



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CAMPUS A. C. SIMÕES

ROSE KETHELYN SOUZA AVELINO

**INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni* EM UMA REGIÃO HISTORICAMENTE
ENDÊMICA NO ESTADO DE ALAGOAS: O USO DE DIFERENTES TÉCNICAS
DIAGNÓSTICAS E PADRONIZAÇÃO DE TESTE IMUNOENZIMÁTICO – DADOS
PRELIMINARES**

Maceió-AL

2023

ROSE KETHELYN SOUZA AVELINO

**INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni* EM UMA REGIÃO HISTORICAMENTE
ENDÊMICA NO ESTADO DE ALAGOAS: O USO DE DIFERENTES TÉCNICAS
DIAGNÓSTICAS E PADRONIZAÇÃO DE TESTE IMUNOENZIMÁTICO – DADOS
PRELIMINARES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial à obtenção de título de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Wagner José Nascimento Porto

Maceió, Alagoas

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

A949i Avelino, Rose Kethelyn Souza.
Infecção por *Schistosoma mansoni* em uma região historicamente
endêmica no estado de Alagoas: o uso de diferentes técnicas diagnósticas e
padronização de teste imunoenzimático - dados preliminares / Rose
Kethelyn Souza Avelino. – 2023.
56 f. : il. color.

Orientador: Wagner José Nascimento Porto.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas:
Bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências
Biológicas e da Saúde. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 40-46.
Apêndices: f. 47-56.


1. Esquistossomose. 2. *Schistosoma mansoni*. 3. Testes sorológicos -
Padronização. I. Título.

CDU: 616.995.122 : 616-097

ROSE KETHELYN SOUZA AVELINO


INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni* EM UMA REGIÃO HISTORICAMENTE ENDÊMICA
NO ESTADO DE ALAGOAS: O USO DE DIFERENTES TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS E
PADRONIZAÇÃO DE TESTE IMUNOENZIMÁTICO – DADOS PRELIMINARES

Trabalho de conclusão de curso submetido à banca
examinadora do curso de Bacharelado em Ciências
Biológicas da Universidade Federal de Alagoas e
aprovada em 30 de janeiro de 2023,


Documento assinado digitalmente
 WAGNER JOSE NASCIMENTO PORTO
Data: 15/02/2023 10:35:42-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Orientador- Prof. Dr. Wagner José Nascimento Porto, Universidade Federal de Alagoas

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
 FERNANDA MARIA ARAUJO DE SOUZA
Data: 15/02/2023 11:04:36-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Examinadora Externa – Profa. Dra. Fernanda Maria Araújo de Souza, Faculdade Raimundo Marinho

Documento assinado digitalmente
 CLAUDIA MARIA LINS CALHEIROS
Data: 15/02/2023 13:35:35-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Examinadora Interna – Profa. Dra. Cláudia Maria Lins Calheiros, Universidade Federal de Alagoas

Maceió, Alagoas
2023

Dedico este trabalho aos meus pais, pois nunca mediram esforços para me proporcionar uma boa educação e me auxiliar e incentivar em qualquer momento da minha vida. Com todo amor, carinho e gratidão por tudo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me mantido firme durante toda a minha trajetória e a Nossa Senhora da Conceição pela sua intercessão em meios as adversidades enfrentadas.

A minha família, em especial, a minha mãe e ao meu pai que sempre me apoiaram e me ajudaram com conselhos para nunca desistir.

Ao meu noivo, Daniel Melo, pelo amor, por todo apoio, por acreditar em meu potencial e por me incentivar a nunca desistir dos meus sonhos.

Ao meu professor de biologia e amigo, Rosiel Júnior, por ter me incentivado a conhecer melhor e ter entrado no curso de bacharelado em Ciências Biológicas, e no decorrer dos anos na graduação sempre ter acreditado em minha capacidade.

A todos os meus amigos, que nos momentos de pressão me ajudaram a controlar a ansiedade e nervosismo e também por toda força depositada a mim. De maneira especial, a Ana Rocha, que se tornou como uma irmã conselheira em meio às tribulações da vida pessoal e profissional. Como também, a Rayssa Torres, a Mirele Santos, a Thuelly Rocha, a Gabrielly Rodrigues, a Talita Romão, o Francisco Rubens, o Renato Lima, o Anthony Lopes, dentre tantos outros.

Ao meu orientador Prof. Dr. Wagner Porto pelos inúmeros ensinamentos, mas acima de tudo, muito obrigado pela confiança e apoio, dos quais jamais me esquecerei.

Ao Prof. Dr Muller Ribeiro, por ter confiado em mim e ter me aceitado no laboratório de parasitologia do Setor no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS. Ao Prof. Lucas Anhezini, por ter confiado em meu potencial e ter me dado a primeira oportunidade de conhecer na prática a ciência.

A Dra. Flávia Damasceno, que em meio as adversidades que apareceu agora no finalzinho do curso sempre se dispôs a me ajudar e a dar ótimos conselhos.

A todos os colegas de turma, que de alguma forma fizeram parte da minha trajetória.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram até eu chegar aqui e que torceram por mais esta conquista em minha vida.

RESUMO

A esquistossomose é uma doença ocasionada pelo helminto da classe Trematoda, do gênero *Schistosoma*, espécie *Schistosoma mansoni*. Além disso, é considerada uma enfermidade na área de saúde pública no Brasil, pois existe cerca de 43 milhões de pessoas residentes em áreas de risco de infecção e 7 milhões infectadas. Atualmente, o teste considerado padrão ouro mais utilizado para o diagnóstico de *S. mansoni* é o Kato katz, no entanto, apresenta uma baixa sensibilidade, principalmente em indivíduos com baixa carga parasitária. Desse modo, faz-se necessário a padronização dos testes sorológicos. No entanto, ainda não existe protocolos e antígenos padronizados para serem utilizados como alternativa de diagnóstico pela rede pública. O objetivo do estudo foi efetuar a padronização de teste sorológico de detecção da infecção por *Schistosoma mansoni* em população de região historicamente endêmica para esquistossomose no estado de Alagoas. Sua amostragem populacional foi de uma região endêmica, no bairro Vergel do Lago, Maceió, Alagoas. O presente estudo utilizou as técnicas coparassitológicas (Kato-Katz, HPJ e Helmintex), POC-CCA e Elisa Indireto para a análise das amostras. Das 93 amostras analisadas observou-se uma frequência de infecção por *S. mansoni* de 32,2% (30/93). Além disso, a frequência de positividade foi diferente para cada uma das técnicas analisadas. Das 52 amostras analisadas pelo POC-CCA, 19% (10/52) foram positivas; das 92 amostras analisadas pelo Kato Katz 5% (5/92) e das 91 amostras analisadas pelo HPJ 5% (5/91) foram positivas e para as 27 amostras analisadas pelo Helmintex 66% (18/27) foram positivas. Por fim, os resultados sorológicos obtidos pelo Elisa, são resultados preliminares, que ainda não podem ser utilizados como método para diagnóstico. É de suma importância que mais estudos sejam realizados com um maior número de amostras para a sua padronização. Uma vez padronizado, será uma alternativa de diagnóstico com sensibilidade maior, sendo favorável para diminuir os resultados falso-negativos em indivíduos com carga parasitária baixa.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*; Elisa; Diagnóstico; Parasitose; Esquistossoma.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a disease caused by the helminth of the Trematoda class, of the *Schistosoma* genus, *Schistosoma mansoni* species. In addition, it is considered a public health disease in Brazil, as there are about 43 million people living in areas at risk of infection and 7 million infected. Currently, the test considered the gold standard most used for the diagnosis of *S. mansoni* is the Kato katz test, but it has low sensitivity, especially in individuals with low parasite load. Therefore, it is necessary to standardize the serological tests. However, there are still no protocols and standardized antigens to be used as a diagnostic alternative by the public health system. The objective of this study was to standardize a serological test to detect *Schistosoma mansoni* infection in the population of a region historically endemic to schistosomiasis in the state of Alagoas. The population sample was from an endemic region, in the Vergel do Lago neighborhood, Maceió, Alagoas. The present study used coproparasitological techniques (Kato-Katz, HPJ and Helmintex), POC-CCA and Indirect Elisa for the analysis of the samples. Of the 93 samples analyzed, a frequency of *S. mansoni* infection of 32.2% (30/93) was observed. Furthermore, the frequency of positivity was different for each of the techniques analyzed. From 52 samples analyzed by POC-CCA, 19% (10/52) were positive; from 92 samples analyzed by Kato Katz 5% (5/92) and from 91 samples analyzed by HPJ 5% (5/91) were positive, and for the 27 samples analyzed by Helmintex 66% (18/27) were positive. Finally, the serological results obtained by Elisa are preliminary results that cannot yet be used as a diagnostic method. It is of utmost importance that further studies be carried out with a larger number of samples for its standardization. Once standardized, it will be a diagnostic alternative with greater sensitivity, and will be favorable for reducing false-negative results in individuals with low parasite load.

Keywords: *Schistosoma mansoni*; Elisa; Diagnosis; Parasitosis; *Schistosoma*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Forma de vida adulta de <i>Shistosoma. mansoni</i>	16
Figura 2– Representação das etapas do ciclo de vida do <i>S. mansoni</i> , no meio aquático, no hospedeiro intermediário e finalmente no hospedeiro definitivo.....	17
Figura 3 – Bairro do Vergel do Lago e Lagoa Mundaú no Estado de Alagoas.....	25
Figura 4 – Processo do teste rápido de urina POC-CCA	26
Figura 5 – Resumo esquemático do processamento e visualização das amostras pelo método de Kato-Katz.....	27
Figura 6 – Esquematização do processamento de fezes realizado pelo método de HPJ.....	27
Figura 7 – Esquematização das amostras fecais processadas através do método de Helmintex.....	28
Figura 8 – Gráficos demonstrativos dos dados obtidos a partir dos questionários.....	33
Figura 9 – Prevalência dos infectados pelo <i>S. mansoni</i> por sexo.....	35
Figura 10 – Resultados das análises parasitológicas de fezes e urina dos participantes do estudo.....	35
Figura 11 – Resultado das absorbâncias para o IgG Anti SEA de <i>S. mansoni</i>	36
Figura 12 – Resultado das absorbâncias para o IgG4 Anti SEA de <i>S. mansoni</i>	37
Figura 13 – Resultado das absorbâncias para o IgG4 Anti SWAP de <i>S. mansoni</i>	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Estimativa de carga parasitológica de ovos de S.mansoni em lâmina de Kato-Katz.....	21
Tabela 2 – Quantitativo de exames de positivo para Schistosoma mansoni de acordo com diferentes técnicas de diagnóstico realizadas.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA - Ácido desoxirribonucléico

ELISA - Ensaio de imunoabsorção enzimática

ELISA-I - Elisa indireto

HPJ - Método de Hoffman, Pons e Janer

HTX – Helmintex

ICBS – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

KK - Kato-Katz

LABPAR - Laboratório de Parasitologia

MS - Ministério da Saúde

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCE – Programa de Controle da Esquistossomose

PCR - Reação em cadeia da polimerase

POC-CCA - Teste Rápido De Urina – “Point Of Care” – Antígenos Catódicos Circulantes

SEA – Antígenos solúveis dos ovos de *Schistosoma mansoni* - (soluble egg antigen)

SUS - Sistema Único de Saúde

SWAP – Antígenos solúveis de verme adulto

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFAL - Universidade Federal de Alagoas

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE SÍMBOLOS

% Porcentagem

® Marca Registrada

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Agente etiológico.....	15
2.2 Ciclo de vida.....	16
2.3 Epidemiologia.....	18
2.4 Curso clínico.....	19
2.5 Esquistossomose e seus respectivos testes para diagnósticos.....	20
2.5.1 Diagnóstico coproparasitológico.....	20
2.5.2 Diagnóstico molecular.....	21
2.5.3 Diagnóstico imunológico.....	22
3. JUSTIFICATIVA	23
4. OBJETIVOS	24
4.1 Geral.....	24
4.2 Específicos.....	24
5. MATERIAL E MÉTODO	24
5.1 Tipo de estudo.....	24
5.2 Aspectos éticos	24
5.3 Local de coleta.....	24
5.4 Entrevista com a população alvo do estudo.....	25
5.5 Amostragem e processamento.....	25
5.5.1 POC-CCA.....	26
5.5.2 Kato-Katz.....	26
5.5.3 Sedimentação espontânea, Hoffman, Pons e Janer-(HPJ)	27
5.5.4 Helmintex.....	28
5.5.5 Obtenção de antígenos (SEA) e (SWAP).....	28
5.5.6 Ensaio imunoenzimático – Elisa Indireto.....	29
5.6 Análises estatísticas.....	31
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6.1 População do estudo vive em condições facilitadoras à infecção de <i>S. mansoni</i>	32

6.2 Técnicas diagnósticas apresentam diferentes especificidades na identificação de infecção por <i>S. mansoni</i>	33
7. CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	47
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO E AMBIENTAL ESTUDO SOBRE PARASITÓSES INTESTINAIS E ESQUISTOSSOMOSE – DECIT-2019.....	50
APÊNDICE C - TABELA GERAL DAS AMOSTRAS PROCESSADAS NAS DIFERENTES TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICOS PARASITOLÓGICOS.....	55

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada, conhecida popularmente como “barriga d’água”, causada pelo helminto pertencente à classe Trematoda, *Schistosoma mansoni*, espécie descrita pelo pesquisador brasileiro Manoel Augusto Pirajá da Silva em 1908. Esta doença afeta cerca de 200 milhões de indivíduos em todo o mundo (LLANWARNE. F; HELMBY. H, 2021). No Brasil é considerada uma importante enfermidade na área de saúde pública, com aproximadamente cerca de 43 milhões de pessoas residindo em áreas de risco de infecção e 7 milhões infectadas (ROCHA *et al.*, 2016; ZANARDI *et al.*, 2019). Os indivíduos acometidos pelo parasito geralmente vivem em regiões com condições socio-econômico-sanitárias precárias, em áreas que são consideradas endêmicas, sendo a maior parte localizada nos estados da região nordeste (VITORINO *et al.*, 2012).

