

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Departamento de Parasitologia**  
**Programa de Pós-Graduação em Parasitologia**

**DHARLITON SOARES GOMES**

**EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM MINAS GERAIS:  
padrões espaço-temporais da ocorrência e mortalidade e avaliação do desempenho de  
métodos de diagnóstico**

**Belo Horizonte – MG**

**2025**

DHARLITON SOARES GOMES

**EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM MINAS GERAIS:  
padrões espaço-temporais da ocorrência e mortalidade e avaliação do desempenho de  
métodos de diagnóstico**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Parasitologia.

**Área de Concentração:** Epidemiologia e Controle das Doenças Infecciosas e Parasitárias

**Orientador:** Prof. Dr. Stefan Michael Geiger

**Belo Horizonte - MG  
2025**

043

Gomes, Dharliton Soares.

Epidemiologia da esquistossomose mansoni em Minas Gerais: padrões espaço-temporais da ocorrência e mortalidade e avaliação do desempenho de métodos de diagnóstico [manuscrito] / Dharliton Soares Gomes. – 2025.  
165 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Stefan Michael Geiger.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Esquistossomose. 3. Schistosoma mansoni. 4. Epidemiologia. 5. Fatores de Risco. 6. Testes Imunológicos. 7. Análise Espacial.  
I. Geiger, Stefan Michael. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 576.88/.89



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**TÍTULO DA TESE:**

**"EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM MINAS GERAIS:  
PADRÕES ESPAÇO-TEMPORAIS DA OCORRÊNCIA E MORTALIDADE E  
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO"**

**ALUNO: DHARLITON SOARES GOMES**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE DOENÇAS INFECCIOSAS E  
PARASITÁRIAS**

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **vinte e nove de maio de 2025**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes Doutores:

**Cristiano Lara Massara**

Membro externo - IRR/FIOCRUZ

**Ricardo José de Paula Souza e Guimarães**

Membro externo - IEC/SVSA/MS

**Fernanda do Carmo Magalhães**

Membro interno - UFMG

**Lílian Lacerda Bueno**

Membro interno - UFMG

**Stefan Michael Geiger**

Orientador - UFMG

Belo Horizonte, 29 de maio de 2025.

## **LABORATÓRIO ENVOLVIDOS**

### **LABORATÓRIO DE HELMINTOSES INTESTINAIS – ICB/UFMG**

Prof. Dr. Stefan Michael Geiger

### **LABORATÓRIO DE ESQUISTOSSOMOSE E IMUNOHELMINTOLOGIA – ICB/UFMG**

Profa. Dra. Deborah Aparecida Negrão-Corrêa

### **LABORATÓRIO DE IMUNOLOGIA E CONTROLE DE PARASITOS – ICB/UFMG**

Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujiwara

## **SUPORTE FINANCEIRO**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Bolsa de Doutorado

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Ministério da Saúde através do edital Pesquisas Sobre Doenças Transmissíveis e Negligenciadas DECIT/CNPq/MS/SCTIE, Nº 22/2019-Processo Nº 442994/2019-2

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG. Rede Mineira de Imunobiológicos (RED – 00067-23)

Dedico este trabalho à população de Januária, em especial aos moradores das comunidades de Pé-da-Serra, Tocantins e Santana, que, desde 2014, nos recebem com respeito e colaboração. São comunidades marcadas pela ausência de políticas públicas fundamentais, como o acesso à água potável e esgotamento sanitário adequado, direitos assegurados pela Constituição Federal. Que os resultados deste e de outros trabalhos do grupo sirvam para lançar luz sobre a realidade da esquistossomose no município e sobre as desigualdades sociais que afetam historicamente essas populações.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, em especial meus pais, Isaias Gomes dos Santos e Quitéria Soares Machado. Todos os meus resultados eu devo a vocês, que me apoiaram desde sempre, mesmo sem saber direito o que eu estava fazendo, mas sabiam o mais importante, que eu estava feliz fazendo o que quer que seja.

Aos meus irmãos, Italo Soares Gomes e Isabelly Dhafny Soares Gomes, por todo apoio, por sempre estarem ao meu lado mesmo de longe, amo vocês! E ao meu xuzuzinho, Amabny Emilly Soares Gomes (*in memoriam*), por compartilhar a vida comigo, por todos os nossos momentos de irmãos, por todo carinho que por muitas vezes eu achava excessivo, mas agora sinto falta. Eu amo você ♥.

À minha companheira, meu amor, Bianca Leal. Não tenho palavras para expressar minha gratidão a você por todo apoio e palavras de incentivo, por compreender meus momentos de ausência e chatices. Além de ter colocado a mão na massa e ter lido lâminas de Kato-Katz, Helmintex, ajudado na ELISA... enfim, você foi fundamental na construção dessa tese. Amo você cada dia mais!

Ao meu tio, Israel Santos. Sou grato por todo incentivo desde a graduação, passando pelo mestrado e doutorado. Você é o meu espelho!

Ao meu orientador, Dr. Stefan Michael Geiger. Sou eternamente grato por ter aceitado me ouvir no fim de 2020, um completo estranho vindo de outro Estado. Muito obrigado por ter aceito me orientar, por todos os ensinamentos ao longo do Doutorado, por todo apoio e pela paciência em nossos momentos de discussão e decisão, além dos momentos de descontração. Sou grato por ter me apresentado Januária, a população de Brejo do Amparo e o Laboratório de Helmintoses Intestinais.

Aos amigos do Laboratório de Helmintoses Intestinais, em especial ao Allan Severino, Bianca Leal, Leiciane Santos, Michelle Laguardia, Nathália Teodoro, Paulo Coelho, Patrícia Helmold. O acolhimento desde o primeiro momento em que pisei no laboratório, foi fundamental para o desenvolvimento dessa tese. Agradeço pelos momentos de discussão, de compartilhamento de experiências, de desabafo sobre a vida e de diversão. Saibam que sou muito grato a cada um de vocês e torço pelo sucesso de vocês.

Ao meu orientador do mestrado, Dr. Silvio Santana Dolabella. Meu primeiro contato com a UFMG se deu por meio dele, inicialmente através da colaboração com a Dra. Deborah Aparecida Negrão-Correa no desenvolvimento da minha dissertação e, posteriormente, com o Dr. Stefan M. Geiger. Sem a sua orientação e apoio, provavelmente nada disso teria sido possível. Agradeço, mais uma vez, por acreditar em mim e por todo suporte ao longo dessa trajetória.

À minha colaboradora, Dra. Deborah Aparecida Negrão-Correa. Foi uma loucura pra mim, no início de 2020 a Profa. Deborah aceitar colaborar no meu projeto de mestrado e depois no doutorado. Até então eu só conhecia e admirava os seus trabalhos e o seu belo capítulo de Trichinellidae, em conjunto com o Prof. Stefan M. Geiger, no livro do David Pereira Neves. Gratidão por toda ajuda e pelos momentos de troca de conhecimento.

Aos alunos do laboratório Esquistossomose e Imunohelmintologia, coordenado pela Dra. Deborah Aparecida Negrão-Correa, em especial ao João Marcelo Peixoto Moreira e Ana Cristina Souza Melgaço por auxiliar nos ensaios sorológicos e urinários, e também me acalmar quando dava tudo errado. Ao Guilherme Miranda, João Gustavo Rodrigues, Genil Mororó e Laura Maggi, que me receberam no laboratório quando eu ainda aluno de mestrado em 2020. Muito obrigado por toda ajuda, pela colaboração e pelos momentos de descontração.

Ao Dr. Cristiano Lara Massara. Outro profissional por quem tenho admiração desde a graduação, quando conheci seus artigos e os trabalhos com educação em saúde. Pra mim, foi uma surpresa quando entrei no doutorado e no meio do planejamento para o primeiro campo, apenas para conversar com a comunidade e coletar assinaturas surgiu o nome dele para nos ajudar. E logo eu pensei “o Cristiano? Cristiano Massara? Ele vai aceitar fazer isso?”. De prontidão ele aceitou e sua ajuda foi fundamental. Sou grato pelo apoio (agora posso falar que o Cristiano Lara Massara foi pro campo comigo!! risos) e pela oportunidade de conhecê-lo.

Ao meu colaborador, Dr. Ricardo Toshio Fujiwara e à sua aluna Ma. Ana Cristina Loiola Ruas, do Laboratório de Imunologia e Controle de Parasitos, por fornecer a proteína quimera utilizada nos ensaios sorológicos e urinários.

Aos órgãos de fomento, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da Bolsa de Doutorado e Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT) pelo financiamento do projeto.

Às secretárias Sumara e Sibebe, do Departamento de Parasitologia, minha sincera gratidão por todo o suporte durante a trajetória da pós-graduação.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, expresse minha profunda gratidão por todo suporte acadêmico e institucional ao longo da minha trajetória. Foi uma grande honra fazer parte deste programa e ter aula com professores que, até então, eu conhecia por artigos científicos e livros. Obrigado por tudo!

A todos os professores que fizeram parte dessa trajetória, desde o ensino básico, graduação, mestrado e doutorado. Carrego com carinho cada ensinamento, pois todos foram fundamentais para a minha formação pessoal e acadêmica. Gostaria de agradecer nominalmente cada um, mas são muitos e eu ficaria triste se eu esquecesse o nome de algum. Sintam-se todos abraçados e recebam minha sincera gratidão!

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, participaram deste trabalho e não foram citados.

“Na vida é preciso sempre subir a escada.  
Pode-se parar para descansar, mas nunca  
descer um degrau.”

José Pellegrino, Encontro, 1972.

## RESUMO

A esquistossomose, causada por diferentes espécies do gênero *Schistosoma*, continua sendo um problema de saúde pública nas áreas tropicais e subtropicais no mundo. No Brasil, a única espécie presente é *S. mansoni*, afetando cerca de 1,5 milhão de pessoas. O diagnóstico correto de indivíduos em áreas endêmicas e o mapeamento desses casos são dois pilares fundamentais no controle dessa parasitose, pois permitem identificar e direcionar recursos para áreas prioritárias. Para abordar essas duas temáticas, a presente tese foi dividida em três capítulos.

O primeiro capítulo teve o objetivo analisar características epidemiológicas, tendências temporais e padrões espaciais da mortalidade relacionada à esquistossomose no Estado de Minas Gerais, de 2000 a 2019. Para isso foi realizado um estudo ecológico e de séries temporais com técnicas de análise espacial com dados de mortalidade por *S. mansoni*, extraídos do Sistema de Informação de Mortalidade. Entre 2000 e 2019, foram registradas 1.290 mortes por esquistossomose, com uma taxa média de mortalidade de 0,33/100.000. Embora a taxa geral de mortalidade em Minas Gerais tenha caído significativamente, houve aumento nas mesorregiões de Jequitinhonha, Vale do Mucuri e Vale do Rio Doce. A análise espacial mostrou um deslocamento dos aglomerados de alto risco da região central para o Vale do Rio Doce, sugerindo possíveis falhas no diagnóstico e tratamento da esquistossomose nessas áreas. Este estudo contribuiu para a compreensão da dinâmica espaço-temporal da mortalidade por esquistossomose no período avaliado, ajudando as autoridades de saúde a alocar recursos de forma mais eficiente em Minas Gerais.

O segundo capítulo teve como objetivo determinar as taxas de positividade da infecção por *S. mansoni*, avaliar a associação de fatores socioeconômicos e comportamentais e a distribuição espacial dos casos para determinar áreas de risco em três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Município de Januária, nos anos de 2014, 2015 e 2022. Foram conduzidos três estudos transversais com levantamentos parasitológicos, malacológico e aplicação de questionários. Modelos lineares generalizados binomiais identificaram fatores associados à infecção. Aglomerados de alto risco foram mapeados com o estimador de densidade de Kernel e varredura espacial flexível (FlexScan). A prevalência caiu de 45,9% em 2014 para 10,38% em 2015 após intervenção, mas subiu novamente em 2022 para 26,03%. Entre os fatores de risco, a proximidade das residências ao riacho (<200m) e a ausência de banheiro foram significativos em 2014 e 2022. Em 2022, a falta de tratamento de água também foi um fator de risco, enquanto o uso de água para irrigação foi marginalmente significativo. A análise espacial revelou um aglomerado persistente em uma das comunidades, com risco relativo variando de 2,03 (2014) a 4,18 (2022). Esses resultados reforçam a necessidade de infraestrutura de água segura, intervenções de saúde integradas e educação que promova a cidadania para reduzir a esquistossomose na região.

O terceiro capítulo teve como objetivo avaliar o desempenho de diferentes métodos diagnósticos e detectar anticorpos específicos frente a diferentes antígenos para *S. mansoni* em urina e soro de pacientes infectados. Amostras de fezes, sangue e urina de indivíduos residentes no distrito de Brejo do Amparo, Januária, MG foram coletadas e processadas pelos métodos de Kato-Katz, Helminex, POC-CCA e ELISA. A sensibilidade dos métodos foi comparada à combinação de Kato-Katz (seis lâminas) e Helminex como padrão de referência. A leitura de duas lâminas de Kato-Katz apresentou sensibilidade de 42,03%, enquanto a de seis lâminas foi superior, com 69,57%. O Helminex obteve a maior sensibilidade, 98,55%, e excelente concordância com o padrão de referência (Kappa = 0,99). O teste POC-CCA, para detecção de antígeno circulante na urina, apresentou sensibilidade de 50,72% (traço positivo) e 23,19% (traço negativo), com fraca concordância (Kappa= 0,39 e 0,27, respectivamente). Parâmetros urinários anormais não afetaram significativamente os resultados do POC-CCA. O ensaio de ELISA sérico para detecção de IgG anti-SEA apresentou o melhor desempenho, com

sensibilidade de 81,97%, especificidade de 60,36% e Kappa de 0,33, indicando concordância fraca em comparação com o padrão de referência (seis lâminas de KK e Helmintex). O antígeno bruto de verme adulto (SWAP) e sua fração (SmJ1) apresentaram sensibilidade de 75,41% e 77,05%, respectivamente, com especificidade de 53,89% e 42,01%. A proteína quimérica de *S. mansoni* (qSmP) teve sensibilidade de 80,33%, mas baixa especificidade (43,3%) e concordância ruim (Kappa = 0,16). A presença de anticorpos da classe de IgG contra antígenos de *S. mansoni* na urina também foi analisada, com baixa reatividade no ELISA e curvas características operacionais do receptor (ROC) apresentado área sob a curva (AUC) entre 0,53 e 0,58, indicando baixo poder discriminante entre os grupos controle e indivíduos infectados.

**Palavras-chave:** Esquistossomose, *Schistosoma mansoni*. Epidemiologia. Fatores de Risco. Imunodiagnóstico. Análise espacial

## ABSTRACT

Schistosomiasis, caused by various species of the genus *Schistosoma*, remains a public health problem in tropical and subtropical regions worldwide. In Brazil, the only species present is *S. mansoni*, which affects approximately 1.5 million people. Accurate diagnosis of individuals in endemic areas and case mapping are two fundamental pillars in the controlling this parasitic disease, as they enable the identification and allocation of resources to priority areas. To address these two aspects, this thesis was divided into three chapters.

The first chapter aimed to analyze epidemiological characteristics, temporal trends, and spatial patterns of mortality related to schistosomiasis in the State of Minas Gerais, from 2000 to 2019. For this purpose, an ecological and time-series study was conducted using spatial analysis techniques with mortality data from *S. mansoni*, extracted from the Mortality Information System. Between 2000 and 2019, 1,290 deaths from schistosomiasis were recorded, with an average mortality rate of 0.33 per 100,000. Although the overall mortality rate in Minas Gerais declined significantly, an increase was observed in the mesoregions of Jequitinhonha, Vale do Mucuri, and Vale do Rio Doce. Spatial analysis revealed a shift in high-risk clusters from the central region to Vale do Rio Doce, suggesting possible failures in the diagnosis and treatment of schistosomiasis in these areas. This study contributed to a deeper understanding of the spatiotemporal dynamics of schistosomiasis mortality in the evaluated period, assisting health authorities in allocating resources more efficiently in Minas Gerais.

The second chapter aimed to determine the positivity rates of *S. mansoni* infection, evaluate the association between socioeconomic and behavioral factors and the spatial distribution of cases and identify risk areas in three rural communities in the Brejo do Amparo district, municipality of Januária, in 2014, 2015 and 2022. The Intestinal Helminthiasis Laboratory, in collaboration with other laboratories, conducted three cross-sectional studies that included parasitological and malacological surveys and application of questionnaires. Binomial generalized linear models were used to identify factors associated with infection. High-risk clusters were mapped with the Kernel Density Estimator and Flexible Spatial Scan (FlexScan). The prevalence decreased from 45.9% in 2014 to 10.38% in 2015 after intervention, but rose again in 2022 to 26.03%. Among the risk factors, the proximity of the residences to the stream (<200m) and the absence of a toilet were significant in 2014 and 2022. In 2022, the lack of water treatment was also a risk factor, while the use of water for irrigation showed marginal significant. Spatial analysis revealed a persistent cluster in one of the communities, with a relative risk ranging from 2.03 (2014) to 4.18 (2022). These findings highlights the importance of safe water infrastructure, integrated health interventions, and adequate health education to reduce schistosomiasis in the region.

The third chapter aimed to evaluate the performance of different diagnostic methods and detection specific antibodies against different antigens for *S. mansoni* in urine and serum of infected patients. Fecal, blood and urine samples were collected from individuals living in the district of Brejo do Amparo, Januária, MG, and processed by the Kato-Katz, Helmintex, POC-CCA and ELISA methods. The sensitivity of the methods was compared to the combination of Kato-Katz (six slides) and Helmintex as a reference standard. The analysis of two Kato-Katz slides showed a sensitivity of 42.03%, while six slides increased the sensitivity to 69.57%. Helmintex exhibited the highest sensitivity at 98.55%, and excellent agreement with the reference standard ( $Kappa = 0.99$ ). The POC-CCA, for detection of circulating antigen in urine, test showed a sensitivity of 50.72% (positive trace) and 23.19% (negative trace), with weak agreement ( $Kappa = 0.39$  and  $0.27$ , respectively). Abnormal urinary parameters did not significantly affect the POC-CCA results. The serum ELISA assay for detecting anti-SEA IgG showed the best performance, with a sensitivity of 81.97%, specificity of 60.36% and  $Kappa$  value of 0.33, indicating weak agreement compared to the reference standard (six KK slides

and Helmintex). The soluble adult worm antigen (SWAP) and its fraction (*SmJ1*) showed a sensitivity of 75.41% and 77.05%, respectively, with specificity of 53.89% and 42.01%. The chimeric protein of *S. mansoni* (q*SmP*) exhibited a sensitivity of 80.33%, but low specificity (43.3%) and poor agreement ( $Kappa = 0.1634$ ). The presence of IgG class antibodies against *S. mansoni* antigens in urine was also analyzed, with low reactivity in ELISA and receiver operating characteristics (ROC) showing area under the curve (AUC) between 0.53 and 0.58, indicating low discriminant power between the control and infected individuals.

**Keywords:** Schistosomiasis, *Schistosoma mansoni*. Epidemiology. Risk factors. Immunodiagnosis

## LISTA DE FIGURAS

### REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1. Distribuição global das espécies de <i>Schistosoma</i> spp.....	19
Figura 2. Distribuição da esquistossomose no Brasil. Fonte: Brasil (2018) .....	21
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Schistosoma mansoni</i> .....	23

### CAPÍTULO I

Figura 1. Mapa da área de estudo de Minas Gerais, Brasil, e seus municípios e divisão territorial em mesorregiões.....	44
Figura 2. Distribuição espacial das taxas de mortalidade por esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, 2000–2019.....	51
Figura 3. Identificação de áreas prioritárias para controle e vigilância da esquistossomose segundo análise LISA univariada no estado de Minas Gerais, Brasil.....	52
Figura 4. Análise estatística da varredura espaço-temporal da mortalidade por esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, entre os anos de 2000 a 2019, representada em intervalos de 5 anos de 2000 a 2004 (a), 2005 a 2009 (b), 2010 a 2014 (c) e de 2015 a 2019 (d). .....	54

### CAPÍTULO II

Figura 1. Localização geográfica do Estado de Minas Gerais dentro do Brasil (em cinza), do município de Januária, região norte de Minas Gerais (em vermelho) e o distrito de Brejo do Amparo, com as comunidades rurais trabalhadas. ....	65
Figura 2. Representação esquemática do método de Kato-Katz. Adaptado de WHO (2019). .....	67
Figura 3. Representação esquemática do método de Helmintex. Adaptado de Candido e colaboradores (2018).....	68
Figura 4. Forest plot mostrando a razão de chance (OR) e intervalo de confiança (IC95%) da análise univariada para fatores de risco para esquistossomose mansoni em comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil. ....	75
Figura 5. Forest plot mostrando a razão de chance (OR) e intervalo de confiança (IC95%) da análise multivariada para fatores de risco para esquistossomose mansoni em comunidade rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil. ....	76
Figura 6. Áreas de risco para esquistossomose mansoni em três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil no ano de 2014 .....	78
Figuras 7. Áreas de risco para esquistossomose mansoni em três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil no ano de 2015 .....	79
Figuras 8. Áreas de risco para esquistossomose mansoni em três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil no ano de 2022 .....	80

### CAPÍTULO III

Figura 1. Teste rápido de urina para antígeno catódico circulante (POC-CCA).....	91
Figura 2. Análise de urina utilizando a tira reagente de urina Biocon Bio10®.....	92
Figura 3. Classificação dos indivíduos infectados com <i>Schistosoma mansoni</i> de acordo com sua carga parasitária, determinado pelo método de Kato-Katz seis lâminas.....	99
Figura 4. Análise de Curva ROC da reatividade de IgG contra antígenos de <i>Schistosoma mansoni</i> (SWAP, SmJ1, SEA e qSmP) em soros de moradores de três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil. ....	102
Figura 5. Análise de Curva TG-ROC da reatividade de IgG contra antígenos de <i>Schistosoma mansoni</i> (SWAP, SmJ1, SEA e qSmP) em soros de moradores de três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil. ....	103
Figura 6. Reatividade sérica de IgG contra os antígenos SWAP (A), SEA (B), SmJ1 (C) e qSmP (D) em participantes positivos para ovos de <i>Schistosoma mansoni</i> (n=61) e participantes negativos (n=169). Foram usadas as medianas individuais e a linha vermelha representa o ponto de corte determinado pela curva ROC e Tg-ROC. Os valores de <i>p</i> foram determinados usando o teste de Mann-Whitney. ** <i>p</i> < 0,01; **** <i>p</i> <0,0001.....	106
Figura 7. Reatividade sérica de IgG contra antígenos SWAP (A), SEA (B), SmJ1 (C) e qSmP (D) em indivíduos negativos com histórico positivo (n=53) ou sem histórico de infecção (n=51) para <i>Schistosoma mansoni</i> . Foram usadas as medianas individuais e a linha vermelha representa o ponto de corte determinado pela curva ROC e Tg-ROC. Os valores de <i>p</i> foram determinados usando o teste de Mann-Whitney. * <i>p</i> <0,05; ** <i>p</i> <0,01.....	107
Figura 8. Análise de Curva ROC da reatividade de IgG contra antígenos de <i>Schistosoma mansoni</i> (SWAP, SmJ1, SEA e qSmP) em urina de moradores de comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil.....	108
Figuras 9. Correlação entre reatividade de anticorpos IgG no soro e urina em amostras emparelhadas, avaliadas pelo coeficiente de correlação de postos de Spearman. ....	109
Figuras 10. Reatividade urinária de IgG contra os antígenos SWAP (A), SEA (B), SmJ1 (C) e qSmP (D) em participantes positivos para ovos de <i>Schistosoma mansoni</i> (n=61) e participantes negativos (n=169). Foram usadas as medianas individuais. Os valores de <i>p</i> foram determinados usando o teste de Mann-Whitney. * <i>p</i> < 0,05; *** <i>p</i> <0,001.....	110
Figuras 11. Comparação da reatividade de IgG anti-SEA em amostras de urina <i>in natura</i> e concentrada de indivíduos positivos (A) e negativos (B) para <i>S. mansoni</i> . A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de Man-Whitney, não sendo observada diferença estatisticamente significativa ( <i>p</i> >0,05).....	111

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1. Análise bivariada entre características epidemiológicas e mortes relacionadas à esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, entre 2000 e 2019. ....	48
Tabela 2. Análise da tendência temporal das taxas de mortalidade por esquistossomose, de acordo com variáveis sociodemográficas e mesorregiões no estado de Minas Gerais, Brasil 2000–2019.....	50
Tabela 3. Estatísticas de autocorrelação espacial e número de municípios prioritários no estado de Minas Gerais, Brasil, 2000–2019. ....	53
Tabela 4. Varredura espaço-temporal das taxas anuais de mortalidade por esquistossomose por 100.000 habitantes em Minas Gerais, Brasil, de 2000 a 2019. ....	55

### CAPÍTULO II

Tabela 1. Análise univariada entre características epidemiológicas e casos relacionados à esquistossomose em comunidade rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil, entre 2014, 2015 e 2022. ....	73
--	----

### CAPÍTULO III

Tabela 1. Distribuição das taxas de positividade e carga parasitária, de acordo com os métodos diagnósticos para <i>Schistosoma mansoni</i> em relação ao sexo e faixa etária da população de estudo. ....	98
Tabela 2. Desempenho de diferentes métodos parasitológicos e imunocromatográficos para a detecção da esquistossomose mansoni em comparação com padrão de referência (seis lâminas de Kato-Katz e Helmintex). ....	100
Tabela 3. Regressão logística binária entre os parâmetros de urina e o resultado do POC-CCA. ....	100
Tabela 4. Valores de corte para reatividade, sensibilidade, especificidade e área sob a curva (AUC) de ensaios de ELISA anti-IgG contra diferentes preparações de antígenos avaliadas. ....	104
Tabela 5. Desempenho diagnóstico dos ensaios sorológicos IgG contra antígenos de <i>Schistosoma mansoni</i> (SWAP, SmJ1, SEA e qSmP) em moradores de três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, cidade de Januária, Minas Gerais, Brasil. ....	105

