parasito e dependem de marcadores clínicos, bioquímicos ou imunológicos associados à infecção (RABELLO et al., 2008) (QUADRO 1).

Categoria	Métodos	Detecção de
Diretos	Exames 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 e hemodinâmicas
	Imunológicos: reação intradérmica	Imunidade celular específica
	Imunológicos: sorológicos	Imunidade humoral específica

Quadro 1 - Categoria dos métodos diagnósticos.  
Fonte: RABELLO et al., 2008.

Além disso, os métodos diagnósticos podem fornecer informações qualitativas e quantitativas. As técnicas qualitativas informam sobre a presença ou ausência de ovos do parasito, sendo útil para confirmar o diagnóstico. Já as quantitativas além de detectar a presença do parasito, indicam o número de ovos por grama de fezes do material examinado (RABELLO et al., 2008). Apesar de algumas técnicas qualitativas de diagnóstico apresentarem boa sensibilidade em detectar a infecção por *S. mansoni*, técnicas quantitativas são mais recomendadas (RABELLO, 1997).

### 1.8.1 Diagnóstico molecular

A reação em cadeia da polimerase (PCR - Polymerase Chain Reaction) é uma técnica de amplificação extremamente sensível, podendo detectar uma pequena quantidade de DNA em uma amostra.

Pontes et al. (2002) relatou a primeira utilização de PCR para o diagnóstico de DNA de *S. mansoni* em amostras fecais. A técnica de PCR têm mostrado alta sensibilidade e especificidade para a detecção de DNA de *S. mansoni* em amostras fecais. Esta técnica detecta aproximadamente 2,4 ovos/grama, representando uma detecção limite de 0,1 a 10 fentograma de material genômico dependendo da espécie de *Schistosoma* estudada (CAVALCANTI et al., 2013). Já a especificidade do teste foi demonstrada pela ausência de amplificação de DNA de outros helmintos. Estudo comparativo entre PCR e a técnica Kato/Katz realizado por Pontes et al. (2003), demonstrou que a PCR foi capaz de detectar um número maior de casos positivos em 194 amostras fecais examinadas por ambas as técnicas. Apesar disso, a PCR apresentou resultado negativo em poucos casos considerados certeza positiva pela microscopia (PONTES et al., 2003). Gomes et al. (2009), também observaram resultados discordantes entre a PCR e a técnica Kato/Katz.

As desvantagens em relação ao uso da PCR são a possibilidade de inibição da enzima e o risco de contaminação das amostras. Além disso, é uma técnica dispendiosa embora a redução de custos possa ser obtida por modificações na metodologia, tais como métodos de melhoramento da extração do DNA (ENK et al., 2012). É uma técnica mais indicada em áreas de baixa prevalência, em pacientes com baixa carga parasitária e no controle de cura da esquistossomose, onde alta sensibilidade e especificidade são requeridas (BRASIL, 2005).

### 1.8.2 Diagnóstico Imunológico

Há algumas décadas o diagnóstico da infecção por *S. mansoni* pode ser alcançado através da demonstração direta do parasito em uma de suas formas evolutivas nos tecidos ou excreções do hospedeiro. Com os avanços tecnológicos que ocorreram, a detecção de componentes antigênicos do parasita, tornou-se uma alternativa para o diagnóstico direto da infecção. Entretanto, os testes imunológicos apresentam reações cruzadas com outras helmintoses, não detectam a intensidade da infecção e nem diferenciam infecção passada e recente (MONTENEGRO, 1992; RABELLO, 1997). Assim, o desenvolvimento de métodos que apresentem alta especificidade e sensibilidade e que constituam alternativas para o uso de técnicas parasitológicas é alvo de vários grupos de pesquisadores.

Numerosas técnicas estão disponíveis, mas nenhuma delas satisfaz completamente as características de uma técnica ideal, com efetividade, uso de poucos reagentes, uso de equipamentos simples, rapidez na execução, baixo custo e facilidade de execução em campo (RABELO, 1997; RABELLO et al., 2008).

A maior parte dos métodos sorológicos descritos para o diagnóstico da esquistossomose são indiretos e se aplicam à detecção de anticorpos (QUADRO 2).

Métodos	Técnicas imunológicas
Direto Detecção de antígenos do parasito	Técnica Imunoenzimática (ELISA) de captura
Indiretos Detecção de resposta imuno do hospedeiro	Reação intradérmica
	Reação pericercariana
	Testes de aglutinação cercariana
	Reação de imobilização do miracídio
	Reação de hemaglutinação indireta
	Reação de fixação do complemento
	Reação periovular ou circum-ovular
	Reação de imunofluorescência indireta
	Radioimunoensaio
Técnia imunoenzimática (ELISA)	

Quadro 2 - Classificação das técnicas imunológicas de diagnóstico da esquistossomose.  
Fonte: RABELLO et al., 2008.

A reação intradérmica é um teste alérgico baseado na reação de hipersensibilidade tipo I ou anafilática. A leitura do teste é feita 15-20 min após a inoculação do antígeno e o teste é positivo quando forma-se uma pápula de diâmetro superior a 1 cm (REY, 2001). Apresenta com frequência resultados falso-positivos, por não discriminar exposições passadas e recentes e a reação não se torna negativa após uma quimioterapia eficaz, portanto, não serve como critério de cura (ESTAMBALE et al., 1989). A técnica oferece baixas sensibilidade e especificidade, portanto a aplicação desta técnica para casos individuais só se justifica para esclarecer casos em que a anamnese reforça a suspeita de infecção e que vários exames de fezes deram resultados negativos (MELO; COELHO, 2011).

Algumas técnicas imunológicas estão em desuso, como a reação pericercariana, o teste de aglutinação cercariana, a reação de imobilização do miracídio, a reação de hemaglutinação indireta e a reação de fixação do complemento. A reação periovular (*circumoval precipitin test* - COPT) é historicamente o teste imunodiagnóstico mais utilizado na China (ZHU, 2005). Apesar de sua alta especificidade e sensibilidade é recomendada apenas como

teste diagnóstico confirmatório devido ao fato de ser de realização complexa (NOYA et al., 2002).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) baseia-se na ligação de imunoglobulinas na superfície das formas evolutivas parasitárias e na ligação posterior de antiimunoglobulinas humanas marcadas com fluoresceína. Bons índices de sensibilidade e especificidade da RIFI foram demonstrados em trabalhos realizados em diferentes áreas de baixa endemicidade para esquistossomose no estado de São Paulo (KANAMURA et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2003; SOARES et al., 2003). Apesar disso, a necessidade de microscópio de fluorescência limita o uso dessa técnica em áreas com pouca infraestrutura.

O radioimunoensaio tem o mesmo princípio da imunofluorescência, mas utiliza como marcador o  $I^{125}$ . O radioimunoensaio não apresenta vantagens sobre as demais técnicas e apresenta as desvantagens de se trabalhar com material radioativo, uso de aparelhos especializados e custo operacional alto (MONTENEGRO, 1992).

A técnica imunoenzimática “*enzyme linked immunosorbent assay*” (ELISA) se baseia em reações antígeno-anticorpo detectáveis através de reações enzimáticas (RABELLO et al., 2008). O teste imunoenzimático apresenta maior sensibilidade que o teste de imunofluorescência com a vantagem de ser mais econômico. Alguns problemas afetam a técnica ELISA como, a dificuldade da escolha de antígenos apropriados, a ocorrência de reações cruzadas, a não discriminação entre infecções passadas e recentes e à falta de reagentes comerciais aplicáveis ao diagnóstico da doença (OLIVEIRA et al., 2003). Entretanto, por possibilitar automação, reprodutibilidade, obtenção rápida dos resultados e ser de baixo custo, tem sido umas das técnicas mais utilizadas (RABELLO et al., 2008) e tem mostrado ser uma técnica mais bem adaptada para aplicação em estudos populacionais (OLIVEIRA et al., 2003).

Os ensaios imunológicos mais promissores são, no entanto, os métodos considerados diretos que detectam antígenos do parasito. Os antígenos excretados/secretados pelo *S. mansoni* na circulação do hospedeiro estão presentes exclusivamente em infecções ativas, e os níveis detectados podem ser correlacionados com a intensidade da infecção (QUEIROZ, 2012). Diversas técnicas de detecção de antígenos circulantes foram descritas, no entanto, a maioria é



direcionada para dois antígenos principais o *Circulating catodic antigen* - CCA e o *Circulating anodic antigen* - CAA. Eles são detectados através de técnicas como ELISA, utilizando-se de amostras sorológicas e, mais recentemente, através do *dipstick* que usa um anticorpo monoclonal específico do CCA para promover a detecção do antígeno em urina (VAN DAM et al., 2004).

Os primeiros testes para detecção de CCA foram baseados na técnica de ELISA, apresentando bons resultados quanto à sensibilidade de detecção, no entanto, logo demonstraram níveis muito baixos de sensibilidade (QUEIROZ, 2012). Por outro lado, a elevada especificidade da detecção de antígenos circulantes, constitui a principal vantagem deste teste (RABELLO et al., 2008).

Já o *dipstick* demonstrou uma grande oscilação nos níveis de sensibilidade, atingindo 56%, 89% e 94% de sensibilidade, respectivamente (ASHTON et al., 2011; COULIBALY et al., 2011; SHANE et al., 2011) em estudos realizados em áreas endêmicas africanas. Por utilizar anticorpos monoclonais específicos para uma das porções glicídicas do CCA, que divide epítomos com diversos outros microrganismos e células humanas, o teste vem apresentando um número significativo de resultados falsos-positivos relacionado com reações cruzadas (SHANE et al., 2011).