Desde 1975, foi instituído o Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) no Brasil, com o intuito de reduzir o número de portadores de esquistossomose, no entanto, ainda ocorre um número de casos significativos no país (KATZ *et al.*, 2000; ROLLEMBERG *et al.*, 2011). Nessa conjuntura, diversos fatores estão associados a manutenção da situação endêmica da doença, como por exemplo, a presença do hospedeiro definitivo suscetível; a ocorrência do hospedeiro intermediário, moluscos do gênero *Biomphalaria*, especificamente *B. glabrata*, compartilhando os mesmos corpos d’água. Além do mais, a falta de saneamento e abastecimento de água potável, aumenta a chance de indivíduos entrarem em contato com coleções de águas facilitando o estabelecimento da infecção (VITORINO *et al.*, 2012). O *B. glabrata*, é o principal vetor da esquistossomose no Brasil e apresenta resistências aos períodos secos; o que favorece a sua manutenção nas áreas endêmicas (ZANARDI *et al.*, 2019). Em conjunto a esses fatores, ocorre o obstáculo ao acesso de serviços de saúde, que ajuda a disseminar a doença e aumentar o número de casos, assim, o Brasil vem se tornando o país com maior número de casos nas Américas (VERJEE, 2019; ROCHA, *et al.*, 2016).

Os movimentos migratórios também contribuíram para o avanço da esquistossomose no país, tendo como por exemplo, o deslocamento desordenado de pessoas da região nordeste para as regiões Sudeste e Sul, como também ao tráfico de escravos africanos (PIMENTA, D. P., 2014). Além do mais, muitos fatores ajudaram para a continuação da infecção e desenvolvimento da doença em novas regiões, tornando-as endêmicas, como, a presença de hospedeiros intermediários susceptíveis, caramujos do gênero *Biomphalaria*, as precárias condições de saúde, falta de saneamento básico e pobreza de uma parte grande da população do país (AMARAL *et al.*, 2006; PIMENTA, D. P., 2014). No Brasil, entre os anos de 2013-

2017 a região nordeste apresentou 6.399 de casos por esquistossoma (SOBRINHO, *et al.*, 2020). As áreas endêmicas desta região localizam-se em uma zona litorânea que compreende os estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Bahia e Sergipe (BINA; PRATA, 2003; BRASIL, 2009; KATZ; PEIXOTO, 2000; LENGELER *et al.*, 2002; OLIVEIRA, S.A.V., 2015). Além disso, é a região brasileira com maior número de infectados como também grande mortalidade referente a esquistossomose (FERREIRA; SILVA, 2007; OLIVEIRA, S.A.V., 2015).

Uma importante medida para o controle da doença em áreas endêmicas é o diagnóstico associado a terapêutica dos indivíduos infectados. O teste considerado padrão-ouro, o qual baseia-se na identificação de ovos do parasito no exame coproparasitológico de fezes, é o Kato-Katz (ARAÚJO *et al.*, 2003). Essa técnica tem por característica ser de fácil e rápida execução, devido a vantagem de ser qualitativa e quantitativa, logo, capaz de computar o número de ovos por grama de fezes (ROLLEMBERG *et al.*, 2011). Entretanto, apesar desse método ser amplamente empregado e se mostrar eficaz para o ato de detecção do parasito *S. mansoni*, muitos indivíduos infectados de áreas endêmicas e que foram submetidos às medidas de controle, podem apresentar uma baixa carga parasitária. Com isso, o diagnóstico através do exame parasitológico de fezes mencionado torna-se pouco sensível. Portanto, é necessária a efetivação de outros métodos que obtenham uma maior sensibilidade para detecção dos indivíduos infectados com baixa carga de *S. mansoni* afim de diminuir os resultados falsos negativos (ROLLEMBERG *et al.*, 2011; ENK *et al.*, 2008; SIQUEIRA *et al.*, 2015).

Nessa perspectiva, os testes sorológicos são indicados como uma alternativa de sensibilidade maior para o diagnóstico da esquistossomose. No entanto, limitações devido a sua especificidade e diferenciação de infecções ativas e passivas necessitam de uma melhor avaliação para serem superadas (WEERAKOON *et al.*, 2015). O método ELISA (do inglês *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*), vem sendo considerado um dos mais adaptados em aplicação de estudos populacionais por proporcionar a automação, como também obter ensaios quantitativos. No entanto, o seu uso ainda é limitado por não apresentar reagentes comerciais aplicáveis para o diagnóstico da esquistossomose.

Assim, apesar do método de ELISA-IgM, especificamente, ter demonstrado resultados promissores para o diagnóstico da esquistossomose, é de suma importância mais estudos avaliativos para a adaptação do método em condições laboratoriais diversas (OLIVEIRA *et al.*, 2003; DEELDER; KORNELIS, 1980). Além disso, faz-se necessário padronizá-lo com o

intuito de analisar a sua performance como uma ferramenta diagnóstica para levantamentos epidemiológicos mesmo em regiões com baixa endemicidade para a doença.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Agente etiológico

O *Schistosoma mansoni* está presente no filo Platyhelminthes, classe trematoda e gênero *Schistosoma*. São vermes achatados dorsoventralmente digenéticos, ou seja, organismos que ao decorrer de seu ciclo biológico, passam tanto pela reprodução sexuada como assexuada. É um parasito dioico com vários estágios, sendo estes: helmintos adultos, machos e fêmeas, ovos, miracídeos, esporocistos, cercárias e esquistossômulos (PIMENTA, D. P., 2014). Os vermes adultos de *S. mansoni* são de cor branca ou acinzentada, possui um corpo cilíndrico e duas ventosas, oral e ventral, as quais são estruturas essenciais para a fixação do verme adulto no hospedeiro, bem como, tem um tegumento complexo e são de sexos separados. (GRYSSELS et al., 2006).

O macho tem cerca de 1 cm de comprimento, possui tegumento coberto por minúsculos espinhos e tubérculos, no qual se renova continuamente, o que o ajuda a escapar das ações do sistema imune do hospedeiro. Como também, muitas proteínas do hospedeiro são incorporadas nesse tegumento o que permite a sua camuflagem frente ao sistema imunológico. O parasito também, possui sulco longitudinal que são dobras na lateral do corpo para acomodar formando o canal ginecóforo e fertilizar a fêmeas. Já as fêmeas têm um corpo fino e longo, medindo cerca de 1,5 cm, o seu tegumento é liso. Quando a fêmea se aloja no canal ginecóforo, o macho secreta hormônios que estimulam a maturação sexual da fêmea, e após o acasalamento acontece a migração do casal em direção as veias do plexo mesentérico. Ao atingir as veias do plexo mesentérico, o macho fixa suas ventosas de forma alternada, para facilitar a movimentação. Como também utiliza seus espinhos e musculatura para dar apoio nas paredes dos vasos, assim, atingem as vênulas do plexo mesentérico inferior e a fêmea inicia sua oviposição. Um fato interessante a ser mencionado é que uma fêmea produz aproximadamente 300 ovos diariamente, em contrapartida apenas 35% são liberados nas fezes, pois a maioria dos ovos ficam nos tecidos, resultando assim, em uma inflamação (Figura 1) (HAMS et al., 2013; PIMENTA, D. P., 2014).

Figura 1 – Forma de vida adulta de *Shistosoma. mansoni*



Vermes adultos de *S. mansoni*. Visualização na objetiva de 4x. Fêmeas (A); macho (B) e casal acoplados (C).

Fonte: Acervo do LABPAR

2.2 Ciclo de vida

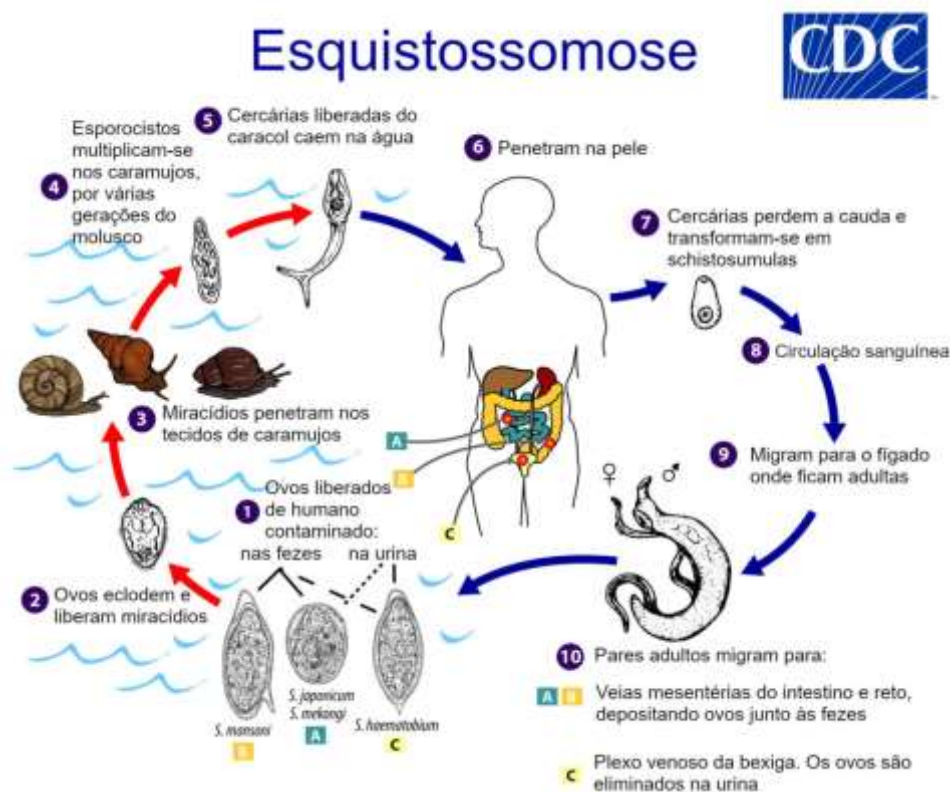
O ciclo do *S. mansoni* é complexo, necessita de dois hospedeiros para a manutenção do seu ciclo de vida. Sendo então, o molusco do gênero *Biomphalaria*, o hospedeiro intermediário e o homem o hospedeiro definitivo. O molusco é infectado pela forma de miracídio e o homem, infecta-se pela penetração da cercária. No homem, a cercária evolui para sua fase adulta bem como realiza a sua maturação sexual. A eliminação de ovos pelas fezes de portadores da doença pode acarretar na contaminação de repositórios de águas e assim, liberar o miracídio, como também o ovo pode permanecer viável no solo entre 2 a 5 dias, devendo logo ter contato com o meio líquido, para evitar a dessecação (PASSOS; AMARAL, 1999; FROTA. S. M, 2008).

O miracídio é o embrião presente interiormente no ovo maduro, por conseguinte, é um organismo bastante móvel em ambiente aquático devido aos inúmeros cílios em sua morfologia e ao seu sistema muscular. Sua expectativa de vida é curta, tendo que penetrar no molusco no mesmo dia da sua eclosão. Cerca de 48 horas, após a penetração no hospedeiro intermediário e graças as suas glândulas de penetração, o miracídio perde o epitélio e evolui para a forma de um esporocisto primário, e cada um deles, dará origem a quatro esporocistos secundários, através de um processo de reprodução assexuada. Os esporocistos secundários se diferenciam em cercárias. Por fim, em um período de 4 a 7 semanas após a infecção do molusco pelo miracídio, este inicia a liberação das cercárias.

As cercárias possuem uma cauda bifurcada e o corpo com duas ventosas e glândulas de penetração. É importante salientar que a eliminação das cercárias pelo molusco cumpre um

ritmo regulado pela luz, no qual é iniciado por volta das 9 horas matinal tendo seu pico em torno das 11 - 12 horas e, declina em seguida, sendo então o período mais propício para a infecção humana. A cercária infecta o homem, por meio da penetração de forma ativa na pele e/ou mucosa. Desse modo, as cercárias são atraídas por ácidos graxos e peptídios humanos e quando localizam a pele humana liberam as proteases que estão armazenadas nas glândulas de penetração. Uma vez instaladas nos tecidos do hospedeiro definitivo as cercarias evoluem para esquistossômulos. É válido destacar que quando esta forma entra na circulação sanguínea ou linfática migram para diversos órgãos, especialmente o fígado, no qual é o local onde as formas juvenis se diferenciam sexualmente e crescem, alimentando-se do sangue. Quando os vermes estão adultos, migram para ramos terminais das veias mesentéricas, local onde ocorre a postura inicial. Os vermes mesmo ainda imaturos podem desencadear diversos sinais e sintomas no hospedeiro definitivo, como, microhemorragias e inflamações que provocam diarreias. O tempo total do ciclo da *S.mansoni* leva em torno de 80 dias (Figura 2) (COELHO, 1970; FROTA. S. M, 2008).

Figura 2 - Representação das etapas do ciclo de vida do *S. mansoni*, no meio aquático, no hospedeiro intermediário e finalmente no hospedeiro definitivo



Fonte: Ilustração: Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (Adaptado).

2.3 Epidemiologia

Estudo epidemiológico demonstrou que os estados com maiores prevalências de infecção são: Sergipe (10,67%), Pernambuco (3,77%), Alagoas (3,35%), Minas Gerais (5,81%) e Bahia (2,91%) (KATZ *et al.*, 2018). Além do mais, a morbidade da doença é retratada através de formas graves, nas quais permanecem ligadas à duração e intensidade da infecção, bem como, à resposta imune do hospedeiro referente aos antígenos do parasito em questão (CHEEVER, 1992; ROLLEMBERG *et al.*, 2011). Um fator que acaba por influenciar de forma indicativa a presença da doença, é o ambiente, isso devido às características do ciclo de vida do parasito que necessitam da eliminação de ovos nas fezes no meio ambiente. Tal como, as condições de infecção por *S. mansoni* no Brasil são frequentes em zonas rurais pobres e no Nordeste, por possuir reservas ecológicas dos hospedeiros intermediários; caramujos do gênero *Biomphalaria* (ROLLEMBERG *et al.*, 2011). Assim, tanto as condições ambientais favoráveis como, pobreza generalizada, baixos níveis de higiene e saneamento básico e também a presença de hospedeiros intermediários possibilitam a continuidade de vida dos parasitos longe do hospedeiro definitivo (homem) (COUTINHO *et al.*, 1992; ROLLEMBERG *et al.*, 2011).