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AUC – *Area under curve* (Área sob a curva)  
BSA – *Bovine serum albumin* (Albumina de soro bovino)  
CAA – *Circulating anodic antigen* – (Antígeno anódico circulante)  
CCA – *Circulating cathodic antigen* (Antígeno catódico circulante)  
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa  
DALYs – *Disability-Adjusted Life Years* (Anos de vida perdidos ajustados por incapacidade)  
DNA – *Deoxyribonucleic acid* (Ácido desoxirribonucleico)  
DTN – Doença Tropical Negligenciada  
ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio de imunoabsorção enzimática)  
G – Grama  
h – Hora  
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
IC – Intervalo de confiança  
ICB – Instituto de Ciências Biológicas  
IDHM – Índice de Desenvolvimento Humano Municipal  
IHM – *Institut of Health & Management* (Instituto de Métricas e Avaliação em Saúde)  
ITS – *Internal Transcribed Spacer* (Região espaçadora transcrita interna)  
KK – Kato-Katz  
mL – Mililitro  
MG – Minas Gerais  
mg – Miligrama  
min – Minuto  
mm – Milímetro  
MS – Ministério da Saúde  
µg – Micrograma  
µl – Microlitro  
µm – Micrômetro  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
opg – Ovos por grama de fezes  
PCE – Programa de Controle da Esquistossomose  
PBS – *Phosphate-buffered saline* (Tampão salino-fosfato)  
POC-CCA – *Point-of-care circulating cathodic antigen* (Teste rápido para detecção de antígeno catódico circulante)  
ROC – *Receive operating characteristic* (Curva de características operacionais do receptor)  
SEA – *Soluble Egg Antigen* (Antígeno solúvel de ovo)  
SISPCE – Sistema Informatizado do Programa de Controle da Esquistossomose  
SUCAM – Superintendência de Campanhas de Saúde Pública  
SWAP – *Soluble Worm Adult Preparation* (Preparação solúvel de verme adulto)  
TALE – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido  
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
UI – *Uncertainty Interval* (Intervalo de incerteza)  
WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>1.1 O gênero <i>Schistosoma</i> e seu impacto na saúde pública</b> .....	19
<b>1.2 Esquistossomose mansoni em Minas Gerais</b> .....	21
<b>1.3 Ciclo de vida e aspectos imunopatológicos da infecção por <i>S. mansoni</i></b> .....	22
<b>1.4 Estratégias de controle da esquistossomose</b> .....	25
<b>1.5 Diagnóstico da esquistossomose</b> .....	27
1.5.1 Diagnóstico parasitológico.....	27
1.5.2 Diagnóstico molecular.....	28
1.5.3 Diagnóstico imunológico.....	29
1.5.3.1 Utilização de peptídeos sintéticos.....	31
1.5.3.2 Detecção de anticorpos na urina.....	32
<b>1.6 Mapeamento da doença e análises de dados espaciais em saúde pública</b> .....	34
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	36
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	38
3.1 Geral.....	38
3.2 Específicos.....	38
<b>CAPÍTULO I</b> .....	40
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	42
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	44
2.1 Design e período de estudo.....	44
2.2 Área de estudo.....	44
2.3 Fontes de dados.....	44
2.4 Análise de dados.....	45
2.4.1 Caracterização epidemiológica de mortes por esquistossomose.....	45
2.4.2 Análise de tendências de tempo.....	45
2.4.3 Distribuição espacial e análise de autocorrelação espacial.....	45
2.4.4 Análise de cluster espaço-temporal.....	46
<b>3 PROGRAMAS COMPUTACIONAIS</b> .....	47
<b>4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS</b> .....	47
<b>5 RESULTADOS</b> .....	48
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	56
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	59
<b>CAPÍTULO II</b> .....	60
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	62
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	64
2.1 Aspectos éticos.....	64
2.2 Área de estudo.....	64
2.3 Delineamento do estudo.....	65
2.4 Métodos de diagnóstico.....	66
2.4.1 Kato-Katz.....	66
2.4.2 Helmintex.....	67
2.5 Potenciais fatores de risco.....	68
2.6 Levantamento malacológico.....	69
2.7 Análise espacial.....	69
2.8 Análise estatística.....	70
<b>3 RESULTADOS</b> .....	72
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	81
<b>CAPÍTULO III</b> .....	86
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	88

<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>90</b>
<b>2.1 Coleta de material biológico.....</b>	<b>90</b>
2.1.1 Sangue.....	90
2.1.2 Urina.....	90
<b>2.2 Teste rápido de urina POC-CCA.....</b>	<b>90</b>
<b>2.3 Tira reagente de urina.....</b>	<b>91</b>
<b>2.4 Obtenção de antígenos.....</b>	<b>92</b>
2.4.1 Antígeno solúvel de verme adulto (SWAP).....	92
2.4.2 Frações derivadas de SWAP ( <i>SmJ1</i> ).....	93
2.4.3 Antígeno Solúvel de Ovos (SEA).....	93
2.4.4 Proteína Quimera ( <i>qSmP</i> ).....	94
<b>2.5 Detecção de anticorpos por ensaio imunoenzimático (ELISA).....</b>	<b>95</b>
<b>2.6 Concentração de urina por ultrafiltração.....</b>	<b>96</b>
<b>2.6 Análises estatística.....</b>	<b>97</b>
<b>3 RESULTADOS.....</b>	<b>98</b>
<b>3.1 Caracterização e perfil parasitológico da população.....</b>	<b>98</b>
<b>3.1.2 Desempenho dos métodos diagnósticos (Kato-Katz, Helmintex e POC-CCA) para a detecção da infecção por <i>S. mansoni</i>.....</b>	<b>99</b>
<b>3.2 Reatividade de imunoglobulinas IgG contra antígenos de verme adulto (SWAP e <i>SmJ1</i>), do ovo (SEA) e uma proteína quimera (<i>qSmP</i>) de <i>S. mansoni</i> em soro de indivíduos infectados.....</b>	<b>101</b>
<b>3.3 Desempenho das diferentes preparações antigênicas como ferramenta de diagnóstico para infecção ativa por <i>S. mansoni</i> na população de estudo.....</b>	<b>104</b>
<b>3.4 Reatividade de imunoglobulinas IgG contra antígenos de verme adulto (SWAP e <i>SmJ1</i>), do ovo (SEA) e uma proteína quimera (<i>qSmP</i>) de <i>S. mansoni</i> na urina de indivíduos infectados.....</b>	<b>107</b>
<b>4 DISCUSSÃO.....</b>	<b>112</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>117</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>118</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>119</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>136</b>
<b>APÊNDICE A - Indicadores operacionais e epidemiológicos do PCE em Minas Gerais.....</b>	<b>136</b>
<b>APÊNDICE B – Produção científica no período de doutoramento (2021-2025).....</b>	<b>137</b>
<b>ANEXO A - Aprovação Comitê de Ética 2022.....</b>	<b>148</b>
<b>ANEXO B – Aprovação Comitê de Ética 2014.....</b>	<b>151</b>
<b>ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Maiores de 18 anos.....</b>	<b>152</b>
<b>ANEXO D. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Pais e Responsáveis.....</b>	<b>154</b>
<b>ANEXO E. Termo de Assentimento Livre e Esclarecido.....</b>	<b>156</b>
<b>ANEXO C. Questionário Socioeconômico e Comportamental – 2014.....</b>	<b>158</b>
.....	159
<b>ANEXO D. Questionário Socioeconômico e Comportamental – 2022.....</b>	<b>162</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 O gênero *Schistosoma* e seu impacto na saúde pública

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada (DTN) de grande relevância mundial. Descrita inicialmente por Theodor Bilharz em 1851, essa doença é causada por parasitos do gênero *Schistosoma* Weiland, 1858, sendo as principais espécies: *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. haematobium*, *S. mekongi* e *S. intercalatum* (Colley *et al.*, 2014) (Figura 1).

É uma doença determinada pela pobreza e afeta aproximadamente 151 milhões de pessoas em 78 países localizados na África, Ásia e América Latina (IHME, 2021). Estimativas conservadoras indicam que, em 2021, a esquistossomose foi responsável por cerca de 12.900 mortes (UI: 11.400-14.700), representando uma carga global de aproximadamente 1,75 milhão (UI: 1.04-2.99) de DALYs (*Disability-Adjusted Life Years* - anos de vida perdidos por incapacidade), que representa a soma dos anos de vida produtiva perdidos devido à mortalidade prematura e incapacidades (Hay *et al.*, 2017; IHME, 2021).

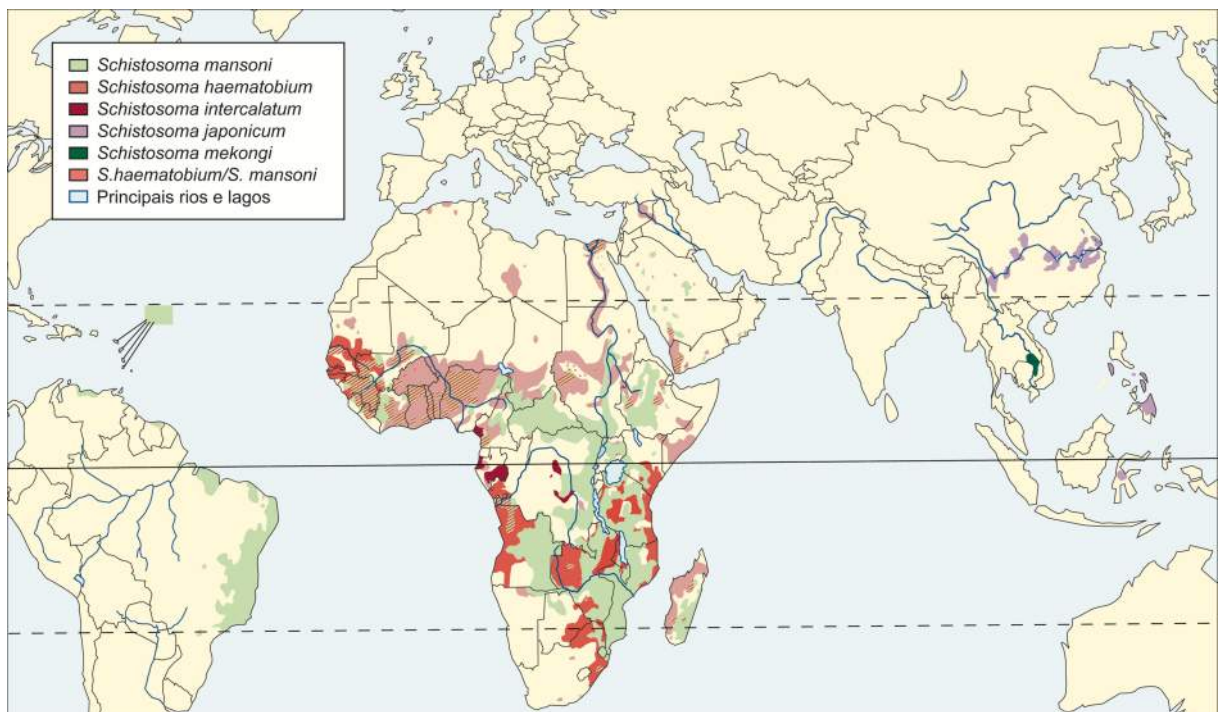


Figura 1. Distribuição global das espécies de *Schistosoma* spp. Adaptado de Gryseels *et al.* (2006)

No Brasil, acredita-se que a esquistossomose foi introduzida por meio dos portos de Salvador e Recife, durante o século XVI, com a chegada de africanos escravizados portadores da infecção. Estabelecidos os primeiros focos, devido ao encontro de moluscos suscetíveis para o desenvolvimento das larvas desse parasito, a doença se dispersou pelas migrações internas e em decorrência da distribuição dos caramujos infectados. A descoberta desse parasito coube ao

médico baiano Manuel Augusto Pirajá da Silva; entre os anos de 1908 e 1909, Pirajá publicou três trabalhos descrevendo 20 casos diagnosticados por meio do exame de fezes, identificado ovos com espículo lateral. Além disso, por meio de três necropsias, ele caracterizou o tamanho e morfologia dos vermes adultos, concluindo que não correspondia a nenhuma das espécies descritas até o momento; esse parasito ficou conhecido como *S. mansoni* (Katz, 2009).

No Brasil, a esquistossomose é causada apenas pela espécie *S. mansoni*, com um impacto significativo na saúde pública. Em 2021, a esquistossomose foi responsável por 55.910,63 DALYS e resultou em 516.52 óbitos (IHME, 2021). Além das vidas perdidas devido a essa parasitose, a esquistossomose mansoni impõe uma elevada carga econômica no Brasil, com impacto direto na produtividade. Em 2015, os custos associados à doença no Brasil foram estimados em 41,7 milhões de dólares, dos quais 94,61% correspondem a custos indiretos, como perda salarial por morte prematura, perda de salário por hospitalização e afastamento, e auxílio-doença (Nascimento *et al.*, 2019).

A transmissão da esquistossomose é registrada em 18 estados da federação, além do Distrito Federal. As principais áreas endêmicas estão localizadas nos estados de Alagoas, Bahia, Sergipe, Espírito Santo, Minas Gerais e Pernambuco, enquanto áreas focais ocorrem no Ceará, Distrito Federal, Maranhão, Pará, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo (Brasil, 2014). De acordo com o Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-Helminthíases, realizado entre 2010 e 2015, dos 197.564 escolares examinados, cerca de 0,99% (2.664/197.564) estavam infectados por *S. mansoni*. Os estados com maiores índices de positividade geral foram Sergipe (8,1%), Minas Gerais (3,8%), Alagoas (2,3%), Bahia (2,1%), Pernambuco (2,1%) e Rio de Janeiro (1,6%) (Katz, 2018).

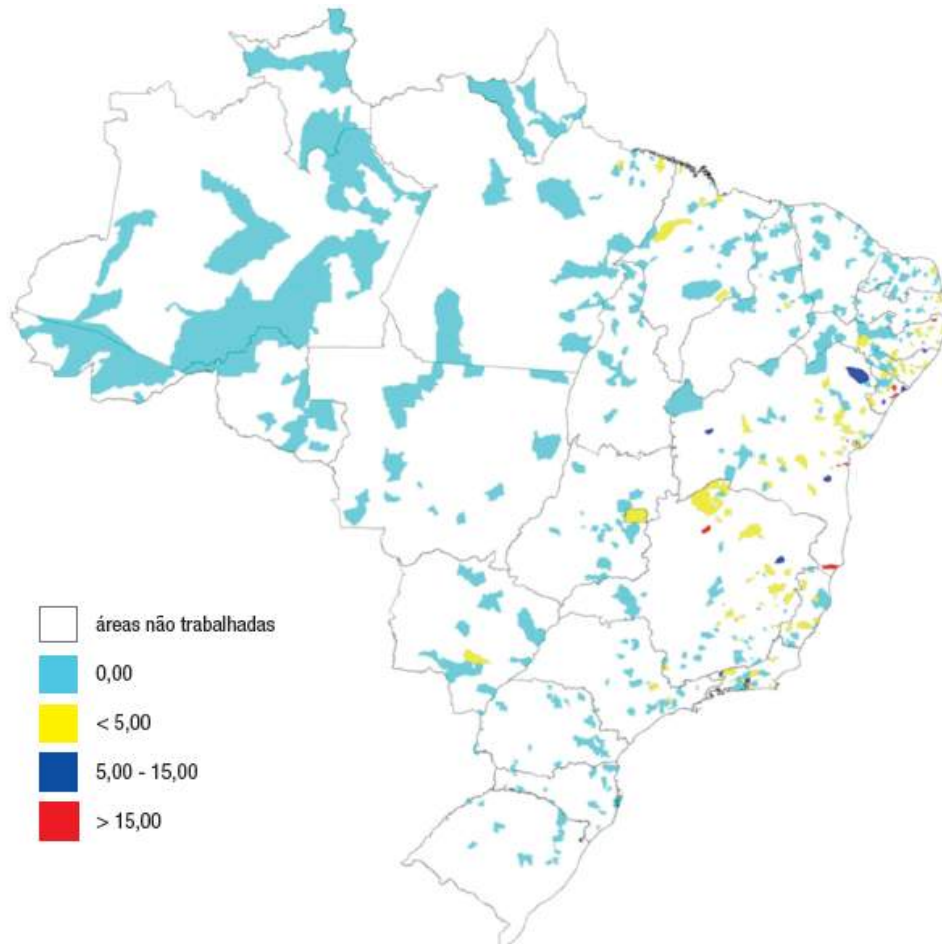


Figura 2. Distribuição da esquistossomose no Brasil. Fonte: Brasil (2018)

## 1.2 Esquistossomose mansoni em Minas Gerais

A distribuição da esquistossomose está intrinsecamente relacionada aos movimentos migratórios. O deslocamento de indivíduos provenientes de áreas endêmicas para regiões onde a doença não está estabelecida, mas onde há a presença de moluscos hospedeiros intermediários, aliado à ausência de saneamento básico, pode favorecer a introdução e manutenção do ciclo de transmissão (Steverding, 2020). Durante o período escravocrata no Brasil, Minas Gerais absorveu grande parte dos escravizados que desembarcaram na região Nordeste do país, observando-se um grande fluxo migratório no século XVII em decorrência do declínio da produção açucareira no Nordeste e o início do ciclo do ouro e diamante. As regiões que mais receberam escravizados foram a região Metalúrgica-Mantiqueira (atual Mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte), Mata (atual Mesorregião da Zona da Mata) e em menor proporção a região São Francisco-Montes Claros (atual Mesorregião Norte de Minas) (Filho; Martins, 1983). Essa migração para Minas Gerais, contribuiu para a disseminação da esquistossomose e a consolidação da endemia no estado, reforçada pela alta similaridade genética de *S. mansoni* do Brasil com cepas da África Central e Ocidental (Platt *et al.*, 2022).

Minas Gerais é um dos principais estados endêmicos para a esquistossomose no Brasil, com registros da parasitose em 523 (61%) dos seus 853 municípios (Drummond *et al.*, 2010). Em um inquérito realizado em 1950 no estado, os sanitaristas Pellon e Teixeira examinaram 162.419 escolares em 279 localidades, identificando a infecção por *S. mansoni* em 7.997 (4,9%) indivíduos. As mesorregiões do Vale do Mucuri (30%), Zona do Médio São Francisco (16,6%) e Vale do Rio Doce (12%) apresentaram as maiores taxas de prevalência. Entre os anos de 1976 e 1977, Katz *et al.*, (1978) realizaram um novo inquérito coproscópico em Minas Gerais, examinando 61.535 pelo método de Kato-Katz, encontrando 5.904 crianças positivas, com uma prevalência geral de 9,6%. As maiores prevalências foram observadas no Vale do Mucuri (20%) e na Zona do Médio São Francisco (16,1%).

Entre os municípios com altas prevalências na Zona do Médio São Francisco, destaca-se o município de Januária, que possui uma população de 65.150 habitantes distribuída em oito distritos e apresenta um Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHM) de 0,658, classificado como médio (IBGE, 2021). No município, 56,8% da população utiliza fossas rudimentares, enquanto 15,9% depende de fontes alternativas de água, como poços artesianos, rios, açudes, córregos ou água da chuva (Brasil, 2023). A esquistossomose é endêmica no município, com um histórico que remonta a 1920, quando uma criança do sexo feminino, natural de Januária, foi diagnosticada com *S. mansoni* em Belo Horizonte (Meira, 1953). Entre 1937 e 1946, dados de viscerotomia revelaram a presença de *S. mansoni* em 9 fígados de indivíduos residentes no município (Pará, 1949). Mais recentemente, dados epidemiológicos do Sistema Informatizado do Programa de Controle da Esquistossomose (SISPCE) indicam uma média de 452,7 (195,6-1.047) casos registrados entre 2004 e 2013 (Brasil, s.d). As precárias condições de saneamento e o acesso limitado à água potável em Januária favorecem a perpetuação do ciclo da esquistossomose, aumentando o risco de contaminação e transmissão da doença.

### **1.3 Ciclo de vida e aspectos imunopatológicos da infecção por *S. mansoni***

O *S. mansoni* apresenta um ciclo de vida heteroxênico (Figura 3), tendo como hospedeiro definitivo os humanos e algumas espécies de mamíferos, como primatas não humanos e roedores silvestres. Os hospedeiros intermediários são moluscos de água doce do gênero *Biomphalaria*, essenciais para a transmissão da esquistossomose, uma doença de veiculação hídrica (Colley *et al.*, 2014). No Brasil, as espécies *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* já foram identificadas como hospedeiros intermediários, sendo *B. glabrata* a mais suscetível (Paraense, 1972, 1975).

A infecção é adquirida quando indivíduos entram em contato com ambiente aquático que tenha caramujos do gênero *Biomphalaria* liberando cercárias, forma larval infectante do verme trematódeo *S. mansoni*. Essa exposição se dá, principalmente, durante atividades recreativas ou laborais. A infecção acontece por meio da penetração ativa das cercárias pela pele que, após a perda da sua cauda, diferenciam-se em esquistossômulos e migram, via circulação sanguínea, até a veia porta hepática, onde ocorre a maturação sexual e acasalamento dos vermes (Lutz, 1919; Wilson et al. 1978). As fêmeas fecundadas produzem em média 300 a 400 ovos por dia, depositando seus ovos nos ramos inferiores das veias mesentéricas (Moore; Sandground, 1956). Parte desses ovos, cerca de 50%, conseguem atravessar o endotélio, a partir de um processo inflamatório, e serem eliminados nas fezes do hospedeiro (Schwartz; Fallon, 2018). Os ovos, ao entrarem em contato com a água, liberam miracídios, larvas ciliadas que nadam ativamente em busca de um caramujo *Biomphalaria* suscetível. Ao penetrar o caramujo, o miracídio se transforma em esporocisto, que se reproduz assexuadamente, produzindo novas gerações de esporocistos e finalmente cercárias. Fatores ambientais como temperatura e luminosidade estimulam a liberação das cercárias do caramujo para o ambiente aquático, onde podem infectar novos hospedeiros humanos, perpetuando o ciclo de transmissão (Wolmarans et al., 2002).

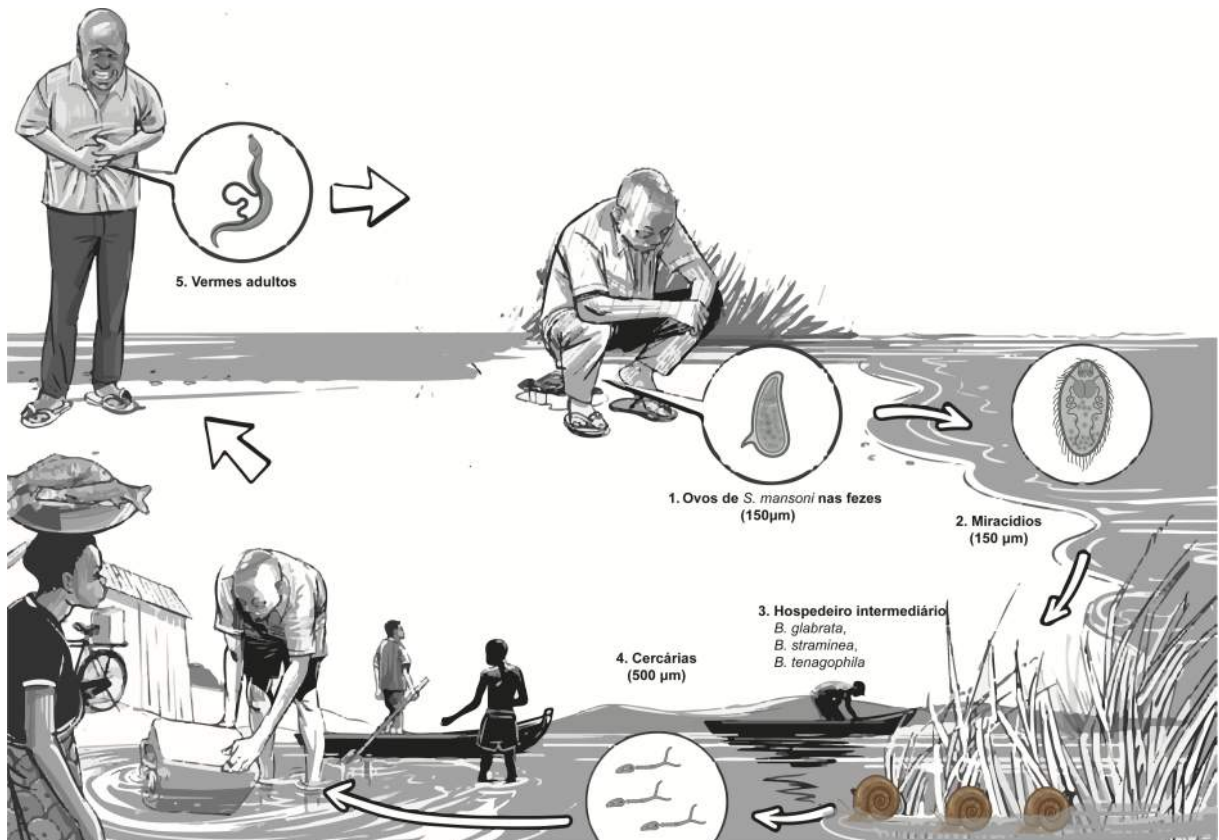


Figura 3. Ciclo de vida de *Schistosoma mansoni*. Os ovos do parasito são eliminados nas fezes de hospedeiros vertebrados infectados (1) e, ao entrarem em contato com água doce, liberam larvas chamadas miracídios (2). Os

caramujos *Biomphalaria* suscetíveis são infectados pelos miracídios, que se desenvolvem em esporocistos (3). Esses esporocistos produzem milhares de cercárias, que são liberadas no ambiente aquático como forma infectante para os hospedeiros vertebrados (4). As cercárias penetram a pele do hospedeiro vertebrado, transformando-se em esquistossômulos e, posteriormente, em vermes adultos, que se alojam nas veias mesentéricas (5). Os vermes se acasalam dentro das veias mesentéricas, e parte dos ovos produzidos pelas fêmeas atravessa o endotélio vascular intestinal, sendo eliminados nas fezes do hospedeiro. O ciclo recomeça quando os ovos alcançam água doce, miracídios eclodem, infectam moluscos, perpetuando o ciclo. Fonte: Adaptado de Musisi e Ndula (s.d)

A infecção por *S. mansoni* desencadeia uma complexa resposta imune do hospedeiro, variando conforme o estágio do ciclo parasitário e a carga infecção. Durante a fase inicial, a penetração das cercárias na pele desencadeia uma resposta inflamatória, caracterizada pelo recrutamento de células polimorfonucleares e mononucleares. Durante essa resposta, queratinócitos e células de Langerhans (LCs) ativadas produzem citocinas inflamatórias, como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 e TNF- $\alpha$  (Dunne; Cooke, 2005). Essas citocinas, por sua vez, ativam células imunes inatas, especialmente macrófagos, aumentando sua atividade fagocitária e a produção de derivados de oxigênio e nitrogênio, como óxido nítrico (NO), que podem atuar no controle de fases larvárias do parasito, bem como na lesão tecidual e indução de sintomas inflamatórios sistêmicos (Pearce; MacDonald, 2002; Egesa *et al.*, 2018). Em indivíduos de área endêmica previamente expostos ao parasito, os sinais clínicos tendem a ser leves, com a possível manifestação de urticária local minutos após a infecção pelas cercárias. Por outro lado, em indivíduos primo-infectados, podem surgir sintomas associados à inflamação sistêmica, como febre elevada, calafrios, sudorese, astenia, tosse, dores de cabeça (Lambertucci, 2010; Gryseels, 2012).