### 1.8.3 Diagnóstico parasitológico

Inúmeras técnicas qualitativas encontram-se descritas na literatura científica. Muitas já não são utilizadas para o diagnóstico da esquistossomose por não serem consideradas adequadas e apresentarem baixa sensibilidade. Dentre estas, podemos citar: os exames parasitológicos utilizados sem qualquer preparação, as técnicas de flutuação (Willis, 1921; Faust et al., 1939) e o método de centrifugação (BLAGG et al., 1955).

Uma técnica qualitativa bastante conhecida e comumente utilizada é a de sedimentação espontânea de Lutz (Lutz, 1919) modificada por Hoffman et al. (1934), que apresenta considerável índice de sensibilidade em pacientes com alta carga parasitária.

Quando importa dispor sobre a intensidade da infecção mediante a contagem de ovos encontrados numa determinada quantidade de fezes, utilizam-se técnicas

quantitativas como as de Bell, Stoll, Simões Barbosa e Kato/Katz. Esta última apresenta sensibilidade similar, ou melhor, do que as demais técnicas quantitativas.

O método de Bell (Bell, 1963) não tem sido utilizado com frequência, porque é de execução pouco prática. Já o método de Simões Barbosa (Simões Barbosa, 1969) é relativamente simples e econômico para o diagnóstico da esquistossomose mansoni. A desvantagem deste método é sua baixa sensibilidade e a variação do volume do sedimento, o que prejudica o resultado quantitativo. Por isso tem pouca validade em inquéritos epidemiológicos.

O método de Stoll (Stoll; Hausheer, 1926) é útil no diagnóstico de infecções humanas por *S. mansoni*, mas preferencialmente para quantificar infecções por Ancilostomídeos. Uma observação a ser feita a respeito deste método é que, a estimativa de ovos/grama varia de acordo com a consistência das fezes usadas na preparação, além da necessidade do uso de fatores de correção que devem ser utilizados conforme a natureza das fezes.

A técnica de Kato e Miura, (1954), foi modificada por Katz et al., (1972) que substituíram a pesagem das fezes com balança por um cartão com um orifício central de 6 mm de diâmetro, definindo a quantidade de fezes a ser examinada. Assim obtém-se uma amostra que, em média pesa 41,7 mg, com variações compreendidas entre 42,5 e 45,4 mg. Estima-se que o parasito apresente uma oviposição de aproximadamente 200 ovos/dia. Considerando que são eliminados 200g de fezes por dia, na menor carga parasitária possível (um casal de vermes) seria eliminado um ovo por grama de fezes. Sabendo-se que a técnica Kato/Katz examina em média 41,7 mg de fezes, a probabilidade de se detectar uma infecção com apenas um casal de vermes pelo exame de uma só lâmina, seria de aproximadamente de 1/24.

A limitação da baixa detecção de ovos pode ser superada em parte com a utilização de maior quantidade do material fecal a ser examinado ou com o aumento do número de amostras e também pelo aumento do número de lâminas examinadas por amostra. Entretanto, essas estratégias podem aumentar consideravelmente os custos operacionais e dificultar a logística nos programas de controle (TELES et al., 2003).

Um método mais sensível é o de eclosão de miracídios, que consiste em um dispositivo de incubação contendo um recipiente de coleta para detecção de

miracídios que eclodem de uma suspensão de fezes quando o paciente é positivo. Embora a quantidade de material fecal examinada pelo método de eclosão de miracídios corresponda a 36 lâminas de Kato/Katz, ele apresenta uma limitação, uma vez que só pode ser utilizado com fezes frescas (JURBERG et al., 2008). Por sua complexidade não encontra aplicação prática no diagnóstico da doença.

Recentemente, duas novas técnicas foram propostas para o diagnóstico da esquistossomose mansoni: o Helmintex e o Gradiente salínico. O Helmintex desenvolvido por Teixeira et al., (2007) é uma técnica altamente sensível para identificação de ovos de *S. mansoni* em grande quantidade de fezes. Nesta técnica, 30 gramas de fezes são processadas através de uma sequência de sedimentação espontânea, método de tamisgação e método de Ritchie (1948) e, em seguida, os ovos são isolados através da interação com esferas paramagnéticas e visualizados ao microscópio (TEIXEIRA et al., 2007).

A afinidade dos ovos pelas esferas paramagnéticas é devido à presença do íon Ferro (Fe), importante no metabolismo do *Schistosoma*. Espectroscopia por energia dispersiva dos ovos de *S. japonicum* demonstrou que o ferro está incorporado na membrana do ovo (JONES et al., 2007).

Teixeira et al. (2007) mostraram que a sensibilidade desta técnica foi de 100%, quando a carga parasitária era de 1,3 ovos por grama de fezes, decaindo para 25% quando a carga parasitária era de 0,1 ovo por grama de fezes. Ressalta-se que estes resultados foram obtidos de amostras semeadas com ovos recuperados de camundongos infectados por *S. mansoni*.

A Outra técnica é o Gradiente Salínico, que se baseia na diferença de concentrações de soluções salínicas, para recuperação em massa de ovos de *S. mansoni*. Consiste em um dispositivo simples, que foi desenvolvido para facilitar a detecção de ovos, sendo de baixo custo, sensível, rápido e de fácil execução (COELHO et al., 2009). Resultados experimentais e resultados preliminares de campo indicam que o Gradiente Salínico é mais sensível do que 12 lâminas de Kato/Katz e sua inspeção microscópica também é mais rápida e mais fácil (COELHO et al., 2009).

O Gradiente salínico faz uso de água e cloreto de sódio, podendo ser reutilizado várias vezes. Esta técnica está em fase de aperfeiçoamento, conforme

recomendações do relatório da OMS, para novas ferramentas de diagnóstico para esquistossomose (WHO, 2006).

Pinheiro (2010) avaliou estas duas novas técnicas parasitológicas e o Gradiente Salínico mostrou-se mais eficaz do que a técnica Kato/Katz na detecção da esquistossomose mansoni. E o Helmintex ® mostrou ser mais eficaz do que, o Kato/Katz e Gradiente Salínico, embora alguns casos não fossem concordantes por todas as três técnicas.

Outro técnica que se fundamenta no encontro de ovos do parasito, mas nos tecidos, é a biópsia retal. No diagnóstico pela biópsia retal, fragmentos da mucosa retal são retirados para exame microscópico e verificação da presença de ovos. A quantificação de ovos por grama de tecido examinado recebe o nome de oograma.

Trata-se de uma técnica invasiva e desconfortável para o paciente. Há ainda, a dependência de pessoal treinado, requerer um instrumental mais sofisticado e ser realizado em ambiente hospitalar (BRASIL, 1998). Apesar de não indicada para utilização na rotina, a biópsia retal pode ser útil em casos suspeitos, na presença de repetidos exames parasitológicos de fezes negativos (BRASIL, 2005).

## 2 JUSTIFICATIVA

Embora a morbidade e mortalidade da infecção com *Schistosoma mansoni* terem sido reduzidas, a transmissão continua quase inalterada (CONCEIÇÃO; COURA, 2012). Isto é confirmado pela expansão territorial da doença. Além de fatores, como a migração e a falta de saneamento básico; a falta de eficácia na triagem diagnóstica indica que a vigilância e o controle da esquistossomose em áreas com baixa prevalência continuam problemáticos (ENK et al., 2008a).

Nesse contexto, a mesorregião Sul/Sudoeste de Minas Gerais apresenta características que podem favorecer o estabelecimento de focos de transmissão da esquistossomose. Destaca-se a ampla rede de drenagem representada pela represa de Furnas, a presença do molusco transmissor, caramujos do gênero *Biomphalaria* (SOUZA et al., 2001; SIQUEIRA, comunicação pessoal; CARVALHO et al., 1985; GUIMARÃES et al., 1993; CARVALHO et al., 1989) e as constantes correntes migratórias de trabalhadores vindos de áreas endêmicas para a esquistossomose, recrutados para trabalharem nas safras agrícolas regionais.

Para fins diagnósticos, a técnica Kato/Katz é o procedimento internacionalmente recomendado pela Organização mundial da Saúde (WHO, 1994) para detecção do *S. mansoni*. Entretanto, vários trabalhos confirmam que esta técnica é ineficaz em detectar indivíduos positivos com baixa carga parasitária e em áreas de baixa endemicidade (FELDMEIER; POGGENSEE, 1993; KONGS et al., 2001). Devido a essa dificuldade, urge a necessidade do aperfeiçoamento dos métodos atuais e mesmo a criação de novos métodos de diagnóstico (BRASIL, 1998).

Assim, o presente estudo justifica-se pela procura de metodologias mais efetivas, mais seguras e de baixo custo a fim de auxiliar no controle da doença e evitar o estabelecimento de focos de transmissão da esquistossomose na mesorregião Sul/Sudoeste de Minas Gerais.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar comparativamente quatro metodologias parasitológicas de fezes no diagnóstico da esquistossomose mansoni.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

Analisar a positividade da esquistossomose mansoni nos migrantes de três municípios sob jurisdição da Superintendência Regional de Saúde de Alfenas-MG.

Analisar a positividade das parasitoses intestinais nos migrantes.

Avaliar as diferenças de efetividade entre as metodologias parasitológicas realizadas, utilizando a técnica Kato/Katz como exame referência.

Avaliar as diferenças de custo e de segurança das metodologias parasitológicas realizadas.

Selecionar dentre as metodologias parasitológicas estudadas a de melhor custo-efetividade para o diagnóstico da esquistossomose mansoni e demais parasitoses intestinais.

#### **4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

O estudo foi aprovado pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (07010713.6.0000.5142). Foi apresentado e explicado aos participantes e todos foram esclarecidos quanto ao objetivo do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido como exigido pelo CONEP (APÊNDICE).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido em parceria com a Superintendência Regional de Saúde de Alfenas (SRS Alfenas) e com as Secretarias Municipais de Saúde dos respectivos municípios sob jurisdição da SRS Alfenas.