O Estado de Alagoas, presente na região Nordeste, possui circunstâncias adequadas para a persistência da esquistossomose referente aos seus aspectos ambientais, como, a presença do molusco transmissor, as desigualdades sociais evidenciadas e o contato humano direto com coleções hídricas. Além disso, dados obtidos no DataSUS demonstram que entre os anos de 2013-2016 correram casos positivos, sendo em 2013, 12.652 casos; 2014 (9.775 casos); 2015 (7.965 casos) e em 2016, 6.416 casos positivos (SILVA *et al.*, 2019). Além do mais, cerca de 70% dos municípios alagoanos são atingidos por essa doença (COUTO J.L.A, 2005; ROCHA T.J.M *et al.*, 2016) como por exemplo, Marechal Deodoro com cerca de 7,54% de risco para a esquistossomose (MS, 2017). É válido ressaltar que este município tem como uma das principais fontes de renda, a pesca. E estes pescadores tem contato mais frequente com a água, sendo, portanto, um grupo com uma alta vulnerabilidade e exposição para a infecção por *S. mansoni* (MELO *et al.*, 2019). Como também os municípios de União dos Palmares, Capela, São José da Laje, Viçosa e Branquinha possuem uma incidência de esquistossomose alta. Tendo então, os municípios alagoanos, um índice elevado desta infecção parasitária. Desse modo, é notório que a esquistossomose é um problema que se enquadra na questão de saúde pública e necessita de um reforço em ações educativas e em ações de infraestrutura para sua erradicação. Além disso, diagnósticos alternativos para esquistossomose que permitam detectar o parasito mesmo em caso de carga parasitaria baixa (SILVA, et al, 2019).

2.4 Curso clínico

Na infecção humana, o *S. mansoni* possui formas diferentes de manifestações clínicas (FROTA, S. M., 2018). A sintomatologia depende do seu estágio de vida no homem em decorrência de resultados clínicos que fazem com que a doença possa ser dividida em duas fases: aguda e crônica. A fase aguda surge logo após a infecção e os sintomas estão mais nítidos, podendo apresentar dermatite cercariana, causada pela penetração das cercárias na pele. As manifestações variam, desde quadro assintomático ou até mesmo dermatite urticariforme, contendo erupção papular, edema e prurido (VITORINO *et al*, 2012). Além disso, com cerca de 5 a 7 semanas após a exposição o paciente pode apresentar um quadro de febre de katayama, caracterizada por linfadenopatia, febre, anorexia, dor abdominal e cefaleia, nesse sentido, esses sintomas podem ser acompanhados por diarreia, náuseas, vômitos ou tosse seca e hepatomegalia que é o aumento do fígado (LAMBERTUCCI J.R, 1993).

Aproximadamente 6 meses após a infecção pode ocorrer a evolução para a fase crônica, na qual o indivíduo apresenta sintomas mais discretos e pode evoluir por alguns anos, bem como, a lesão histopatológica básica ocasionada nessa fase, é o granuloma que se desenvolve em torno dos ovos ou dos vermes adultos e podem ser arrastados pela corrente sanguínea até o fígado ou ficam retidos na parede intestinal, desse modo, os ovos do parasito eliminam antígenos que estimulam a resposta imune celular do corpo. Diversos tipos de células são encontrados nos granulomas, incluindo inúmeros eosinófilos, quando ocorre grande quantidade de ovos nos tecidos os granulomas se fundem dando origem a uma lesão inflamatória difusa (LLANWARNE. F; HELMBY. H, 2021). (Além disso, nesta fase, o indivíduo pode apresentar sintomas e sinais de evolução da patologia em vários órgãos, como intestino, fígado, baço, rins a depender da localização do parasito e da intensidade da carga parasitária. Assim, na forma intestinal pode-se relatar dores abdominais, diarreia com muco ou sangue nas fezes, já a forma hepatoesplênica observa-se o aumento do baço e do fígado. Além disso, esta forma provoca o desenvolvimento de espessamento dos espaços portais e hipertensão portal, o que pode provocar hemorragia digestiva alta por meio do rompimento das varizes esofagogástrica que consiste em séria complicação podendo levar o indivíduo infectados por esquistossomose a óbito (MACHADO MM *et al* 2002; EL-ROOBY, *et al*, 1985). Por fim, na forma renal, pode ocorrer por meio da deposição de imunocomplexos nos glomérulos renais, a perda de proteína através da urina que pode ser de intensidade variável. Assim, deve-se realizar medidas para reduzir os quadros diarreicos, bem como, na forma hepatoesplênica, fazer uso de betabloqueadores (Pordeus. L.C. *et al* 2008).

2.5 Esquistossomose e seus respectivos testes para diagnósticos

O diagnóstico da esquistossomose é realizado por meio de exames clínicos laboratoriais, podendo ser de duas formas: (1) métodos diretos que detectam o parasito ou partes dele, como por exemplo, nos exames de fezes ou biópsia de mucosa intestinal, pesquisa de antígenos circulantes e reação em cadeia da polimerase, (2) métodos indiretos nos quais percebem evidências indiretas dos parasitos dependendo de marcadores clínicos, tais como sintomas e sinais e imunológicos, como por exemplo, reação intradérmica e ensaios sorológicos (PIMENTA. D.P, 2014).

Os métodos utilizados para o diagnóstico da esquistossomose podem apresentar informações tanto qualitativas nas quais relatam a presença ou ausência de ovos do parasito, como também informações quantitativas nas quais fornecem não apenas a presença do parasito, mas também a quantidade de ovos por grama nas fezes do indivíduo infectado (RABELLO *et al.*, 2008; PIMENTA. D.P, 2014). É importante salientar que existem diversas técnicas para identificação do parasito, pois nem sempre a técnica adequada para a identificação de ovos do parasito será eficaz para encontrar as outras formas do seu ciclo (ARAÚJO *et al.*, 2003). Algumas destas técnicas são descritas a seguir.

2.5.1 Diagnóstico coproparasitológicos

Existem variadas técnicas parasitológicas descritas na literatura, sendo a técnica de Kato-Katz, considerada padrão ouro e recomendada pela Organização Mundial da Saúde, OMS (KATZ *et al.*, 1972). Esta técnica consiste em confirmar de forma microscópica a presença de ovos nas fezes, possibilitando um resultado quantitativo baseado na quantidade de fezes usadas inicialmente. A estimativa da carga parasitológica é por meio da média do número de ovos encontrados na lâmina, multiplicado por 24, podendo ser leve, modera e acentuada (OMS) (Tabela 1). Além do mais, é uma técnica de baixo custo, fácil manejo e praticidade mesmo em situações de infraestrutura laboratorial precária. Como também, as lâminas com material fecal podem ser transportadas em temperatura ambiente e armazenadas por meses sem prejuízos, beneficiando a utilização da técnica (RABELLO, 1997; CARVALHO. G. B. F, 2016). No entanto, também existe desvantagem associada à técnica, pois esta é menos sensível em indivíduos com baixa carga parasitária e em situações de baixa prevalência (LIN *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2009; FERRARI *et al.*, 2003; ENK *et al.*, 2008; CARVALHO. G. B. F, 2016). Ademais, possui outra limitação, a incapacidade da sua execução em amostras diarreicas (KONGS *et al.*, 2001; CARVALHO. G. B. F, 2016).

Tabela 1 – Estimativa de carga parasitológica de ovos de *S.mansoni* em lâmina de Kato-Katz

Estimativa	Carga
Até 100	Leve
101- 400	Moderada
Acima de 400	Acentuada

Fonte: OMS

A técnica coproparasitológica de Lutz (Lutz, 1919) modificada por Hoffman *et al.* (1934) é qualitativa muito conhecida e utilizada para o diagnóstico de enteroparasitos, incluindo o *S. mansoni*. Esta técnica consiste na sedimentação espontânea de Lutz, que apresenta considerável índice de sensibilidade em pacientes com alta carga parasitária.

O método parasitológico conhecido por Helmintex, vem sendo visto como um avanço significativo para o diagnóstico da infecção por *S. mansoni*, de modo especial, em áreas com baixa endemicidade. Este método apresenta alta sensibilidade quando comparada a outros métodos, a técnica consiste no processamento de 30 g de fezes por cada amostra, na qual passa por vários processos afim de isolar os ovos do parasito por meio de esferas paramagnéticas, utilizando-se um campo magnético. Após o isolamento dos ovos, os mesmos são corados com ninidrina, que reage com os aminoácidos presentes nos ovos e apresenta a cor roxa, otimizando o tempo de leitura por facilitar a visualização dos mesmos (TEIXEIRA *et al.*, 2007). Em contrapartida, mesmo com sua boa sensibilidade a desvantagem dessa técnica é justamente o tempo do seu processamento sendo inviável para aplicar em campo e rotina laboratorial.

2.5.2 Diagnóstico molecular

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica laboratorial que amplifica uma região específica do DNA do parasito formando diversas cópias da região de interesse. A PCR, é uma técnica de amplificação muito sensível, podendo detectar uma pequena quantidade de DNA em uma amostra. Já foi demonstrado que esta técnica tem alta sensibilidade e especificidade para a detecção de DNA de *S. mansoni* em amostras de fezes, detectando então cerca de 2,4 ovos/grama (CAVALCANTI *et al.*, 2013, PIMENTA. D.P, 2014). Como também

é uma técnica indicada em áreas de baixa prevalência e em pacientes com carga parasitária baixa (PIMENTA. D.P, 2014).

2.5.3 Diagnóstico imunológico

Atualmente, o diagnóstico de infecção por *S. mansoni* pode ser realizado de forma direta do parasito, em alguma de suas formas evolutivas nos tecidos ou até excreções do hospedeiro. Devido os avanços tecnológicos é possível identificar componentes antigênicos do parasito, sendo então, uma alternativa para o diagnóstico direto. Entretanto, as desvantagens deste método são: pode apresentar reações cruzadas com outras helmintoses, não é quantitativo e não diferencia uma infecção recente de uma infecção passada (MONTENEGRO, 1992; RABELLO, 1997; PIMENTA. D.P, 2014).

Muitos dos métodos sorológicos já descritos para o diagnóstico da esquistossomose são considerados indiretos e aplicam-se para a descoberta de anticorpos, um exemplo no qual pode ser citado a técnica imunoenzimática (ELISA). O ELISA é fundamentado em reações antígeno-anticorpo detectável por meio de reações enzimáticas (RABELLO *et al.*, 2008). No entanto, esta técnica apresenta algumas desvantagens como, por exemplo, dificuldade da escolha de antígenos apropriados, a ocorrência de reações cruzadas, e a falta de reagentes comerciais aplicáveis ao diagnóstico da doença (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Esta técnica também possui pontos positivos, como, a possibilita a automação, reprodutibilidade e obtém resultados rápidos e de baixo custo, (RABELLO *et al.*, 2008). Além do mais, tem mostrado ser uma técnica melhor adaptada para aplicação em estudos populacionais (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Outro método imunológico a ser citado é o teste da imunofluorescência para detectar anticorpos do tipo IgM aos antígenos ligados ao *S. mansoni* (do inglês *Associated Polysaccharide Antigens*). O IgM-IFT mostrou ser um método significativo para trabalho em campo por mostrar um alto grau de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico tanto para a esquistossomose aguda como a crônica. Entretanto, a desvantagem é que essa técnica não é prática para trabalhar, caso tenha um número elevado de amostras (SILVA *et al.*, 1998; FROTA. S. M, 2008). A reação intradérmica é um método indireto relacionado a detecção de resposta imune do hospedeiro, assim, é um teste alérgico em reação de hipersensibilidade tipo I ou aumento violento da sensibilidade do organismo ao antígeno. Após a inoculação do antígeno espera-se de 15-20 minutos para a obtenção do resultado. O resultado positivo é caracterizado pela formação de uma pápula com o diâmetro superior a 1 cm (REY, 2001; PIMENTA, D.P., 2014). A desvantagem apresentada é que resultados falso-positivos são

confirmados com frequência devido a não discriminação de exposições passadas e recentes, além do mais, a reação não fica negativa depois de uma quimioterapia eficiente, sendo assim, é ineficaz como critério de cura (ESTAMBALE *et al.*, 1989; PIMENTA, D.P., 2014). O teste rápido de urina – Point of care (POC-CCA) é um método qualitativo, que permite a detecção de infecção ativa por *S. mansoni*. Já foi demonstrado que amostras positivas processadas em POC-CCA que possuía os anticorpos, apresentaram captura de antígeno para os enfermos com alta e média infecções (ADRIKO *et al.*, 2014). Entretanto, o teste possui a desvantagem de não ser suficientemente sensível para detectar indivíduos com baixa carga parasitária, assim, afeta na obtenção de resultados verídicos em áreas de baixa endemicidade, principalmente, em casos de infecção com intensidade baixa (DE JONGE *et al.*, 1990).

3. JUSTIFICATIVA

Os testes sorológicos utilizados no diagnóstico da esquistossomose não apresentam protocolos e antígenos padronizados para serem utilizados como alternativa de diagnóstico pela rede pública. Assim, este estudo tem o intuito de melhorar a sensibilidade do diagnóstico de doenças parasitárias como também, oferecer alternativas de diagnóstico para o Sistema Único de Saúde (SUS). Nesse sentido, pretende-se otimizar e validar testes sorológicos para o diagnóstico da esquistossomose em áreas endêmicas onde os indivíduos apresentam baixa carga parasitária.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Efetuar a padronização de teste sorológico de detecção da infecção por *Schistosoma mansoni* em população de região historicamente endêmica para esquistossomose no estado de Alagoas

4.2 Específicos

- Determinar a prevalência da detecção de anticorpos anti-*Schistosoma mansoni* em áreas endêmica, com características eco-epidemiológicas diferentes em Alagoas;
- Analisar e validar em campo um novo kit de diagnóstico em área endêmica de variada transmissão e com possíveis coinfeções;
- Investigar comparativamente o desempenho dos testes sorológicos desenvolvidos em relação a outros métodos diagnósticos disponíveis.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo experimental e transversal.

5.2 Aspectos éticos

O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (CEP-UFAL), de acordo com o preconizado pela resolução CNS nº 466/2012 (BRASIL, 2012), e aprovado sob nº CAAE 39997520.2.1001.5013.