Com o início da oviposição, há uma mudança no perfil imunológico do hospedeiro, com transição da resposta Th1 para Th2, mediada pelos antígenos solúveis do ovo, estimulando a produção de IL-4, IL-5, IL-13 e promovendo a diferenciação de eosinófilos e macrófagos alternativamente ativados (M2) (Barron; Wynn, 2011). Assim, o perfil de resposta imune do tipo 2 é responsável pela indução de uma resposta celular rica em eosinófilos, macrófagos e fibroblastos ao redor dos ovos do parasito retidos nos tecidos do hospedeiro, conhecida como granuloma, que pode evoluir progressivamente para fibrose, principalmente no intestino e no sistema porta hepático, podendo levar à intensa e grave fibrose hepática e hipertensão portal, alterações fisiológicas que caracterizam casos graves de esquistossomose (Cheever; Hoffmann; Wynn, 2000; Colley *et al.*, 2014; McManus *et al.*, 2018). Paralelamente, antígenos do parasito progressivamente induzem a ativação de uma rede regulatória, pela diferenciação de macrófagos, células T e células B com perfil regulatório, que mediante mecanismos que envolvem, entre outros, a produção de IL-10 e TGF-beta, regulam a intensidade das respostas Th1 e Th2, caracterizando a fase crônica da esquistossomose (Chuah *et al.*, 2014).

A resposta humoral na esquistossomose é caracterizada por uma produção dinâmica de anticorpos que varia conforme a fase da infecção e a intensidade da exposição ao parasito. Durante a fase aguda, marcada pela entrada do parasito no organismo e início da migração larval, há predominância de anticorpos das subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgM, refletindo uma resposta inicial contra antígenos do esquistossômulo (Jassim *et al.*, 1987; Rabello *et al.*, 1995). Já na fase crônica, quando os vermes adultos estão estabelecidos nos vasos mesentéricos e ocorre a deposição contínua de ovos nos tecidos, observa-se um aumento de IgG4 e IgE, sendo esta última associada à resistência à reinfeção (Caldas *et al.*, 2008; Jiz *et al.*, 2009). Por outro lado, níveis elevados de IgG4 na fase crônica estão relacionados à susceptibilidade à infecção e maior gravidade clínica, uma vez que essa imunoglobulina pode competir com a IgE pela ligação ao antígeno, inibindo sua função protetora (Negrão-Corrêa *et al.*, 2014; Silas *et al.*, 2014). O equilíbrio entre IgE e IgG4 é, portanto, determinante para o desfecho da resposta imunológica, influenciando diretamente a susceptibilidade, resistência e progressão da esquistossomose (Silveira *et al.*, 2002; Figueiredo *et al.*, 2012).

#### **1.4 Estratégias de controle da esquistossomose**

A transmissão da esquistossomose é complexa e envolve diversos fatores sociais, econômicos e ambientais, o que torna o controle da infecção mais difícil. Diversas ações devem ser tomadas em conjunto para garantir o controle efetivo da transmissão dessa infecção, como por exemplo a vigilância e controle dos hospedeiros intermediários, ações de educação em saúde e melhora das condições ambientais com a implantação de saneamento básico e o diagnóstico precoce e tratamento (WHO, 2020b). No Brasil, o controle da esquistossomose é realizado pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), cujas principais ações têm como base a realização de inquéritos coproparasitológicos e o tratamento dos indivíduos positivos com praziquantel nas áreas investigadas (Brasil, 2024). De acordo com as novas diretrizes do Ministério da Saúde, o mapeamento das áreas que necessitam de intervenção é realizado por meio do exame de, no mínimo, seis lâminas pelo método parasitológico de Kato-Katz (KK), e o tratamento é recomendado de acordo com base na positividade da localidade. Em áreas com positividade inferior a 15% trata-se apenas os indivíduos positivos; quando a positividade varia entre 15-25%, recomenda-se o tratamento dos positivos e conviventes; e, em localidades com positividade superior a 25%, todos os indivíduos positivos e negativos devem ser tratados (Brasil, 2024). O tratamento com praziquantel leva a cura de cerca de 80% dos indivíduos tratados, reduz o número de casos graves e a carga parasitária, porém não afeta a

viabilidade dos ovos, das formas imaturas do parasito e não previne reinfecções (El-Lakkany *et al.*, 2011).

As medidas de controle adotadas pelo PCE aliadas às melhorias sanitárias tiveram um efeito prático ao longo dos anos, de acordo com os três maiores inquéritos de levantamento da esquistossomose mansoni a nível nacional. O primeiro inquérito foi realizado em duas fases distintas e coordenado pelos sanitaristas Pellon e Teixeira, entre os anos 1947 a 1953. A primeira fase do levantamento, incluiu a análise de indivíduos dos Estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Maranhão, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe. Durante essa etapa, foram examinados 440.786 escolares, com idades entre 7 e 14 anos, em 877 localidades, utilizando o método diagnóstico de sedimentação espontânea. A prevalência observada foi de 10%, com uma estimativa de 2,6 milhões no número de pessoas infectadas (Pellon e Teixeira, 1950). A segunda fase do levantamento focou nos Estados do Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Goiás e Mato Grosso. Foram analisadas 174.192 fezes de estudantes de 313 localidades, resultando em uma prevalência de 0,08% (Pellon e Teixeira, 1953). O segundo inquérito foi conduzido pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), do Ministério da Saúde, examinando 447.768 escolares na mesma faixa etária pelo método diagnóstico de KK; a prevalência obtida foi de 6,7% (Katz, 2018). Por fim, o inquérito mais recente, iniciado em 2010 e finalizado em 2015, a positividade foi de cerca de 1% dos 197.564 escolares examinados (Katz, 2018).

Apesar do declínio na prevalência da doença em áreas endêmicas, atualmente observa-se indivíduos infectados com baixa carga parasitária em regiões de baixa endemicidade. Porém o diagnóstico desses indivíduos é dificultado devido à baixa sensibilidade do método diagnóstico empregado atualmente, conforme demonstrado em estudos anteriores (Silva-Moraes *et al.*, 2019a). Por vez, esses indivíduos falso-negativos não são atingidos pelas medidas de controle, fazendo com que continuem a eliminar ovos que irão manter o ciclo da doença ativa em áreas em processo de eliminação da doença. Portanto, para que possamos atingir a meta de eliminação da esquistossomose como um problema de saúde pública, estabelecida no roteiro para DTNs para o período de 2021-2030 pela Organização Mundial da Saúde, são necessários o desenvolvimento de novos métodos diagnósticos altamente específicos (para evitar confusão devido a falsos positivos) e sensíveis o suficiente para detectar os casos restantes (WHO, 2020).

## 1.5 Diagnóstico da esquistossomose

### 1.5.1 Diagnóstico parasitológico

O diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansoni é feito por meio da visualização direta dos ovos do parasito nas fezes do indivíduo infectado (BRASIL, 2014). Esses métodos são divididos em qualitativos e quantitativos, sendo os métodos quantitativos capazes de estimar o número de ovos por grama de fezes analisadas.

O método de Kato e Miura (1954), anteriormente qualitativo, foi posteriormente modificado por Katz *et al.*, 1972 passando a ser quantitativo; esse método hoje é recomendado pela OMS para o diagnóstico da esquistossomose em nível comunitário (WHO, 2002). Essa técnica é baseada na quantificação de ovos nas fezes, exibindo uma alta especificidade e um baixo custo operacional, requerendo equipamento laboratorial mínimo, podendo ser utilizado facilmente em estudos de campo. As lâminas de KK são preparadas com kits padronizados, utilizando um molde plástico com um orifício central de 6mm para padronizar a quantidade de fezes examinada (cerca de 42mg); essas fezes são cobertas e pressionadas por uma lamínula de celofane semipermeável, previamente embebida em solução diafanizadora (verde de malaquita ou azul de metileno em glicerol). Após a preparação, essas lâminas são lidas em microscópio óptico, o número de ovos de *S. mansoni* é registrado e, após a multiplicação por um fator de 24, esta análise revela uma estimativa de ovos por 1g de fezes (Katz; Chaves; Pellegrino, 1972). Recomenda-se a leitura de duas lâminas para busca ativa devido ao seu custo-benefício operacional, porém esse protocolo é adequado apenas para infecções de intensidade moderada (100-399 OPG) e alta (>400 OPG), apresentando uma baixa sensibilidade na detecção de infecções de baixa intensidade (<100 OPG) (Okoyo *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2018; Cools *et al.*, 2019).

A baixa deposição de ovos pelas fêmeas de *S. mansoni* (300-400 ovo/dia) e a quantidade reduzida de ovos que chegam à luz intestinal, sendo excretados nas fezes, são fatores que comprometem a sensibilidade do diagnóstico coproparasitológico. O aumento no número de lâminas ou amostras analisadas pode aumentar a sensibilidade do teste; um estudo conduzido por Santos *et al.* (2020) em uma área de baixa prevalência no estado de Alagoas demonstrou uma variação na positividade de 18,4 a 31% quando comparadas as análises de duas lâminas e seis lâminas, respectivamente. Além disso, a combinação de diferentes métodos parasitológicos pode aumentar a sensibilidade em mais de 90% (Oliveira *et al.*, 2018). No entanto, a implementação de um número maior de amostras fecais e um maior número de lâminas em combinação com outros testes, torna o procedimento de diagnóstico em campo e em larga escala

impraticável e economicamente inviável, especialmente em áreas endêmicas, onde a logística e os custos operacionais são desafiadores.

Uma outra metodologia, baseada nas propriedades físicas dos ovos, denominada Helmintex, foi desenvolvida para melhorar a sensibilidade na detecção de ovos. O Helmintex permite o exame de uma amostra maior (30g), aumentando assim sua sensibilidade (Teixeira *et al.*, 2007). Esta técnica promove o isolamento de ovos de *S. mansoni* usando microesferas magnéticas que formam conjugados entre os ovos do parasito e as microesferas magnéticas, uma vez que o ferro está geralmente presente nos poros da casca do ovo, mas outros fatores como forças eletrostáticas entre as partículas magnéticas e a ornamentação da superfície dos ovos, podem desempenhar um papel fundamental (Candido *et al.*, 2015; Karl *et al.*, 2013). Embora a modificação do método Helmintex (Favero *et al.*, 2017) tenha diminuído significativamente o tempo do exame por meio da adição de detergente durante as etapas de concentração e também a coloração do sedimento final com ninhidrina, o seu custo geral ainda é alto e a necessidade de uma quantidade grande de amostra e processos demorados de peneiração e sedimentação tornam o procedimento trabalhoso e complexo. Apesar dessas limitações, o Helmintex pode ser utilizado como método de referência para avaliação de novas técnicas diagnósticas, devido ao seu alto desempenho quando comparado a outros métodos parasitológicos, mesmo em infecções de baixa intensidade.

### 1.5.2 Diagnóstico molecular

Métodos moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) destacam-se pela alta sensibilidade e especificidade, especialmente em infecções com baixa carga parasitária. Essa técnica baseia-se na amplificação de material genético específico por meio de iniciadores (primers), que são pequenas sequências de DNA complementares ao gene de interesse. Esses primers identificam e delimitam a região-alvo, permitindo sua amplificação. No diagnóstico da esquistossomose, várias sequências gênicas foram exploradas como possíveis alvos para detectar a infecção ativa por *Schistosoma*. Regiões específicas como as subunidades ribossomal rDNA 18S, rDNA 28S, SSU-rRNA, genes mitocondriais (NADH-I, NADH-3), ITS2, COX-1 e a repetição em tandem de 121bp são as regiões mais exploradas (Gomes *et al.*, 2006; Sandoval *et al.*, 2006; Siqueira *et al.*, 2021); esse último apresentou uma sensibilidade de 91,4% e especificidade de 80,2% em amostras de fezes de indivíduos com baixa carga parasitária (Magalhães *et al.*, 2020). Embora apresentem alta sensibilidade e especificidade, os testes moleculares têm seu desempenho influenciado pelo alvo genético escolhido e pelo tipo de amostra analisada. A sensibilidade pode variar entre 20% em amostras de soros e 80% em

amostras fecais (Espírito-Santo *et al.*, 2014). Além dessa variação, a necessidade de profissionais qualificados, infraestrutura laboratorial complexa e altos custos ainda representam desafios para sua adoção em países em desenvolvimento (Weerakoon *et al.*, 2018)

Para superar essas limitações, a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) surge como uma alternativa. Essa técnica emprega quatro a seis iniciadores para amplificar um único gene-alvo, aumentando a sua sensibilidade; além disso a amplificação ocorre em condições isotérmica (63°C e 65°C), eliminando a necessidade de termociclador. Essa técnica já foi utilizada com sucesso na detecção de DNA de *S. mansoni* em fezes e urina, apresentando altas taxas de sensibilidade e especificidade (Fernández-Soto *et al.*, 2014, 2019; Allam *et al.*, 2022). Embora essa abordagem elimine a necessidade de termocicladores caros, sua aplicação em larga escala no campo dependerá do fornecimento de misturas de reação pré-preparadas e estáveis sob condições laboratoriais de campo (Gandasegui *et al.*, 2018).

### 1.5.3 Diagnóstico imunológico

Os métodos imunológicos representam ferramentas valiosas na triagem de indivíduos positivos para esquistossomose em inquéritos epidemiológicos, especialmente em situações com baixa intensidade de infecção, infecções crônicas ou infecções unissexuadas, que dificultam o diagnóstico por técnicas parasitológicas baseadas em fezes. Essas técnicas de imunodiagnóstico podem ser empregadas tanto na detecção de antígenos circulantes de *Schistosoma* (método direto) quanto na identificação de anticorpos produzidos contra o parasito (método indireto). Dentre os métodos imunológicos frequentemente empregados estão o teste de ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), o teste de imunofluorescência indireta e os testes rápidos (POC – *Point-of-care*) de pesquisa de antígenos circulantes do parasito.

A pesquisa de antígenos circulantes do parasito é direcionada principalmente para dois antígenos principais, o CAA (*circulating anodic antigen* - antígeno anódico circulante) e o CCA (*circulating cathodic antigen*- antígeno catódico circulante). O CCA é uma glicoproteína derivada do epitélio intestinal de *S. mansoni* regurgitado pelo parasito durante a sua vida, sendo detectado em amostras de urina de indivíduos infectados (Stothard *et al.*, 2014; Van Dam *et al.*, 2004); esse teste estava disponível comercialmente no Brasil (Ecodiagnóstica Ltda., Brasil) em formato de fluxo lateral baseado em cassete. Os níveis desse antígeno e a intensidade de infecção se correlacionam e a sua concentração em pacientes recém tratados diminui rapidamente, sugerindo que sua detecção só é possível em indivíduos com infecção ativa (Van Lieshout *et al.*, 1993; Standley *et al.*, 2010). O resultado é obtido em cerca de 20 minutos, podendo ser relatado semiquantitativamente, de acordo com a intensidade da banda na linha

teste e interpretado como um reflexo da carga parasitária (Oliveira *et al.*, 2018). O teste com o CCA foi recentemente aceito pela OMS para uso no monitoramento e avaliação de programas de eliminação e controle da infecção por *S. mansoni*, especialmente em áreas de baixa prevalência (WHO, 2022).

A avaliação de POC-CCA áreas de alta e moderada endemicidade em países africanos demonstrou desempenho satisfatório em comparação ao método de KK, além de apresentar maior sensibilidade na avaliação pós-tratamento com Praziquantel (Tchuem-Tchuente *et al.*, 2012; Lamberton *et al.*, 2014; Chieng *et al.*, 2021); porém em regiões de baixa endemicidade e/ou baixa carga parasitária o seu desempenho continua sendo questionável. Um estudo multicêntrico, encomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil, avaliou o desempenho do teste POC-CCA (Ecodiagnóstica Ltda., Brasil) em áreas com diferentes níveis de endemicidade. Um elevado número de falsos-positivos e falsos-negativos foi encontrado nas diferentes áreas pesquisadas, prejudicando a estimativa da prevalência. O desempenho do POC-CCA (Ecodiagnóstica Ltda., Brasil) levou à não recomendação do teste como ferramenta diagnóstica para monitoramento e avaliação das medidas de controle para esquistossomose no Brasil (Pieri *et al.*, 2023). A diminuição no desempenho do teste, com o aparecimento de reações falso-positivas, pode estar relacionada principalmente no aparecimento de reações muito fracas, denominadas traço-positivo, que podem superestimar o número de infecções ativas (Danso-Appiah *et al.*, 2016). As reações traço-positivo no POC-CCA geralmente não estão associadas à positividade em outros testes, sendo esse fato relacionado a baixa sensibilidade do KK que é utilizado na maioria dos estudos como “padrão ouro” para comparar o desempenho de novos testes diagnóstico (Coelho *et al.*, 2016). Mais recentemente, outro alvo antigênico conhecido como CAA tem sido testado, demonstrando um melhor desempenho quando comparado com o CCA, porém só como teste experimental, sem disponibilidade como ‘point-of-care’, ou teste rápido (Corstjens *et al.*, 2020; Tamarozzi *et al.*, 2021)

Outro método é a técnica de ELISA, sendo o teste sorológico mais comumente utilizado para fins de diagnóstico de infecções parasitárias, incluindo a infecção por *S. mansoni*. Este ensaio tem como base a detecção de várias classes e subclasses de anticorpos por meio do reconhecimento de diferentes antígenos aderidos a placas de poliestireno. Os antígenos empregados em ensaio sorológicos são obtidos de diferentes estágios evolutivos do parasito, por meio da ruptura de vermes adultos, cercárias ou ovos. O homogeneizado de ovos, conhecido como antígeno solúvel de ovo (*Soluble egg antigen* - SEA) apresenta uma elevada proporção de frações antigênicas, porém apenas uma pequena parte desses antígenos são liberados por ovos viáveis. Atualmente, a preparação de antígeno solúvel de vermes adultos (SWAP) é a fonte

mais fácil e abundante de material antigênico (Doenhoff; Chiodini; Hamilton, 2004). Estudos utilizando SEA, relatam uma ampla sensibilidade (71-99%) e especificidade (6-100%) que pode ser em decorrência de diversos fatores, incluindo a falta de um padrão de referência composto por métodos diagnósticos robustos, má caracterização do material biológico, entre outros problemas (Graeff-Teixeira *et al.*, 2021).

Os ensaios de anticorpos, embora apresentem maior sensibilidade do que o método de KK, especialmente em infecções de baixa intensidade, possuem algumas limitações importantes. Uma das principais restrições é que os anticorpos específicos para o parasito podem permanecer no soro por anos após a eliminação da infecção, dificultando a distinção entre infecções ativas e passadas (Rabello *et al.*, 1997; Ogongo; Kariuki; Wilson, 2018). Além disso, resultados positivos em ensaios imunológicos na ausência de excreção de ovos podem estar relacionados a infecções de sexo único (Lu *et al.*, 2018). Essa característica limita sua aplicação no monitoramento de programas de controle, como os de administração em massa de medicamentos, sobretudo quando o antígeno utilizado é o extrato bruto do parasito. Além disso, os níveis de anticorpos não necessariamente refletem a carga parasitária ativa, sendo, portanto, uma medida indireta da infecção (Lopes *et al.*, 2023). Outro ponto a se destacar é a possibilidade de reações cruzadas, devido ao compartilhamento de epítomos semelhantes em outros helmintos, podendo levar a falso positivos, principalmente em regiões onde a coinfeção com outras helmintíases é comum (Zhou; Zheng; Jiang, 2011; Doenhoff *et al.*, 2016).

#### 1.5.3.1 Utilização de peptídeos sintéticos

Apesar das limitações dos métodos imunológicos, estratégias têm sido desenvolvidas para superar esses desafios, reduzindo a chance de reatividade cruzada (Lv *et al.*, 2016). A purificação de antígenos brutos tem sido utilizada nos últimos anos para obter frações específicas o suficiente para o diagnóstico da esquistossomose, destacando-se a fração catiônica de SEA (CEF6) (Doenhoff *et al.*, 2003), antígeno microssomal de verme de adulto de *S. japonicum* (JAMA) (Tsang *et al.*, 1984), *S. haematobium* (HAMA) (Abdel-Fattah *et al.*, 2011) e *S. mansoni* (MAMA) (Maddison *et al.*, 1985); este último apresenta baixas taxas de reatividade cruzada, sendo atualmente utilizado pelo *Center for Disease Control and Prevention* (EUA) na triagem de pacientes que estiveram em áreas endêmicas de esquistossomose, e em casos em que os métodos de diagnóstico por fezes e urina apresentam diagnóstico inconclusivo (Tsang *et al.*, 1983; Tsang *et al.*, 1984; CDC, 2024). Além da purificação de antígenos brutos, a utilização de antígenos recombinantes ou sintéticos pode aumentar a especificidade e minimizar a ocorrência de reações cruzadas. Além disso, essa

forma de manipulação não exige a utilização do parasito e permite a seleção de alvos com maior potencial antigênico antes da construção e produção do antígeno (Lv *et al.*, 2016). A exemplo disso, peptídeos antigênicos derivados das proteínas catepsina B e asparaginil endopeptidase de *S. mansoni* foram utilizados para construir um antígeno multiepítipo que apresentou uma sensibilidade de 81,1% e especificidade de 46,1% (Lopes *et al.*, 2023). Essa estratégia também foi aplicada à proteína recombinante rMEA ou *Major egg antigen*, que, em ensaios sorológicos de IgG, apresentou 87,1% de sensibilidade e especificidade de 89,09%, sendo capaz de detectar a maioria dos indivíduos com cargas parasitárias baixas (<10 OPG). Outras proteínas, como a rMEG-3.2 e rMEG-3.4, uma proteína do gene microexons, apresentaram uma sensibilidade de 90% e especificidade de 83% (Mambelli *et al.*, 2020). No entanto, é essencial que esses ensaios sorológicos, incluindo aqueles baseados em antígenos recombinantes ou purificados, sejam avaliados com maior rigor metodológico. A padronização dos protocolos, a definição adequada dos grupos controle, a validação independente por terceiros e a aplicação em populações endêmicas são elementos essenciais para garantir a reprodutibilidade e a aplicabilidade desses ensaios (Graeff-Teixeira *et al.*, 2021)

#### 1.5.3.2 Detecção de anticorpos na urina

Ensaio sorológicos necessitam da coleta de sangue, considerado um procedimento invasivo que requer pessoal minimamente treinado, equipamentos para processamento e condições ideais de armazenamento (Eamudomkarn *et al.*, 2018). Em contrapartida, o uso de urina na detecção de anticorpos é facilitado por ser um método não invasivo, o que facilita a participação da população, especialmente em contextos onde a aceitação de procedimentos invasivos é baixa. Além disso, é um método de coleta de baixo custo, pois não requer seringas, lancetas ou a presença de profissionais de saúde, tornando a sua utilização mais acessível financeiramente. Embora a concentração de anticorpos na urina seja cerca de 1/4.000 a 10.000 vezes menor do que no soro, a urina contém muitos componentes séricos, incluindo anticorpos (Katsuragi *et al.*, 1998; Takagi, 2003). Isso permite a medição quantitativa dos anticorpos na urina por meio de técnicas sensíveis, como o ELISA, tornando a urina uma alternativa viável e eficaz para a detecção de anticorpos específicos de patógenos.

Entre as classes de imunoglobulinas, IgG específico é a mais abundante na urina de pacientes acometidos por doenças infecciosas e parasitárias. Sua subclasse, IgG4, é particularmente específica e pode ser detectada com maior precisão, reduzindo a possibilidade de reações cruzadas (Rattanaxay *et al.*, 2001). Outras imunoglobulinas, como IgA, estão presentes em altos títulos em pacientes recém vacinados para o vírus da rubéola; esses níveis

elevados de IgA são mantidos por um longo período, enquanto os títulos de IgG aumentam gradativamente após a vacinação (Takahashi *et al.*, 1998). Por outro lado, a imunoglobulina M (IgM), comumente utilizada para detecção de infecção recente, tem a sua detecção em amostras de urina dificultada, seja por sua baixa sensibilidade ou devido a sua baixa concentração em indivíduos saudáveis. Além disso, o seu peso molecular (970kDa), dificulta sua passagem pelos glomérulos em condições normais, mas, em caso de lesão renal aguda ou crônica, essa passagem pode ser facilitada (Tencer *et al.*, 1998; Vázquez *et al.*, 2007).