### 5.1 Caracterização das amostras

A mesorregião Sul/Sudoeste de Minas Gerais é composta por 146 municípios, formados por pequenas cidades, e uma área considerável inundada pelo Lago de Furnas. A economia desta mesorregião se baseia em atividades voltadas para a agricultura e pecuária, sendo assim, um grande número de migrantes de outras regiões do estado e do país são contratados para trabalharem durante as safras de café e de cana de açúcar nas fazendas dos municípios.

A SRS Alfenas é composta por 26 municípios, totalizando uma população de 460.477 habitantes. O trabalho desenvolvido neste estudo foi ofertado a todos os municípios da SRS Alfenas. Entretanto, apenas três municípios, Arceburgo, Botelhos e Campos Gerais, demonstraram interesse em aderir e participar do estudo, os quais apresentam um alto índice de migração de indivíduos de áreas endêmicas para esquistossomose mansoni, na época das safras agrícolas.

Todos os migrantes, contratados para trabalhar temporariamente nas safras agrícolas, dos municípios de Arceburgo, Botelhos e Campos Gerais, contatados pelo Serviço de Vigilância Epidemiológica por meio dos Agentes Comunitários de Saúde, foram convidados a participar do estudo e, todos os interessados que realizaram o exame parasitológico de fezes foram incluídos neste estudo.

Participaram do estudo 442 migrantes dentre os quais, também estão incluídos crianças maiores de dois anos de idade e adolescentes sob responsabilidade dos respectivos trabalhadores. Do total de participantes, 256 são homens e 186 são mulheres, com faixa etária entre 2 e 89 anos. Estes indivíduos são provenientes dos estados da Bahia, Paraíba, Pernambuco, Maranhão, Norte e Nordeste de Minas Gerais.



## **5.2 Coleta de amostras**

As coletas das amostras de fezes para este levantamento epidemiológico ocorreram de agosto de 2012 a setembro de 2013.

Após o cadastramento dos migrantes interessados em participar do estudo foram realizadas, semanalmente, pelos agentes de saúde e participantes do estudo, visitas domiciliares para as orientações necessárias para a colheita da amostra fecal. Para cada indivíduo foi entregue um pote plástico já identificado com o nome e uma espátula de madeira tipo abaixador de língua para facilitar a colheita dos fragmentos fecais e acondicionamento da amostra no pote. Nesta oportunidade era repassada a orientação para a colheita de cinco ou seis fragmentos fecais do tamanho de uma azeitona, observando para retirá-los das extremidades, laterais, superfície e centro do bolo fecal e já determinada a data da próxima visita para a entrega das amostras fecais coletadas.

As amostras fecais eram enviadas pelos funcionários do serviço de Vigilância Epidemiológica dos municípios para a Universidade Federal de Alfenas e processadas nos laboratórios de ensino, pesquisa e extensão das disciplinas Parasitologia Básica do Instituto de Ciências Biomédicas e Parasitologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia.

## **5.3 Exames parasitológicos**

As amostras fecais foram processadas por quatro metodologias parasitológicas. Foi coletada 1 amostra fecal de cada indivíduo e para cada amostra foram preparadas 2 lâminas para cada metodologia, as quais foram submetidas ao exame microscópico utilizando objetiva 10X ou 40X quando necessário.

### **5.3.1 Técnica de Kato/Katz**

A técnica de Kato (Kato e Miura, 1954) modificada por Katz et al. (1972) caracteriza-se por ser qualitativa e quantitativa. Esta técnica foi realizada utilizando o Kit Helm-test® produzido pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos/Fiocruz).

Resumidamente, coloca-se a amostra fecal sobre o papel absorvente e em seguida comprime-se a tela de náilon sobre as fezes, fazendo com que parte passe através das malhas. As fezes que passam através das malhas são transferidas para o orifício do cartão, colocado sobre a lâmina. Depois de encher o orifício central, remove-se com cuidado o cartão, coloca-se uma lamínula de celofane, previamente embebida em solução de verde-malaquita sobre as fezes. Inverte-se e pressiona a lâmina sobre o papel absorvente. Após este procedimento, deixa-se a preparação em repouso (clarificação) durante 30 minutos a 34-40°C, ou à temperatura ambiente por 1-2 horas e em seguida, examina-se a preparação ao microscópio. (FIGURA 8).



Figura 8 – Processamento das amostras pela técnica Kato/Katz.

### 5.3.2 Técnica de Sedimentação Espontânea

A técnica de sedimentação espontânea de Lutz (Lutz, 1919) modificada por Hoffman et al. (1934), se baseia na sedimentação dos ovos.

Resumidamente, fezes coletadas de várias partes do bolo fecal, são colocadas em um frasco de Borrel ou Becker adicionando-se água corrente e mistura-se vigorosamente. Em seguida a suspensão contendo as fezes, é filtrada através de gaze dobrada 4 vezes, e recolhida em cálice de sedimentação. Adiciona-se água corrente até completar aproximadamente 3/4 do volume do copo cálice e deixa-se a suspensão em repouso durante 1 a 2 horas. Descarta-se o líquido cuidadosamente sem levantar ou perder o sedimento. Acrescenta-se mais água até

completar o volume anterior e deixa a suspensão em repouso por mais 60 minutos. Com uma pipeta capilar, coleta-se uma pequena porção do sedimento na camada inferior, depositando sobre uma lâmina e em seguida examina-se ao microscópio. (FIGURA 9).



Figura 9 - Processamento das amostras pela técnica de sedimentação espontânea.

### 5.3.3 Kit Midi Parasep®

O Kit Midi Parasep® (Diasys Europe Ltd) é composto de um tubo em polipropileno com fundo cônico, dividido em uma câmara de mistura e um cone de sedimentação.

Resumidamente a preparação ocorre, com a adição de formaldeído e acetato e etila à câmara de mistura. Em seguida recolhe-se a amostra fecal no tubo e rosqueia-se a unidade com o cone de sedimentação. Agita-se no vortex para fazer a emulsão com o cone de sedimentação apontado para cima. Inverte-se o sistema e centrifuga-se a 1000 g por 3 minutos. Após centrifugação, desenrosca-se e descarta-se a câmara de mistura, retira-se a fase gordurosa, decanta-se o líquido sobrenadante do sedimento e transfere-se o sedimento para visualização (FIGURA 10).

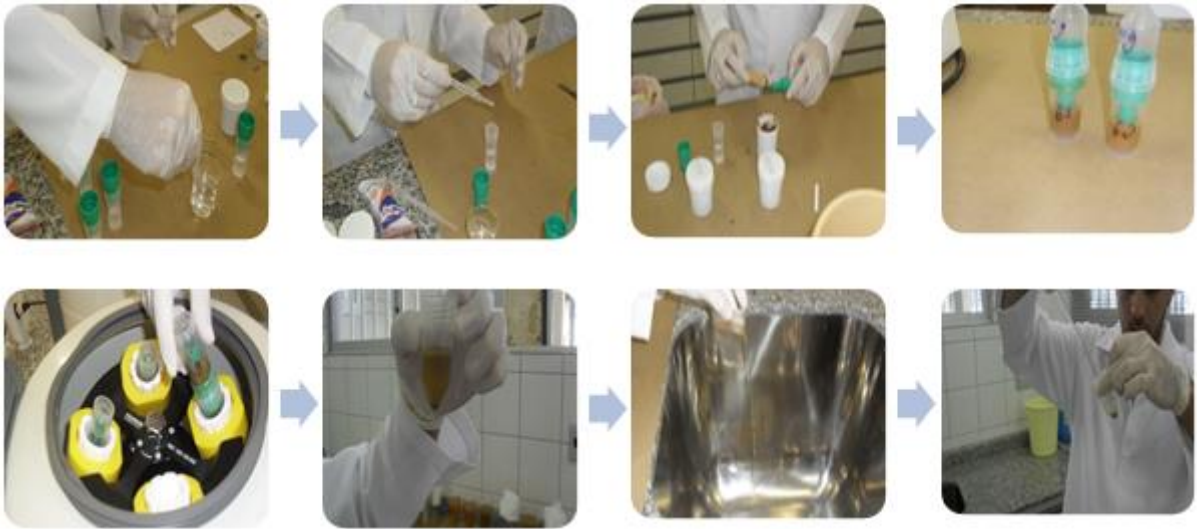


Figura 10 - Processamento das amostras pelo Kit Midi Parasep®.

#### 5.3.4 kit Paratest®

O Kit Paratest® (Diagnostek) é constituído de um frasco plástico com tampa dotada de uma membrana filtrante com poros de aproximadamente 266 µm, que retêm grande quantidade de detritos e resíduos do bolo fecal deixando passar formas parasitárias que podem ser identificadas por microscopia. O frasco do *Kit Paratest®* apresenta um líquido diluente/conservante com volume de 7 mL de solução de Formalina a 5%, tamponada com tampão fosfato de sódio em pH 7,0. O exame consiste, basicamente, na diluição de fezes nessa solução, e da suspensão obtida, uma pequena fração é gotejada em lâmina e examinada ao microscópio (FIGURA 11).



Figura 11 - Processamento das amostras pelo Kit Paratest®.

#### 5.4 Análise estatística

As proporções de exames positivos entre as quatro metodologias analisadas foram comparadas por meio de um teste Qui-quadrado, a 5% de significância, tanto para o *Schistosoma mansoni* quanto para o total de outros parasitos intestinais diagnosticados.

Todas as análises foram realizadas utilizando o software R (R CORE TEAM, 2012).

##### 5.4.1 Taxa de Positividade

A positividade da esquistossomose e demais parasitoses entre os migrantes que participaram do estudo foi calculada pelo número de exames positivos obtidos por cada metodologia, dividido pelo número total de exames realizados.

##### 5.4.2 Intensidade de infecção

A intensidade de infecção foi calculada em ovos por grama de fezes (opg). A carga parasitária individual foi determinada pela média aritmética do número de ovos de *S. mansoni* por grama de fezes.