Todos os cuidados e procedimentos experimentais realizados em camundongos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG, sob o protocolo de número 368/2018.

5.3 Local da coleta

O estudo foi conduzido no município de Maceió (estado de Alagoas, Brasil), em um bairro margeado pela Lagoa Mundaú denominado de Vergel do Lago, onde a população vive às margens do Complexo Estuário Lagunar Mundaú-Manguaba (Figura 3). Além disso, os indivíduos residentes nessa localidade sofrem com condições socioeconômica, infraestrutura precária e escassez de saneamento básico, o que favorece a persistências de diversas parasitoses.

É importante ressaltar que a população local se utiliza da lagoa como fonte de renda, seja para produtos pesqueiros, como sururu, e até mesmo seu próprio sustendo.

4.4 Entrevista com a população alvo do estudo

Assim, para o início da coleta as pessoas que concordaram em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A) e responderam a um questionário socioeconômico e ambiental com a população alvo, acima de 8 anos de idades (apêndice B). As coletas foram realizadas em dezembro de 2021 e em março de 2022.

Figura 3 - Bairro do Vergel do Lago e Lagoa Mundaú no Estado de Alagoas

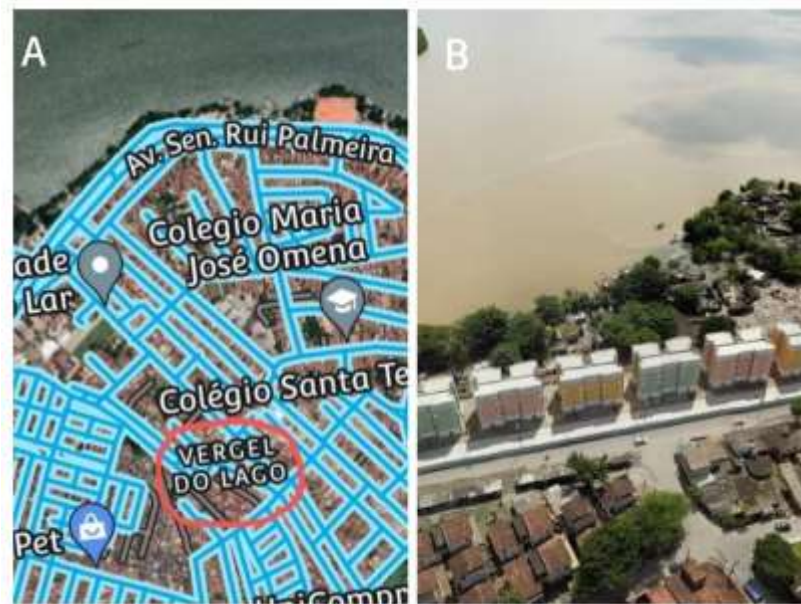


Imagem do local de coleta em uma região historicamente endêmica no Estado de Alagoas. Bairro vergel do Lago, em Maceió (A); Bairro é margeado pela Lagoa Mundaú (B). Fonte: Google mapa

5.4 Amostragem e processamento

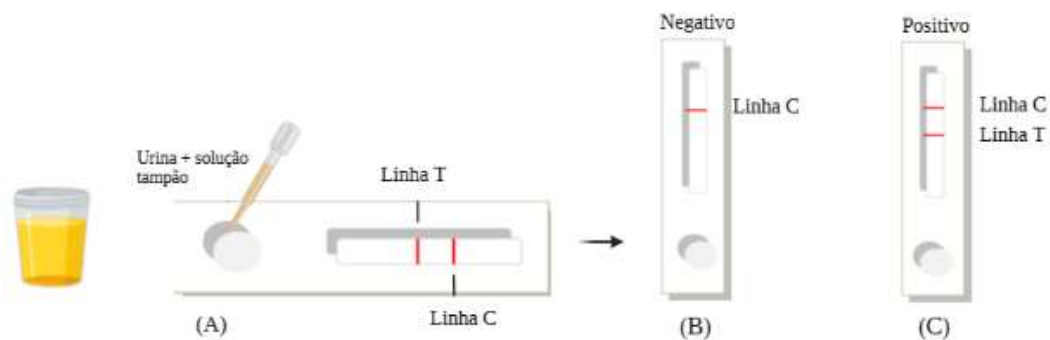
Foi realizada uma amostragem não probabilística por conveniência, na qual foram coletadas amostras biológicas de urina para a realização da técnica de teste rápido de urina – Point of care (POC-CCA), de fezes para as técnicas coproparasitológicas, sendo elas: Kato-Katz (KK), sedimentação espontânea (HPJ), Helminex (HTX), e de sangue para separação do soro e realização da técnica sorológica Elisa indireto (Elisa-i) dos moradores de área endêmica de Maceió/Vergel. As amostras foram identificadas e armazenadas em material típico ao seu material biológico e transportadas ao laboratório de parasitologia (LABPAR), localizado no

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), na Universidade Federal de Alagoas (UFAL) para a execução das técnicas.

4.4.1 POC-CCA

É um método qualitativo de rápido e fácil execução utilizando a urina. Para a realização da técnica foi utilizado o teste (*Rapid test for qualitative detection of: Bilharziab (Schistosoma) in urine / Rapid medical diagnostics*) conforme instruções do fabricante (Rapidmedical diagnostics). Brevemente, uma gota da urina e uma de solução tampão foram adicionadas no orifício do cassete plástico sensibilizado com o anticorpo monoclonal para a detecção do antígeno. Após esse processo esperou-se 20 minutos e realizou-se a leitura do teste pela observação da presença das linhas, teste e controle. O teste foi considerado positivo quando as linhas, teste e controle estavam presentes e negativo para *S. mansoni* quando apenas a linha controle estava reagente (Figura 4).

Figura 4 – Processo do teste rápido de urina POC-CCA.



Created in BioRender.com 

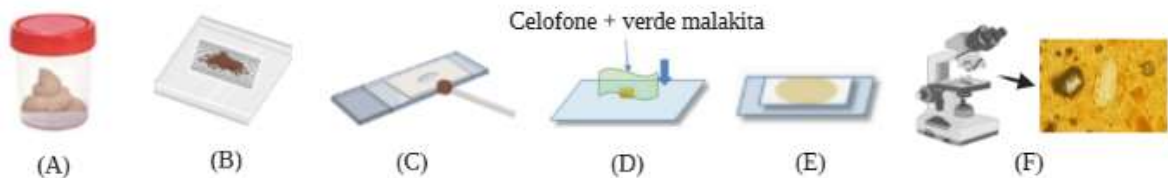
Interpretação do teste rápidos de urina, de acordo com cada padrão de bandejamento. (A) Urina do paciente é coletada e uma gota de urina + uma gota de tampão foi adicionado no orifício; (B) Resultado negativo para *S. mansoni*; (C) Resultado positivo para *S. mansoni*. Fonte: Autora

4.4.2 Kato-Katz

O Kato-Katz é uma técnica qualitativa e quantitativa, adaptada por Katz e colaboradores (1972). Para a realização deste teste, as fezes foram comprimidas em uma tela de náilon, onde passam ovos de helminto. As fezes que atravessaram a tela foram colocadas na placa que contém o orifício representativo de 1g de fezes, já posicionada sobre a lâmina de vidro. Após o preenchimento, foi colocado papel celofane embebido na solução diafanizadora (verde

malaquita). Por fim, com o auxílio de outra lâmina as fezes foram pressionadas e examinada ao microscópio (aumento 10X; Olympus) para a visualização dos ovos (Figura 5).

Figura 5 – Resumo esquemático do processamento e visualização das amostras pelo método de Kato-Katz



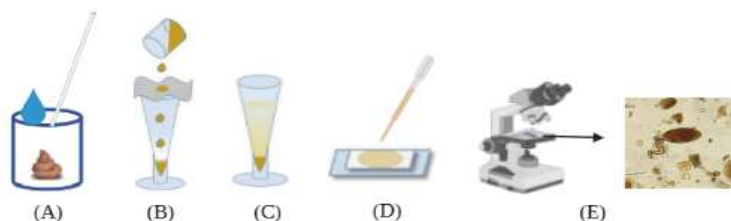
Created in BioRender.com bio

Esquematização de como as amostras fecais foram preparadas por meio do método de Kato-Katz. (A) fezes do indivíduo coletada; (B) fezes comprimidas por uma tela de náilon para passagem de ovos de helmintos e dendritos; (C) fezes coletadas e preenchimento da placa com orifício; (D) papel celofone com verde malaquita recobrendo as fezes para melhor visualização; (E) fezes pressionadas; (F) visualização de ovos de *S.mansoni* ao microscópio em amostras positivas. Fonte: Autora

4.4.3 Sedimentação espontânea, Hoffman, Pons e Janer –(HPJ) ou Lutz

O HPJ é um método qualitativo de utilização para o diagnóstico de diversas enteroparasitoses(Lutz, 1919) modificada por Hoffman *et al.* (1934) . Para o HPJ, as fezes foram homogeneizadas e peneiradas com o auxílio de gaze sobrada 4 vezes. Após esse processo as amostras ficaram sedimentando por 2 h e seguidas de lavagens até que o sobrenadante ficasse com aspecto limpo. Após os processos de lavagens, duas gotas do material fecal sedimentado foram colocadas em lâminas acrescida uma gota de lugol para a visualização no microscópio (aumento 40x e 10x, Olympus) (Figura 6).

Figura 6 - Esquematização do processamento de fezes realizado por meio do método de HPJ



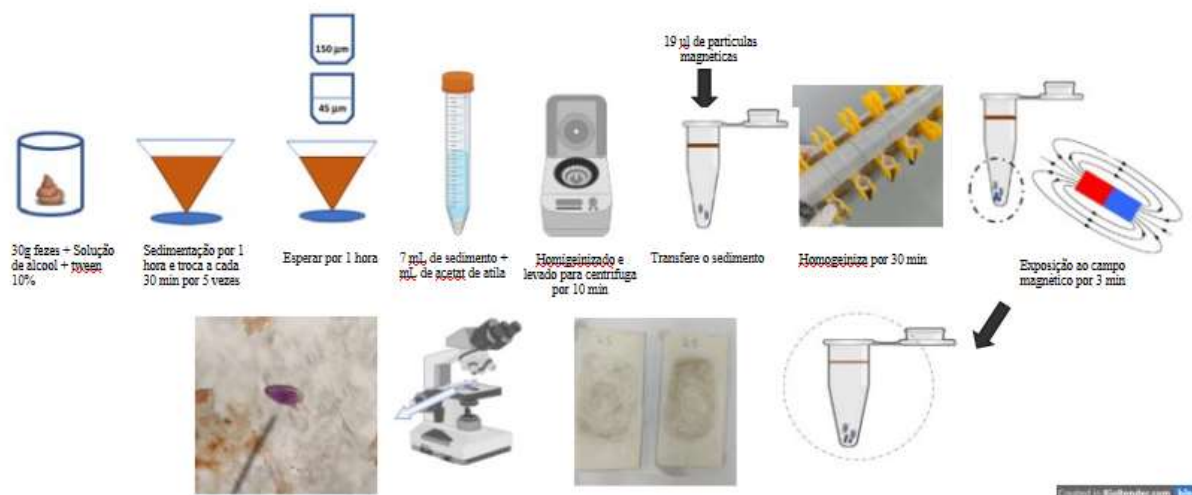
Created in BioRender.com bio

Processamento de amostras pela técnica de sedimentação espontânea-HPJ. (A) Fezes coletadas; (B) Homogeneização e peneiragem da amostra; (C) Sedimentação das fezes e lavagens até o sobrenadante ficar limpo; (D) Preparação da lâmina com conteúdo fecal + lugol; (E) Visualização de ovos de *S. mansoni* ao microscópio demonstrando positividade. Fonte: Autora

4.4.4 Helmintex

O método helmintex é considerado mais sensível em cargas parasitárias baixas (TEIXEIRA et al., 2007). Resumidamente, 30g de fezes foram homogeneizadas em solução Tween 20 a 10% preparado em álcool a 70% e permaneceu sedimentando por 1 h. A mistura fecal foi peneirada, deixada sedimentando por 1 h e passada por 5 ciclos de sedimentação e lavagens a cada 30 minutos. Após esses processos, as amostras foram peneiradas de novo com o auxílio de duas peneiras de porosidade diferentes e as fezes foram depositadas em cálices limpos. Após a sedimentação por 1 h, o sobrenadante foi descartado e o conteúdo fecal foi transferido para um tubo do tipo falcon, acrescentado acetato de etila (crq produtos químicos eireli), homogeneizado e centrifugado em 2500 rpm por 10 minutos. Logo após o descarte do sobrenadante, as amostras foram transferidas para microcubos, acrescentada solução salina e as esferas magnéticas. As amostras foram homogeneizadas por 30 minutos e colocadas no magneto para o isolamento dos ovos de *S. mansoni* juntamente com as esferas magnéticas. Para melhor visualização dos ovos, o sedimento foi corado com ninidrina e colocado em lâmina de papel filtro para visualização no microscópio no aumento de 10x (Figura 7).