A detecção de anticorpos na urina tem sido amplamente estudada em diversas doenças infecciosas. O primeiro teste de triagem para HIV baseado em urina foi aprovado pela FDA (Food and Drug Administration dos EUA) em 1996, sendo baseado na detecção de anticorpos urinários IgG. Esse ensaio apresenta uma sensibilidade de 89,6% - 97,2% e especificidade de 97,3% - 100%, sendo considerado um ótimo teste de triagem na detecção de HIV-1 (Martínez *et al.*, 1996; Sahni *et al.*, 2014). Outros ensaios de ELISA, baseados em urina, tem sido desenvolvido para detecção de infecção por dengue, hepatite A e rubéola (Takahashi *et al.*, 1998; Joshi *et al.*, 2002; Caraballo *et al.*, 2020).

Anticorpos na urina de indivíduos afetados por helmintos também têm sido estudados. No caso da filária *Wuchereria bancrofti*, um parasito dos vasos linfáticos, o principal método de diagnóstico é a pesquisa de microfírias no sangue periférico, porém o método é invasivo e apresenta baixa sensibilidade. Diante dessas dificuldades, um ensaio de ELISA para detecção de IgG4 específico para filárias na urina tem se mostrado promissor em áreas endêmicas, tanto antes quanto após o tratamento. Estudos realizados em países como Sri Lanka, Laos, Tailândia e Japão, com amostras de indivíduos não tratados, indicaram uma sensibilidade de 95,6% e especificidade de 99,0%. Após quatro rodadas de tratamento, a sensibilidade do ensaio diminuiu para 84,8%, mas ainda se mantém como uma boa opção para uso em campo. Além disso, as amostras de urina podem ser armazenadas a 37°C por até 4 semanas sem qualquer perda de qualidade (Rattanaxay *et al.*, 2001; Samad *et al.*, 2013; Takagi *et al.*, 2019). Alternativas para o diagnóstico da estrogiloidíase também têm sido exploradas como, por exemplo, um ensaio sorológico utilizando antígeno de *Strongyloides ratti* para detectar anticorpos na urina. Esse método tem demonstrado alta sensibilidade (93%) quando comparado aos métodos parasitológicos convencionais, além de apresentar sensibilidade e especificidade semelhante aos ensaios de ELISA utilizando soro e uma baixa reatividade cruzada com outras espécies de helmintos (Eamudomkarn *et al.*, 2018). Quando comparado a kits ELISA comerciais para soro, como o InBios Strongy Detect™ IgG (Antígeno NIE recombinante) e SciMedx (antígeno bruto

de *S. stercoralis*), o ELISA com antígeno de *S. ratti* apresenta uma sensibilidade superior (97,1%) (Ruantip *et al.*, 2019).

Para o gênero *Schistosoma*, ensaios com SEA e SWAP têm sido utilizados na detecção de anticorpos urinários específicos. No estudo de Elhag *et al.*, (2011) utilizando SWAP e amostras emparelhadas de soro e urina de pacientes positivos para *S. mansoni* e *S. haematobium*, demonstraram que a diferença nos níveis de anticorpos nessas duas amostras não foi significativa. Essa correlação entre os níveis de anticorpos e essas duas amostras biológicas já foi relatada em outro ensaio utilizando SEA na detecção da infecção por *S. japonicum*. Além dessa boa correlação, o armazenamento dessas amostras em temperatura ambiente (37°) por 8 semanas não interferiu em seu resultado (Itoh *et al.*, 2003). Por se tratar de ensaios utilizando antígenos brutos, problemas relacionados a reatividade cruzada podem ser encontrados. Por isso, medidas como a utilização de antígenos recombinantes podem diminuir a ocorrência desses casos.

### **1.6 Mapeamento da doença e análises de dados espaciais em saúde pública**

Diagnósticos aprimorados são fundamentais para atingir as metas de eliminação da esquistossomose até 2030, pois garantem a identificação precisa de casos, essencial para as fases de avaliação dos programas de controle, vigilância e mapeamento dos casos (WHO, 2022). A utilização de Sistemas de Informações Geográficas (SIG), possibilita a análise desses dados epidemiológicos, destacando a localização de casos segundo a distribuição em determinada área ou território e exibindo aglomerados espaciais que indicam espaços de maior risco para infecção e áreas que necessitam intervenção (Gomes *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2023)

A avaliação da densidade de agravos ou eventos na saúde por meio do estimador de densidade de Kernel (EDK) é uma das análises espaciais mais utilizadas e conhecidas (Chen, 2017). Trata-se de uma técnica de interpolação exploratória, portanto sem valor estatístico, que permite identificar visualmente áreas de alta e baixa concentração de eventos, conhecidas como “áreas quentes” e “áreas frias”, respectivamente. As “áreas quentes”, representam uma maior densidade de eventos, sugerindo uma aglomeração ou padrão de concentração em uma distribuição espacial, o que pode indicar regiões prioritárias para intervenções de saúde (Chen, 2017). Esse método facilita a visualização de padrões espaciais de forma intuitiva, auxiliando na detecção de agrupamentos e tendências que podem ser essenciais para o planejamento de ações preventivas e de controle em saúde (Xia, *et al.*, 2020).

O termo “aglomerados de casos” é utilizado se a frequência da doença for maior do que normalmente esperado para um tempo ou área específica ajustada pelo tamanho da população.

Estatísticas de varredura espacial tentam identificar esses aglomerados, também conhecidos como “clusters mais prováveis”, a partir de modelo Binomiais ou de Poisson. No entanto, como uma janela circular é utilizada para escanear as áreas potenciais de cluster, esses métodos pecam na detecção correta de clusters não circulares, como aqueles ao longo de um rio. Para detectar clusters de formato flexível, que não podem ser detectados pela estatística de varredura espacial circular, muitos autores propuseram diferentes alternativas. A estatística de varredura espacial flexível, implementada no software FleXScan, proposta por Tango e Takahashi busca resolver esses problemas (Tango; Takahashi, 2012). Esse método tem-se mostrado eficaz na detecção de clusters de casos em áreas endêmicas de malária e esquistossomose (Mlacha *et al.*, 2017; Xia *et al.*, 2017).

A esquistossomose é uma doença endêmica em vários estados e muitos municípios brasileiros, porém a sua distribuição dentro dessas áreas é concentrada em focos específicos. Nessas regiões, marcadas por bolsões de pobreza e pela ausência de saneamento básico, a doença encontra um campo fértil para a sua disseminação e manutenção (Gazzinelli *et al.*, 2006). A compreensão da distribuição espacial da esquistossomose é fundamental para implementar intervenções eficazes e direcionadas, pois permite que formuladores de políticas tomem decisões embasadas sobre a alocação racional de recursos. Mapas de risco que mostram a distribuição geográfica da doença, obtidos com ferramentas GIS, possibilitam a visualização de dados de prevalência e sua correlação com fatores ambientais e sociais (Guimarães *et al.*, 2010; Scholte *et al.*, 2014). Essa abordagem facilita uma resposta mais precisa e focada nas áreas que mais necessitam de atenção. Ao combinar diagnósticos aprimorados com mapeamento geoespacial, otimiza-se o controle da esquistossomose e apoia-se a verificação de sua eliminação em áreas endêmicas, promovendo a saúde pública e o bem-estar das populações afetadas.

## 2 JUSTIFICATIVA

Apesar da significativa redução dos casos de esquistossomose no Brasil, alcançada por meio das políticas implementadas pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) e pela melhoria da infraestrutura sanitária, a transmissão ainda persiste em diversas regiões do país. Além disso, muitos indivíduos infectados em áreas endêmicas submetidas ao controle quimioterápico apresentam baixa carga parasitária, dificultando o diagnóstico pelos métodos tradicionais, como o Kato-Katz (KK). Embora recomendado pela Organização Mundial da Saúde, devido ao baixo custo e praticidade, o KK apresenta sensibilidade limitada em contexto de baixa endemicidade ou em pacientes com cargas leves, levando frequentemente a resultados falso-negativos. Essa limitação contribui para a subnotificação de casos, comprometendo o alcance das metas de eliminação da doença. Assim, métodos mais sensíveis são fundamentais para diagnosticar adequadamente esses casos e interromper a perpetuação da transmissão.

Alternativas como o Helmintex, embora mais sensíveis, são de difícil implementação em larga escala devido à sua complexidade e às exigências laboratoriais. O teste rápido POC-CCA surge como uma alternativa para o uso em campo, mas a sua baixa sensibilidade e pouca concordância com outros testes questionaram a sua aplicação em áreas endêmicas no Brasil. Desta forma, as metodologias de diagnóstico disponíveis até o momento não permitirão atingir a meta de eliminação da esquistossomose como problema de saúde pública e/ou interrupção da transmissão da infecção no país. Nesse contexto, os métodos imunológicos, aliados à pesquisa de novos antígenos recombinantes ou ao fracionamento de antígenos brutos de vermes, surgem como uma alternativa promissora. Essas abordagens têm o potencial de superar as limitações de sensibilidade e especificidade dos métodos tradicionais, proporcionando uma detecção mais precisa, especialmente em casos de baixa carga parasitária, e representando um avanço importante no combate da esquistossomose.

O sucesso dos programas de controle de doenças parasitárias, depende da capacidade do gestor em diagnosticar de forma acurada os portadores da enfermidade para controlar a doença e sua progressão, além de identificar regiões que necessitam de medidas de intervenção. Nesse contexto, a análise espacial da distribuição da esquistossomose e a identificação dos fatores de risco associados são fundamentais para o controle eficaz da doença, especialmente em áreas endêmicas. Mapear os casos, calcular a prevalência no local e investigar os determinantes locais da transmissão proporcionam uma visão abrangente dos fatores que perpetuam a doença, permitindo a identificação de áreas prioritárias para intervenção.

Esta tese reúne dados sobre a distribuição da mortalidade por esquistossomose em Minas Gerais e dados de casos de esquistossomose no distrito de Brejo do Amparo, uma região historicamente endêmica no norte do estado, além de avaliar o uso de diferentes métodos de diagnóstico, incluindo antígenos recombinantes para o diagnóstico sorológico/imunológico. O aprimoramento dos métodos diagnósticos, especialmente para casos com baixa carga parasitária, aliado à análise espacial detalhada, representa uma estratégia integrada e eficiente para o controle e, eventualmente, a eliminação da esquistossomose como problema de saúde pública.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Investigar as características epidemiológicas, tendências temporais e padrões espaciais relacionados à ocorrência de casos e óbitos por esquistossomose no estado de Minas Gerais, além de avaliar o desempenho de métodos parasitológicos e imunológicos na detecção da infecção por *S. mansoni*.

#### 3.2 Específicos

##### Capítulo I:

- Analisar as características epidemiológicas, tendências temporais e padrões espaciais da mortalidade relacionada à esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, entre 2000 e 2019;

##### Capítulo II:

Nas comunidades rurais de Pé da Serra, Tocantins e Santana, pertencentes ao distrito de Brejo do Amparo, Município de Januária, Minas Gerais:

- Determinar a prevalência da infecção por *S. mansoni* utilizando os métodos de Kato-Katz e Helmintex;
- Avaliar a associação entre fatores socioeconômicos e comportamentais na prevalência da infecção por *S. mansoni*, bem como possíveis alterações nesses fatores, nos anos de 2014 e 2022;
- Determinar a distribuição espacial dos casos de esquistossomose mansoni;
- Verificar possíveis alterações na distribuição espacial e os fatores de risco associados à esquistossomose mansoni, nos anos de 2014, 2015 e 2022;

##### Capítulo III:

- Avaliar o desempenho dos métodos de diagnóstico parasitológico Kato-Katz e Helmintex individualmente ou em conjunto na detecção da infecção por *Schistosoma mansoni*.
- Avaliar o desempenho do teste rápido POC-CCA para o diagnóstico da infecção por *S. mansoni* considerando o método de Kato-Katz e Helmintex como referência.
- Investigar possível influência de parâmetros urinários, detectados pela Tira Reagente de Urina Biocon Bio10®, sobre o desempenho do teste POC-CCA para o diagnóstico de *S. mansoni*.

- Avaliar o desempenho de ensaios imunológicos de ELISA indireto (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), baseado na detecção de IgG específico contra antígenos de verme adulto (SWAP), uma fração derivada desse antígeno (*SmJ1*), antígenos do ovo (SEA) e uma proteína quimera (*qSmP*), em amostras de soro e urina de pacientes positivos para esquistossomose.
- Avaliar a influência da concentração da urina utilizando filtros Amicon na detecção de IgG específico contra antígenos solúveis de ovo (SEA) em amostras de pacientes positivos para *S. mansoni*.



**CAPÍTULO I**

**Mortalidade relacionada à esquistossomose intestinal em Minas Gerais, Brasil, 2000-2019: tendências temporais e padrões espaciais para determinação de áreas prioritárias**

**Objetivo:** Analisar as características epidemiológicas, tendências temporais e padrões espaciais da mortalidade relacionada à esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, entre 2000 e 2019;

Artigo publicado na revista *Tropical Medicine & International Health* (FI: 3.057; Qualis A1).  
doi: 10.1111/tmi.13850

Este trabalho teve como objetivo principal determinar municípios prioritários para intervenções de controle da esquistossomose mansoni no Estado de Minas Gerais. Para isso, rastreamos óbitos que tiveram como causa base a esquistossomose (subcategoria B65; CID-10) a partir de dados do Sistema de Informação sobre Mortalidade provenientes do DATASUS. Os resultados apresentados permitiram identificar municípios com altas taxas de mortalidade, indicando possíveis falhas no diagnóstico e tratamento de indivíduos dessas áreas.

## 1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença parasitária causada por parasitos trematódeos do gênero *Schistosoma* que afeta humanos e outros hospedeiros mamíferos em muitas regiões tropicais. A esquistossomose humana é responsável por aproximadamente 140 milhões de infecções, em segundo lugar depois das infecções por malária (IHME, 2019). É considerada uma doença tropical negligenciada, intimamente ligada à pobreza e a regiões com saneamento precário ou nenhum (Campbell *et al.*, 2014). Hoje, 78 países em regiões tropicais ou subtropicais na África, Ásia e América Latina são considerados endêmicos para esquistossomose (WHO, 2016; WHO, 2022). As últimas estimativas do estudo *Global Burden of Disease* calcularam um total de 1,64 milhão de anos de vida perdidas por incapacidade devido a morte prematura e/ou morbidade e cerca de 11.500 mortes em 2019 (IHME, 2019).

Entre as espécies de esquistossomos, *S. mansoni* merece atenção especial, porque a infecção crônica pode causar patologias hepáticas e intestinais graves, causando morbidade e mortalidade consideráveis em regiões dos continentes africano e americano (Colley *et al.*, 2014). O parasito e sua transmissão estão ligados ao contato com a água, à contaminação fecal dos corpos de água e à presença de hospedeiros intermediários adequados representados por moluscos planorbídeos do gênero *Biomphalaria* (Grimes *et al.*, 2014). Cercárias, o estágio infeccioso para o hospedeiro humano, são eliminadas por hospedeiros intermediários em coleções hídricas, onde podem entrar ativamente em contato com o hospedeiro definitivo durante atividades de lazer ou ocupacionais, que são considerados fatores de risco para infecção (Nelwan *et al.*, 2019).

No Brasil, a esquistossomose mansoni é considerada uma doença endêmica com uma vasta distribuição e transmissão ativa em 18 estados da Federação. De acordo com o último Inquérito Nacional de Esquistossomose e com base em dados de 2010 a 2015, a taxa de positividade estimada para a população brasileira é de cerca de 1% (Katz, 2018). Nesta pesquisa nacional, as regiões sudeste e nordeste foram apontadas como as áreas com as maiores taxas de positividade. Dentro da região sudeste, o Estado de Minas Gerais, com seus 853 municípios e seu enorme território, apresentou a maior taxa de positividade (3,86%) (Katz, 2018). No estado, registros históricos e contemporâneos de esquistossomose indicam transmissão ativa em 523 municípios (Drummond *et al.*, 2010).

Durante as últimas décadas, o Programa Nacional Brasileiro de Controle de Esquistossomose (PCE) concentrou-se na triagem, no diagnóstico precoce e no tratamento individual de pacientes infectados (Silva-Moraes *et al.*, 2019a), que, ao longo das décadas, alcançou uma redução da morbidade, de casos clínicos graves e da taxa de mortalidade por

esquistossomose (Brasil, 2014). O controle desse parasito ou mesmo sua eliminação como um problema de saúde pública é essencial para o Brasil dentro do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 3, garantindo uma vida saudável e bem-estar para toda a população. No entanto, devido à sua extensão territorial e às enormes desigualdades socioeconômicas existentes, combinadas com diferentes cenários epidemiológicos e ambientais, o controle nacional da esquistossomose tornou-se cada vez mais complexo (Rollemberg *et al.*, 2015). Em geral, e não apenas em nível nacional, a esquistossomose é uma doença multifatorial que requer medidas de controle integradas, como saneamento básico, ações de educação em saúde, controle de caramujos e mapeamento espacial mais preciso dos casos humanos. Esse fato dificulta o cumprimento dos ODS sem apoio governamental significativo e esforços sustentáveis (McManus *et al.*, 2018; WHO, 2022). Acreditamos que uma pequena, mas importante peça, neste quebra-cabeça para verificar e avaliar a situação atual e o impacto de um programa de controle é entender a dinâmica dos casos clínicos graves e das mortes relacionadas à esquistossomose e indicar regiões prioritárias para intervenções. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar padrões temporais e espaciais de mortalidade por esquistossomose *mansoni* no Estado de Minas Gerais, Brasil, entre 2000 e 2019.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Design e período de estudo

Foi realizado um estudo ecológico, baseado em análises temporais e espaciais, utilizando dados de mortalidade secundária relatados atribuídos à esquistossomose em Minas Gerais, Brasil, de 2000 a 2019. Cada um dos 853 municípios do estado foi tratado como a menor unidade para análise.

### 2.2 Área de estudo

Minas Gerais, na região sudeste do Brasil, é composta por 853 municípios, cobre uma área maior que a França (587.000 km<sup>2</sup>; Figura 1), tem uma população de 21 milhões (IBGE, 2021) e um índice de desenvolvimento humano de 0,731 (IPEA, 2020). O estado é subdividido em 12 mesorregiões: Campo das Vertentes, Mineira Central, Jequitinhonha, Noroeste, Norte, Minas Oriental, Região Metropolitana de Belo Horizonte, Sul/Sudoeste, Triângulo Mineiro, Vale do Mucuri, Vale do Rio Doce e Zona da Mata (IBGE, 2021).

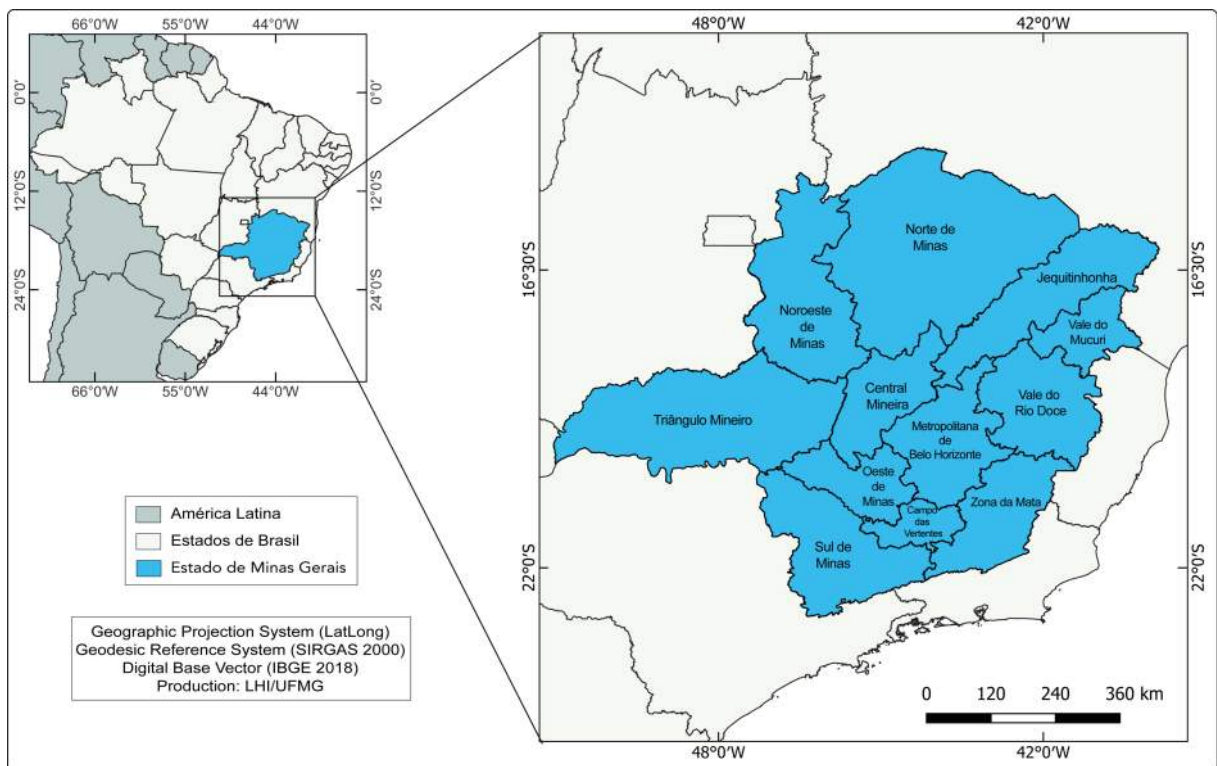


Figura 1. Mapa da área de estudo de Minas Gerais, Brasil, e seus municípios e divisão territorial em mesorregiões

### 2.3 Fontes de dados

Os dados sobre mortalidade foram obtidos do Sistema Nacional de Informação sobre Mortalidade (SIM), vinculado ao Ministério da Saúde do Brasil (acesso público aberto e sem

possibilidade de identificação individual). Esta foi a principal fonte de dados não identificável para a mortalidade associada à esquistossomose para os municípios e regiões de Minas Gerais. Esses dados são de domínio público e estavam disponíveis no site da Secretaria de Informática do 'Sistema Único de Saúde' (DATASUS). Todas as mortes entre 2000 e 2019 em Minas Gerais cuja causa subjacente foi esquistossomose, foram incluídas conforme indicado na certidão de óbito (subcategoria B65; CID-10 para o sistema de notificação brasileiro).

Os dados populacionais foram extraídos do censo nacional em 2000 e 2010, e as estimativas populacionais para os períodos entre 2000 e 2010 foram obtidas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Os limites geográficos foram obtidos do IBGE.

## **2.4 Análise de dados**

### **2.4.1 Caracterização epidemiológica de mortes por esquistossomose**

Como primeiro passo, as mortes relacionadas à esquistossomose foram caracterizadas epidemiologicamente, extraindo o sexo, a idade e o município de residência dos pacientes do relatório de óbito. Análises bivariadas foram realizadas sobre fatores associados à mortalidade. As razões de chance (odds ratios – OR) e seus respectivos intervalos de confiança (IC) de 95% foram calculados a partir de tabelas de contingência. Diferenças estatisticamente significativas foram consideradas ao apresentar um valor  $p \leq 0,05$ .

### **2.4.2 Análise de tendências de tempo**

Para avaliar os efeitos temporais da mortalidade devido à esquistossomose em Minas Gerais, usamos modelos de regressão log-linear segmentados, um método que permite verificar mudanças nas tendências de uma variável ao longo do tempo. As taxas brutas de mortalidade dentro do estado e suas mesorregiões, bem como as características epidemiológicas (sexo e faixas etárias) foram calculadas e incluídas nas análises de tendência. As mudanças percentuais anuais (APC) e as mudanças percentuais anuais médias (AAPC) foram calculadas e expressas como porcentagens com um IC de 95%. O teste de permutação de Monte Carlo foi usado para identificar o melhor segmento para cada modelo. Portanto, 999 permutações foram aplicadas e o melhor modelo com o maior coeficiente de determinação residual ( $R^2$ ) foi selecionado (Antunes; Cardoso, 2015).

### **2.4.3 Distribuição espacial e análise de autocorrelação espacial**

A distribuição espacial das mortes causadas por esquistossomose em Minas Gerais foi analisada pelas taxas de mortalidade brutas e suavizadas por 100.000 habitantes e dividida em

quatro períodos de tempo: P1 (2000-2004), P2 (2005-2009), P3 (2010-2014) e P4 (2015-2019). A divisão em períodos de 5 anos e a suavização resultaram em uma melhor estabilidade das taxas de mortalidade, especialmente em municípios menores e com poucos casos. Estimativas bayesianas empíricas foram usadas para suavizar as taxas de mortalidade (BRASIL, 2007).

A análise de autocorrelação espacial foi usada para verificar a dependência espacial ou o padrão de aleatoriedade da mortalidade por esquistossomose no território analisado. O índice global de Moran foi usado para estudar a dependência espacial, com base na elaboração de uma matriz de proximidade espacial obtida pelo critério de contiguidade, adotando um nível de significância de 5%. Este índice varia de -1 a +1, onde 0 indica a ausência de autocorrelação espacial e os valores de -1 e +1 indicam a existência de autocorrelação negativa e positiva, respectivamente. Nesse sentido, quanto mais perto de +1, maior a semelhança entre os vizinhos (Anselin, 1995).