A carga parasitária da população foi determinada pela média geométrica do número de ovos de *S. mansoni* por grama de fezes.

A intensidade de infecção, calculada apenas para a técnica de Kato/Katz, foi obtida pela soma do número de ovos encontrados nas 2 lâminas. Este valor foi multiplicado por 24 e dividido por 2. Isto porque cada lâmina de Kato/Katz tem capacidade para 41,7 mg ( $41,7 \times 24 = 1000$  mg ou 1 grama).

Quanto à intensidade de infecção os casos foram classificados em: baixa intensidade (1-99 opg), moderada intensidade (100-399 opg) e alta intensidade ( $\geq 400$  opg) (WHO, 2002).

#### 5.4.3 Exame referência

Para a esquistossomose mansoni, a técnica Kato/Katz foi utilizada como exame referência na avaliação das demais metodologias parasitológicas.

Para as parasitoses intestinais foi utilizado o “Padrão Ouro”, determinado pela união dos resultados positivos obtidos pelas quatro metodologias parasitológicas (ENK et al.2008b; SIQUEIRA, 2011b).

#### 5.4.4 Concordância diagnóstica

O grau de concordância entre as metodologias diagnósticas utilizadas foi determinado pelo coeficiente kapa. O kapa de Cohen é uma medida de concordância que relaciona a proporção de concordâncias observadas com as esperadas pelo acaso. É dado pelo quociente entre a proporção de concordância observada, menos a proporção de concordância esperada pelo acaso e a concordância máxima (1), menos a concordância esperada pelo acaso. A equação para  $K$  é:

$$\kappa = \frac{\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e)}{1 - \text{Pr}(e)},$$

onde  $\text{Pr}(a)$  é a concordância observada e  $\text{Pr}(e)$  é a concordância esperada. Para avaliar os valores de Kapa, Landis e Koch (1977) sugeriram a seguinte escala (TABELA 1).

Tabela 1 - Níveis de concordância do índice Kapa.

<b>Valores de Kapa:</b>	<b>Concordância</b>
<0	nenhuma
0,00 a 0,20	pobre
0,21 a 0,40	razoável
0,41 a 0,60	moderada
0,61 a 0,80	substancial
0,81 a 1,00	quase perfeita

Fonte: LANDIS E KOCH, 1977.

#### 5.4.5 Custo-efetividade

Parâmetros como custo e efetividade foram avaliados, no sentido de selecionar a metodologia de melhor custo-efetividade como uma das estratégias de controle a serem implementadas na área de estudo.

Estes parâmetros foram definidos como sendo:

a) Custo - valor monetário dispendido para aquisição de material de consumo necessário para a realização de um teste diagnóstico.

Para a técnica Kato/Katz e para os Kits Midi Parasep® e Paratest® o custo foi o valor de compra estipulado pelos fornecedores. Já para a técnica de sedimentação espontânea, o custo foi o valor gasto para aquisição dos Kits dividido pelo número total de exames realizados com estes Kits.

b) Efetividade - é a capacidade das metodologias atingirem os resultados pretendidos, ou seja, detectar os casos positivos;

#### 5.4.6 Grau de exposição

É o tempo de exposição à agentes potencialmente infecciosos durante o processamento da amostra biológica e execução dos procedimentos técnicos para a realização do exame parasitológico.

Para categorizar os graus de exposição ao material fecal foi utilizado um símbolo (TABELA 2).

Tabela 2 - Categorias de grau de exposição ao material fecal.

<b>Grau de exposição</b>	
+	Baixo (até 1 minuto)
++	Médio (de 1 a 3 minutos)
+++	Alto (acima de 3 minutos)



## 6 RESULTADOS

### 6.1 Positividade da esquistossomose

A taxa de positividade da esquistossomose mansoni obtida pela técnica Kato/Katz foi de 1,8%. Pela técnica de sedimentação espontânea e pelo Kit Paratest® foi detectada uma positividade de 0,45%. Já a taxa de positividade obtida pelo Kit Midi Parasep® foi de 0,23% (TABELA 3).

Tabela 3 - Taxas de positividade da esquistossomose mansoni detectadas pelas quatro metodologias parasitológicas.

Metodologia	Positividade (%)
Kato/Katz	1,8 <sup>a</sup>
Sedimentação espontânea	0,45 <sup>b</sup>
Midi Parasep®	0,23 <sup>b</sup>
Paratest®	0,45 <sup>b</sup>

a,b Taxas de positividade seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

Para verificar a igualdade entre as proporções de exames positivos, foi feito o teste Qui-quadrado. Constatou-se que as proporções são estatisticamente diferentes ( $p < 0,01$ ).

### 6.2 Intensidade de infecção

A carga parasitária da população foi de 28 opg sendo considerada uma carga parasitária baixa (1-99 opg).

A distribuição dos participantes segundo a carga parasitária foi de: 7 indivíduos com carga parasitária baixa (1-99 opg) e 1 indivíduo com carga parasitária moderada com 264 opg. Todos os pacientes positivos para esquistossomose mansoni foram tratados com praziquantel na dosagem de 50mg/kg. Dos 8 indivíduos positivos 4 (2,15%) eram do gênero feminino e 4 (1,56%) do gênero masculino indicando que a infecção com esquistossomose mansoni nesta população não está relacionada com o gênero, não havendo predominância de um gênero sobre o outro para o risco de infecção.

### 6.3 Concordância das metodologias diagnósticas com o “Exame referência”

Foi utilizado o índice Kapa para verificar a concordância entres as metodologias diagnósticas.

A técnica de sedimentação espontânea e o Kit Paratest® detectaram 2 indivíduos positivos para *S. mansoni*. Estes dois indivíduos foram os mesmos detectados por ambas as metodologias. A técnica de sedimentação espontânea e o Paratest® não detectaram 6 indivíduos positivos detectados pelo “Exame referência” (TABELAS 4 e 5).

Tabela 4 - Comparação entre a técnica de sedimentação espontânea e o “Exame referência” no diagnóstico da esquistossomose mansoni.

<b>Sedimentação espontânea</b>	<b>“Exame referência”</b>		
	Positivo	Negativo	
Positivo	2	0	2
Negativo	6	434	440
Total	8	434	442

Índice Kapa: 0,4

Tabela 5 - Comparação entre o Kit Paratest® e o “Exame referência” no diagnóstico da esquistossomose mansoni.

<b>Paratest®</b>	<b>“Exame referência”</b>		
	Positivo	Negativo	
Positivo	2	0	2
Negativo	6	434	440
Total	8	434	442

Índice Kapa: 0,4

O kit Midi Parasep® detectou 1 indivíduo infectado por *S. mansoni*. Esta infecção foi a mesma detectada pelas demais metodologias. O Midi Parasep® não detectou 7 indivíduos positivos detectados pelo “Exame referência” (TABELA 6).

Tabela 6 - Comparação entre o Kit Midi Parasep® e o “Exame referência” no diagnóstico da esquistossomose mansoni.

Midi Parasep®	“Exame referência”		
	Positivo	Negativo	
Positivo	1	0	1
Negativo	7	434	441
Total	8	434	442

Índice Kapa: 0,20

De acordo com estes resultados, a técnica de sedimentação espontânea e o Kit Paratest® apresentaram uma concordância *razoável* com o “Exame referência”. Já o Kit Midi Parasep® apresentou uma concordância *pobre* com o “Exame referência” (TABELA 7).

Tabela 7 - Concordância diagnóstica das diferentes metodologias em relação ao “Exame referência”, utilizando o índice kapa.

Metodologia	Índice K	Classificação K
Sedimentação espontânea	0,40	razoável
MidiParasep®	0,20	pobre
Paratest®	0,40	razoável

#### 6.4 Análise de Custo-efetividade

O custo unitário do exame parasitológico de fezes para cada metodologia é apresentado na Tabela 8 (Orçamentos obtidos em maio de 2012).

Tabela 8 - Custo de material de consumo utilizado para realização do exame parasitológico de fezes.

Metodologia	Custo unitário (R\$)
Kato/Katz	0,82*
Sedimentação espontânea	0,48*
Midi Parasep®	3,10*
Paratest®	1,65*

\* Sem incluir os custos operacionais: treinamento de pessoal, mão-de-obra da categoria profissional, frascos de coleta e microscópios.

A realização do diagnóstico parasitológico, pela técnica Kato/Katz e pelos Kits Midi Parasep® e Paratest® exige o uso de reagentes e outros materiais de consumo, que também não foram incluídos na composição do custo unitário do exame. Já a técnica de sedimentação espontânea é um procedimento simples, que se baseia na sedimentação em água sem a necessidade de reagentes. Para calcular o custo de um exame diagnóstico pela técnica de sedimentação espontânea foi considerado o valor gasto para aquisição de 200 kits. A cotação feita para 1 Kit (1 cálice de vidro, 1 funil de vidro, 1 tamis) foi de R\$ 24,00. Estimou-se que com 200 Kits são realizados 10.000 exames parasitológicos. Assim, o total dispendido para aquisição de 200 Kits foi dividido pelo total de exames realizados, obtendo-se assim o custo de cada exame.

### 6.5 Avaliação do Grau de exposição

Analisando o Grau de exposição sobre a ótica da interação do manipulador com o material biológico, ou seja, o tempo de exposição/contato do analista com a amostra biológica, a técnica de sedimentação espontânea é a que apresenta maior risco de contaminação com as formas infectantes dos parasitos, àqueles que trabalham em laboratórios clínicos, seguida pela técnica Kato/Katz e pelos Kits Midi Parasep® e Paratest® (TABELA 9).

Tabela 9 - Graus de exposição ao material fecal.

Metodologia	Grau de exposição
Kato/Katz	++
Sedimentação espontânea	+++
Midi Parasep®	+
Paratest®	+

### 6.6 Positividade das parasitoses intestinais

Pelo “Padrão Ouro”, foram encontrados 97 (21,9%) indivíduos parasitados (TABELA 10).