Figura 7 – Esquemática das amostras fecais processadas através do método de Helmintex



Esquemática do processamento das amostras pelo método Helmintex. Fonte: Autora

4.4.5 Obtenção de antígeno (SEA) e (SWAP)

Essa etapa foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisa da professora Dr. Deborah Aparecida Negrão Corrêa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Para obtenção de antígenos solúveis de ovos (SEA) e de vermes adultos (SWAP) de *S. mansoni* foram utilizados camundongos *Swiss* com 45-50 dias de infecção com 100 cercárias do parasito. A produção de SWAP foi obtida a partir de vermes adultos, machos e fêmeas, recuperados após perfusão sanguínea dos animais infectados, realizada conforme descrição de Pellegrino & Siqueira (1956) e resumido a seguir. Os vermes recuperados foram lavados, concentrados e homogeneizados em tampão fosfato (PBS - 137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 4,3mM Na₂HPO₄.7H₂O, 1,4 mM KH₂PO₄) contendo coquetel de inibidores de proteases (1 tablete em cada 25 mL de tampão, Boehringer Mannheim, Indianápolis, USA), conforme descrição detalhada por Dunne (1997). O antígeno solúvel de ovos (SEA) foi obtido de ovos do parasito isolados do fígado de animais infectados segundo Dunne (1981). Brevemente, os fígados contendo granulomas foram homogeneizados em salina concentrada (1,7% de NaCl) por 5 min à temperatura ambiente. A solução obtida foi lavada em salina também concentrada através de decantação a 4°C por 1h. O sobrenadante foi descartado e o procedimento repetido até a obtenção de um sobrenadante limpo. O precipitado contendo ovos foi retirado e filtrado de modo sequencial em um conjunto de membranas de porosidade decrescente (80 - 400mesh). O material retido na membrana de porosidade 400 mesh foi recuperado e centrifugado (200g por 5 min a 4°C) em tubos de polipropileno de 50 ml (Falcon®). A cada centrifugação o sobrenadante foi desprezado e os sedimentos reunidos gradativamente, com aspiração e descarte do muco presente na parte superior. Durante todo o processamento, os tubos foram mantidos em gelo para evitar eclosão de miracídios e, ao final, após certificar a limpeza do material, os ovos foram ressuspensos em 1 mL de PBS e transferidos para um tubo de vidro acoplado a um homogeneizador tipo Virtiz®. Os ovos foram triturados por cerca de 40 min sob gelo. A destruição completa dos ovos foi confirmada após um exame ao microscópio óptico. O homogenato foi então transferido para tubos de 1,5 ml e centrifugados a 10000 g por 1 hora e o sobrenadante, denominado de SEA, foi recolhido. A concentração de proteínas das preparações antigênicas (SEA e SWAP) foi determinada pelo ensaio de dosagem de proteína Pierce BCA (Pierce™ BCA Protein Assay Kit, Thermo Fisher Scientific - BR) antes de serem distribuídas em alíquotas e estocadas a -20°C.

4.4.6 Ensaio imunoenzimático – Elisa Indireto

Para a realização dos ensaios imunoenzimáticos foi realizada a técnica sorológica de Elisa indireto. Para obtenção dos soros, foi retirado por punção venosa de cada indivíduo participante 5 mL de sangue periférico em tubos sem anticoagulante, alíquotado em duplicata e armazenados à -20°C. Esses soros foram usados para dosagem de anticorpos anti-*S.mansoni*. Para isto, foram utilizados os conjugados anti-IgM ou anti-IgG (incluindo subclasses) marcados com Peroxidase cujos títulos foram determinados em estudo piloto. Para a realização do ensaio, a diluição dos diferentes reagentes e do soro dos indivíduos foram previamente padronizadas. Em seguida, as reações foram realizadas em microplacas de polietileno (Falcon, BD Lab., EUA) de 96 poços e fundo plano. Cada poço foi sensibilizado com 2 µg de cada proteína recombinante diluída em 100 µL de tampão carbonato-bicarbonato 0.1 M (pH 9,5) contendo 5 µg/ml de SEA) ou 10 µg/ml de antígeno SWAP. As placas foram incubadas por 24 horas a 4°C, e protegidas com plástico filme para evitar a dessecação. Após a sensibilização, o excesso de antígeno foi lavado 5 vezes com solução de lavagem contendo PBS (Phosphate buffer saline: 13,7mM de NaCl, 0,27mM de KCl, 0,14mM de KH₂SO₄ e 0,43mM de Na₂HPO₄.7H₂O, pH 8) acrescido de 0,05% de Tween 20 (Sigma-Aldrich, San Luis, MO, EUA). Após as lavagens foi adicionado 150 µL/poço de solução tampão PBS contendo 1% de albumina de soro bovino (BSA, Sigma) e a placa foi incubada à temperatura ambiente por 1h para o bloqueio de sítios inespecíficos. O excesso de solução de bloqueio foi retirado por cinco lavagens sucessivas com tampão de lavagem, e foi adicionado 100 µl/poço de soro, de cada paciente, diluído a 1:100 em tampão de diluição (PBS 0,05% de Tween e 0,1% de BSA). As placas foram incubadas durante 2h à temperatura ambiente. Na sequência foi adicionado 100 µl/poço do tampão de diluição contendo anticorpo anti-imunoglobulina humana: anticorpo anti-IgG4 humano conjugado com biotina na diluição de 1:20.000 (Mouse Monoclonal Anti-Human IgG4-Biotin conjugated, clone HP 6025 SIGMA) ou anticorpo anti-IgG humano conjugado com peroxidase na diluição de 1:10.000 (Goat anti-Human IgG (H+L) HRP- Bethyl Laboratories) permanecendo por 1h em temperatura ambiente. Após, o período de incubação, foi adicionado 100 µl/poço de tampão de diluição contendo Streptoavidina conjugada com fosfatase alcalina (Streptavidin-Alkaline Phosphatase from Streptomyces avidinii- SIGMA®, USA) na proporção de 1:2000 e incubado por 1 hora em temperatura ambiente ao abrigo da luz. Para ensaio utilizando anticorpo diretamente conjugado com peroxidase, como IgG, não foi necessária essa etapa. No ensaio com IgG4 a reação foi revelada pela adição do substrato PNPP, que é um colorimétrico solúvel

de fosfatase alcalina (SIGMAFAST™ p-Nitrophenyl phosphate Tablets -SIGMA®, USA), diluído em 20 mL de água destilada sendo adicionado 100 µL em cada poço, e após 15 - 30 minutos a reação foi interrompida com 50 µL da solução 3M de NaOH, e foram lidas no leitor de microplacas VersaMax (Molecular Devices, San José, CA, EUA) a 405 nm. No ensaio com IgG a reação foi revelada pela adição de 100 µl/poço de tampão Citrato (C₆H₈O₇.H₂O a 0.1M, Na₂HPO₄ a 0.2M, pH 5) contendo substrato OPD (OPD Substrate Tablets, Thermo Scientific, USA) acrescido de peróxido de oxigênio a 0,05 M e após 30 minutos, a reação foi parada utilizando 50 µL/poço de ácido sulfúrico (H₂SO₄ 2N). Nesse ensaio, a absorbância das amostras foi medida em leitor de microplacas (VersaMax, Molecular Devices, Califórnia, EUA) a 492nm. Em cada placa foram adicionadas amostras de soro de cinco indivíduos verdadeiramente negativos. A reatividade relativa foi calculada com a absorbância de cada amostra dividida pela média das absorbâncias dos soros negativos mais duas vezes o desvio padrão dessas amostras negativas.

5.5 Análises dos dados

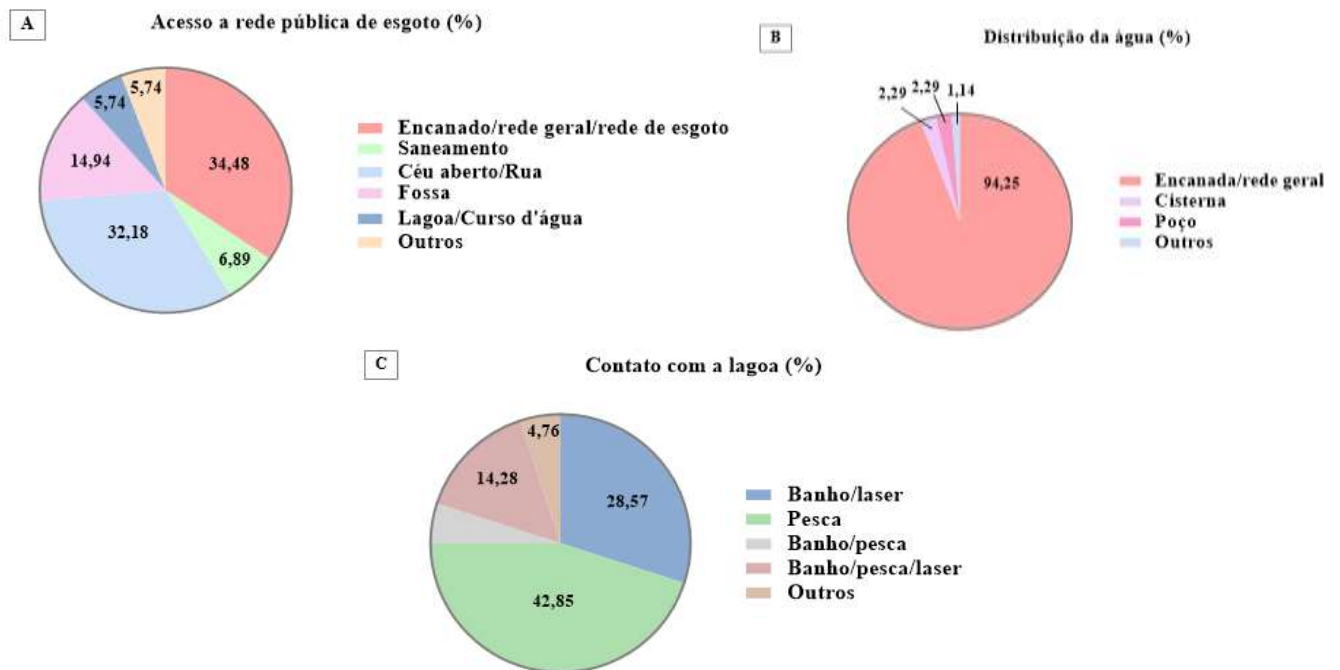
Para a organização dos dados laboratoriais, foi utilizado o programa software Microsoft Excel e os gráficos foram elaborados usando o programa GraphPad Prism8. Para a análise estatística, foi utilizada a ANOVA de uma via seguida do teste de *post-hoc* Bonferroni, considerando $p < 0,05$.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 População do estudo vive em condições facilitadoras à infecção de *S. mansoni*.

O estudo foi conduzido em uma população residente no bairro Vergel do Lago historicamente endêmico para *S.mansoni*, margeado pela Lagoa Mundaú, em Maceió, no estado de Alagoas. Os resultados obtidos dos questionários socioambientais respondidos pelos entrevistados, demonstraram que apenas 6,89 % (6/87) tem acesso a saneamento básico, 34,48 % (30/87) é direcionado a rede pública/encanada/rede de esgoto, 32,18 % (28/87) vai para a rua e exposição a céu aberto, 14,94 % (13/87) é direcionado a fossa, 5,74 % (5/87) vai direto para a lagoa, bem como esse mesmo percentual foi encontrado para outros destinos. Esse cenário contribui para a manutenção de diferentes parasitoses, incluindo a esquistossomose. Analisou-se também que 94,25 % (82/87) da população estudada tem acesso a água encanada, os demais utilizam águas oriundas de Cisterna e poço, com 4,59 % (4/87) e outros 1,14 % (1/87). Em relação ao contato com a lagoa, os entrevistados relataram que 56,32 % (49/87) não tem contato com a água da lagoa, no entanto, 24,13 % (21/87) responderam que tem contato com a lagoa, seja por meio de banho/laser com 28,57 % (6/21), somente por pesca 42,85 % (9/21), banho/laser/pesca com 14,28 % (3/21), banho/pesca com 4,76 % (1/21) e outros com 4,76 % (1/21), além disso, 18,39 % (16/87) optaram por não responder (Figura 8). É importante mencionar que a saúde da população está diretamente interligada com a forma de como a água é tratada e o destino que é dado ao esgoto, visto que, para manter a redução de doenças parasitárias é necessário que os indivíduos tenham condições higiênicas e tratamento de esgoto adequados.

Figura 8 - Gráficos demonstrativos dos dados obtidos a partir dos questionários.



Resultados socioambientais da população do estudo. Contato com a lagoa (A); distribuição da água (B) e Acesso a rede pública de esgoto (C).

6.2 Técnicas diagnósticas apresentam diferentes especificidades na identificação de infecção por *S. mansoni*.

Das 93 amostras biológicas coletadas (urina, fezes e soro sanguíneo) observou-se uma frequência de infecção por *S. mansoni* de 32,2% (30/93). Além disso, as técnicas utilizadas apresentaram índices de positividade diferentes para *S. mansoni* em suas respectivas amostragens. Das 52 amostras analisadas pelo POC-CCA, 19% (10/52) foram positivas; das 92 amostras analisadas pelo Kato Katz 5% (5/92) e das 91 amostras analisadas pelo HPJ 5% (5/91) foram positivas e para as 27 amostras analisadas pelo Helmintex 66% (18/27) foram positivas (Tabela 2). É importante salientar que dentre as 93 amostras analisadas não foi possível realizar todas as técnicas devido à falta de material para a realização da técnica de POC-CCA bem como, material biológico para a execução das técnicas coproparasitológicas.

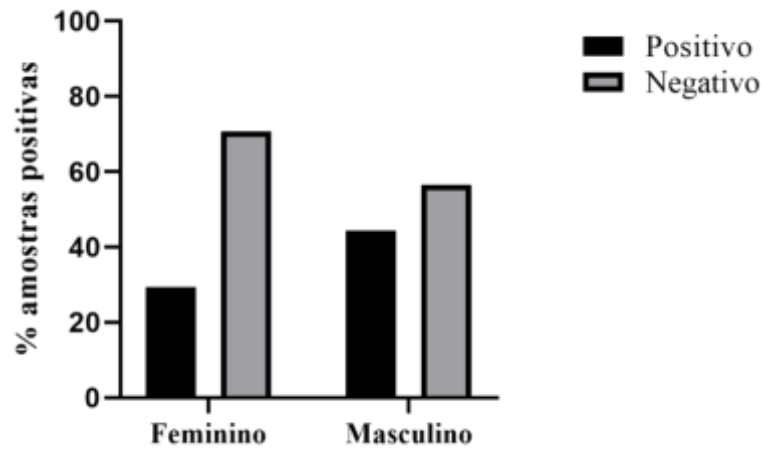
Tabela 2 - Quantitativo de exames de positivo para *Schistosoma mansoni* de acordo com diferentes técnicas de diagnóstico realizadas

	POC-CCA	KATO KATZ	HPJ	HELMINTEX
POSITIVOS	10	5	5	18
TOTAL	52	92	91	27
%	19	5	5	66

Fonte: Autora, 2023.