Uma vez que a autocorrelação foi identificada, a ocorrência de autocorrelação local foi avaliada calculando o índice local de Moran (indicador local de associação espacial - LISA), que determina a existência de padrões de dependência e risco espacial. Os municípios identificados dentro dos padrões Q1, Q2, Q3 e Q4 foram classificados de acordo com o nível de prioridade para ações de intervenção. O padrão Q1 (alto/alto) incluiu municípios com altas taxas de mortalidade, cercados por municípios que também têm altas taxas, sendo considerados de alta prioridade. O padrão Q2 (baixo/baixo) incluiu municípios com baixas taxas de mortalidade, cercados por municípios que também têm taxas baixas, sendo considerados de baixa prioridade. Os padrões Q3 (alto/baixo) e Q4 (baixo/alto) incluíram municípios com taxas de mortalidade diferentes de seus vizinhos e sem associação espacial, sendo considerados prioridade intermediária (Chen, 2013).

#### 2.4.4 Análise de cluster espaço-temporal

Uma estatística retrospectiva de varredura espaço-temporal foi realizada para identificar agrupamentos espaço-temporal de morte de alto risco por esquistossomose usando o modelo discreto de distribuição de probabilidade de Poisson (Kulldorff, 1997). Construímos o modelo com as seguintes condições: tempo de agregação de 1 ano, sem sobreposição de cluster, clusters circulares, tamanho máximo de cluster espacial de 35% da população em risco e tamanho máximo de cluster temporal de 50% do estudo do período. O cluster mais provável e os clusters secundários foram detectados usando o logaritmo da razão de verossimilhança e representados como em mapas. Calculamos o risco relativo (RR) de mortes por esquistossomose,

considerando cada município e clusters em relação aos seus vizinhos. Resultados com um  $p \leq 0,05$  após 9.999 simulações de Monte Carlo foram considerados significativos.

### **3 PROGRAMAS COMPUTACIONAIS**

O banco de dados foi organizado usando o Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corporation). JoinPoint Regression 4.9.0.0 (Surveillance Research and Applications Branch, National Cancer Institute) foi usado na análise de tendências temporais. GeoDa 1.20 (ASU, Centro GeoDa de Análise e Computação Geoespacial) foi usado para realizar a análise de dependência espacial. Para análise de cluster espacial ao longo do tempo, o SaTScan 9.6 (Harvard Medical School and Information Management Service Inc.) foi usado e o QGIS 3.4.11 (QGIS Development Team; Open Source Geospatial Foundation Project) para produzir mapas coropléticos. Para todas as análises de dados, diferenças estatisticamente significativas foram consideradas se  $p \leq 0,05$ .

### **4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

Usamos dados secundários do Sistema Brasileiro de Informação sobre Mortalidade (SIM), um banco de dados do Ministério da Saúde do Brasil, que está em domínio público. Os dados sobre indivíduos humanos não são identificáveis e, portanto, a aprovação de um Conselho de revisão Ética não foi necessária.

## 5 RESULTADOS

De 2000 a 2019, houve um total de 1.290 mortes relatadas por esquistossomose como causas subjacentes de morte no Estado de Minas Gerais. A contagem média anual de mortes, relacionada à esquistossomose, foi de 64,5 mortes (IC 95%: 58,8–70,2), variando de 43 casos em 2000 a 90 mortes em 2018. A taxa média anual de mortalidade durante os 20 anos da presente investigação foi calculada em 0,33 (IC 95%: 0,30–0,35) por 100.000 habitantes. A mesorregião Vale do Rio Doce, na parte oriental de Minas Gerais, foi a região com a maior taxa média de mortalidade nesse período (0,38 mortes/100.000 habitantes). A análise de associação de fatores sociodemográficos com mortalidade (Tabela 1) revelou as maiores ORs de morte em homens (OR = 2,18), em indivíduos com mais de 60 anos (OR = 447) e residentes da mesorregião do Vale do Rio Doce (OR = 18,64), todos fatores altamente significativos ( $p < 0,0001$ ).

Tabela 1. Análise bivariada entre características epidemiológicas e mortes relacionadas à esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, entre 2000 e 2019.

Variáveis	Mortes por Esquistossomose		Taxa de Mortalidade (IC95%)	OR (95% CI)	p-Valor
	Sim	Não			
<b>Gênero</b>					
<i>Homem</i>	877	9,774,426	0.45 (0.40–0.49)	2.18 (1.94–2.45)	<0.0001
<i>Mulher</i>	413	10,041,273	0.21 (0.18–0.23)	Ref.	Ref.
<b>Faixa etária</b>					
<i>0–9 anos</i>	2	2,962,538	0.00 (0.00–0.01)	Ref.	Ref.
<i>10–19 anos</i>	12	3,386,822	0.02 (0.01–0.03)	5.25 (1.17–23.45)	0.03
<i>20–39 anos</i>	152	6,542,657	0.12 (0.09–0.15)	34.41 (8.53–138.86)	<0.0001
<i>40–59 anos</i>	440	4,660,175	0.47 (0.42–0.53)	140 (34.87–560.99)	<0.0001
<i>&gt;60 anos</i>	684	2,263,506	1.51 (1.2–1.8)	447 (111.72–1793.45)	<0.0001
<b>Mesorregiões</b>					
<i>Campo dos Vertentes</i>	12	1,117,080	0.05 (0.01–0.10)	2.62 (0.74–9.30)	0.14
<i>Central Mineira</i>	11	827,712	0.07 (0.02–0.12)	3.25 (0.91–11.63)	0.07
<i>Jequitinhonha</i>	67	1,421,698	0.24 (0.16–0.31)	11.51 (3.62–36.59)	<0.0001
<i>Noroeste de Minas</i>	3	732,693	0.02 (0.00–0.04)	Ref.	Ref.
<i>Norte de Minas</i>	134	3,255,528	0.21 (0.18–0.24)	10.05 (3.20–31.57)	<0.0001
<i>Oeste de Minas</i>	45	1,916,923	0.12 (0.09–0.14)	5.73 (1.78–18.45)	0.0034
<i>Metropolitana de Belo Horizonte</i>	660	12,726,773	0.26 (0.24–0.28)	12.67 (4.07–39.37)	<0.0001
<i>Sul de Minas</i>	20	4,887,777	0.02 (0.01–0.03)	1.00 (0.30–3.36)	0.9992
<i>Triângulo Mineiro</i>	11	4,331,329	0.01 (0.01–0.02)	0.62 (0.17–2.22)	0.4634
<i>Vale do Mucuri</i>	27	773,711	0.17 (0.11–0.24)	8.52 (2.59–28.09)	0.0004
<i>Vale do Rio Doce</i>	249	3,262,629	0.38 (0.28–0.48)	18.64 (5.97–58.19)	<0.0001
<i>Zona da Mata</i>	51	4,377,545	0.06 (0.04–0.08)	2.85 (0.89–9.12)	0.0784

Nota: Taxas de mortalidade por 100.000 habitantes calculadas usando o número médio de mortes relacionadas à esquistossomose no período de 20 anos como o numerador e a média da população no meio do período de estudo (2009-2010) como denominador.

Abreviaturas: IC, intervalo de confiança; OR, odds ratio; Ref, referência.

A análise da tendência temporal da mortalidade causada pela esquistossomose (Tabela 2) revelou uma tendência decrescente e altamente significativa ( $p \leq 0,001$ ) para a taxa de mortalidade notificada no Estado de Minas Gerais durante o período de tempo avaliado (AAPC = -9,6; IC 95% = -14,4 a -4,6). No entanto, tendências crescentes foram observadas para as mesorregiões de Jequitinhonha (APC = 5,3; IC 95% = 0,6–10,2;  $p < 0,001$ ), Vale do Mucuri (AAPC = 5,3; IC 95% = 1,3–9,4;  $p < 0,001$ ) e Vale do Rio Doce (APC = 7,1; IC 95% = 4,3–10,0;  $p < 0,001$ ). Os homens (AAPC = -9,9; IC 95% = -16,0 a -3,4;  $p < 0,001$ ) e mulheres (AAPC = -8,9; IC 95% = -16,0 a 0,9;  $p < 0,001$ ) apresentaram uma tendência decrescente nas taxas de mortalidade. Também observamos uma redução considerável nas taxas de mortalidade para a maioria das faixas etárias, especialmente em adultos de 20 a 39 anos (AAPC = -21,6; IC 95% = -29,4 a 13,0;  $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Análise da tendência temporal das taxas de mortalidade por esquistossomose, de acordo com variáveis sociodemográficas e mesorregiões no estado de Minas Gerais, Brasil 2000–2019.

Variáveis	Período	Período segmentado		Período completo	
		APC	Tendência	AAPC	Tendência
Minas Gerais	2000–2011	2.5 (−0.3, 5.3)	Estável	−9.6*** (−14.4, −4.6)	Decrescente
	2011–2014	−54.0*** (−67.5, 34.9)	Decrescente		
	2014–2019	3.0 (−4.4, 11.0)	Estável		
<b>Gênero</b>					
Homem	2000–2011	1.8 (−1.7, 5.5)	Estável	−9.9*** (−16.0, −3.4)	Decrescente
	2011–2014	−51.8** (−69.2, −24.7)	Decrescente		
	2014–2019	0.3 (−8.9, 10.4)	Estável		
Mulher	2000–2011	3.6 (−0.5, 8.0)	Estável	−8.9* (−16.2, −0.9)	Decrescente
	2011–2014	−58.5** (−75.8, −28.8)	Decrescente		
	2014–2019	9.9 (−2.1, 23.4)	Estável		
<b>Faixa etária</b>					
0–9 anos	2000–2011	−1.6 (−7.0, 4.2)	Estável	−12.1 (−23.8, 1.4)	Estável
	2011–2014	−55.5 (−82.3, 12.1)	Estável		
	2014–2019	3.0 (−16.2, 26.6)	Estável		
10–19 anos	2000–2019	−15.8*** (−19.7, −11.7)	Decrescente	–	–
20–39 anos	2000–2010	−8.8 (−19.5, 3.2)	Estável	−21.6*** (−29.4, −13.0)	Decrescente
	2010–2019	−33.8*** (−45.6, −19.4)	Decrescente		
40–59 anos	2000–2011	0.7 (−5.2, 7.0)	Estável	−12.0* (−22.1, −0.7)	Decrescente
	2011–2014	−54.4* (−79.0, −1.0)	Decrescente		
	2014–2019	−3.0 (−18.1, 14.8)	Estável		
>60 anos	2000–2011	3.4 (−1.1, 8.1)	Estável	−9.0* (−15.8, −1.5)	Decrescente
	2011–2014	−54.3** (−72.2, −24.9)	Decrescente		
	2014–2019	4.0 (−6.6, 15.7)	Estável		
<b>Mesorregiões</b>					
Noroeste de Minas	2000–2019	−1.9 (−4.4, 0.8)	Estável	–	–
Norte de Minas	2000–2019	1.1 (−1.3, 3.7)	Estável	–	–
Jequitinhonha	2000–2019	5.3* (0.6, 10.2)	Crescente	–	–
Vale do Mucuri	2000–2019	5.3* (1.3, 9.4)	Crescente	–	–
Triângulo Mineiro	2000–2019	1.8 (−2.5, 6.3)	Estável	–	–
Central Mineira	2000–2019	−1.0 (−6.8, 5.2)	Estável	–	–
Região Metropolitana de Belo Horizonte	2000–2019	0.1 (−1.1, 1.3)	Estável	–	–
Vale do Rio Doce	2000–2019	7.1*** (4.3, 10.0)	Crescente	–	–
Oeste de Minas	2000–2019	−2.3 (−5.6, 1.1)	Estável	–	–
Sul de Minas	2000–2019	−0.2 (−4.5, 4.3)	Estável	–	–
Campo dos Vertentes	2000–2019	−8.0** (−13.2, −2.5)	Decrescente	–	–
Zona da Mata	2000–2019	0.1 (−4.3, 4.7)	Estável	–	–

Nota: Taxas de mortalidade por 100.000 habitantes calculadas utilizando a média de óbitos por esquistossomose no período de 20 anos como numerador e a média populacional no meio do período de estudo (2009–2010) como denominador.

Abreviações: IC, intervalo de confiança; OR, razão de chances; –, não calculado.

A análise da distribuição espacial das taxas de mortalidade por esquistossomose em nível municipal (Figura 2a–d) revelou que, no geral, o número de municípios com alta taxa de mortalidade ( $>5$  por 100.000 habitantes) aumentou durante os quatro períodos de tempo em análise (P1: 6; P2: 7, P3: 12 e P4: 15 municípios). Curiosamente, o número de municípios com altas taxas de mortalidade (2,0–4,9 por 100.000 habitantes) caiu durante os períodos de tempo P2 e P3 e depois aumentou durante P4 (P1: 32, P2: 29, P3: 26; e P4: 49 municípios). As maiores taxas de mortalidade em nível municipal foram registradas para as mesorregiões Norte, Jequitinhonha, Vale do Mucuri, Vale do Rio Doce e Região Metropolitana de Belo Horizonte (Figura 2a–d).

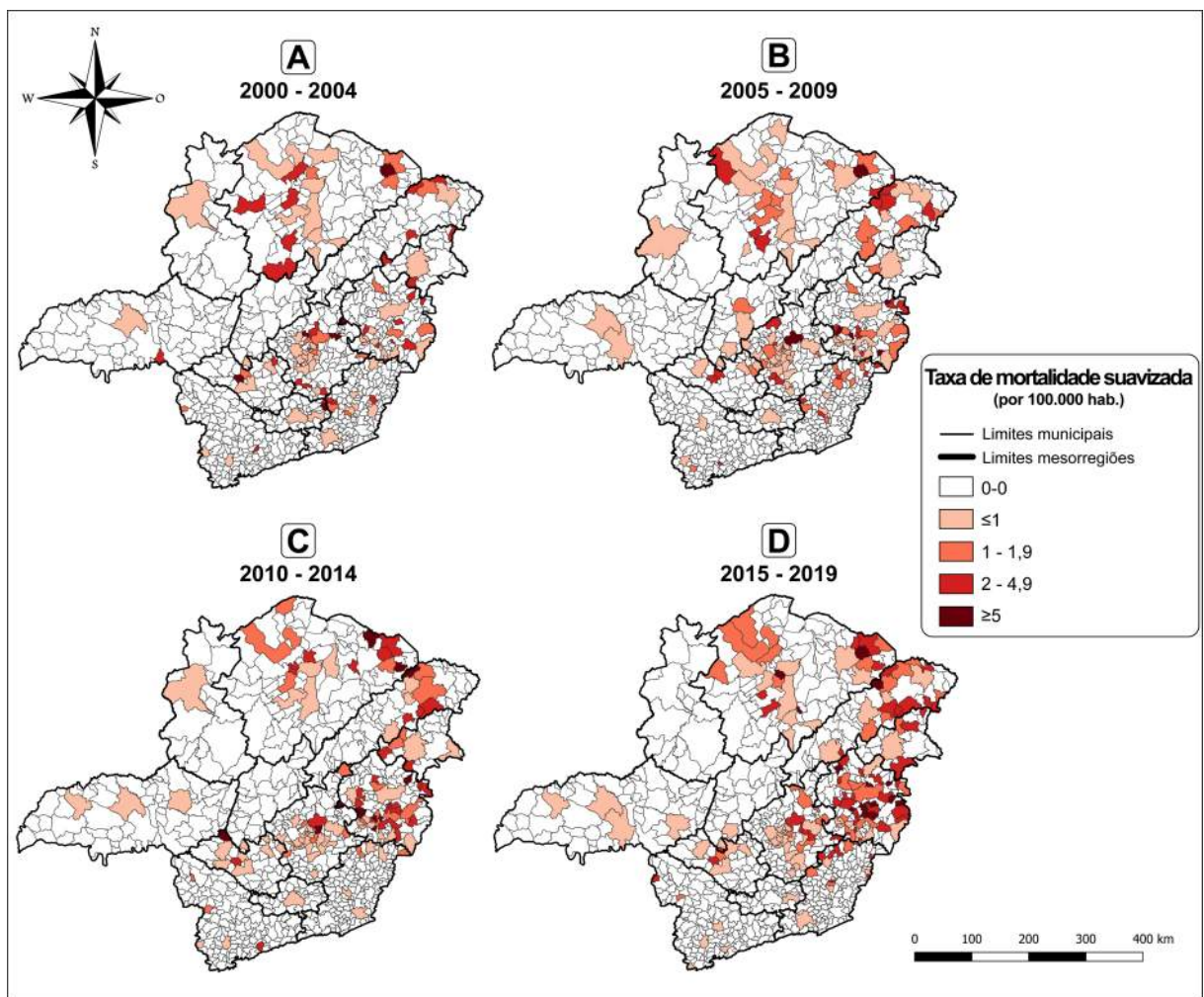


Figura 2. Distribuição espacial das taxas de mortalidade por esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, 2000–2019. As taxas médias de mortalidade por 100.000 habitantes nos municípios foram representadas em intervalos de 5 anos de 2000 a 2004 (a), 2005 a 2009 (b), 2010 a 2014 (c) e 2015 a 2019 (d). Taxas de mortalidade foram arbitrariamente classificadas como baixa ( $<1,0$ ), moderada (1,0-1,9), alta (2,0-4,9), e intensa ( $\geq 5$  por 100.000 habitantes), de acordo com Paz *et al.*, (2020)

Posteriormente, analisamos a autocorrelação espacial para os quatro períodos de tempo, com base no Índice Global de Moran univariado (Tabela 3). Uma correlação espacial positiva

resultou entre a mortalidade causada pela esquistossomose e municípios com padrões semelhantes ( $P1: 0,694, p = 0,001$ ;  $P2: 0,684, p = 0,001$ ;  $P3: 0,794, p = 0,001$ ; e  $P4: 0,824, p = 0,001$ ). Para identificar municípios de alta prioridade, o LISA foi calculado. A mesorregião do Vale do Rio Doce surgiu como tendo a maioria dos municípios com alta prioridade. Em contraste, o número de áreas de alta prioridade caiu para a mesorregião da Área Metropolitana de Belo Horizonte (Figura 3; Tabela 3).

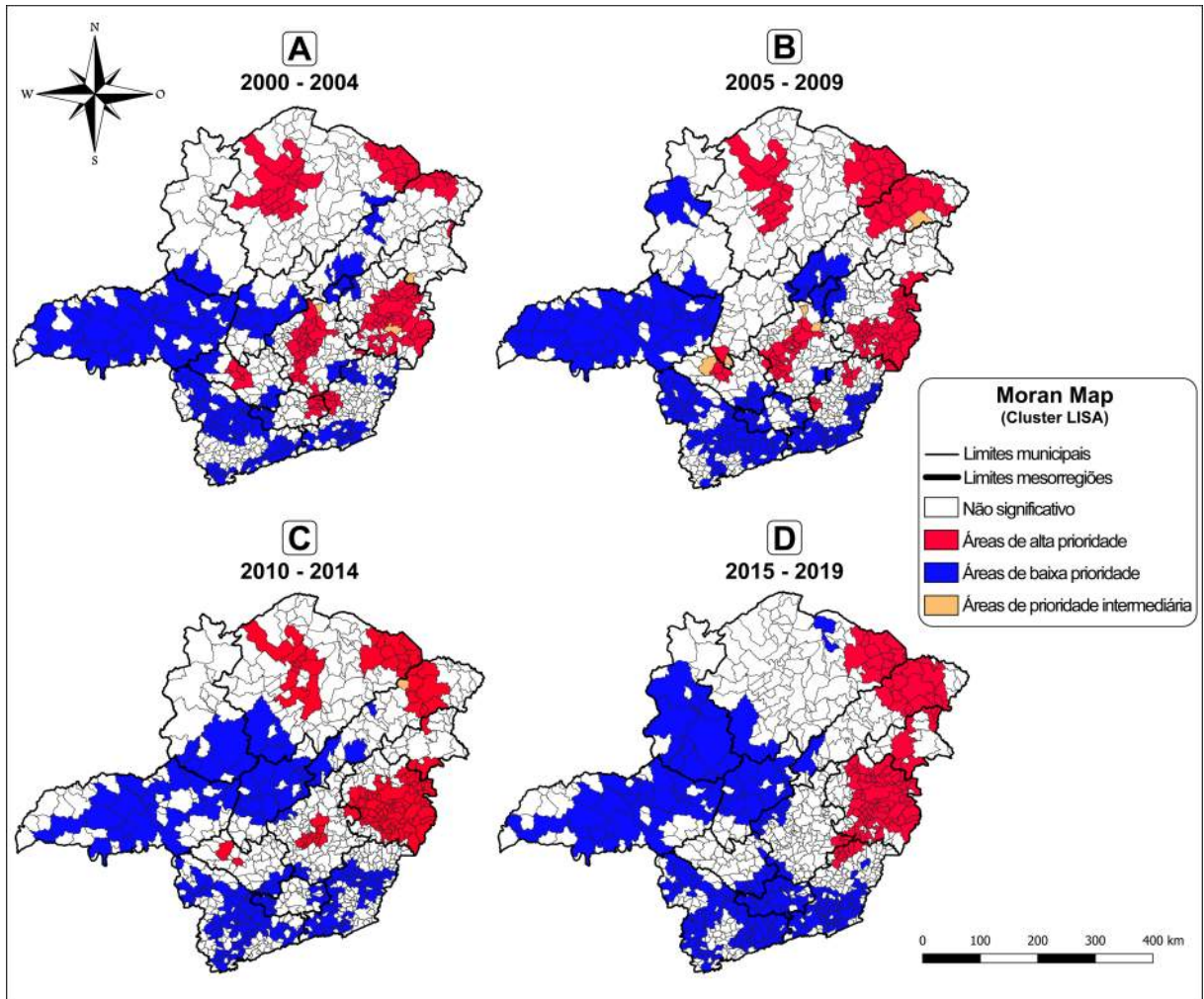


Figura 3. Identificação de áreas prioritárias para controle e vigilância da esquistossomose segundo análise LISA univariada no estado de Minas Gerais, Brasil. Alta (vermelho), intermediária (amarelo) e baixa prioridade (azul) são indicadas para períodos de 5 anos de 2000 a 2004 (a), 2005 a 2009 (b), 2010 a 2014 (c), e de 2015 a 2019 (d).

Tabela 3. Estatísticas de autocorrelação espacial e número de municípios prioritários no estado de Minas Gerais, Brasil, 2000–2019.

Período	Moran Global		Indicador Local de Associação Espacial (LISA)			
	Moran's <i>I</i>	<i>p</i> -Valor	Áreas de alta prioridade	Áreas de prioridade intermediária	Áreas de baixa prioridade	Não significativo
2000–2004	0.694	0.001	138	3	192	520
2005–2009	0.684	0.001	133	6	221	493
2010–2014	0.794	0.001	120	1	200	532
2015–2019	0.824	0.001	119	0	248	486

Finalmente, a varredura espaço-temporal foi realizada durante o período investigado para identificar grupos de alto risco de mortalidade devido à esquistossomose dentro e entre os municípios. Identificamos grupos altamente significativos de mortalidade durante todos os quatro períodos de tempo avaliados (Figura 4; Tabela 4), mas especialmente para 2015 a 2019 (P4). P4 foi responsável pelas maiores taxas anuais de mortalidade e RR (taxa de mortalidade anual: 1,7; RR: 5,03;  $p \leq 0,05$ ). Vale ressaltar que a Região Metropolitana de Belo Horizonte foi incluída nas análises de cluster para áreas de alto risco durante os três primeiros períodos de tempo (P1–P3). No entanto, com a expansão do aglomerado principal durante o P3 na direção das áreas do nordeste de Minas Gerais, a mesorregião Metropolitana Belo Horizonte não foi mais classificada como de alto risco dentro do aglomerado principal e deu lugar à mesorregião do Vale do Rio Doce (Figura 4).

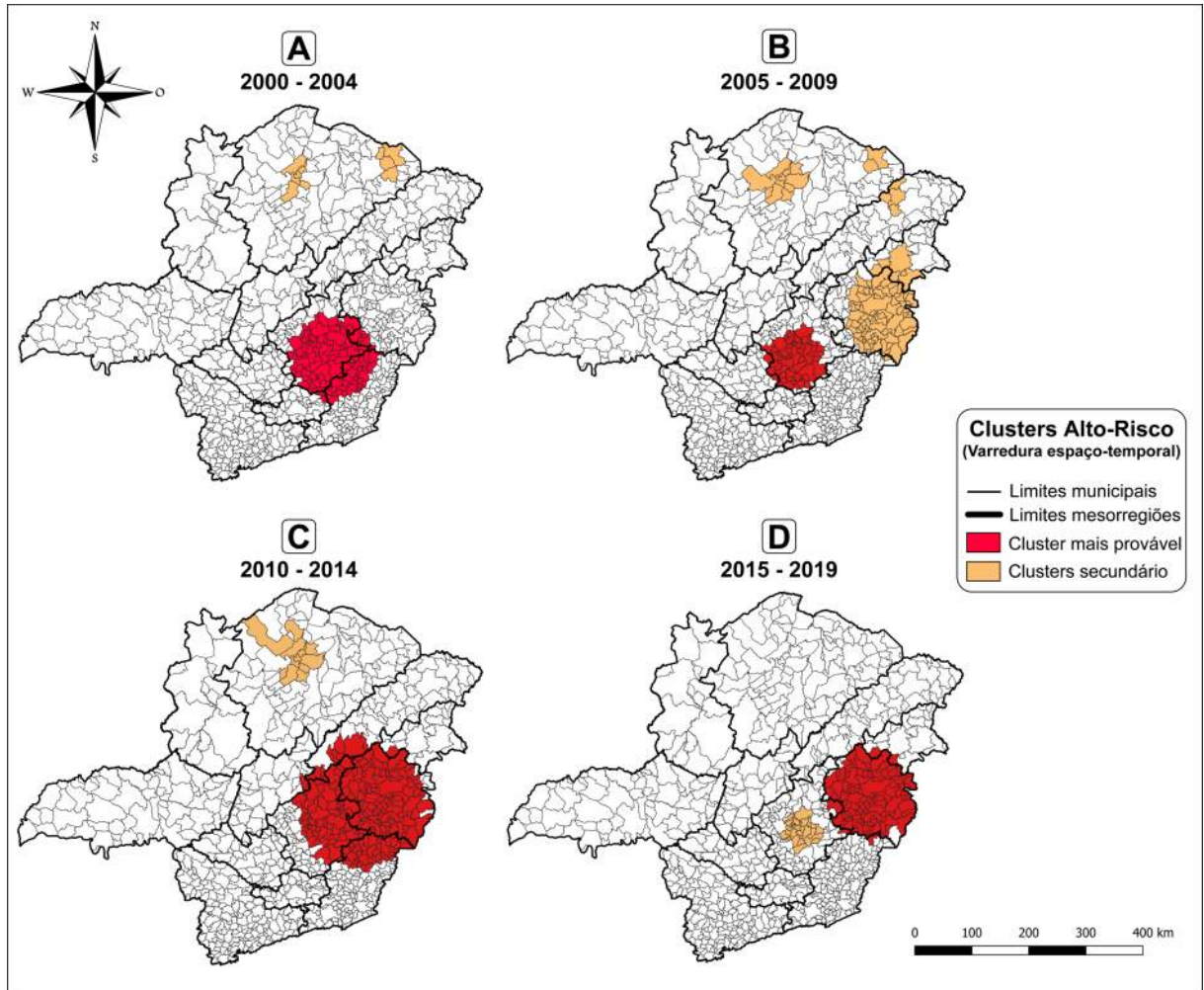


Figura 4. Análise estatística da varredura espaço-temporal da mortalidade por esquistossomose no estado de Minas Gerais, Brasil, entre os anos de 2000 a 2019, representada em intervalos de 5 anos de 2000 a 2004 (a), 2005 a 2009 (b), 2010 a 2014 (c) e de 2015 a 2019 (d).