Tabela 10 - Taxas de positividade das parasitoses intestinais detectadas pelas quatro metodologias parasitológicas.

<b>Metodologia</b>	<b>Positividade (%)</b>
Kato/Katz	5,2 <sup>a</sup>
Sedimentação espontânea	19,5 <sup>b</sup>
Midi Parasep®	17,6 <sup>b</sup>
Paratest®	18,3 <sup>b</sup>
“Padrão Ouro”	21,9

a,b Taxas de positividade seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

Por meio do teste Qui-quadrado verificou-se que houve diferença estatisticamente significativa entre as proporções exames positivos ( $p < 0,01$ ) (TABELA 10).

A proporção de detecção de indivíduos positivos pela técnica Kato/Katz (5,2%) foi significativamente menor ( $p < 0,01$ ) que a proporção de detecção pela técnica de sedimentação espontânea e pelos Kits Midi Parasep® e Paratest®. A técnica de sedimentação espontânea detectou 19,5% de exames positivos. O Kit Midi Parasep® detectou 17,6% e pelo Paratest® 18,3% dos exames foram positivos.

A técnica Kato/Katz detectou o maior número de exames positivos em todas as infecções helmínticas, exceto para *Hymenolepis nana* e *Strongyloides stercoralis*. A técnica de sedimentação espontânea detectou um maior número de exames positivos para os protozoários intestinais, *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia*. Os Kits Midi Parasep® e Paratest® falharam em detectar cistos, ovos de helmintos bem como larvas de *S. stercoralis* (TABELA 11).

Tabela 11 - Comparação da taxa de positividade de acordo com a metodologia diagnóstica, em 442 amostras fecais de migrantes de Arceburgo, Botelhos e Campos Gerais, Minas Gerais.

<b>Parasito</b>	<b>Kato/Katz (%)</b>	<b>Sedimentação espontânea (%)</b>	<b>Midi Parasep® (%)</b>	<b>Paratest® (%)</b>
<i>Endolimax nana</i> *	NA	0,23	0,23	0,23
<i>Entamoeba coli</i> *	NA	12,4	11,9	11,5
<i>Entamoeba histolytica</i>	NA	0,45	0,23	0,45
<i>Giardia lamblia</i>	NA	4,52	4,30	3,85
Ancylostomatidae	0,90	0,90	0,68	0,90
<i>Ascaris lumbricoides</i>	0,45	0,45	0,23	0,45
<i>Enterobius vermicularis</i>	0,45	0,23	0,00	0,23
<i>Hymenolepis nana</i>	0,23	0,45	0,45	0,45
<i>Schistosoma mansoni</i>	1,81	0,45	0,23	0,45
<i>Strongyloides stercoralis</i>	NA	0,45	0,45	0,90
<i>Taenia</i> sp.	0,45	0,45	0,45	0,45
<i>Trichuris trichiura</i>	1,36	0,90	0,68	0,90

\* Comensais.

NA: Não aplicável.

## 7 DISCUSSÃO

O perfil da esquistossomose no Brasil mudou ao longo de décadas de programas de controle. Apesar do tratamento eficaz e da consequente redução na mortalidade e na morbidade, a doença expandiu-se geograficamente (ENK, 2007). A doença continua a ser um problema de saúde pública no Brasil tendo em vista o seu potencial de expansão (CARDIM et al., 2011).

Sabe-se que três condições são indispensáveis para a disseminação da esquistossomose: falta de infraestrutura sanitária, presença de hospedeiros intermediários susceptíveis e a migração de indivíduos parasitados. Associa-se a isto, o problema da falta de sucesso diagnóstico devido à baixa sensibilidade apresentada pelas metodologias disponíveis (DE VLAS E GRYSSELS, 1992; ENGELS et al., 1996.; KONGS et al., 2001). Daí a importância do diagnóstico coparasitológico para identificação dos casos positivos.

Para o diagnóstico parasitológico de fezes, a técnica Kato/Katz é atualmente a mais utilizada porque é uma técnica quantitativa, relativamente simples, rápida e de baixo custo. Entretanto, é cientificamente conhecido e bem documentado que a técnica Kato/Katz é pouco efetiva para a detecção de indivíduos positivos com baixa carga parasitária (FELDMEIER; POGGENSEE, 1993; KONGS et al., 2001). Esta técnica é ainda menos efetiva para o diagnóstico da esquistossomose mansoni, quando se analisa uma lâmina de uma única amostra.

Em nosso estudo, com duas lâminas do “exame referência”, a técnica Kato/Katz, detectamos uma positividade de 1,8%, sendo que em 4 pacientes foi encontrado apenas um ovo de *S. mansoni*. Nossos resultados confirmam que a prevalência obtida com uma única lâmina de Kato/Katz tem sido significativamente subestimada, principalmente em áreas de baixa endemicidade.

É possível melhorar a sensibilidade da técnica Kato/Katz aumentando a quantidade de material fecal examinado (aumentando o número de amostras) e/ou aumentando o número de lâminas examinadas.

Um maior número de positivos foi detectado com o aumento do número de lâminas de uma para três, a partir de uma única amostra de fezes por Berhe et al., 2004, Enk et al., 2008b, Pinheiro et al., 2010 e Carneiro et al., 2012.

Entretanto, há um consenso geral que o número de positivos detectados é maior com o aumento do número de amostras, do que com o aumento do número de lâminas examinadas de uma única amostra (RABELLO et al., 1992; YU et al., 1998; ENK et al., 2008b; LIN et al., 2008; SIQUEIRA et al., 2011a). Isto ocorre devido à variação de ovos nas fezes ser maior entre dias diferentes do que entre lâminas de uma mesma amostra, indicando que o exame de fezes obtido de amostras de múltiplos dias seria ideal para se estimar a prevalência com maior acurácia (UTZINGER et al., 2001).

Frente à baixa sensibilidade da técnica Kato/Katz tem-se buscado técnicas diagnósticas alternativas que combinem altas taxas de sensibilidade, com baixo custo e com menores riscos de infecção ao profissional de laboratório.

Dessa demanda, surgem os Kits comerciais, com objetivo de diminuir os riscos de infecção, evitar a utilização de utensílios (vidrarias) na etapa de processamento, economizar espaço físico do laboratório, bem como aumentar a praticidade e rapidez do diagnóstico, ou seja, otimizar todo o processo diagnóstico laboratorial.

A técnica Kato/Katz tem sido utilizada como referência na avaliação de outras metodologias diagnósticas (LIN et al., 2008). Neste estudo três metodologias diagnósticas (a técnica de sedimentação espontânea, o Kit Midi Parasep® e Paratest®), foram avaliadas utilizando a técnica Kato/Katz como referência.

Dentre as técnicas qualitativas, a técnica de sedimentação espontânea de Lutz (LUTZ, 1919) aperfeiçoada por HOFFMAN et al. (1934), é a mais comumente empregada na rede pública de saúde e no dia-a-dia dos laboratórios (BRASIL, 1998), visto que possui baixa complexidade e baixo custo de execução.

O Kit Midi Parasep® concentrador de parasitos fecais, é um sistema fechado que emprega o princípio da técnica de sedimentação formol-éter de Ridley-Allen (SAEZ et al., 2011). Já o Kit Paratest® é um sistema, cujo princípio é o mesmo da sedimentação espontânea. Este Kit foi escolhido pela Organização Mundial da Saúde como uma das tecnologias diagnósticas mais inovadoras existentes no mercado mundial. Poucos trabalhos mencionam o uso desses novos Kits no diagnóstico da esquistossomose mansoni.

Em nosso estudo, o Kit Paratest® detectou apenas 2 indivíduos com esquistossomose mansoni. A detecção destes positivos demonstram uma



significativa subestimação da doença em 4 vezes pelo Paratest®. Uma baixa positividade para *S. mansoni* também foi encontrada por Pereira et al. (2008) em estudo realizado com crianças de Campos dos Goytacazes-RJ. Outros estudos realizados por Brandelli et al. (2011) e Gonçalves et al. (2014) utilizando este mesmo Kit, não demonstraram a presença de ovos de *S. mansoni* nos exames realizados.

Inicialmente proposta para o diagnóstico da esquistossomose mansoni, a técnica de sedimentação espontânea falhou em detectar ovos de *S. mansoni*. Vários trabalhos confirmam a menor efetividade desta técnica em detectar ovos de *S. mansoni* (COURA; CONCEIÇÃO, 1974; CHAVES et al., 1979; SANTOS et al., 2005; DE CARVALHO et al., 2012). Nestes trabalhos a taxa de positividade para *S. mansoni* foi 2 vezes maior na técnica Kato/Katz, quando comparado à técnica de sedimentação espontânea. Nosso estudo, demonstrou situação semelhante à encontrada por aqueles autores, com a técnica Kato/Katz revelando 4 vezes mais casos de *S. mansoni* que a técnica de sedimentação espontânea.

O desempenho do Midi Parasep® foi inferior às demais metodologias. Este Kit detectou apenas um exame positivo para esquistossomose mansoni. Estudo realizado por Lier et al. (2009) demonstrou que o Midi Parasep® não oferece vantagem em comparação à técnica Kato/Katz em infecções de baixa intensidade por *S. japonicum*.

A menor efetividade da técnica de sedimentação espontânea e dos Kits Midi Parasep® e Paratest® pode ser comprovada pelo grau de concordância diagnóstica. A concordância destas metodologias com a técnica Kato/Katz (exame referência) foi razoável para a técnica de sedimentação espontânea e Paratest® e pobre para o Midi Parasep®. A baixa concordância encontrada para o diagnóstico de *S. mansoni* é explicada pelo fato de que as três metodologias detectaram menos casos positivos do que a técnica Kato/Katz, confirmando-se assim o Kato/Katz o melhor teste para a detecção do referido parasito.