Do total das 30 amostras positivas para *S.mansoni* foi possível observar que a maioria dos infectados pelo parasito apresentavam idade igual ou superior aos 20 anos com 83,3% (25/30) Esse perfil já foi encontrado em um trabalho realizado na região Sudeste, onde demonstrou-se que a maior prevalência para *S. mansoni* foi de 35,5% entre 20 a 39 anos (COSTA E FILHO, 2021). O que pode ser explicado pelo tipo de trabalho executado como fonte de renda pelos indivíduos adultos, como por exemplo, a pesca que apresentou 33,3% (9/27), o contato com a lagoa com 44,4% (12/27), seja para lazer, trabalho ou ambos. Em relação ao destino dado ao esgoto, 33,3% (9/27) responderam que fica a céu aberto, 25,9% (7/27) vai para fossa e 3,7% (1/27) vai direto para a lagoa. Este cenário evidencia um ambiente propício para a persistência de diferentes parasitoses. Além disso, ao verificar os positivos por sexo, observou-se que os homens apresentaram 44,4% (8/18) de infecção para *S. mansoni*, enquanto as mulheres apresentaram 29,3% (22/75) (Figura 9). Este resultado é semelhante a outro estudo realizado por Costa e Filho (2021), que demonstrou a maior prevalência (63,2%) na população masculina enquanto as mulheres apresentaram (36,8%) de positividade. Esses dados podem estar associados ao fato dos homens não buscarem os serviços de saúde tão frequente quando comparados com as mulheres e serem mais resistentes a procurar tratamento de saúde, como relatado por estes durante a entrevista. Além das práticas pesqueiras que são realizadas em sua maioria por homens os expondo às possíveis águas contaminadas com *S. mansoni*.

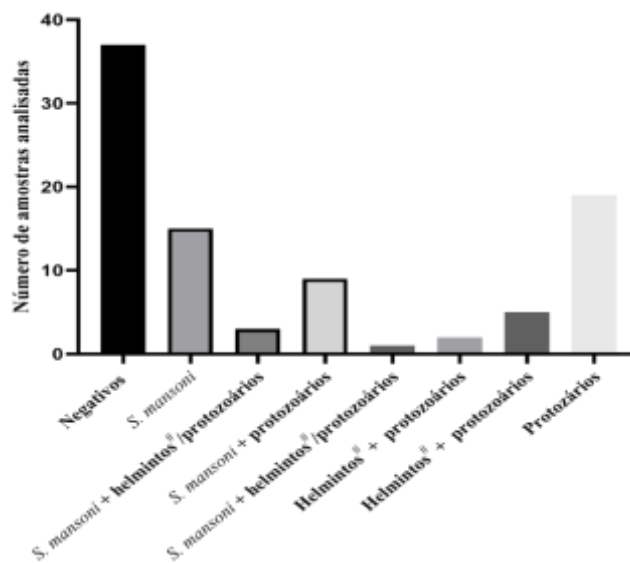
Figura 9 – Prevalência dos infectados pelo *S. mansoni* por sexo.



Porcentagem das amostras positivas para *S. mansoni* na população feminina e masculina participantes do estudo.

Nas amostras analisadas foram encontradas além de *S. mansoni* outras enteroparasitos e obteve-se uma prevalência de 60,2% (56/93) de positividade em pelo menos uma das técnicas utilizadas. A soma dos resultados das técnicas utilizadas foi agrupada em negativos, positivos só para *S. mansoni*, as combinações *S. mansoni* + outros helmintos, *S. mansoni* + protozoários, *S. mansoni* + helmintos/protozoários, outros helmintos + protozoários, só helmintos e só protozoários (Figura 10 e APÊNCICE C).

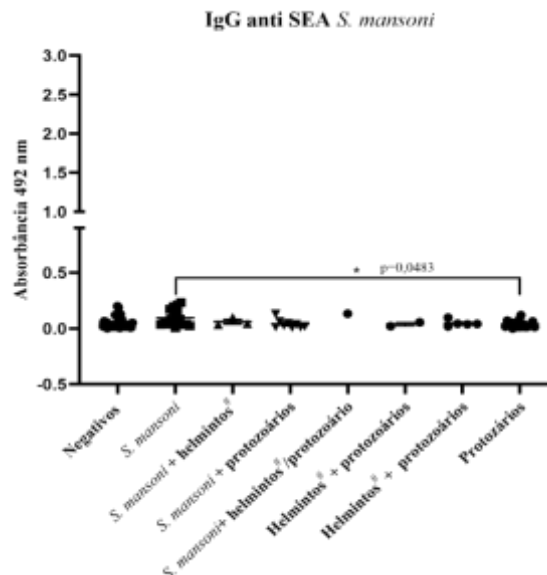
Figura 10 - Resultados das análises parasitológicas de fezes e urina dos participantes do estudo.



As amostras de fezes, coletadas dos participantes do estudo, foram analisadas pelos métodos de Kato-Katz, HPJ e Helmintex, sendo que nem todas as amostras foram analisadas em todos os métodos. As amostras de urina foram analisadas pelo método POC-CCA. (#) Outros helmintos encontrados sem ser *S. mansoni*.

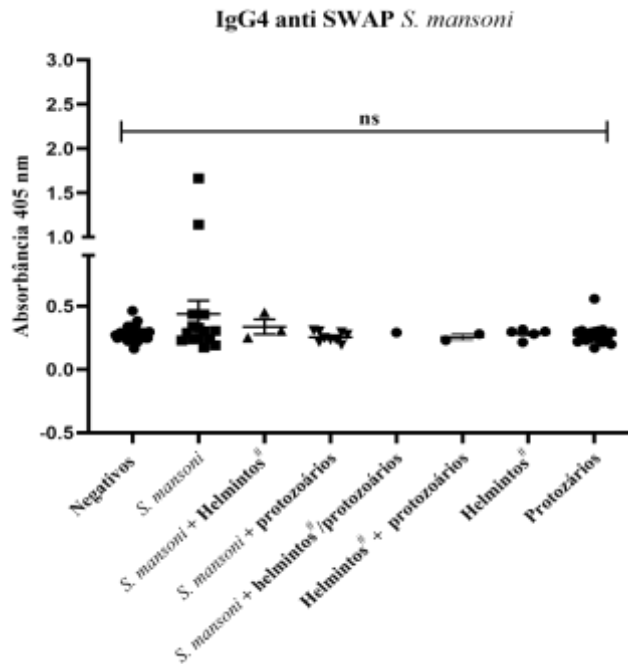
Para avaliar a eficiência do método Elisa-i para o diagnóstico de *S. mansoni*, comparado aos outros métodos, foi coletado amostras do sangue dos participantes. Das 93 amostras coletadas, apenas 1 não obteve soro suficiente para o teste. Os soros dos pacientes foram avaliados contra os antígenos SEA e SWAP, em colaboração com o grupo de pesquisa do Professora Dr. Deborah Aparecida Negrão Corrêa da UFMG. Resultados preliminares obtidos para IgG anti-SEA demonstram que apenas os grupos *S. mansoni* x protozoários apresentaram diferença estatística significativa ($F = 2,138$; $P = 0,0483$). Entre os demais grupos não há diferença significativa entre os valores de absorvâncias (Figura 11). No entanto, era de se esperar que as absorvâncias dos positivos para *S. mansoni* apresentassem diferença estatística significativa em relação aos negativos e aos demais grupos. Essa diferença entre os grupos, *S. mansoni* e protozoários, apesar de pequena, pode ser devido ao tipo de resposta imune apresentada pelos indivíduos contra os helmintos e protozoários (MACHADO, ARAÚJO, CARVALHO E CARVALO, 2004).

Figura 11 - Resultado das absorvâncias para o IgG anti SEA de *S. mansoni*



Valores das absorvâncias das amostras realizadas através do ensaio de Elisa indireto para o anticorpo IgG anti SEA para ovos de *S. mansoni*. Análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prisma 8 utilizando a ANOVA de uma via seguida do *post-hoc* de Bonferroni, considerando $p < 0,05$; (Helmintos# = Outros helmintos encontrados sem ser *S. mansoni*).

Figura 13 - Resultado das absorvâncias para o IgG4 Anti SWAP de *S. mansoni*



As absorvâncias encontradas através do ensaio de Elisa indireto para o anticorpo IgG4 anti SWAP para vermes adultos de *S. mansoni*. Análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prisma 8 utilizando a ANOVA de uma via seguida do post-hoc de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. (Helmintos[#] = Outros helmintos encontrados sem ser *S. mansoni*); (ns) Não significativo.

Os dados obtidos por meio do método Elisa-i não foram compatíveis com os resultados encontrados nos métodos coproparasitológicos e de pesquisa de antígeno na urina. Visto que não há diferença entre as absorvâncias encontradas nos diferentes grupos, exceto para IgG anti SEA entre os grupos *S. mansoni* e protozoários. Nessa conjuntura, é importante destacar também que dentre as amostras negativas pode haver resultados falsos negativos, dependendo do tempo de infecção e da sensibilidade do método utilizado. Pois, já foi relatado que os títulos de anticorpos anti-*Schistosoma* aumentam após o início de patência de infecção, tal como é definida pela detecção de ovos (GRENFELL *et al*, 2012). Além disso, pode-se sugerir que como a técnica ainda não se encontra padronizada, também não esteja conseguindo distinguir as amostras positivas e negativas para *S. mansoni* por apresentarem valores de absorvâncias semelhantes entre estas. Por isso, faz-se necessário mais estudos e testes com os anticorpos específicos e diferentes antígenos na população estudada.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho mostram a persistência da esquistossomose em área urbana na orla lagunar, sendo um estudo extremamente importante para a saúde pública. Além disso, foi demonstrado que as diferentes técnicas diagnósticas utilizadas nesse trabalho, apresentaram sensibilidade distinta para detecção da infecção por *S. mansoni*, o que sugere que no diagnóstico deste parasito, deve-se utilizar técnicas distintas para aumentar a chance de positividade.

Até o momento não é possível utilizar o método Elisa-i para diagnóstico da esquistossomose na população estudada. Os resultados obtidos nesse trabalho são promissores, mas necessitam de mais estudos com um maior número de amostras e possivelmente seleção de novos antígenos. Com isso, será possível analisar a sua performance como uma alternativa para o diagnóstico da esquistossomose em populações alagoanas, principalmente em regiões com baixa endemicidade para a doença. É importante salientar que este estudo de alternativa de um diagnóstico sorológico para melhor sensibilidade na detecção de esquistossoma foi pioneiro no estado de Alagoas.

7 REFERÊNCIAS

ADRIKO, M.; STANDLEY, C. J.; TINKITINA, B.; TUKAHEBWA, E. M.; FENWICK, A.; FLEMING, F. M.; SOUSA-FIGUEIREDO, J. C.; STOTHARD, J. R.; KABATEREINE, N. B. Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-cassette assay as a survey tool for *Schistosoma mansoni* in different transmission settings within Bugiri District, Uganda. **Acta Trop**, Basel v. 136, p. 50-57, 2014.

AMARAL, R. S. *et al.* An analysis of the impact of the Schistosomiasis Control Programme in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, Suppl. 1, p. 79- 85, 2006.

ARAÚJO *et al.* Coprotest® quantitativo: quantificação de ovos de helmintos em amostras fecais utilizando-se sistema de diagnóstico comercial. Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p. 115-124, 2003.

BINA, J.C.; PRATA, A. Esquistossomose na área hiperendêmica de Taquarendi. I – Infecção pelo *Schistosoma mansoni* e formas graves. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília. v. 36, n. 2, p. 211-216, 2003.

BRASIL. Secretaria de vigilância de saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de Vigilância Epidemiológica. Brasília**. 7 ed., p. 840, 2009.

CARVALHO. Gardênia Braz Figueiredo de. **Novos antígenos de *Schistosoma mansoni* para o diagnóstico sorológico da infecção ativa e controle de cura**. Tese (pós graduação em Ciências da Saúde Centro de Pesquisas René Rachou), Belo Horizonte, 2016.

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.

CHEEVER AW. Pathogenesis of *Schistosoma mansoni* infection. **Mem Inst Oswaldo Cruz** ; 87 (suppl 4):337-340, 1992.

COELHO, M.V.O. Parasito: Schistosoma mansoni. Im: CUNHA, S (Org). Esquistossomose mansoni, São Paulo: Universidade de São Paulo, P. 1-9, 1970.

COSTA, J. V. B., & SILVA FILHO, J. M. Esquistossomose mansônica: uma análise do perfil epidemiológico na região sudeste. *Revista Saúde. com*, 17(3), 2021.

COUTINHO A, SILVA M, GONÇALVES J. Estudo Epidemiológico de Esquistossomose Mansônica em Áreas de Irrigação do Nordeste Brasileiro. **Cad Saúde pública**, 8:302- 310, 1992.

COUTO, J. L. A. Esquistossomose mansoni em duas mesorregiões do Estado de Alagoas. **Rev Soc Bras Med Trop**, 38(4):301-304, jul-ago, 2005.

DEELDER, A. M. & KORNELIS, D. A comparison of IFA an ELISA for the demonstration of antibody against schistosome gut-associated polysaccharide antigen in schistosomiasis. **Zeitschrift fur Parasitenkunde**, 64:65-75, 1980.

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

Dunne DW, Lucas S, Bickle Q, Pearson S, Madgwick L, Bain J, Doenhoff MJ. 1981. Identification and partial purification of an antigen (omega 1) from Schistosoma mansoni eggs which is putatively hepatotoxic in T-cell deprived mice. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 75(1):54-71.

Dunne DW, Webster M, Smith P, Langley JG, Richardson BA, Fulford AJ, Butterworth AE, Sturrock RF, Kariuki HC, Ouma JH 1997. The isolation of a 22Kda band after SDS-PAGE of Schistosoma mansoni adult worms and its use to demonstrate that IgE responses against the antigen(s) it constants are associated with human resistance to reinfection. *Parasite Immunol* 19(2):79-89.

EL-ROOBY. A Management of hepatic schistosomiasis. *Semin Liver Dis*; 5: 263-76, 1985.

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.

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 Trop.*;108: 222/228, 2008.

FERRARI M L A, COELHO P M, ANTUNES C M, TAVARES C A, DA CUNHA A S. Efficacy of oxaminiquine and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infection: a controlled trial. *Bull. World Health Organ*; 81: 190-196, 2003.