Tabela 4. Varredura espaço-temporal das taxas anuais de mortalidade por esquistossomose por 100.000 habitantes em Minas Gerais, Brasil, de 2000 a 2019.

Variáveis	Cluster	Duração do Cluster	Mesorregiões	Municípios	Óbitos	Óbitos esperados	Taxa anual de mortalidade <sup>a</sup>	RR	LLR	p-Valor
Período 1 (2000-2004)	1	2001–2002	Campo das Vertentes, Zona da Mata, Vale do Rio Doce e Região Metropolitana de Belo Horizonte	121	77	33,42	0,7	2,85	25,140522	<0,05
	2	2001–2001	Norte de Minas	4	5	0,17	8,2	29,29	12,011080	<0,05
	3	2002–2003	Norte de Minas	6	4	0,39	2,9	10,46	5,748566	0,989
Período 2 (2005–2009)	1	2005–2006	Região Metropolitana de Belo Horizonte, Oeste de Minas	59	69	32,99	0,6	2,43	17,555943	<0,05
	2	2006–2007	Jequitinhonha	4	6	0,37	4,8	16,75	11,212661	<0,05
	3	2007–2008	Vale do Mucuri, Vale do Rio Doce, Zona da Mata	82	21	6,94	0,9	3,19	9,555843	0,136
Período 3 (2010–2014)	4	2007–2007	Norte de Minas	11	6	10,54	3,1	10,74	8,750304	0,261
	5	2008–2008	Norte de Minas	2	3	0,090	9,9	33,83	7,638058	0,602
	1	2012–2013	Região Metropolitana de Belo Horizonte, Zona da Mata, Vale do Rio Doce, Vale do Mucuri, Jequitinhonha, Central Mineira	207	100	48,16	0,7	2,52	26,063573	<0,05
Período 4 (2015–2019)	2	2011–2012	Norte de Minas	11	7	1,37	1,7	5,19	5,824597	0,988
	1	2017–2018	Vale do Rio Doce, Vale do Mucuri, Região Metropolitana de Belo Horizonte, Zona da Mata	102	57	12,83	1,7	5,03	43,507553	<0,05
	2	2016–2017	Região Metropolitana de Belo Horizonte	27	73	38,42	0,7	2,10	14,014986	<0,05

Abreviaturas: LLR, razão de verossimilhança; RR, risco relativo para o cluster em comparação com o resto das regiões.

<sup>a</sup>Taxa de mortalidade por esquistossomose (por 100.000 habitantes) durante o período de aglomeração.

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo usou estatísticas geoespaciais para avaliar o perfil epidemiológico e os aspectos espaço-temporais da mortalidade por esquistossomose mansoni em um dos estados historicamente mais afetados do sudeste do Brasil. Por uma janela de tempo de 20 anos, identificamos padrões geográficos, áreas de risco e áreas de maior gravidade que poderiam indicar áreas de intervenção preferenciais para serviços públicos de saúde.

De acordo com estudos anteriores, a taxa de mortalidade em homens é maior do que em mulheres, o que pode ser um reflexo da maior prevalência da doença neste grupo (Martins-Melo *et al.*, 2014; Santos, *et al.*, 2016). O maior risco de infecção e, como consequência final, maior mortalidade, em homens pode estar intimamente relacionado ao aumento da exposição causada por diferenças específicas nas atividades ocupacionais e de lazer (Resendes; Souza-Santos; Barbosa, 2005; Simões; Sena; Meira, 2020). No geral, a diminuição da taxa de mortalidade foi observada em ambos os sexos ao longo do tempo, mas com um declínio mais lento nas mulheres. Aqui, um aumento da expectativa de vida e a inclusão de mulheres em atividades de trabalho com risco elevado de infecção podem ter contribuído para um aumento da exposição a estágios parasitários infecciosos (Alves *et al.*, 2009; Davidson; DiGiacomo; McGrath, 2011).

Um risco aumentado de mortalidade foi observado em grupos etários mais velhos. Para a esquistossomose, é bem sabido que há uma progressão lenta para as formas clínicas mais graves, com uma contribuição importante da resposta imune do indivíduo e, às vezes, com um atraso de vários anos até que estas manifestações clínicas possam aparecer (Resendes; Souza-Santos; Barbosa, 2005; Barbosa *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017; Nelwan *et al.*, 2019). Esse fato, em combinação com outras comorbidades, pode explicar o maior risco em adultos e nas faixas etárias mais velhas (Resendes; Souza-Santos; Barbosa, 2005; Martins-Melo *et al.*, 2014). Também identificamos uma redução nas taxas de mortalidade de adolescentes e adultos (10 a 39 anos), o que pode refletir os esforços de intervenções de controle repetidas, incluindo diagnóstico e quimioterapia com praziquantel, especialmente em crianças em idade escolar e adultos jovens (Brasil, 2014).

Diferenças significativas em termos de taxas de mortalidade foram observadas para as diferentes mesorregiões do Estado de Minas Gerais. Notavelmente, as mesorregiões do Jequitinhonha, Vale do Mucuri e Vale do Rio Doce mostraram taxas de mortalidade crescentes durante o período estudado. Isso corrobora estudos anteriores sobre a prevalência de esquistossomose em diferentes regiões deste estado (Guimarães *et al.*, 2010). Nessas mesorregiões, a necessidade de mão de obra na mineração e na agricultura no início do século

XVIII facilitou uma migração considerável do nordeste do Brasil para Minas Gerais e para suas regiões do norte e nordeste (Lambertucci *et al.*, 1987; Brasil, 2014). Na verdade, essas regiões são historicamente consideradas endêmicas para a esquistossomose, com altas taxas de prevalência e mortalidade sendo relatadas em pesquisas epidemiológicas nacionais anteriores (Pellon; Teixeira, 1953; Drummond *et al.*, 2006).

Minas Gerais é grande e tem vários municípios com população flutuante. Essa heterogeneidade na estrutura demográfica do estado se reflete na organização da prestação de serviços de saúde e, conseqüentemente, no acesso ao sistema de saúde (Reis *et al.*, 2010). Além disso, a heterogeneidade demográfica afeta as taxas de mortalidade, sendo sua precisão inversamente proporcional ao tamanho da população em risco. Técnicas de suavização estatística, como o método bayesiano usado no presente estudo, levam em conta os municípios vizinhos para gerar estimativas das taxas de mortalidade; esses métodos podem ser usados para superar problemas de flutuação populacional (Simões; Sena; Meira, 2020; Paz *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021).

Durante o estudo, áreas de alto risco e de alta prioridade foram observadas como resultado das análises espaciais e espaço-temporais. Com o tempo, uma redução de áreas prioritárias foi registrada na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte, juntamente com uma mudança de áreas de alta prioridade em direção à região do Vale do Rio Doce - uma dinâmica que moveu o conjunto de alto risco para região nordeste do estado. A distribuição da esquistossomose não é homogênea e as infecções humanas e a mortalidade também dependem de fatores socioeconômicos, como demonstrado em outros estudos (Alves *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2016; Paz *et al.*, 2020). Como tal, as mesorregiões classificadas como áreas de alta prioridade para o controle da esquistossomose também apresentam menores índice de desenvolvimento humano (médio ou baixo) (IPEA, 2020). A taxa de mortalidade é um importante indicador operacional do PCE nacional e, neste caso, mostrando que a esquistossomose está avançando nessas regiões, indicando falhas do programa.

A criação do PCE pelo Ministério da Saúde do Brasil na década de 1970, implementou ações sistemáticas para o controle da esquistossomose e se concentrou na redução das taxas de prevalência e mortalidade em áreas endêmicas (Katz, 2018). Embora uma redução de casos clínicos graves tenha sido alcançada ao longo dos anos, o programa não foi eficiente o suficiente para evitar a expansão da esquistossomose para novas áreas (Coura; Mendonça; Madruga, 1982; Katz, 1998). Finalmente, o PCE foi descentralizado no final do século passado para garantir um diagnóstico mais igualmente distribuído, mesmo em áreas rurais remotas (Drummond *et al.*, 2010; Brasil, 2014). No entanto, problemas inerentes ao PCE, como falta de

autonomia de outros programas de saúde, falta de mão de obra e pessoal treinado, métodos de diagnóstico divergentes e acesso restrito de áreas rurais remotas aos serviços de saúde são alguns dos fatores que impediram um melhor controle da esquistossomose (Reis *et al.*, 2010; Quites *et al.*, 2016). Além disso, foi observada queda significativa na positividade da esquistossomose no Estado de Minas Gerais, porém essa redução foi acompanhada de uma diminuição no número de exames (Apêndice A), o que indica não um sucesso nas ações do programa de controle e sim um retrocesso. Esses resultados foram observados anteriormente no Nordeste do Brasil (Cruz; Oliveira; La-Corte, 2020; Paz *et al.*, 2020).

Este estudo tem limitações. Como se trata de estudo ecológico que usou dados secundários, pode haver inconsistências nas informações obtidas. No entanto, e notavelmente, foram relatadas melhorias consideráveis no sistema de registro de mortes (SIM) no Brasil (Santo, 2007; Martins-Melo *et al.*, 2014). Incluir apenas a causa subjacente da morte por esquistossomose mansoni é uma limitação metodológica deste estudo, uma vez que o pequeno número de mortes e a subnotificação poderiam ser melhor explorados, incluindo causas contribuintes. Além disso, a análise espacial usando varredura circular e seus padrões de configuração comuns mostraram uma tendência a indicar clusters maiores do que os normalmente confirmados e isso também incluiu áreas sem risco. Para lidar com isso, usamos uma população de risco reduzida de 35% da área originalmente denominada, indicando assim clusters menores (Tango, 2021).

Conforme afirmado em seus Objetivos do Milênio mais recentemente reformulados, a OMS pretende eliminar a esquistossomose como um problema de saúde pública até 2030. Para pavimentar o caminho para isso, ações integradas são essenciais: ferramentas de diagnóstico precisas, tratamento prontamente disponível, controle de vetores e melhorias consideráveis no saneamento. Conforme descrito nas diretrizes mais recentes, o mapeamento preciso da doença em nível comunitário é fundamental/decisivo e direciona as ações para as áreas de risco mais vulneráveis (WHO, 2022).

## **7 CONCLUSÃO**

Os dados apresentados apontam para as mesorregiões do norte e nordeste do estado de Minas Gerais como áreas prioritárias para intervenção. Mudanças temporais e deslocamentos de áreas de alto risco da região central para a mesorregião do Vale do Rio Doce indicam possíveis falhas no diagnóstico e tratamento precoces pelo PCE nessas áreas. A presente pesquisa contribui para uma melhor compreensão da dinâmica espaço-temporal das taxas de mortalidade por infecções por esquistossomose e pode ajudar as autoridades de saúde a direcionar os recursos de maneira mais eficiente, para evitar desfechos clínicos mais graves.



## CAPÍTULO II

## **Mapeamento de fatores de risco e aglomerados espaciais da esquistossomose mansoni em comunidades rurais do Brasil: três estudos transversais entre 2014 e 2022**

### **Objetivos:**

Nas comunidades rurais de Pé da Serra, Tocantins e Santana, pertencentes ao distrito de Brejo do Amparo, Município de Januária, Minas Gerais:

- Determinar a prevalência da infecção por *S. mansoni* utilizando os métodos de Kato-Katz e Helmintex;
- Avaliar a associação entre fatores socioeconômicos e comportamentais na prevalência da infecção por *S. mansoni*, bem como possíveis alterações nesses fatores, nos anos de 2014 e 2022;
- Determinar a distribuição espacial dos casos de esquistossomose mansoni;
- Verificar possíveis alterações na distribuição espacial e os fatores de risco associados à esquistossomose mansoni, nos anos de 2014, 2015 e 2022;

Artigo publicado na revista *Parasitology International* (FI: 1.5; Qualis A3). doi: 10.1016/j.parint.2025.103145

Este trabalho teve como objetivo principal determinar a taxa de positividade da infecção por *S. mansoni* e avaliar a associação entre fatores socioeconômicos e fatores comportamentais, bem como a determinação de áreas de risco, ao longo dos anos de 2014, 2015 e 2022 em comunidades rurais no distrito de Brejo do Amparo, município de Januária, Minas Gerais, Brasil. Os resultados apresentados permitiram identificar como principais fatores de risco a proximidade das casas com o córrego, a ausência de banheiros e a falta de tratamento de água. Além disso, identificamos a persistência de um aglomerado espacial de casos de esquistossomose em uma das comunidades estudadas, onde atividades agrícolas foram identificadas como um fator de risco específico da comunidade.

## 1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada causada por vermes sanguíneos do gênero *Schistosoma* que afeta mais de 151 milhões de pessoas e é endêmica em 78 países da África, Ásia e América Latina (IHME, 2021). No Brasil, estima-se que 1,5 milhão de pessoas sejam afetadas pela esquistossomose intestinal, causada pelo *Schistosoma mansoni* (Noya *et al.*, 2015), com uma carga de morbidade estimada em 22,13 anos de anos de vida perdidas por incapacidade (DALYs) em 2021. Para que a transmissão da esquistossomose ocorra, é necessário que o hospedeiro definitivo infectado, principalmente seres humanos, descarte suas fezes contaminadas em corpos d'água (Colley *et al.*, 2014). O contato dos ovos de *S. mansoni* presentes em fezes humanas com água doce, leva a eclosão de larvas ciliadas, que podem infectar os hospedeiros intermediários, caramujos do gênero *Biomphalaria* – *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* (Nelwan *et al.*, 2019). Esses caramujos infectados podem liberar milhares de cercárias em ambientes aquáticos, transformando esses recursos hídricos em focos de infecção para humanos e outros mamíferos.

A falta de acesso a saneamento e de instalações sanitárias adequados, levando à defecação a céu aberto e, conseqüentemente, à contaminação ambiental, é um dos principais fatores que facilitam a transmissão contínua da doença (Grimes *et al.*, 2014). Fatores socioeconômicos desempenham um papel significativo na transmissão; por exemplo, pobreza, acesso restrito à água corrente em habitações e proximidade de corpos de água doce, como rios, represas e lagoas, facilitam ainda mais a disseminação da esquistossomose (Utzing *et al.*, 2011; Musuva *et al.*, 2021). Além disso, fatores comportamentais frequentes como nadar, tomar banho, lavar roupas e fatores ocupacionais como pesca, práticas agrícolas e cerimônias religiosas, aumentam o risco de infecção (Reitzug; Ledien; Chami, 2023; Paulo R. S. C. 2024). Sem melhorias simultâneas e significativas nas condições ambientais, incluindo saneamento e higiene, o tratamento pode não ser suficiente para controlar a esquistossomose, e essa exposição contínua a fontes de água contaminadas pode resultar em reinfeção logo após o tratamento, perpetuando o ciclo de transmissão (Spencer *et al.*, 2021).

Para intervir nessas áreas de transmissão da esquistossomose, é necessário avaliar as áreas por meio de investigação epidemiológica para identificar, mapear e monitorar os casos de infecção por *S. mansoni* na população e a ocorrência de caramujos *Biomphalaria*, infectados ou não, em corpos d'água (Palasio *et al.*, 2021). Segundo as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS), a realização de inquéritos epidemiológicos em comunidades endêmicas e mapeamento da efetividade das intervenções ao longo do tempo são uma forma de direcionar as ações a serem tomadas pelas autoridades e reduzir custos contínuos (WHO, 2022). Essas

avaliações devem ser conduzidas em pequena escala, considerando a transmissão focal característica da esquistossomose, e levando em consideração dados socioeconômicos e comportamentais da população (Santos *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2020; Lamberti *et al.*, 2021). Isso permitiria uma melhor compreensão da dinâmica da infecção por *S. mansoni* nas comunidades afetadas e o reconhecimento mais preciso de fatores de risco significativos e áreas de risco. Como consequência disso, a epidemiologia da doença será avaliada de forma integrativa, com dados espaciais e temporais precisos. Isso forneceria informações significativas aos profissionais de saúde e formuladores de políticas, contribuindo para o enfrentamento da infecção e o avanço rumo à eliminação da esquistossomose como um problema de saúde pública até 2030, conforme proposto pela Assembleia Mundial da Saúde e pela OMS (WHO, 2022).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo determinar a taxa de positividade da infecção por *S. mansoni* e avaliar a associação entre fatores socioeconômicos e comportamentais, bem como distribuição espacial, determinação de áreas de risco e mudanças nos fatores de risco, ao longo dos anos de 2014, 2015 e 2022 em três comunidades rurais na região norte de Minas Gerais, Brasil.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Aspectos éticos**

Para o presente estudo, o projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais - Parecer: 5.410.388; CAAE 55239522.3.0000.5149 (Anexo A). O estudo realizado nos anos de 2014 e 2015, dos quais a presente tese analisou a retrospectiva dos seus dados, foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos do Instituto René Rachou/FIOCRUZ - CAAE21824513.9.0000.5091 (Anexo B). Foram realizadas reuniões na comunidade e visitas domiciliares para esclarecer dúvidas sobre o projeto a ser desenvolvido. Autoridades locais de saúde foram contatadas e concordaram em colaborar com os pesquisadores das diferentes instituições. Todos os participantes deste estudo receberam um código de identificação para garantir o sigilo das informações pessoais, sem utilizar nenhuma informação que permitisse a identificação dos pacientes. Os objetivos do estudo foram apresentados e explicados a todos os participantes, e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termos de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) foram assinados individualmente e devidamente armazenados.

A pesquisa também foi submetida ao Sistema de Autorização e Informação sobre Biodiversidade (Sisbio), sob o número 68627-1 e código de autenticação 068627012019029.

### **2.2 Área de estudo**

O estudo foi realizado nas comunidades rurais de Pé da Serra, Tocantins e Santana, localizadas em Brejo do Amparo, distrito do Município de Januária, localizada na região norte do Estado de Minas, a aproximadamente 635 km da capital Belo Horizonte (Figura 1). O município de Januária, assim como os seus distritos (incluindo Brejo do Amparo) apresentam saneamento básico precário, com apenas 37,2% dos domicílios com esgotamento sanitário adequado; esse fato dificulta o controle da esquistossomose, principalmente quando essa doença é considerada endêmica no município, com média de casos entre 2004-2013 de 452,7 (IC95%, 195,7-1047) (Brasil, s.d). A população examinada é composta por aproximadamente 270-300 pessoas, que residem as margens do córrego Tocantins, em uma área sem rede de água tratada. A principal atividade econômica local é o cultivo de cana-de-açúcar, utilizada na produção de cachaça e rapadura, enquanto algumas famílias também praticam agricultura de subsistência, aproveitando a água do córrego para irrigação de suas plantações. Essa dependência do córrego, somada à falta de infraestrutura de saneamento básico, aumenta a

exposição da população a doenças de veiculação hídrica, como a esquistossomose, cujos casos são recorrentes na região.

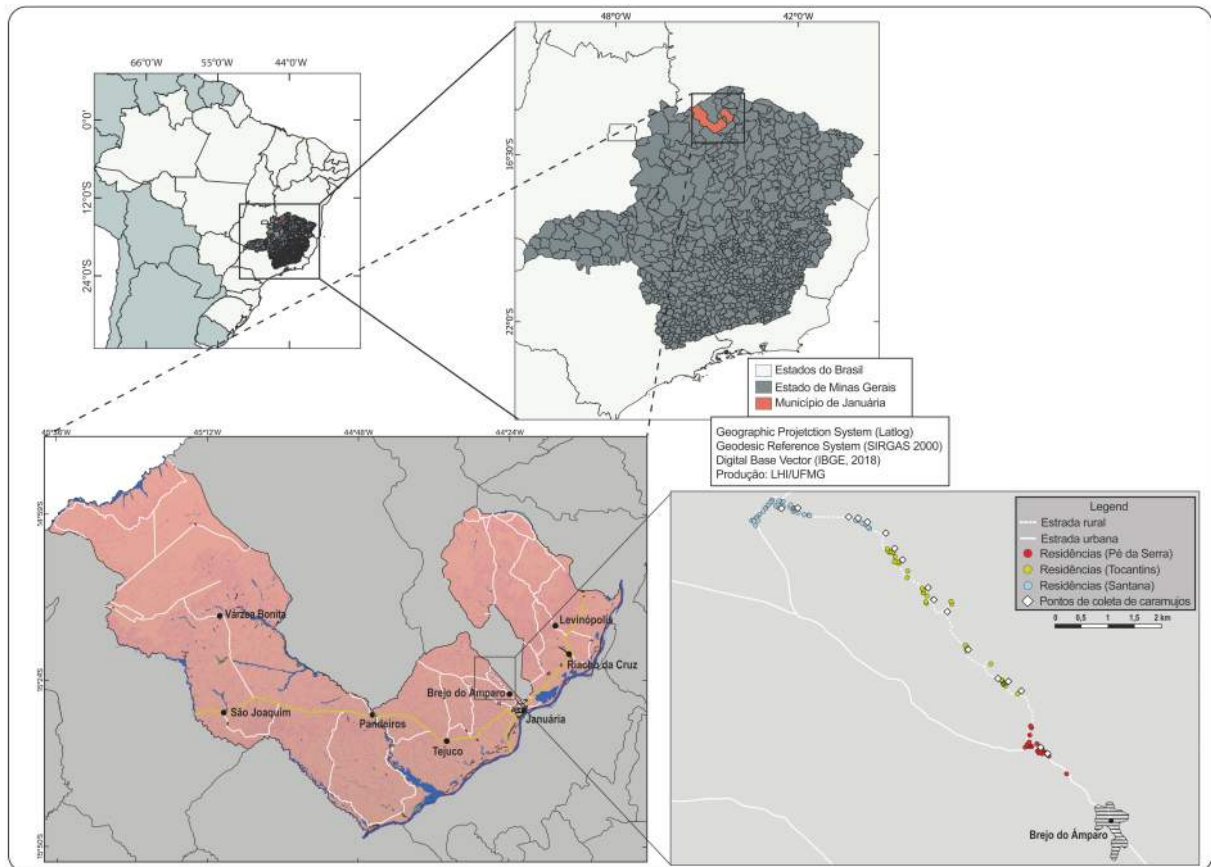


Figura 1. Localização geográfica do Estado de Minas Gerais dentro do Brasil (em cinza), do município de Januária, região norte de Minas Gerais (em vermelho) e o distrito de Brejo do Amparo, com as comunidades rurais trabalhadas.

### 2.3 Delineamento do estudo

Três estudos transversais foram conduzidos nos anos de 2014, 2015 e 2022 para verificar o status da infecção por *S. mansoni* na população, os fatores de risco associados a ela e a presença de caramujos do gênero *Biomphalaria* em coleções de água (Figura 1). O monitoramento das comunidades não foi viável entre 2015 e 2022 devido a restrições logísticas e à pandemia de COVID-19. Nos três anos, estimamos a prevalência inicial da infecção por *S. mansoni* usando diferentes métodos parasitológicos, como esfregaços fecais de Kato-Katz (Katz; Chaves; Pellegrino, 1972) e Helminx (Favero *et al.*, 2017). Utilizamos questionários socioeconômicos e de contato com a água para avaliar os fatores de risco associados à infecção por *S. mansoni* (Anexo C, D) e conduzimos levantamentos malacológico para caramujos do gênero *Biomphalaria* em 2014 e 2022. Para o levantamento parasitológico em 2014 e 2015, todos os indivíduos de ambos os sexos, com idade superior a dois anos, foram incluídos. Em 2022, incluímos apenas indivíduos com idade entre seis e 70 anos. Em 2014 e 2015, os

participantes foram solicitados a fornecer três amostras fecais, coletadas em dias consecutivos; em 2022, uma única amostra de fezes foi coletada de cada indivíduo.

## 2.4 Métodos de diagnóstico

Para a realização do diagnóstico parasitológico pelo método de Kato-Katz e Helmintex, foi fornecido para cada indivíduo um pote com capacidade para uma evacuação total de 500mL devidamente identificado. Todos os indivíduos foram orientados quanto a forma correta de coleta, armazenamento e entrega das amostras. Após o recolhimento das amostras, as mesmas foram encaminhadas e processadas no laboratório do Centro Avançado de Pesquisa e Tratamento das Leishmanioses de Januária, situado na sede do Município de Januária.