Além de revelar casos positivos não identificados pelas demais metodologias, a técnica Kato/Katz apresenta um baixo custo para realizar o exame de fezes, cerca de R\$ 0,82/exame. O custo estimado para realizar o exame de fezes pela técnica de sedimentação espontânea e pelos Kits Midi Parasep® e Paratest® são respectivamente, R\$ 0,48/exame, R\$ 3,10/exame e R\$ 1,65/exame.

Assim como nos outros laboratórios relacionados à área da saúde, nos laboratórios de parasitologia a atitude do profissional concentra-se no princípio básico da biossegurança – a prevenção. Em um laboratório de parasitologia os profissionais manipulam diferentes agentes biológicos potencialmente infecciosos e, portanto, é indispensável que tal ambiente seja controlado (DE CARLI, 2007). O processamento laboratorial das amostras fecais é uma, dentre as etapas realizadas em um laboratório de parasitologia, mais propensas à contaminação dos profissionais de laboratório.

Neste estudo todas as condições de segurança para minimização de riscos, tais como o uso de equipamentos de proteção individual (EPI), adoção de procedimentos e o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, foram seguidas.

Entretanto, valemo-nos do tempo de exposição do profissional de laboratório ao material fecal, para determinarmos a metodologia que oferece maiores riscos de contaminação.

Nas técnicas de sedimentação espontânea e Kato/Katz o grau de exposição ao material biológico é maior do que nos Kits Midi Parasep® e Paratest®. Nas técnicas, durante as etapas de processamento do material fecal não há vedação, ficando o profissional de laboratório exposto às fezes. Nos Kits a exposição ao material fecal é menor. Neles faz-se a inserção do material fecal no frasco ou tubo, seguido da vedação com tampas de rosca para reduzir o risco de exposição ao material biológico.

Em relação às parasitoses intestinais, a menor positividade obtida pela técnica Kato/Katz é explicada pelo fato da técnica não ser adequada à detecção de cistos de protozoários, larvas de helmintos, baixa carga de ovos ou ovos de casca fina, como os de ancilostomídeos (KONGS et al., 2001).

Apesar disso, a técnica Kato/Katz detectou o maior número de exames positivos em todas as infecções causadas por helmintos, exceto para *Hymenolepis nana* e *Strongyloides stercoralis*. A menor efetividade da técnica kato/Katz em diagnosticar *H. nana* foi também confirmada por Steinmann et al. (2012).

Na técnica Kato/Katz preconiza-se que a análise da lâmina seja feita imediatamente após a sua preparação para a identificação de Ancilostomídeos e de *H. nana*, pois após certo período os ovos tornam-se difíceis de serem reconhecidos (CHAVES et al., 1979; ROCHA, 2011). Estudo comparativo realizado por De

Carvalho et al., (2012), demonstrou que a técnica Kato/Katz apresentou as maiores taxas de positividade para detecção de helmintos dentre cinco métodos coproparasitológicos estudados. Entretanto, apresentou a menor taxa de positividade para Ancilostomídeos dentre os cinco métodos.

Os dados obtidos em nosso estudo diferem dos encontrados por Santos et al. (2005), que compararam a técnica de sedimentação espontânea com a técnica Kato/Katz para o diagnóstico de helmintoses intestinais. No estudo de Santos et al. (2005) a técnica de sedimentação espontânea foi mais efetiva em detectar casos de *Trichuris trichiura* e *Enterobius vermicularis*. Já em nosso estudo, a técnica Kato/Katz é que foi mais efetiva na detecção dos referidos parasitos.

Resultados apresentados por Funk et al. (2013) indicam melhor desempenho da técnica Kato/Katz, em relação ao Midi Parasep® no diagnóstico de Ancilostomídeos e de *T. trichiura*. Isto corrobora nosso estudo, onde as prevalências para ambos parasitos no Midi Parasep® foi de 0,68%, enquanto, na técnica Kato/Katz as prevalências para Ancylostomatidae e *T. trichiura* foram 0,9% e 1,36%, respectivamente. Neste mesmo estudo o Midi Parasep® apresentou melhor desempenho na detecção de *Ascaris lumbricoides*. Diferentemente de nosso estudo onde, o desempenho da técnica Kato/Katz foi melhor que o do Kit Midi Parasep® no diagnóstico de *A. lumbricoides*.

Brandelli et al. (2011) avaliaram comparativamente a técnica de sedimentação espontânea e o Kit Paratest®. Neste estudo, o Paratest® não detectou ovos de *T. trichiura* e nem larvas de *S. stercoralis*. Em contrapartida, nossos dados mostram que o Paratest® apresentou o melhor resultado na detecção de larvas de *S. stercoralis*. Além disso, o Paratest® apresentou a menor efetividade na detecção do protozoário parasito *Giardia lamblia*.

Diante dos resultados obtidos observamos que todas as metodologias parasitológicas estudadas apresentam desvantagens sejam elas, operacionais, financeiras, ou relacionadas às características intrínsecas dos testes (sensibilidade).

Entretanto, o diagnóstico coproparasitológico é uma das atividades de controle preconizadas pelo PCE e atualmente é responsabilidade dos municípios executarem estas atividades.

Assim, a decisão por qual metodologia diagnóstica adotar dependerá do objetivo do programa, das condições de infra-estrutura e recursos financeiros e da realidade epidemiológica da área (RABELLO et al., 2008).

Nesse âmbito, a mesorregião sul/sudoeste de Minas Gerais caracteriza um quadro que merece atenção especial no que diz respeito ao controle da esquistossomose. A região importa mão-de-obra (Trabalhadores volantes) de áreas endêmicas para esquistossomose mansoni, para trabalharem nas safras agrícolas (corte da cana-de-açúcar e “panha” de café). Esse êxodo tem sido apontado como um dos fatores responsáveis pela expansão da esquistossomose (BARBOSA et al., 2001) e pode vir a ser a causa da formação de um quadro endêmico na mesorregião sul/sudoeste de Minas Gerais.

Os três municípios estudados recebem indivíduos originários de áreas endêmicas do Nordeste, principalmente da Bahia, Paraíba, Pernambuco, Maranhão, assim como da porção setentrional do estado de Minas Gerais. Estes indivíduos são vítimas, algumas vezes, do desenvolvimento de modelos excludentes de industrialização e da expansão capitalista no campo e migram atraídos por melhores condições de vida.

A migração destes indivíduos provoca um acréscimo na população destas cidades, que são de pequeno porte, e a falta de estrutura nas cidades para receber esta mão-de-obra migrante, já apresenta indícios de um processo de marginalização da população com uma grande parcela dos indivíduos vivendo em condições precárias nas periferias destes municípios, formando comunidades de migrantes nos bairros periféricos.

Por outro lado, devido à sazonalidade das culturas de café e da cana de açúcar, muitos migrantes moram em alojamentos coletivos, em quartos ou casas alugadas durante as safras. Durante a entressafra eles retornam aos locais de origem e àqueles indivíduos que aqui foram tratados podem se reinfetar e retornar na próxima safra infectados. Outro fato é que os casos que permanecem positivos após o tratamento mantêm prevalências residuais, com os indivíduos fornecendo ovos que podem dar início ao ciclo de transmissão da doença na área.

Apesar dos indivíduos serem de áreas endêmicas para a esquistossomose, a intensidade da infecção da população foi considerada baixa. Embora não pareça relevante, do ovo eclode um miracídio e de um único miracídio podem ser originadas

cerca de 300 mil cercárias (BRASIL, 1998). Considerando esta alta capacidade de reprodução do parasito, onde apenas um miracídio produz milhares de cercárias, uma pequena porção de fezes humanas contendo ovos do parasito que atinja um corpo hídrico e contamine o hospedeiro intermediário, já seria suficiente para instalar um foco de transmissão na área.

Tratando-se os três municípios estudados de áreas vulneráveis para a instalação de focos de transmissão do *S. mansoni*, e tendo em vista o objetivo de evitar o estabelecimento destes focos, preconizamos, assim como o Ministério da Saúde (1998), o exame censitário de todos os migrantes, com a realização de duas lâminas da metodologia de melhor custo-efetividade, a técnica Kato/Katz. A combinação da técnica Kato/Katz com diferentes metodologias (WILLCOX; COURA, 1991), pode ser estabelecida para um diagnóstico mais efetivo das parasitoses intestinais, podendo estas metodologias diagnosticar formas evolutivas incapazes de serem detectadas pelo Kato/Katz (cistos e larvas), na tentativa de revelar resultados mais próximos da prevalência real.

## 8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos apontam uma baixa positividade da esquistossomose mansoni nos migrantes.

A técnica Kato/Katz foi mais custo-efetiva no diagnóstico da esquistossomose mansoni.

Em relação às parasitoses intestinais, a combinação da técnica Kato/Katz com diferentes metodologias pode ser estabelecida para um diagnóstico mais efetivo.

Este estudo reforça a necessidade de uma abordagem que combine diferentes metodologias diagnósticas, com o objetivo de aumentar a probabilidade de detectar indivíduos com baixas cargas parasitárias.

## REFERÊNCIAS

- AAGAARD-HANSEN, J. et al. Social science perspectives on schistosomiasis control in Africa: past trends and future directions. **Parasitology**, v. 136, n. 13, p. 1747-1758, 2009.
- AMARAL, R. S. et al. An analysis of the impact of the Schistosomiasis Control Programme in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, Suppl. 1, p. 79-85, 2006.
- ARAÚJO, N. **Associação de fármacos na terapêutica experimental da esquistossomose mansoni**. 2010. 144f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2010.
- ASHTON, R. A. et al. Accuracy of circulating cathodic antigen tests for rapid mapping of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infections in Southern Sudan. **Tropical Medicine & International Health**, v. 16, n. 9, p. 1099-1103, 2011.
- BARBOSA, C. S. Esquistossomose: reprodução e expansão da endemia no Estado de Pernambuco no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, n. 6, p. 609-616, 1996.
- BARBOSA, C. S. et al. Epidemia de esquistossomose aguda na praia de Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 725-728, 2001.
- BELL, D. R. A new method for counting *Schistosoma mansoni* eggs in faeces with special reference therapeutical trials. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 29, p. 525-530, 1963.
- 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, p. 205-212, 2004.
- BLAGG, W, et al. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 4, p. 23-28, 1955.