FERREIRA, I. L. M.; SILVA, T. P. T. Mortalidade por esquistossomose no Brasil: 1980- 2003. **Revista de Patologia Tropical**, Goiania, v.36, n. 1, p. 67-74, 2007.

FROTA. Sabrina Menezes de. Utilização de métodos coproscópico e sorológico na detecção de casos de esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade no estado de Ceará-Brasil. 2008. Dissertação (Mestrado e patologia)-Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

GRENFELL *et al.* Antigens of worms and eggs showed a differentiated detection of specific IgG according to the time of *Schistosoma mansoni* infection in mice. **Rev Soc Bras Med Trop** 45(4):505-509,Jul-Aug, 2012.

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.

KATZ, N, CHAVES, A, PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical** de São Paulo, 4:397-400, 1972.

KATZ, N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelminthoses/Naftale Katz. – Belo Horizonte: CPqRR,76p. 2018

KATZ N, PEIXOTO SV. Critical analysis of the estimated number of Schistosomiasis mansoni carriers in Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**; 33:303-308, 2000.

KONGS A, MARKS G, VERLÉ P, VAN DER STUYFT P. Limitations of Kato-Katz technique for evaluating *S. mansoni* infections. **Trop Med Int Health**; 6: 163-169, 2001.

LAMBERTUCCI JR. Acute schistosomiasis: clinical, diagnostic and therapeutic features. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo. 35 (5): 399-404, setembro-outubro, 1993.

LENGELER, C.; UTZINGER, J.; TANNER. Questionares for rapid screening of schistosomiasis in sub-Saharan, Africa. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 80, p. 235-242, 2002.

LIN D D, LIU JX, LIU YM, HU F, ZHANG Y Y, XU JM, LI JY, JI MJ, BERGQUIST R, WU GL, WU HW. Routine Kato–Katz technique underestimates the prevalence of *Schistosoma japonicum*: A case study in an endemic area of the People's Republic of China. **Parasitol Int.**; 57: 281–286, 2008.

LLANWARNE F, HELMBY H. Granuloma formation and tissue pathology in *Schistosoma japonicum* versus *Schistosoma mansoni* infections. **Parasite Immunol.**43: e12778, 2021.

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.

MACHADO MM *et al.* Aspectos ultra-sonográficos da esquistossomose aspectos ultra-sonográficos da esquistossomose hepatoesplênica. **Radiol Bras**;35(1):41–45, 2002.

MACHADO, ARAÚJO, CARVALHO E CARVALO, 2004. Mecanismos de resposta imune às infecções Immune response mechanisms to infections. *An bras Dermatol*, Rio de Janeiro, 79(6):647-664, nov/dez. 2004.

MELO et al. Esquistossomose mansônica em famílias de trabalhadores da pesca de área endêmica de Alagoas. **Escola Anna Nery** 23(1) 2019

Ministério da Saúde (BR). Departamento de Informática do SUS. Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) [Internet]. [cited 2017 A µg 11]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinan/pce/cnv/pce.def>.

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

OLIVEIRA, E. J. *et al.* ELISA-IgM para diagnóstico da esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 19(1):255-261, jan-fev, 2003.

OLIVEIRA, S.A.V. Produção da proteína recombinante sm15 com potencial para o diagnóstico de pacientes infectados *Schistosoma mansoni*. Dissertação (Biociências e Biotecnologia em Saúde)- Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2015.

PASSOS. A. D. C.; AMARAL. R. S. Esquistossomose mansônica: aspectos epidemiológicos e de controle. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.31, supl. 11 p. 61-74,1999.

PELLEGRINO J, Siqueira AF. Técnica de perfusão para colheita de *S. mansoni* em cobaias experimentalmente infectadas. **Rev Bras Malariol Doenças Trop** 8: 589-597, 1956.

PIMENTA, Dener Pádua. Avaliação de diferentes metodologias para o diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansoni. Dissertação (Mestrado em Biociências)- Universidade Federal de Alfenas de Minas Gerais, Minas Gerais, 2014.

PORDEUS, L. C *et al.* A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, 17(3):163-175, jul-set 2008.

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, p. 897-925, 2008.

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

ROLLEMBERG *et al.* Aspectos epidemiológicos e distribuição geográfica da esquistossomose e geo-helminhos, no Estado de Sergipe, de acordo com os dados do Programa de Controle da Esquistossomose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 44(1):91-96, jan-fev, 2011.

ROCHA, T. J. M., SANTOS, M. C. S., LIMA, M. V. M., CALHEIROS, C. M. L., & WANDERLEY, F. S. Aspectos epidemiológicos e distribuição dos casos de infecção pelo Schistosoma mansoni em municípios do Estado de Alagoas, Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**; 7(2):27-32, 2016.

ROCHA, T. J. M., SANTOS, M. C. S., LIMA, M. V. M., CALHEIROS, C. M. L., & WANDERLEY, F. S. Aspectos epidemiológicos e distribuição dos casos de infecção pelo Schistosoma mansoni em municípios do Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, 7(2), 6-6, 2016.

SILVA, et al. Esquistossomose: uma doença negligenciada no estado de Alagoas. **Braz. J. Hea. Rev.**, Curitiba, v. 2, n. 3, p. 1562-1567, mar./apr. 2019.

SILVA, R. M. et al. A comparative study on IgG-ELIZA, IgM and Kato-Katz methods for epidemiological purposes in a low endemic area for schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 93, p 279-282, 1998.

SIQUEIRA L.M. *et al.* Evaluation of parasitological and molecular techniques for the diagnosis and assessment of cure of schistosomiasis mansoni in a low transmission area. **Mem Inst Oswaldo Cruz**;110(2):209-14, 2015.

SOBRINHO, F. S. L., SILVA, M. C. S., LIMA, L. L. C., SOBRINHO, G. K. L., LOPES, E. A. P., & FEITOSA, A. P. S. Incidência de Esquistossomose Mansônica no Nordeste brasileiro, no período de 2013 a 2017. **Diversitas Journal**, 5(4), 2881-2889, 2020.

TEIXEIRA, C. F.; NEUHAUSS, E.; BEM, R.; ROMANZINI, J.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. Detection of Schistosoma mansoni Eggs in Feces through their Interaction with Paramagnetic Beads in a Magnetic Field. *Plos Negl Trop Dis*, San Francisco, v.1, p. e73, 2007.

VERJEE, M. A. Esquistossomose: ainda uma causa de morbimortalidade significativa. **Pesquisa e relatórios em medicina tropical**, 10(1), 153, 2019.

VITORINO *et al.* Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Rev Bras Clin Med**. São Paulo, jan-fev;10(1):39-45, 2012.

WEERAKOON KGAD, GOBERT GN, CAI P, MCMANUS DP. 29 July. Advances in the diagnosis of human schistosomiasis. **Clin Microbiol** ver doi:10.1128/CMR.00137-14, 2015.

ZANARDI.V.S *et al.* Prevalence of Infection of Biomphalaria glabrata by Schistosoma mansoni and the risk of urban Schistosomiasis mansoni in Salvador, Bahia, Brazil. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**. Vol.:52:e20190171: 2019.

ZHANG Y Y, LUO J P, LIU Y M, WANG Q Z, CHEN J H, XU M X, XU J M, WU J, TU X M, WU GL, ZHANG ZS, WU H W. Evaluation of Kato–Katz examination method in three areas with low-level endemicity of schistosomiasis japonica in China: **A Bayesian modeling approach**. *Acta Trop*. 2009; 112: 16-22.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.)

(Em 2 vias, firmado por cada participante voluntário(a) da pesquisa e pelo responsável)

"O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após o consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa"

Eu

tendo sido convidado (a) a participar como voluntário (a) do Projeto de Pesquisa intitulado **"Avanços no diagnóstico da esquistossomose: aplicação de técnicas convencionais e metodologias de nova geração para o controle da enfermidade em populações de regiões historicamente endêmicas no estado de Alagoas"**, recebi do professor Dr. Wagner José Nascimento Porto (UFAL), Müller Ribeiro Andrade (UFAL), Flaviana Santos Wanderley (UNCISAL), Fernando Luiz de Andrade Maia (UNCISAL), Sílvio Santana Dolabella (UFS), Deborah Aparecida Negrão-Corrêa (UFMG) e Stefan Michael Geiger (UFMG), responsáveis por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- O projeto se destina a estudar os aspectos epidemiológicos da esquistossomose (barriga d'água) no povoado Vila Nova, Viçosa/AL e áreas endêmicas para esquistossomose em Maceió/AL, utilizando diferentes técnicas de diagnóstico;
- A importância deste estudo é a de estudar se eu, enquanto morador (a) dessas localidades e exposto (a) aos hábitos e ambientes daqui, estou com essa verminose e qual o melhor exame para identificar a infecção por esse verme.
- Esse projeto começará em Abril de 2022 e terminará em Abril de 2023.
- O estudo será feito da seguinte maneira: será realizado uma entrevista em cada participante da pesquisa, usando um questionário padrão, serão coletadas amostras de fezes em potes específicos e amostras de sangue com a finalidade de realizar exames para identificar se tem vermes, os exames serão feitos no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Alagoas – UFAL.
- Eu participarei das seguintes etapas: responder ao questionário, entregar as fezes, coleta de sangue e participar de palestras para orientação para não pegar essa verminose.

Os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes:

desconforto em responder o questionário, na coleta do sangue e/ou para entregar a amostra do material fecal. Por isso, sempre serei acompanhado e orientado por um Agente Comunitário e também terei o suporte da equipe da Unidade Básica de Saúde (UBS) quando for tirar sangue. Mas, se eu não me sentir à vontade poderei desistir de participar da pesquisa em qualquer etapa, sem que aconteça nenhum prejuízo para mim.

- Os benefícios que posso ter com a minha participação, são: receber o resultado do exame e, se der positivo, vou ser encaminhado (a) a UBS, para ser feito o atendimento, onde receberei a receita e as orientações para o tratamento. Com as repostas do questionário vou contribuir para a formação de dados que podem servir para melhoria da qualidade de saúde no povoado.
- Que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
- A qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo. Sempre que precisar, posso telefonar para o Dr. Wagner Porto, professor responsável pela pesquisa (telefones: 3214-1070, Laboratório de Parasitologia/ICBS/UFAL e/ou 99999-1935, telefone pessoal)
- As informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.
- O estudo não acarretará nenhuma despesa para o participante da pesquisa.
- Eu receberei uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Se eu tiver dúvidas sobre meus direitos como participante de pesquisa, posso contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da UFAL, pelo telefone: (82) 3214- 1041. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos. O CEP é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. Este papel está baseado nas diretrizes éticas brasileiras (Res. CNS 466/12 e complementares).

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO (A) OU

Tem água encanada? ()1- Sim ()2- Não Sua rua é pavimentada? ()1- Sim ()2- Não ()77- Nqr ()88 - Nsa ()99- Nsabe/Nlembra	
6. Na família alguém recebe: Bolsa família ou Bolsa escola ou Bolsa alimentação? ()1- Sim ()2- Não ()77- nqr ()99- Nsabe/Nlembra	AuxBol
7. Na família alguém recebe Outros auxílios de programas do governo? ()1- Sim ()2- Não se SIM Qual: _____	AuxOut
CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DO DOMICÍLIO	
8. Qual é o destino do esgotamento da privada? ()1- Rede pública ()2- Fossa séptica ()3- Fossa rudimentar ()4- Vala/Céu aberto ()5- Curso d'água ()77- Nqr ()8- Outro ()99- Nsabe/Nlembra	DtEsg
9. Qual é o destino dado ao lixo de sua casa? ()1- Coleta pública ()2- Enterra ()3- Queima ()4- Joga em terreno baldio ()5- Joga no lixão ()6- Joga no quintal ()7- Reciclagem ()77- Nqr ()8- Outro ()99- Nsabe/Nlembra	DtLixo
10. Qual a origem da água? ()1- Rede geral ()2- Poço artesiano comunitário ()3- Cisterna ()4- Caixa d'água (chuva) ()5- Barragem ()6- Nascente ()7- Rio/Córrego ()8- Caminhão pipa ()9- Outro (ESPECIFICAR) _____ ()77- Nqr ()99- Nsabe/Nlembra	OriAgu
11. Na sua casa, qual o tratamento da água utilizada para beber? ()1- Nenhum ()2- Filtração ()3- Cloração ()4- Decantação ()5- Fervura ()6- Mais de um método (especificar): _____ ()77- Nqr ()99- Nsabe/Nlembra	TratAgu

QUESTIONÁRIO 2
CARACTERIZAÇÃO DO ENTREVISTADO

12. CÓDIGO DO PARTICIPANTE (preencher depois) _____ - _____ - _____ - _____ (Nº Casa-Número participante- 01(número visita): ex. 02-01-01)	CodIDUM
13. DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____	DTnasc
14. Idade: _____ anos	DTidade
15. Onde você nasceu (ENTREVISTADO)? Cidade: _____ Estado: _____	
16. Há quanto tempo mora nesta comunidade? ANOS: _____ MESES: _____	TempRes
17. Já residiu em outra comunidade dentro deste município? () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	MudaNC

QUAL (Especificar ultimas 3)	
18. Já residiu em outro município? () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra QUAL (Especificar os últimos 3)	MudaCid
19 . Até que série o (a) Sr. (a) (ENTREVISTADO) estudou? 1. () Sem Estudo 2. () Ensino fundamental incompleto 3. () Ensino fundamental completo 4. () Ensino médio incompleto 5. () Ensino médio completo 6. () Ensino superior incompleto 7. () Ensino superior completo	Escola
21 . TEVE ALGUM DESTES PROBLEMAS DE SAÚDE NO ÚLTIMO MÊS? (Pode Marcar Mais De 1 Alternativa - Estas Devem Ser Lidas)	Diarr
21.1 Diarréia () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	
21.2 Duração da diarreia em dias () () 77. Nqr () 88. Nsa () 99. Ns/Nlembra	DuDiar
21.3 Sangue nas fezes () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	SanFez
21.4 Febre () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	Febre
21.5 Eliminação de vermes () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	Verme
21.6. NO ÚLTIMO ANO: Usou algum remédio para verme (lombriga) () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 88. Nsa () 99. Ns/Nlembra	RemVerm
21.7. Eliminou verme após o uso do remédio () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 88. Nsa () 99. Ns/Nlembra	EliVerm
22. Já teve Leishmaniose () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	Leish
22.1 Qual Leishmaniose, tegumentar (feridas na pele e mucosas) ou visceral? () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 88. Nsa () 99. Ns/Nlembra	LeishTeg
22.2 A quanto tempo teve Leishmaniose () 1. Último ano () 2. 2 a 5 anos () 3. Mais que 5 anos () 77. Nqr () 88. Nsa () 99. Ns/Nlembra	TempLeish
<u>NOS ULTIMOS 2 ANOS,</u> 23. Teve Covid-19? () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	TCOV