### 2.4.1 Kato-Katz

Para a detecção da infecção por *S. mansoni* e geohelmintos foi utilizado o método de Kato-Katz que consiste na detecção dos ovos desses parasitos em amostras fecais (Figura 2). Utilizamos o kit parasitológico fornecido pelo Ministério da Saúde do Brasil, o Helm-Test (Biomanguinhos/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil). Em 2014 e 2015, 14 lâminas foram preparadas da primeira amostra, enquanto 2 lâminas de cada uma das segunda e terceira amostras, totalizado 18 lâminas; mais detalhes podem ser encontrados em Oliveira *et al.*, (2018). Os resultados observados no ano de 2014 e 2015 demonstraram que o aumento no número de lâminas lidas não levou a estimativas de prevalência significativamente maiores (Oliveira *et al.*, 2018). Com base nessas observações, em 2022, preparamos seis lâminas de uma única amostra fecal por indivíduo. Em todos os casos, as lâminas de KK foram examinadas por microscopistas experientes sob microscópio (100x), pelo menos 1-2 horas após a preparação. Para controle de qualidade, pelo menos 10% das lâminas negativas para *S. mansoni* foram verificadas por outro microscopista experiente.

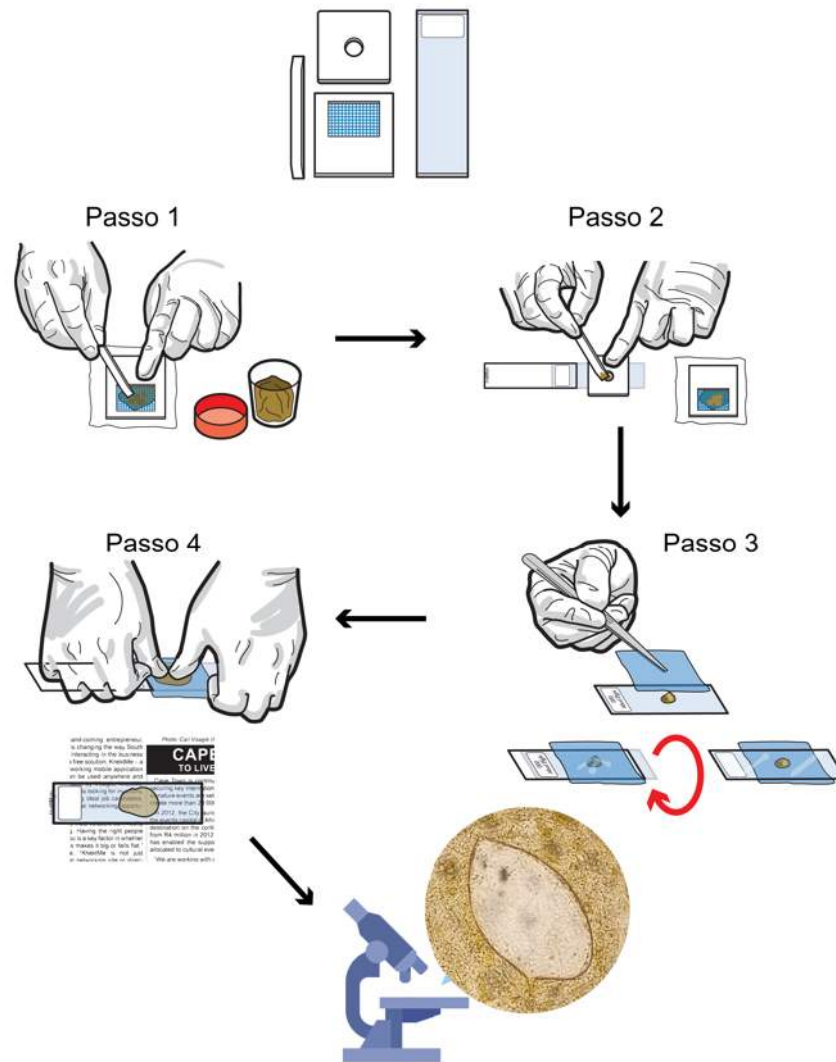


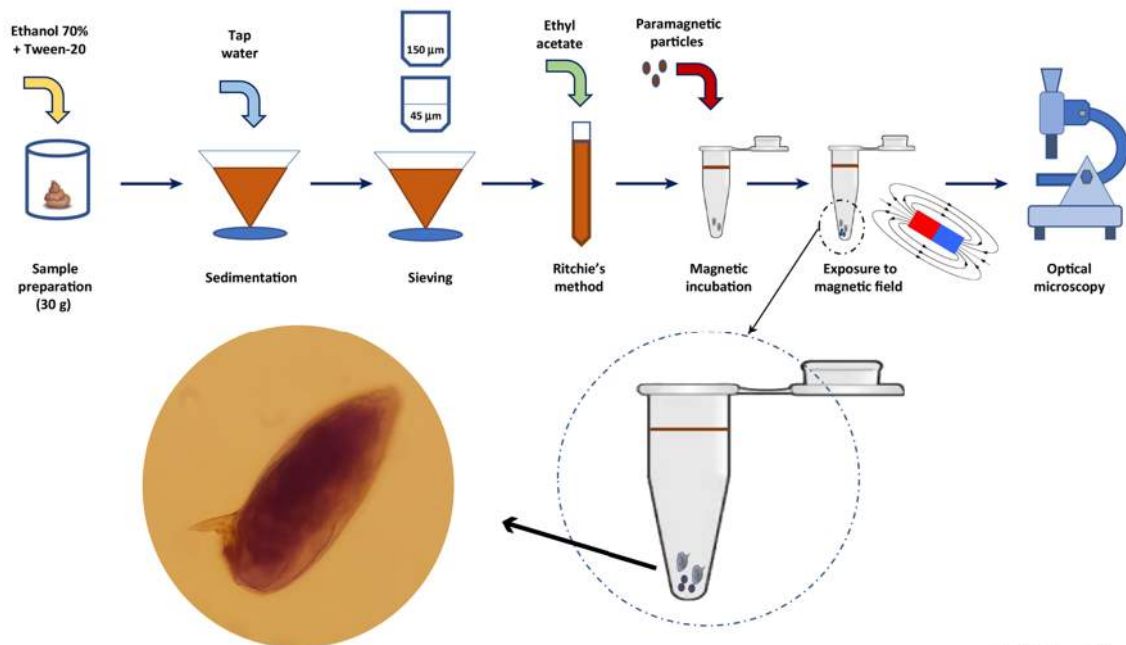
Figura 2. Representação esquemática do método de Kato-Katz. Adaptado de WHO (2019).

Os pacientes positivos para esquistossomose receberam tratamento gratuitamente com praziquantel (40-60 mg/kg) e os positivos para helmintos intestinais receberam Albendazol (400 mg dose única), medicamentos e tratamento foram providenciados pela equipe colaboradora do posto de saúde local no Brejo do Amparo.

#### 2.4.2 Helmintex

Adicionalmente, aplicamos o método Helmintex em todas as amostras de todos os indivíduos nos três estudos transversais, conforme descrito por Teixeira *et al.*, (2007) e aprimorado por Favero *et al.*, (2017). Resumidamente, foram utilizados 30g de fezes suspensas em etanol 70% tratado com detergente (Tween-20). O homogêneo foi filtrado em peneira com abertura de 500µm sobreposta a um recipiente coletor e deixado por uma hora em temperatura ambiente para sedimentação. Transcorrido o tempo, o sobrenadante foi desprezado

e, em seguida, adicionado água destilada para uma nova sedimentação, repetindo-se esse processo até que o sobrenadante ficasse límpido. Após as lavagens e sedimentações consecutivas, uma nova tamisação foi realizada utilizando peneiras com aberturas diferentes (150 e 45  $\mu\text{m}$ ). O material retido na última peneira (45  $\mu\text{m}$ ) foi recolhido e submetido ao método de Ritchie (1948). O sedimento obtido foi ajustado até o volume de 1,5mL, transferido para microtubos e adicionados 19  $\mu\text{L}$  de partículas paramagnéticas (BioMag<sup>®</sup> Superparamagnetic Iron Oxide; lote: 10516). Os microtubos foram incubados e agitados por uma hora com o auxílio de um agitador orbital à temperatura ambiente. Após a incubação, os microtubos foram conectados ao magneto (BioMag<sup>®</sup> Multi-6-Separator; PolySciences, Inc. Valley Road, Washington, PA) por 3 minutos; o sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspensionado em 1mL de solução aquosa de NaCl (0,9%) e armazenados a  $-4^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. Para a análise microscópica, o sedimento foi corado com uma solução de 3% de ninhydrina em álcool 70% e transferido para papéis filtro (5 cm x 2,5 cm; poro de 25 $\mu\text{m}$ ; UNIFIL), e examinadas por microscopia óptica para identificação dos ovos de *S. mansoni* (Figura 3).



Trends in Parasitology

Figura 3. Representação esquemática do método de Helmintex. Adaptado de Candido e colaboradores (2018)

## 2.5 Potenciais fatores de risco

Os questionários pré-codificados foram aplicados em 2014 e 2022 por entrevistadores treinados e consistiam em duas partes: uma para avaliar o status socioeconômico e características domiciliares das famílias, e a outra para avaliar os fatores de risco associados à

esquistossomose. A primeira seção, que dizia respeito à família e residência, foi aplicada apenas ao chefe da família, enquanto os fatores de risco foram avaliados em nível individual. As variáveis independentes foram categorizadas como zero para fatores de proteção e um para fatores de risco, exceto idade, cuja variável foi categorizada como 0 ( $\leq 10$  anos), 1 (11-20 anos), 2 (21-40 anos), 3 (41-60 anos) ou 4 ( $> 60$  anos), e comunidade rural, que foi categorizada como 1 (comunidade de Pé da Serra), 2 (comunidade de Tocantins) ou 3 (comunidade de Santana).

## 2.6 Levantamento malacológico

Coletas malacológicas, com amostragem qualitativa, foram realizadas em 2014, 2015 e 2022, ao longo do córrego Tocantins. Para as coletas foram utilizadas conchas metálicas (malha  $< 1$ mm) com diâmetro de 16cm, pinças e peneiras, com um esforço amostral de 20 minutos por ponto de coleta (BRASIL, 2008). Os animais coletados foram acondicionados em sacos plásticos, identificados por localidades e encaminhados ao Laboratório de Helmintoses Intestinais ICB/UFMG.

Para a identificação específica do gênero *Biomphalaria*, utilizamos dados conquiológicos como a morfologia das conchas, sistema reprodutivo e crista renal dos moluscos (Deslandes, 1951; Paraense, 1975). Para o diagnóstico da infecção por *S. mansoni*, foi utilizado o método de Kuntz (1946), adaptado por Jannotti-Passos *et al.* (2008). Resumidamente, os caramujos foram coletados individualmente em recipientes com água desclorada, expostos à fotoestimulação artificial e a uma temperatura entre 28 e 30 °C, utilizando lâmpadas incandescentes de 60W por um período de 2 horas. Após esse período, a água foi examinada com o auxílio de um microscópio estereoscópico para a verificação de larvas de trematódeos. Os caramujos que não liberaram cercárias na primeira fotoestimulação foram reexaminados pelo mesmo método nas três semanas subsequentes ao primeiro exame. Na quarta semana, os moluscos que ainda apresentaram resultado negativo para a liberação de cercárias foram esmagados entre placas de vidro para confirmar a ausência de formas de desenvolvimento intra-molusco (esporocistos) de *S. mansoni*. As larvas encontradas foram coletadas com auxílio de pipeta, coradas com lugol e montadas entre lâmina e lamínula e identificadas de acordo com a literatura especializada (Souza; Melo, 2012; Pinto; Melo, 2013).

## 2.7 Análise espacial

As coordenadas geográficas do endereço residencial de cada indivíduo e dos locais de reprodução dos caramujos *Biomphalaria* foram obtidas usando um receptor portátil de Sistemas de Posicionamento Global (GPS) (GPSMAP® 64s G, GARMIN International, Inc., Olathe, KS,

EUA) e importadas para o software de sistema de informações geográficas QGIS .4.11 (QGIS Development Team; Open Source Geospatial Foundation Project).

Usamos o estimador de densidade de kernel (EDK) para mapear o risco de infecção por esquistossomose, mostrando a distância entre os endereços residenciais de indivíduos positivos e os locais de reprodução dos caramujos *Biomphalaria*. O EDK é uma técnica estatística não paramétrica que cria uma superfície de densidade contínua, identificando visualmente os pontos críticos sem alterar as características locais. Essa técnica suaviza a variação na densidade de eventos pontuais, atribuindo maior peso aos pontos próximos ao centro do kernel; essa suavização é ajustada pela largura de banda escolhida, refletindo a escala geográfica da hipótese, que no nosso caso foi de 300m (Chen, 2017).

Uma inspeção puramente visual do EDK seria enganosa, pois não é possível examinar o número de casos por trás das taxas estimadas individualmente. Aplicar um teste de cluster local a dados de saúde é importante para priorizar áreas para futuras intervenções de saúde pública; neste estudo, usamos estatísticas de varredura espacial flexíveis (FleXScan). A estatística de varredura espacial é um teste de cluster local que determina a localização e a significância de clusters locais usando uma janela de varredura flexível que varre as coordenadas da área de estudo, examinando diferentes localizações e tamanhos de clusters de acordo com as configurações definidas pelo usuário (Tango, 2021). Para o presente estudo, construímos um modelo com as seguintes condições: modelo de Poisson puramente espacial e tamanho máximo de cluster espacial de 15% da população em risco. O cluster mais provável e os clusters secundários foram detectados usando a probabilidade de log restrita (rLLR, alfa padrão = 0,2) (Tango; Takahashi, 2012). Calculamos o risco relativo (RR) de casos de esquistossomose, considerando cada residência e cluster em relação aos seus vizinhos. Resultados com  $p \leq 0,05$  após 999 simulações de Monte Carlo foram considerados significativos.

## 2.8 Análise estatística

Para análise estatística, os casos de esquistossomose foram considerados a variável dependente, de acordo com os resultados do método KK e Helmintex (0=negativo; 1=positivo). A relação entre as variáveis coletadas nos questionários e os casos de esquistossomose foi examinada usando o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para identificar potenciais fatores de risco. Para evitar colinearidade em modelos multivariáveis, avaliamos a relação de variáveis em pares para determinar se havia alguma correlação forte ( $r \geq 0,6$  ou  $r \leq -0,60$ ) usando o coeficiente de correlação de Pearson. Variáveis colineares foram removidas com base na significância

biológica e as variáveis restantes foram incluídas no modelo. Para o modelo multivariado, usamos um modelo linear generalizado (GLM) com uma função de ligação logit, devido à natureza binária de nossas variáveis de resposta (positivas ou negativas). Um procedimento combinado de seleção de modelo stepwise para trás e para frente foi então realizado com base no ajuste do modelo medido pelo critério de informação de Akaike (AIC) para construir um modelo parcimonioso. Inicialmente, incluímos todas as variáveis explicativas selecionadas na análise univariada, depois as excluímos uma por uma usando o método ‘stepwise backward’, verificando a significância de cada variável e o ajuste do modelo em cada etapa. O processo de seleção do modelo foi complementado com a seleção ‘forward’, onde as variáveis excluídas foram reavaliadas para inclusão no modelo final, garantindo que nenhuma variável importante fosse omitida. As variáveis mantidas no modelo final foram aquelas que melhor explicaram a variabilidade nos dados, com base no menor AIC e significância estatística. Além disso, o modelo foi explorado para colinearidade entre suas variáveis preditoras calculando fatores de inflação de variância (VIF), garantindo que todos os VIFs fossem  $<3$  (Fox; Weisberg, 2018). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (R Core Team, 2020) usando a interface RStudio (Rstudio Team, 2020).

### 3 RESULTADOS

Um total de 257 indivíduos foi recrutado na linha de base em 2014, representando 95,17% da população estimada naquele ano (257/270). Em 2015, 260 indivíduos foram recrutados, correspondendo a 90,27% da população estimada (260/288), e em 2022, oito anos após a primeira intervenção, 265 indivíduos foram recrutados, representando 78,17% da população estimada (265/339). A Tabela 1 fornece um resumo dos resultados parasitológicos observados nesses três períodos. Houve um declínio notável na prevalência da infecção por *S. mansoni*, de 45,9% em 2014 para 10,38% em 2015, seguido por um aumento de 26,03% em 2022. Em 2014, indivíduos de 11 a 20 anos apresentaram risco significativamente maior de infecção por *S. mansoni* (OR=2,62; IC95% 1,10-6,48;  $p=0,029$ ), padrão que não foi observado em 2015 e 2022. A positividade por gênero não mostrou diferença significativa. A única variável que manteve alto risco em dois dos três períodos analisados foi a comunidade de residência; indivíduos residentes na Comunidade de Tocantins apresentaram maior risco de infecção por *S. mansoni* tanto em 2014 (OR=2,24;  $p=0,009$ ) quanto em 2022 (OR=2,49;  $p=0,01$ ).

Tabela 1. Análise univariada entre características epidemiológicas e casos relacionados à esquistossomose em comunidade rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil, entre 2014, 2015 e 2022.

Variáveis	2014				2015				2022			
	Negativo (%)	Positivo (%)	OR (IC95%)	P-valor	Negativo (%)	Positivo (%)	OR (IC95%)	P-valor	Negativo (%)	Positivo (%)	OR (IC95%)	P-valor
<b>Total</b>	139 (54.1)	118 (45.9)	-	-	233 (89.62)	27(10.38)	-	-	196 (73.97)	69 (26.03)	-	-
<b>Gênero</b>												
Masculino	65 (46.8)	56 (47.5)	Ref.	Ref.	108 (46.4)	15 (55.6)	Ref.	Ref.	93 (47.4)	33 (47.8)	Ref.	Ref.
Feminino	74 (53.2)	62 (52.5)	0.97 [0.59;1.59]	0.912	125 (53.6)	12 (44.4)	0.69 [0.31;1.54]	0.24	103 (52.6)	36 (52.2)	0.98 [0.57;1.71]	0.957
<b>Faixa etária (Anos)</b>												
<=10	28 (20.1)	13 (11.0)	Ref.	Ref.	38 (16.3)	3 (11.1)	Ref.	Ref.	22 (11.2)	7 (10.1)	Ref.	Ref.
11-20	21 (15.1)	26 (22.0)	2.62 [1.10;6.48]	0.029	44 (18.9)	3 (11.1)	0.86 [0.16;4.53]	0.40	25 (12.8)	14 (20.3)	1.73 [0.60;5.39]	0.316
21-40	35 (25.2)	33 (28.0)	2.01 [0.90;4.66]	0.090	55 (23.6)	10 (37)	2.30 [0.60;8.92]	0.18	75 (38.3)	18 (26.1)	0.75 [0.28;2.17]	0.579
41-60	33 (23.7)	32 (27.1)	2.07 [0.92;4.82]	0.080	66 (28.3)	7 (25.9)	1.34 [0.33;5.50]	0.47	58 (29.6)	22 (31.9)	1.18 [0.45;3.38]	0.745
>60	22 (15.8)	14 (11.9)	1.36 [0.53;3.56]	0.522	30 (12.9)	4 (14.8)	1.68 [0.35;8.13]	0.40	16 (8.16)	8 (11.6)	1.55 [0.46;5.42]	0.479
<b>Comunidade</b>												
Pé-da-Serra	47 (33.8)	31 (26.3)	Ref.	Ref.	71 (30.5)	4 (14.8)	Ref.	Ref.	60 (30.6)	15 (21.7)	Ref.	Ref.
Tocantins	39 (28.1)	58 (49.2)	2.24 [1.22;4.16]	0.009	87 (37.3)	11 (40.7)	2.24 [0.69;7.35]	0.14	54 (27.6)	34 (49.3)	2.49 [1.24;5.21]	0.010
Santana	53 (38.1)	29 (24.6)	0.83 [0.44;1.58]	0.573	75 (32.2)	12 (44.4)	2.84 [0.88;9.22]	0.06	82 (41.8)	20 (29.0)	0.97 [0.46;2.10]	0.945

OR: odds ratio. IC95%: intervalo de confiança. Ref: referência. Comunidade: A (Pé-da-Serra), B (Tocantins), C (Santana).

Todos os 257 indivíduos recrutados em 2014 foram convidados a preencher um questionário para avaliar os fatores de risco ambientais e comportamentais associados à infecção por *S. mansoni*; 229 concordaram em participar. Em 2022, dos 265 indivíduos recrutados, 260 responderam ao questionário. A análise dos dados identificou cinco variáveis possivelmente associadas ao aumento do risco de esquistossomose, conforme descrito na Figura 4. A proximidade das residências ao córrego e a ausência de banheiros foram significativamente associadas ao maior risco de infecção por *S. mansoni* em ambos os períodos avaliados (Figura 4A-B). Por outro lado, o grau de escolaridade, o uso de água do córrego e a falta de tratamento da água foram encontrados significativamente associados ao risco de infecção apenas em 2022 (Figura 4B).

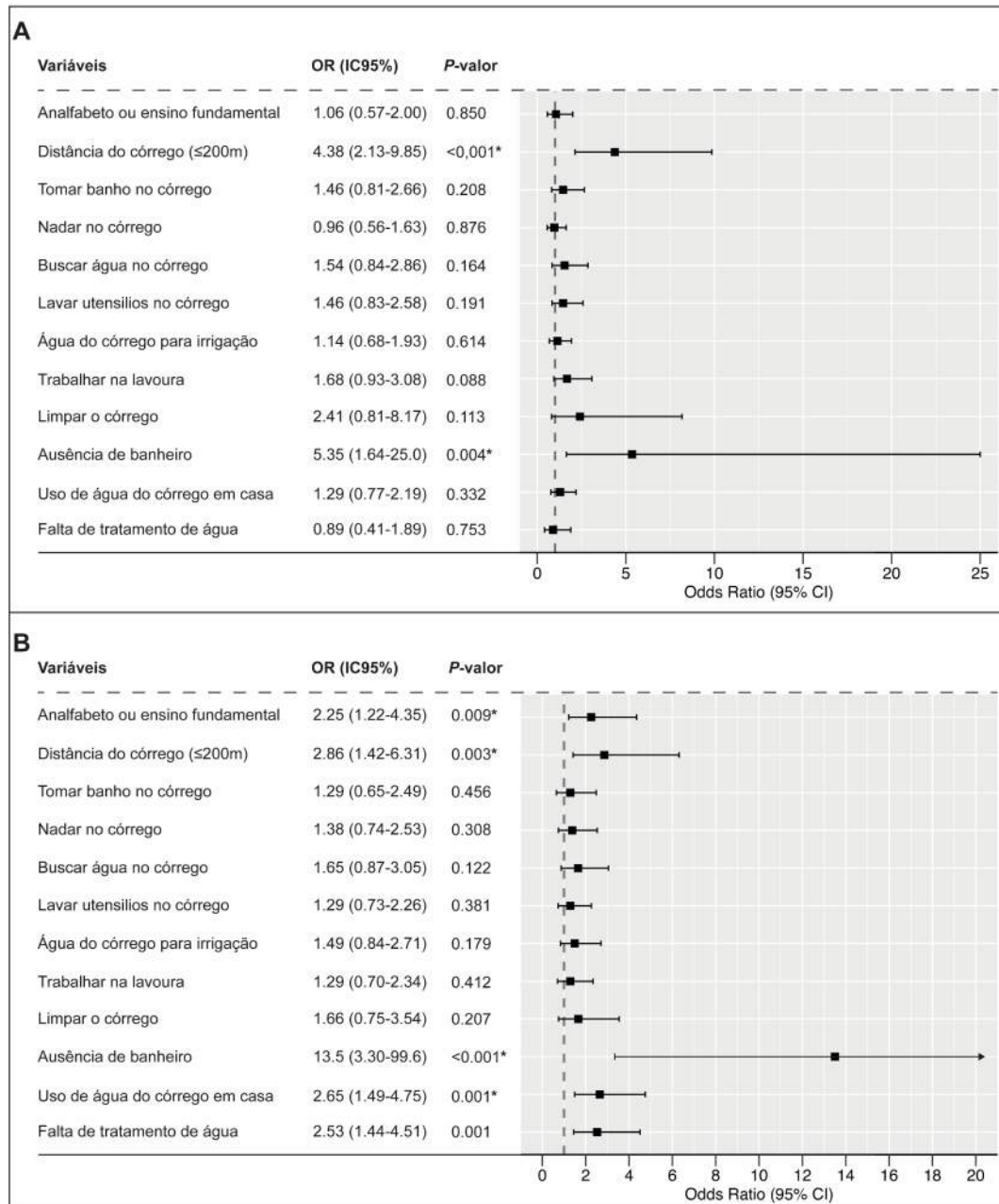


Figura 4. Forest plot mostrando a razão de chance (OR) e intervalo de confiança (IC95%) da análise univariada para fatores de risco para esquistossomose mansoni em comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Janaúria, Minas Gerais, Brasil. 4A) Fatores de risco para esquistossomose em 2014. 4B) Fatores de risco para esquistossomose em 2022

A Figura 5 representa o modelo multivariado para infecção por esquistossomose. Consideramos todas as variáveis, independentemente de sua significância na análise univariada, e então aplicamos o método ‘stepwise both’ para selecionar as variáveis, deixando as variáveis Sexo, Idade e Educação como modelo base. De acordo com o modelo, em 2014, o maior risco de infecção por esquistossomose ocorreu nas faixas etárias de 11 a 20 anos (OR=3,60; IC95% 1,21-10,73;  $p=0,021$ ), 41 a 60 anos (OR=2,87; IC95% 1,05-7,84  $p=0,04$ ) e em indivíduos que

residiam em domicílios a menos de 200m do córrego (OR=2,93; IC95% 1,27-6,76; p=0,01) e que não possuíam banheiro (OR=10,35; IC95% 1,90-56,39; p<0,01) (Fig. 6A). Por outro lado, em 2022, apenas a distância da residência ao córrego (OR=2,46; IC95% 1,08-5,59) e a ausência de banheiro permaneceram como fatores de risco (OR=6,52; IC95% 1,13-37,77). Não utilizar nenhum método de tratamento de água potável também foi fator de risco (OR=2,27; IC95% 1,21-4,28); o uso de água para irrigação de jardins ou plantações foi marginalmente significativo (OR=1,85; IC95% 0,92-3,73; p=0,08) (Figura 5B).