BLANCHARD, T. J. Schistosomiasis. **Travel medicine and infectious disease**, v. 2, n. 1, p. 5-11, 2004.

BRANDELLI, C. L. Comparison between spontaneous sedimentation method and Paratest® for the diagnosis of intestinal parasitic infections. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 105, p. 604-606, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Controle da esquistossomose: diretrizes técnicas**. Brasília, DF, 1998.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília, DF, 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica** – Diretrizes Técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE). Brasília, DF, 2007.

CARDIM, L. L. et al. Análises espaciais na identificação das áreas de risco para a esquistossomose mansônica no Município de Lauro de Freitas, Bahia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 5, p. 899-908, 2011.

CARNEIRO, T. R. et al. Increased detection of schistosomiasis with Kato-Katz and SWAP-IgG-ELISA in a Northeastern Brazil low-intensity transmission area. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 4, p. 510-513, 2012.

CARVALHO, O. S. et al. Primeiro encontro de *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) naturalmente infectada com *Schistosoma mansoni*, em Itajubá, sul do estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 19, p. 88-91, 1985.

CARVALHO, O. S. et al. Expansão da esquistossomose mansoni em Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 295-298, 1987.

CARVALHO, O. S. et al. Primeiros casos autóctones de esquistossomose mansoni em região do noroeste do Estado de Minas Gerais Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 237-239, 1988.

CARVALHO, O. S. et al. Esquistossomose no Sudoeste do Estado de Minas Gerais (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v. 23, n. 4, p. 341-344, 1989.



CAVALCANTI, M. G. et al. Schistosomiasis in areas of low endemicity: a new era in diagnosis. **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 2, p. 75-82, 2013.

CHAVES, A. et al. Estudo comparativo dos métodos coprológicos de Lutz, Kato-Katz e Faust modificado. **Revista de Saúde pública**, v. 13, p. 348-352, 1979.

CHITSULO, L. et al. The global status of Schistosomiasis and its control. **Acta Tropica**, v. 77, n. 1, p. 41-51, 2000.

COELHO, P. M. Z. et al. Use of a saline gradiente for the diagnosis of schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 5, p. 720-723, 2009.

COULIBALY, J. T. et al. Accuracy of urine circulating cathodic antigen (CCA) test for *Schistosoma mansoni* diagnosis in different settings of Côte d'Ivoire. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 11, p. e1384, 2011.

COURA, J. R.; CONCEIÇÃO, M. J. Estudo comparativo dos métodos de Lutz, kato e Simões Barbosa no diagnóstico coprológico da esquistossomose mansoni. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 8, n. 3, p. 153-158, 1974.

COURA, J. R.; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 13-19, 2004.

COUTO, F. F. B. et al. Use of fluorescent probes as a useful tool to identify resistant *Schistosoma mansoni* isolates to praziquantel. **Parasitology**, v. 137, p. 1-7, 2010.

CONCEIÇÃO, M. J.; COURA, R. J. Epidemiology of schistosomiasis mansoni in Brazil. In: ROKNI, M. B. **Schistosomiasis**. Rijeka: InTech, 2012. cap. 9, p. 183-192.

DE CARLI, G. A. Biossegurança em laboratórios de parasitologia. In: DE CARLI, G. A. **Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2007.

DE CARVALHO, G. L. X. A comparative study of the TF-Test®, Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 1, p. 80-84, 2012.

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

DIAGNOSTEK. **Comércio de Produtos Científicos**. Disponível em: <[http://www.diagnostek.com.br/arquivos/trabalhos/estudo\\_de\\_estabilidade\\_-\\_rev00.pdf](http://www.diagnostek.com.br/arquivos/trabalhos/estudo_de_estabilidade_-_rev00.pdf)>. Acesso em: 25 mar. 2013.

DIASYS EUROPE LTD. **Midi Parasep® - Fecal Parasite Concentrator**. Disponível em: <<http://www.diasys.com/PDF/DYS002-MidiParasep.pdf>>. Acesso em: 25 mar 2013.

DRUMMOND, S. C. et al. Schistosomiasis control program in the state of Minas Gerais in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 519-523, 2010.

ENGELS, D. et al. Intraspecimen fecal egg count variation in *Schistosoma mansoni* infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 54, n. 4, p. 319-324, 1996.

ENK, M. J. **Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar prevalência e controle de esquistossomose em área de baixa endemicidade (Chonim de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil); recomendações de novas abordagens integradas**. 2007. 75 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2007.

ENK, M. J. et al. A combined strategy to improve the control of schistosomiasis in areas of low prevalence. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 1, p. 140-146, 2008a.

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, p. 222-228, 2008b.

ENK, M. J. et al. Diagnostic accuracy and applicability of a PCR System for the detection of *Schistosoma mansoni* DNA in human urine samples from an endemic area. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 6, p. e38947, 2012.

ESTAMBALE, B. B. et al. The potential of schistosomal skin test as a diagnostic method in the detection of schistosomiasis. **East African Medical Journal**, v. 66, n. 7, p. 485-488, 1989.

- FAUST, E. C. et al. Comparative efficiency of various techniques for the diagnosis of protozoa and helminthes in fezes. **The Journal of Parasitology**, v. 26, p. 241-262, 1939.
- FAVRE, T. C. et al. Directives for schistosomiasis control in endemic areas of Brazil. In: ROKNI, M. B. **Shistosomiasis**. Rijeka: Intech, 2012. cap. 5, p. 103-118.
- FELDMEIER, H.; POGGENSEE, G. Diagnostic techniques in schistosomiasis control. A review. **Acta Tropica**, v. 52, p. 205-220, 1993.
- FUNK, A. L. et al. Comparison of Kato-Katz, ethyl-acetate sedimentation, and Midi Parasep® in the diagnosis of hookworm, *Ascaris* and *Trichuris* infections in the context of an evaluation of rural sanitation in India. **Acta Tropica**, v. 123, p. 265-268, 2013.
- GOMES, L. I. et al. Further evaluation of an updated PCR assay for the detection of *Schistosoma mansoni* DNA in human stool samples. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 8, p. 1194-1196, 2009.
- GONÇALVES, A. Q. et al. Comparison of the performance of two spontaneous sedimentation techniques for the diagnosis of human intestinal parasites in the absence of a gold standard. **Acta tropica**, v. 131, p. 63-70, 2014.
- GUIMARÃES, C. T. et al. Sobre um foco urbano de esquistossomose em área metropolitana da região Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, n. 3, p. 210-213, 1993.
- GRYSSELS, B. et al. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, p. 1106-1118, 2006.
- HAMS, E. et al. The *Schistosoma granuloma*: friend or foe?. **Frontiers in Immunology**, v. 4, n. 89, p. 1-8, 2013.
- HOFFMAN, W. A. et al. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **Puerto Rico Journal of public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p.283-98, 1934.
- JOÃO, R. C. F. **Schistosoma mansoni (Trematoda: Digenea) Sambon, 1907: Diagnóstico ultraestrutural e laboratorial**. 2011. 50f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

JONES, M. K. et al. Tracking the fate of iron in early development of human blood flukes. **The international journal of biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 9, p. 1646-1658, 2007.

JURBERG, A. D. et al. A new miracidia hatching device for diagnosing schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 1, p. 112-114, 2008.

KANAMURA, H. Y. et al. A comparative epidemiologic study of specific antibodies (IgM and IgA) and parasitological findings in an endemic area of low transmission of *Schistosoma mansoni*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 40, p. 85-91, 1998.

KATO, K.; MIURA, M. 1954. Comparative examinations. *Japanese Journal Parasitology*, 3:35. Apud MARTIN, L. K., BEAVER, P. C. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.17, n. 3, 382–391, 1968.

KATZ, N. et al. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 14, n. 6, p. 397-400, 1972.

KATZ, N.; CARVALHO, O. S. Introdução recente da esquistossomose mansoni no sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 78, n. 3, p. 281-284, 1983.

KATZ, N. Schistosomiasis control in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 33-35, 1998.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, Xistosa, Barriga d'água. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 38-43, 2003. Disponível em: <[http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S000967252003000100024&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S000967252003000100024&script=sci_arttext&tlng=en)> Acesso em: 02 dez. 2013.

KING, C. H. et al. Transmission control for schistosomiasis – why it matters now. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 12, p. 575-582, 2006.

KONGS, A. et al. The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluation of *S. mansoni* infections. **Tropical Medicine and International Health**, v. 6, n. 3, p. 163–169, 2001.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data, **Biometrics**, v. 33, n. 1, p. 159–74, 1977.

LIER, T. et al. Low sensitivity of the formol-ethyl acetate sedimentation Concentration technique in low-Intensity *Schistosoma japonicum* Infections. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 2, p. e386, 2009.

LIN, D. D. Routine Kato–Katz technique underestimates the prevalence of *Schistosoma japonicum*: A case study in an endemic area of the People's Republic of China. **Parasitology International**, v. 57, p. 281-286, 2008.

LUTZ, A. O. *Schistosomum mansoni* e a Shistomatose segundo observações feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 11, n.1, p. 121-44, 1919.

MELO, A. L.; COELHO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni* e a esquistossomose. In: NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 12. ed. São Paulo: Atheneu, 2011. p. 209-229.

MONTENEGRO, S. M. L. Immunodiagnosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 4, p. 333-335, 1992.