23.1 Fez algum teste ? <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	TestCOV
23.2 Qual? <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	
23.2 Tomou kit COVID? <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	KitCOV
23.4 Vacinado? <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	VCOV
23.5 Qual dose? <input type="checkbox"/> 1. 1ª dose <input type="checkbox"/> 2. 1 e 2ª dose <input type="checkbox"/> 3. 1 e 2ª e reforço <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	DosCOV
23.6 Quanto tempo? <input type="checkbox"/> 1. Menos 6 meses <input type="checkbox"/> 2. Mais seis meses <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	TempCOV
24. Apresenta alergia a medicamentos <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra Se sim, qual:	AlerMed
25. Apresenta alergia a alimentos <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra Se sim, qual:	AlerAli
26. Apresenta alergia a bebidas <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra Se sim, qual:	AlerBeb
27. Ingere bebida alcoólica com que frequência? (pergunta deve ser feita a pessoas acima de 18 anos)? <input type="checkbox"/> 1- todos os dias <input type="checkbox"/> 2- uma ou duas por semana <input type="checkbox"/> 3- uma vez por mês <input type="checkbox"/> 4- mais do uma vez por mês <input type="checkbox"/> 5. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	FreqAlc
28. Para sair de casa é obrigado a pisar na água? <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	PisaAgu
29. Costuma ir ao riacho ou córrego ou igarapé <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra Se responder: Não, Nqr, Nlembra, passe para questão 40.	ContAg
29.1. Se sim, com qual finalidade vai ao riacho	
a) Banho <input type="checkbox"/> 1. nenhum <input type="checkbox"/> 2. diário <input type="checkbox"/> 3. semanal <input type="checkbox"/> 4. mensal <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88-Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	RiBan
b) lavagem de roupa <input type="checkbox"/> 1. nenhum <input type="checkbox"/> 2. diário <input type="checkbox"/> 3. semanal <input type="checkbox"/> 4. mensal <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88-Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	RiLavR
c) lavagem de utensílios domésticos/utensílios de trabalho <input type="checkbox"/> 1. nenhum <input type="checkbox"/> 2. diário <input type="checkbox"/> 3. semanal <input type="checkbox"/> 4. mensal <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88-Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	RiLavU
d) nadar/lazer <input type="checkbox"/> 1. nenhum <input type="checkbox"/> 2. diário <input type="checkbox"/> 3. semanal <input type="checkbox"/> 4. mensal <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88-Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	RiNad
e) pegar água para limpeza da água <input type="checkbox"/> 1. nenhum <input type="checkbox"/> 2. diário <input type="checkbox"/> 3. semanal <input type="checkbox"/> 4. mensal	RiPegAg

() 77. Nqr () 88-Nsa () 99. Ns/Nlembra	
f) lavagem de carro / moto / bicicleta () 1. nenhum () 2. diário () 3. semanal () 4. mensal () 77. Nqr () 88-Nsa () 99. Ns/Nlembra	RiLav
g) lavagem de animais domésticos () 1. nenhum () 2. diário () 3. semanal () 4. mensal () 77. Nqr () 88-Nsa () 99. Ns/Nlembra	RiLavAn
h) Atividade de pesca () 1. nenhum () 2. diário () 3. semanal () 4. mensal () 77. Nqr () 88-Nsa () 99. Ns/Nlembra	RiPesca
i) Manejo de culturas e plantações () 1. nenhum () 2. diário () 3. semanal () 4. mensal () 77. Nqr () 88-Nsa () 99. Ns/Nlembra	RiPlan
j) Extração areia () 1. nenhum () 2. diário () 3. semanal () 4. mensal () 77. Nqr () 88-Nsa () 99. Ns/Nlembra	
k) outros (especificar)	
30. Tem contato direto com a terra? () 1. Sim () 2. Não () 77. Nqr () 99. Ns/Nlembra	ContTer
Se responder: Não, Nqr, Nlembra, passe para questão 41.	
30.1. Se sim, como é o contato com a terra?	
a) trabalha como lavrador	TerLav
b) anda descalço	TerDesc
c) brinca na terra em torno do peridomicílio	TerBrin
d) cuida diretamente de horta/jardim	TerHJar
e) limpa valas e córregos	TerLimp
f) outros especificar	
() 77-Nqr () 88-Nsa () 99-Nsabe/Nlembra	

APÊNDICE C – TABELA GERAL DAS AMOSTRAS PROCESSADAS NAS DIFERENTES TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICOS PARASITOLÓGICOS

Amostra	Sexo	Idade	Poe-ou - Urina	Kato-Katz	HPJ	Helminzes	IgG Anti-SEA Schistosoma	IgG4 Anti-SEA Schistosoma	IgG4 Anti-SWAP Schistosoma
1	F	9	Positivo	Negativo	G. lamblia	NR	0,0176	0,0784	0,29117
2	M	9	NR	Negativo	Negativo	Positivo	0,067	0,0146	0,190373
3	M	11	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,042973	0,077367	0,3243
4	M	11	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,1036	0,0876	0,339267
5	M	11	NR	Negativo	A. anthracoides	NR	0,041033	0,0401	0,2143
6	F	15	Negativo	Negativo	G. lamblia	NR	0,023225	0,045267	0,2982
7	F	20	Positivo	Negativo	Negativo	NR	0,04365	0,07285	0,304217
8	F	21	NR	Negativo	G. lamblia, E. histolytica, Tricost qy	NR	0,02365	0,0541	0,270823
9	F	22	Positivo	S. mansoni	S. mansoni	NR	0,023225	0,040917	0,2977
10	M	22	NR	A. anthracoides	G. lamblia e A. anthracoides	NR	0,053833	0,07415	0,28043
11	F	26	Negativo	A. anthracoides	A. anthracoides	NR	0,097125	0,057717	0,2999
12	F	28	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,0568	0,04283	0,233867
13	M	28	NR	Negativo	G. lamblia	Positivo	0,026983	0,0309	0,1932
14	F	29	NR	A. anthracoides	A. anthracoides	Positivo e A. anthracoides	0,032233	0,0658	0,2314
15	F	30	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,008975	0,035417	0,26625
16	F	30	Negativo	A. anthracoides	A. anthracoides	NR	0,04245	0,04583	0,298017
17	M	31	Positivo	S. mansoni	S. mansoni	NR	0,02285	0,07405	0,31017
18	F	32	NR	Negativo	Negativo	Positivo	0,038183	0,06795	0,344
19	F	33	Negativo	NR	Negativo	NR	0,017625	0,028217	0,2628
20	F	35	Positivo	NR	NR	NR	0,03845	0,04235	0,172917
21	F	37	NR	Negativo	G. lamblia, E. coli e E. histolytica	Positivo	0,018283	0,0785	0,27355
22	F	38	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,064973	0,070887	0,2384
23	F	39	NR	Negativo	G. lamblia e E. coli	NR	0,05165	0,06065	0,219875
24	F	41	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,01013	0,0736	0,462767
25	F	41	Negativo	Negativo	E. histolytica, E. dispar e G. lamblia	NR	0,0633	0,05775	0,290317
26	F	42	Negativo	A. anthracoides	A. anthracoides	NR	0,019275	0,032487	0,26005
27	F	43	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,011233	0,043687	0,29025
28	F	43	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,199775	0,049067	0,26775
29	F	43	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,022275	0,065887	0,31505
30	F	45	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,0102	0,03495	0,231667
31	F	46	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,01665	0,03215	0,224767
32	F	46	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,0063	0,04295	0,297117
33	F	46	NR	Negativo	G. lamblia e E. histolytica	Positivo	0,012913	0,05895	0,21155
34	F	47	NR	A. anthracoides	A. anthracoides	Positivo e A. anthracoides	0,043083	0,1279	0,3045
35	F	47	NR	Amoebomonads	G. lamblia	NR	0,038483	0,0845	0,2697
36	F	47	NR	Negativo	Negativo	NR	0,023333	0,06645	0,2861
37	F	47	NR	Negativo	G. lamblia	NR	0,012775	0,06085	0,30405
38	M	48	NR	Negativo	G. lamblia, E. coli e E. histolytica	NR	0,019283	0,09425	0,29275
39	M	48	NR	A. anthracoides	A. anthracoides	Positivo e A. anthracoides	0,009333	1,1329	0,41025
40	F	50	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,028475	0,073267	0,31765
41	F	50	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,031275	0,191017	0,34825
42	F	50	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,11055	0,8201	0,280567
43	F	51	Positivo	Negativo	Negativo	NR	0,158975	0,068817	0,3301
44	F	51	Negativo	Negativo	E. histolytica, E. dispar, E. coli	NR	0,032	0,0376	0,214367
45	F	52	NR	Negativo	E. coli	Negativo	0,012383	0,03775	0,2318
46	F	52	NR	Negativo	G. lamblia	NR	0,060483	0,09785	0,23045
47	M	53	NR	Negativo	G. lamblia e E. coli	NR	0,033183	0,1139	0,2976
48	F	55	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,0198	0,0353	0,247867
49	F	55	NR	Negativo	Negativo	Positivo	0,048483	0,43775	0,2393
50	F	55	NR	Negativo	G. lamblia, E. coli e E. histolytica	NR	0,07085	0,04045	0,244275
51	F	56	Negativo	Negativo	E. histolytica, E. dispar, G. lamblia	NR	0,012775	0,022967	0,19789
52	F	56	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,1216	0,7571	0,382517
53	F	58	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,033525	0,060117	0,37945
54	F	58	Positivo	S. mansoni	S. mansoni	NR	0,211425	2,649067	1,5436
55	F	58	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,08695	1,1378	0,289117
56	F	58	NR	Negativo	G. lamblia	Negativo	0,01425	0,0301	0,227025
57	F	59	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,0913	0,0297	0,277117
58	M	59	Negativo	S. mansoni	S. mansoni	NR	0,11415	1,5229	0,434917
59	F	59	NR	Negativo	Negativo	Positivo	0,036483	0,06415	0,28833
60	M	60	NR	Negativo	G. lamblia	NR	0,043783	0,0882	0,30685
61	M	61	Positivo	Negativo	Negativo	NR	0,23275	0,483087	0,25695
62	F	61	Positivo	Negativo	E. max. Ancylostomatidae	NR	0,13245	0,03225	0,292017
63	F	61	Negativo	S. mansoni	S. mansoni	NR	0,17205	2,48415	1,863817
64	F	62	NR	Negativo	Negativo	Negativo	0,0248	0,02255	0,245875
65	F	63	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,03973	0,02365	0,183167
66	F	63	NR	Negativo	G. lamblia, E. coli e E. histolytica	Negativo	-0,060617	0,03555	0,242

67	F	64	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,077823	0,038767	0,2624
68	F	64	NR	Negativo	<i>G. lamblia</i> e <i>E. coli</i>	Negativo	0,028533	0,0488	0,24545
69	F	65	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,002875	0,03411	0,2038
70	F	65	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,01785	0,0444	0,270567
71	F	65	NR	Negativo	<i>G. lamblia</i> e <i>E. coli</i>	Positivo	0,018883	0,03005	0,24775
72	F	66	Negativo	Negativo	Ancylostomidae	NR	0,038075	0,059417	0,3148
73	F	66	NR	Negativo	<i>G. lamblia</i> e <i>E. coli</i>	Positivo	0,046133	0,0754	0,30665
74	M	66	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,127075	0,038017	0,28425
75	F	68	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,034875	0,091367	0,3091
76	F	68	NR	Negativo	Negativo	Positivo	0,03117	0,0727	0,228675
77	F	68	NR	Negativo	Negativo	Negativo	0,03175	0,08693	0,282025
78	F	68	NR	Negativo	<i>G. lamblia</i>	Negativo	0,01295	0,02865	0,168925
79	F	71	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,018175	0,059117	0,28465
80	M	71	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,18873	0,20783	0,290187
81	F	71	NR	Negativo	NR	NR	0,020083	0,0315	0,217
82	F	73	Positivo	Negativo	<i>G. lamblia</i>	NR	0,00913	0,0349	0,306667
83	M	73	NR	Negativo	<i>G. lamblia</i> e <i>E. coli</i>	NR	0,110733	1,72913	0,53745
84	F	74	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,015323	0,061317	0,3204
85	F	76	Negativo	Negativo	<i>E. coli</i> , <i>S. stercoridis</i> e <i>A. lambricoides</i>	Positivo	0,058625	0,065667	0,2942
86	F	81	Negativo	Negativo	Negativo	NR	0,120773	0,086017	0,32385
87	M	84	NR	Negativo	<i>O. lamblia</i>	NR	0,017533	0,05935	0,3118
88	M	-	NR	Negativo	Negativo	Positivo	0,18315	0,5982	0,455423
89	F	-	NR	Negativo	Negativo	Negativo	0,06293	0,08693	0,280175
90	F	-	NR	Negativo	<i>G. lamblia</i>	Positivo	0,0624	0,0326	0,234975
91	F	-	NR	Negativo	Negativo	Positivo	NR	NR	NR
92	F	-	NR	Negativo	Negativo	Negativo	0,0447	0,05535	0,245775
95	F	-	NR	Negativo	<i>O. lamblia</i>	Positivo	0,1291	0,0899	0,23421

Legenda (1) Infecção indolente; NR = Não realizado; S. aureus = *Staphylococcus aureus*; A. lambricoides = *Ascariis lambricoides*; O. lamblia = *Oocystis lamblia*; E. coli = *Escherichia coli*; E. histolytica = *Entamoeba histolytica*; E. coli = *Escherichia coli*; S. stercoridis = *Strongyloides stercoridis*