MORGAN, J. A. T. et al. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: past history and future trends. **Parasitology**, v. 23, p. 211-228, 2001.

NOYA, O. et al. Laboratory diagnosis of Schistosomiasis in areas of low transmission. A review of a line of research. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p. 167-169, 2002.

OLIVEIRA, E. J. et al. ELISA-IgM para diagnóstico da esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 255-261, 2003.

OLIVEIRA, F. A. et al. Responses of the surface membrane and excretory system of *Schistosoma mansoni* to damage and to treatment with praziquantel and other biomolecules. **Parasitology**, v. 132, p. 321-330, 2006.

PARAENSE, W. L. The schistosome vectors in Americas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 7-16, 2001.

PEREIRA, M. A. V. et al. Comparação de dois testes coproparasitológicos, Paratest® e sedimentação/flutuação de ovos, no diagnóstico de parasitoses em crianças de comunidade de baixa renda, de Campos dos Goytacazes, RJ. **Revista Laes & Haes**, v. 29, p. 82-98, 2008.

PINHEIRO, M. C. C. **Avaliação de três métodos coproscópicos para diagnóstico da esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade no Estado do Ceará**. 2010. 82f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

PONTES, L. A. et al. Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 66, p. 157-162, 2002.

PONTES, L. A. et al. Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, n. 6, p. 652-656, 2003.

QUEIROZ, R. F. G. **Desenvolvimento e padronização de novas metodologias aplicadas ao diagnóstico e monitoração de cura da esquistossomose mansoni na fase inicial (aguda) e crônica**. 2012. 166f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2012.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2012.

RABELLO, A. et al. Stool examination and rectal biopsy in the diagnosis and evaluation of therapy of schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 6, p. 601-608, 1992.

RABELLO, A. Diagnosing Schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 5, 669-676, 1997.

RABELLO, A. et al. Diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular da esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008. p. 897-925.

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

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. **Bulletin of the U. S. Army Medical Department**, v. 8, n. 4, p. 326, 1948.

ROCHA, M. O. Exame parasitológico de fezes. In: Neves, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 12. ed. São Paulo: Atheneu, 2011. p. 455-464.

ROLLINSON, D. et al. Time to set the agenda for schistosomiasis elimination. **Acta Tropica**, v. 128, n. 2, p. 423-440, 2012.

ROSS, A. G. et al. Schistosomiasis. **The New England journal of medicine**. v. 346, p. 1212-1220, 2002.

SAEZ, C. A. et al. Comparison between the Midi Parasep and Midi Parasep Solvent Free (SF) faecal parasite concentrators. **Journal of Clinical Pathology**, v. 64, p. 901-904, 2011.

SANTOS, F. L. N. et al. Comparison of the thick smear and Kato-Katz techniques for diagnosis of intestinal helminth infections. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p. 196-198, 2005.

SHANE, H. L. et al. Evaluation of urine CCA assays for detection of *Schistosoma mansoni* infection in Western Kenya. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 1, p. e951, 2011.

SIMÕES BARBOSA, F. A. A method for counting *Schistosoma* eggs in feces. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 11, p. 442-443, 1969.

SIQUEIRA, L. M. V. et al. Evaluation of two coproscopic techniques for the diagnosis of schistosomiasis in a low-transmission area in the state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 7, 844-850, 2011a.

SIQUEIRA, L. M. V. **Avaliação de métodos diagnósticos para esquistossomose mansoni em uma área de baixa endemicidade no município de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil**. 2011b. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2011.

SOARES, L. C. B. et al. Schistosomiasis mansoni: follow-up of control program based on parasitologic and serologic methods in a Brazilian community of low endemicity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 853-859, 2003.

SOUZA, C. P. et al. Geographical Distribution of *Biomphalaria* Snails in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 3, p. 293-302, 2001.

SOUZA, F. P. C. et al. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 9, n. 4, p. 300-307, 2011.

STEINMANN, P. et al. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimatives of people at risk. **The Lancet infectious disease**, v. 6, n. 7, p. 411-425, 2006.

STEINMANN, P. et al. FLOTAC for the diagnosis of *Hymenolepis* spp. infection: proof-of-concept and comparing diagnostic accuracy with other methods. **Parasitology Research**, v. 111, n. 2, p. 749-754, 2012.

STOLL, N. R.; HAUSHEER, W. C. Concerning two options in dilution egg counting: small drop and displacement. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 6, p. 134-145, 1926.

TEIXEIRA, C. F. et al. Detection of *Schistosoma mansoni* eggs in feces through their interaction with paramagnetic beads in a magnetic field. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 1, n. 2, p. e73, 2007.

TELES, H. M. S. et al. Eficiência do diagnóstico coproscópico de *Schistosoma mansoni* em fezes prensadas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 503-507, 2003.

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, p. 537-544, 2001.

UTZINGER, J. et al. Schistosomiasis and neglected tropical diseases: towards integrated and sustainable control and a word of caution. **Parasitology**, v. 136, n. 13, p. 1859–1874, 2009.

VAN DAM, G. J. et al. Diagnosis of schistosomiasis by reagent strip test for detection of circulating cathodic antigen. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5458-5461, 2004.



VAN DER WERF, M. J. et al. Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. **Acta Tropica**, v. 86, n. 2-3, p. 125-39, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites**, Geneva, 1994. Disponível em:

<[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37323/1/9789241544764\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37323/1/9789241544764_eng.pdf?ua=1)>. Acesso em: 05 dez. 2013.

\_\_\_\_\_. **Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis**, Geneva, 2002. Disponível em:

<[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_912.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_912.pdf)>. Acesso em: 05 dez. 2013.

\_\_\_\_\_. **Report of the scientific working group meeting on schistosomiasis for the special programme for research and training in tropical diseases**, Geneva, 2006. Disponível em:

<[http://www.who.int/tdr/publications/documents/swg\\_schisto.pdf](http://www.who.int/tdr/publications/documents/swg_schisto.pdf)>. Acesso em: 13 out. 2013.

\_\_\_\_\_. **The social context of schistosomiasis and its control: an introduction and Annotated bibliography**, Geneva, 2008. Disponível em: <

<http://www.who.int/entity/tdr/publications/documents/social-context-schistosomiasis.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2013.

\_\_\_\_\_. **Weekly epidemiological record**, Geneva, 2011. Disponível em:

<<http://www.who.int/wer/2011/wer8609.pdf>>. Acesso em: 05 dez. 2013.

WILLCOX, H. P.; COURA, J. C. The efficiency of Lutz, Kato-Katz and Baerman-Moraes (adapted) techniques association to the diagnosis of intestinal helminthes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 4, p. 457-460, 1991.

WILLIS, H. H. A simple levitation method for the detection of hookeworm ova. **The Medical Journal of Australia**, v. 6, p. 375-376, 1921.

YU, J. M. Variations in fecal *Schistosoma japonicum* eggs counts. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.59, p. 270-375, 1998.

ZHU, Y. C. Immunodiagnosis and its role in schistosomiasis control in China: A review. **Acta Tropica**, v. 96, p. 130-136, 2005.

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**Universidade Federal de Alfenas . Unifal-MG**  
**Programa de Pós-graduação em Biociências**  
**Aplicadas à Saúde**  
 Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas/MG. CEP 37130-000  
 Fone: (35) 3299-1000 . Fax: (35) 3299-1063



### CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO NO PROJETO DE PESQUISA:

#### “AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA A ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM ÁREA DE BAIXA ENDEMICIDADE.”

A equipe de pesquisa deste projeto convida o Sr. (a): \_\_\_\_\_

para participar do projeto mencionado acima.

#### - Equipe Responsável:

Raquel Lopes Martins Souza (Pesquisadora Coordenadora, Laboratório de Parasitologia Básica / UNIFAL-MG) – Tel.: (35) 3299-1472.

Rosângela Vieira Siqueira (Pesquisadora Colaboradora, Laboratório de Parasitologia Clínica / UNIFAL-MG) – Tel.: (35) 3299-1221.

Dener Pádua Pimenta (Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde / UNIFAL-MG) – Tel.: (35) 3299-1472.

Para mais esclarecimentos entre em contato conosco.

#### - Informações Gerais:

A esquistossomose (xistose, barriga d'água) é uma doença que se adquire no contato com águas que contêm caramujos infectados. Em alguns casos pode produzir barriga d'água e sangramentos (no vômito e nas fezes). Estes casos felizmente são raros porque hoje existem medicamentos que curam a maioria dos doentes.

#### - Descrição da Pesquisa:

**Objetivos:** Avaliar o diagnóstico da esquistossomose enfocando a comparação de quatro métodos de exames de fezes (kato-katz, Lutz-HPJ, Midi Parasep®, Paratest®).

**Descrição do Estudo:** Serão colhidas amostras de fezes. Os exames de fezes irão detectar os ovos dos vermes com mais precisão, podendo facilitar assim, futuramente, o controle da transmissão de doenças.

**Benefícios:** Os participantes que apresentarem infecção detectada pelo exame de fezes serão tratados gratuitamente. Serão também oferecidas informações sobre a doença com o objetivo de evitar a transmissão da esquistossomose e outras verminoses.

**Riscos em potencial:** Os riscos para o participantes são mínimos. Os efeitos colaterais dos medicamentos são poucos e largamente compensados pelos benefícios do tratamento e da cura das verminoses.

**Consentimento:** Com base no exposto, estou ciente dos procedimentos que serão realizados durante este estudo e concordo em participar voluntariamente do mesmo. Tenho conhecimento da importância da minha cooperação e do meu compromisso com o sucesso da pesquisa. Sendo assim, autorizo os pesquisadores a realizarem os exames parasitológicos de fezes.

---

Nome do Participante

---

Assinatura do Participante

---

Assinatura do responsável (em caso de menor de idade)

---

Assinatura do Pesquisador