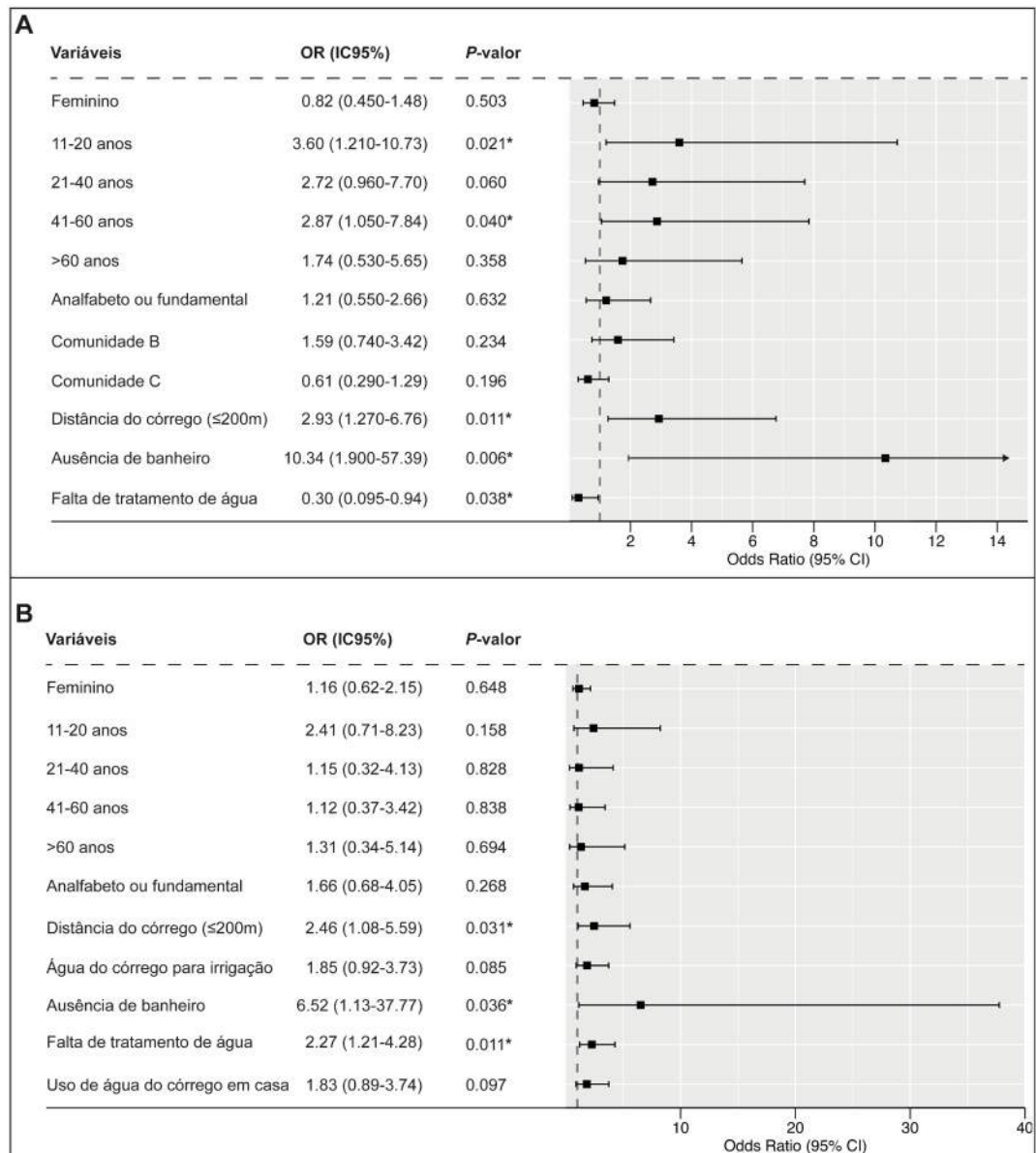


Figura 5. Forest plot mostrando a razão de chance (OR) e intervalo de confiança (IC95%) da análise multivariada para fatores de risco para esquistossomose mansoni em comunidade rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil. 5A) Fatores de risco para esquistossomose em 2014. 5B) Fatores de risco para esquistossomose em 2022.

Para avaliar os clusters de domicílios com alto número de casos positivos para esquistossomose nos anos de 2014, 2015 e 2022, foi utilizado o EDK; a Figura 6, 7 e 8 resume os resultados. Observa-se que, em todos os anos avaliados, foram identificados clusters de casos na comunidade de Tocantins; Vale ressaltar que, em 2014, o cluster com maior número de casos foi na comunidade de Pé-da-Serra, desaparecendo em 2015 e reaparecendo em 2022. Para avaliar melhor e identificar clusters significativos de casos de esquistossomose, aplicamos a estatística de varredura espacial flexível; o cluster significativo permaneceu na comunidade de Tocantins em todos os períodos avaliados, com RR variando de 2,03 em 2014 a 4,18 em 2022, corroborando as observações do EDK. Além disso, cerca de 17 pontos de coleta de moluscos ao longo do córrego Tocantins foram investigados, identificando caramujos do gênero *Biomphalaria* em 11 destes; apenas dois caramujos estavam positivos para *S. mansoni*, um em 2015 e outro em 2022.

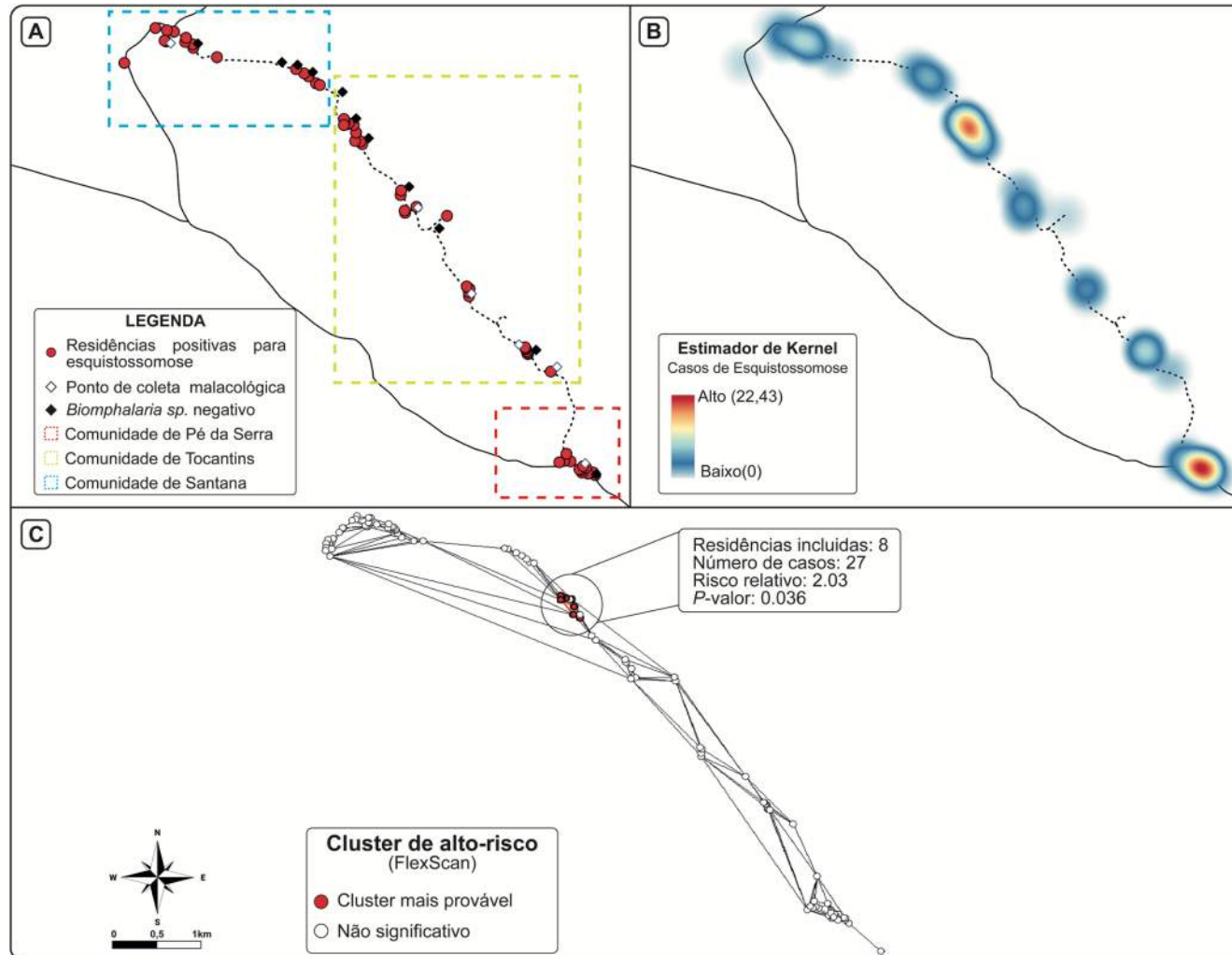
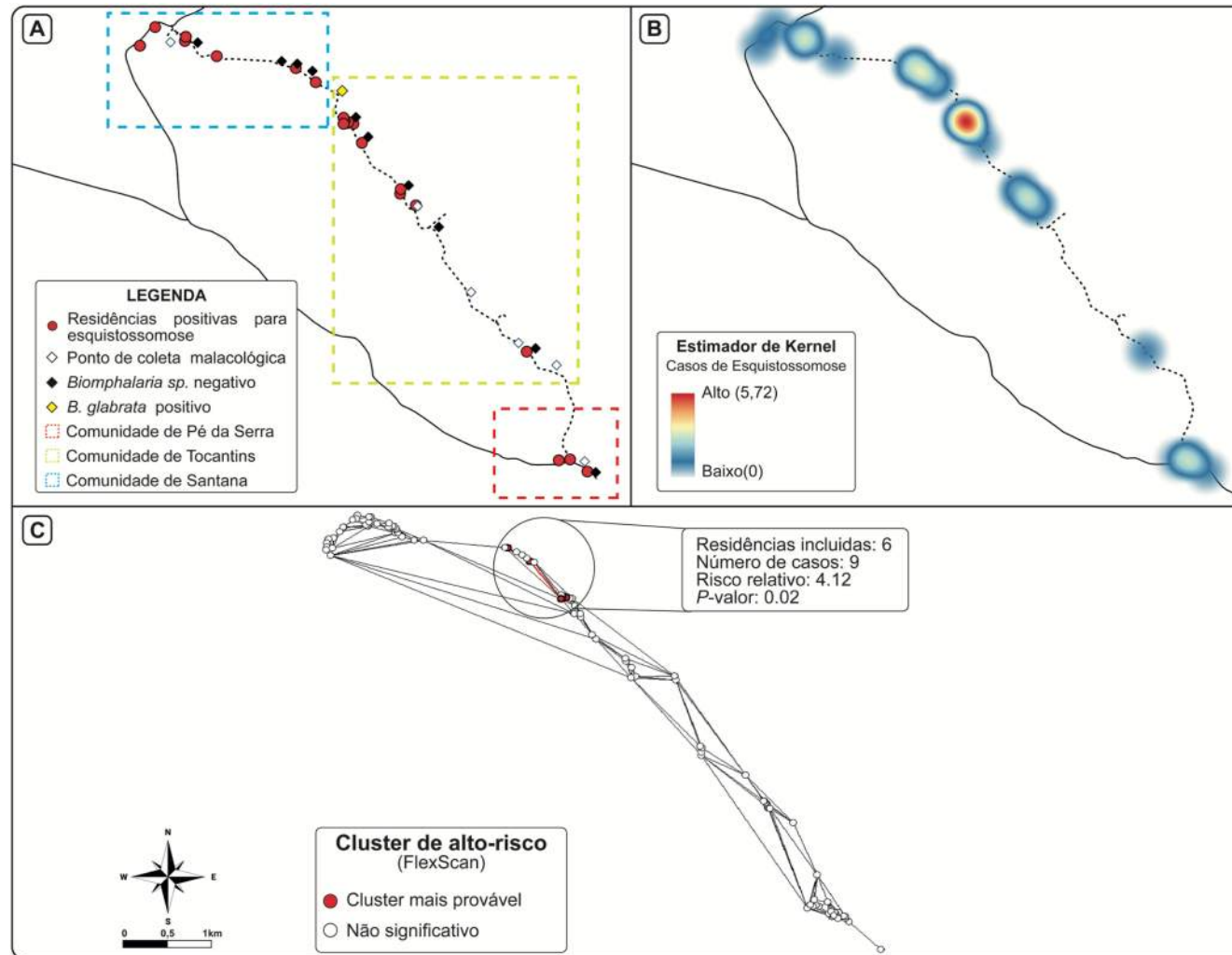
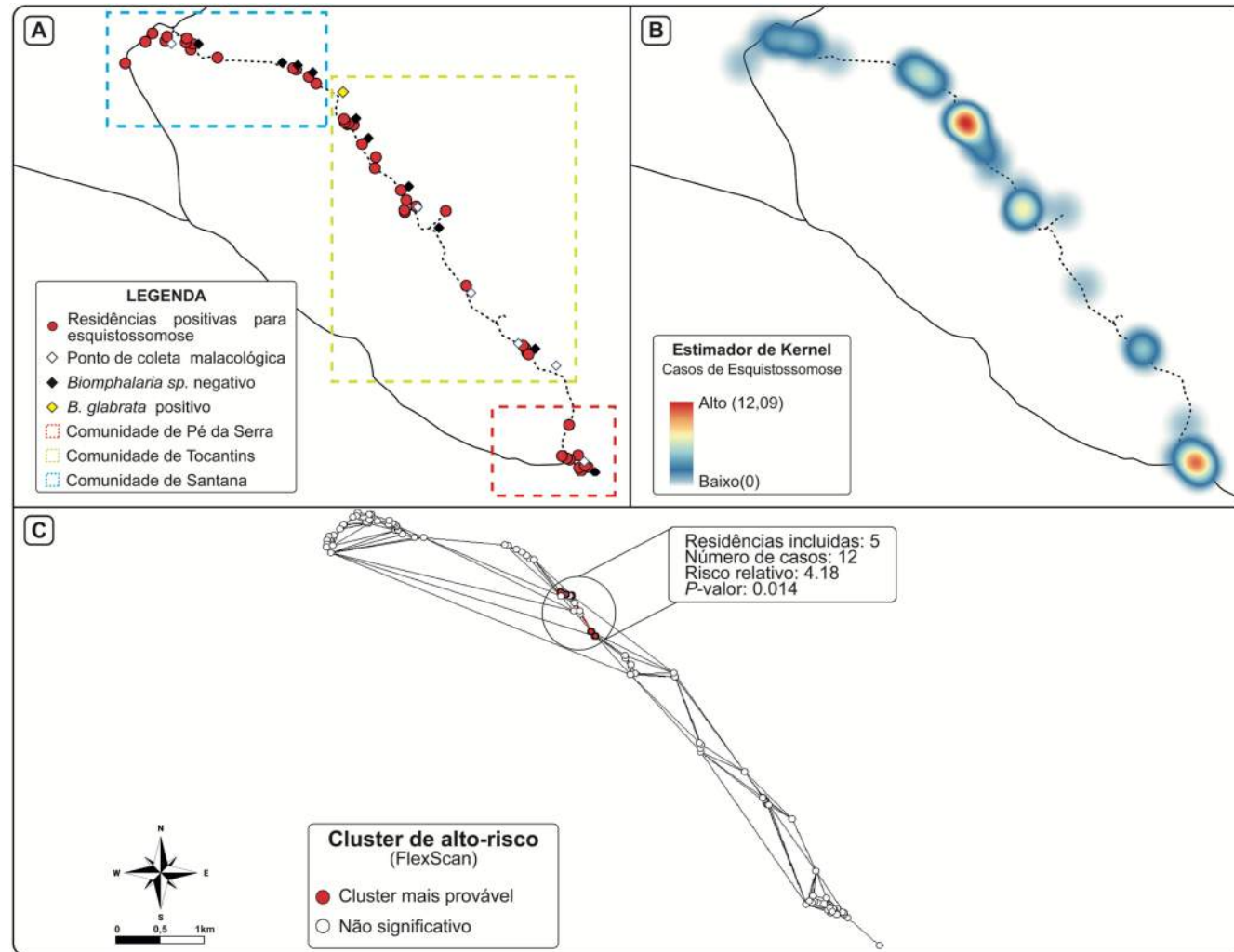


Figura 6. Áreas de risco para esquistossomose mansoni em três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil no ano de 2014. (A) Distribuição espacial dos casos humanos de esquistossomose por residência (círculos vermelhos) e localização dos pontos de coleta malacológica e localidades com *Biomphalaria* (losangos). As áreas destacadas representam as comunidades de Pé da Serra (vermelho), Tocantins (amarelo) e Santana (azul). (B) Mapa de densidade Kernel mostrando a intensidade de casos positivos por domicílio. (C) Detecção de aglomerado espacial de alto risco utilizando o método FlexScan (círculo vermelho).



Figuras 7. Áreas de risco para esquistossomose mansoni em três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil no ano de 2015. (A) Distribuição espacial dos casos humanos de esquistossomose por residência (círculos vermelhos) e localização dos pontos de coleta malacológica (losangos brancos), localidades com *Biomphalaria sp.* negativos (losangos pretos) e localidades com *B. glabrata* positivos (losango amarelo). As áreas destacadas representam as comunidades de Pé da Serra (vermelho), Tocantins (amarelo) e Santana (azul). (B) Mapa de densidade Kernel mostrando a intensidade de casos positivos por domicílio. (C) Detecção de aglomerado espacial de alto risco utilizando o método FlexScan (círculo vermelho).



Figuras 8. Áreas de risco para esquistossomose mansoni em três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil no ano de 2022. (A) Distribuição espacial dos casos humanos de esquistossomose por residência (círculos vermelhos) e localização dos pontos de coleta malacológica (losangos brancos), localidades com *Biomphalaria* sp. negativos (losangos pretos) e localidades com *B. glabrata* positivos (losango amarelo). As áreas destacadas representam as comunidades de Pé da Serra (vermelho), Tocantins (amarelo) e Santana (azul). (B) Mapa de densidade Kernel mostrando a intensidade de casos positivos por domicílio. (C) Detecção de aglomerado espacial de alto risco utilizando o método FlexScan (círculo vermelho).

## 4 DISCUSSÃO

Esta série de estudos transversais investigou a prevalência, os fatores de risco e a distribuição espacial dos casos de esquistossomose em uma área rural de baixa renda do sudeste do Brasil. Os resultados indicam os principais fatores de risco associados à infecção por *S. mansoni* e a persistência de áreas de risco mesmo após duas rodadas de tratamento da população.

Em nossa área de estudo, uma alta prevalência de esquistossomose foi observada em 2014, com 45,9% da população afetada. Esse resultado difere da taxa de positividade de 10,81% relatada pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) em 2013 (Brasil, s.d). Essa discrepância pode ser atribuída à distribuição focal da transmissão da esquistossomose. Nosso estudo foi conduzido em um único distrito do município de Januária, e a positividade varia conforme as diferentes localidades, como demonstrado por Viana *et al.*, (comunicação pessoal, 2018), que testaram 1.284 escolares das principais escolas do município e seus distritos. Além disso, diferenças metodológicas empregadas pelo PCE, que utiliza a leitura de uma lâmina de KK derivada de uma única amostra fecal, podem contribuir para resultados discordantes. Essa metodologia já foi demonstrada como insuficientemente sensível para identificar todos os indivíduos infectados, especialmente em áreas endêmicas com baixa carga parasitária (Vlas; Gryseels, 1992; Lindholz *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2021; Menezes, D.L. *et al.*, 2023). No Brasil, a estratégia de tratamento é baseada na porcentagem de positividade na população endêmica, sendo recomendado tratamento apenas para casos positivos em áreas com menos de 15% de casos e administração em massa de medicamentos (MDA) em áreas com >25% (Brasil, 2014). No entanto, campanhas de administração em massa de medicamentos no Brasil não são comuns e o controle normalmente depende de diagnóstico e tratamento individuais (Graeff-Teixeira; Pieri, 2022). Aqui, em nossa área de pesquisa, teria sido indicado conduzir MDA, em vez de tratamento individual de casos positivos. O cenário em que indivíduos infectados com baixa carga parasitária não são afetados efetivamente pelas medidas de controle resulta na eliminação contínua de ovos e na manutenção da transmissão ativa. Isso favorece a contaminação de coleções hídricas, a infecção de novos indivíduos e a reinfecção daqueles que, embora tratados, continuam vivendo em risco de infecção (Tchuem-Tchuenté *et al.*, 2017). Esse fenômeno pode ser o principal fator que contribuiu para o aumento da prevalência da esquistossomose, que aumentou de 10,38% em 2015 para 26,03% em 2022.

Em 2014, nossos dados revelaram uma prevalência de 45,9% estimada por múltiplos testes parasitológicos entre moradores da comunidade rural de Brejo do Amparo, e conduzimos nossa primeira intervenção na área, incluindo tanto o tratamento dos indivíduos infectados com

praziquantel quanto atividades educativas, como palestras e exposições. Esta intervenção, e as outras que se seguiram, podem ter contribuído para a redução da prevalência entre 2014-2015 e 2014-2022, tratando os positivos para *S. mansoni* e trabalhando em mudanças comportamentais. No entanto, de 2015 a 2022, houve um aumento na prevalência, provavelmente refletindo a descontinuação dos esforços de controle ativo do PCE nessas comunidades durante esse período. Em 2022, a comunidade ainda não tinha acesso a saneamento básico e, embora a implementação da infraestrutura de saneamento tenha começado logo após o estudo, ela ainda não havia sido concluída. Também não foram observadas melhorias substanciais no acesso ao abastecimento de água limpa, o que pode ter prolongado a exposição a fontes de água contaminadas. Além disso, nenhuma mudança ambiental ou climática significativa foi relatada pelas autoridades locais que pudesse justificar o aumento da prevalência. Portanto, a persistência de fatores de risco comportamentais relacionados ao contato com a água, combinada com a interrupção dos esforços de controle e o atraso nas melhorias de infraestrutura, provavelmente contribuiu para a transmissão sustentada ou aumentada observada em 2022. Apesar de nossos esforços intervencionistas, isso foi observado especialmente na comunidade de Tocantins, onde a área quente persistiu durante todos os três períodos. Identificamos uma taxa de reinfecção de 32,95% (28/85) nos indivíduos dessa comunidade, com 85,71% (24/28) destes alegando ter tido algum tipo de contato com o riacho. A persistência da esquistossomose em determinadas localidades pode ser reflexo da ausência de mudanças estruturais, como melhorias no saneamento e no acesso à água potável, além de dificuldades em promover mudanças comportamentais em contextos de vulnerabilidade social (Walker *et al.*, 2020).

Em nosso estudo, o gênero não foi considerado um fator de risco significativo para a infecção pela esquistossomose mansoni nas comunidades, contrastando com outros estudos em que indivíduos do sexo masculino apresentam maior risco de infecção do que indivíduos do sexo feminino. Isso provavelmente se deve ao tipo e à frequência de exposição desses indivíduos durante atividades domésticas, ocupacionais e de lazer (Coura-Filho *et al.*, 1995; Guimarães; Tavares-Neto, 2006; Lamberti *et al.*, 2021). Essa diferença ressalta a necessidade de avaliações focais e integrais das comunidades afetadas, uma vez que há muitas particularidades em cada uma delas e não é possível estabelecer um padrão generalizado para todas as populações endêmicas. Por outro lado, considerando o risco relacionado à idade, os resultados indicaram maiores chances de infecção entre indivíduos de 11 a 20 anos e de 41 a 60 anos. Embora todos esses grupos façam parte da população economicamente ativa, a faixa etária de 21 a 40 anos, geralmente a mais engajada em atividades produtivas (Brasil, 2010b.),

apresentou menores taxas de infecção. Esse aparente paradoxo sugere que a exposição ocupacional por si só não explica completamente o padrão observado. Fatores comportamentais podem desempenhar um papel mais importante, como o envolvimento em atividades recreativas como natação, banho e pesca em riachos, que exigem contato direto com água potencialmente contaminada (Coura-Filho, 1994; De Moira *et al.*, 2007; Ayabina *et al.*, 2021; Lamberti *et al.*, 2021).

Identificamos áreas de risco para infecção por esquistossomose combinando o método espacial de EDK, que fornece uma representação visual dos pontos críticos de infecção, com a varredura espacial flexível, um método estatístico que confirma a significância dos aglomerados de risco. Essa combinação aumenta a confiabilidade da detecção de aglomerados, complementando insights visuais intuitivos com validação estatística rigorosa, permitindo-nos identificar um cluster persistente de infecção por *S. mansoni* na comunidade do Tocantins durante as três intervenções. As famílias que vivem nesse cluster persistente praticam agricultura de subsistência e dependem da água de um córrego próximo, onde caramujos *Biomphalaria* foram identificados. Esse córrego serve como única fonte de água para uso doméstico e agrícola, visto que a comunidade atualmente não tem acesso a água tratada. Embora o município tenha iniciado um projeto para implementar um sistema de abastecimento de água tratada, sua conclusão ainda está pendente. Garantir o acesso a água segura e tratada reduziria significativamente a exposição a fontes contaminadas e traria benefícios substanciais à saúde pública. As atividades agrícolas foram fortemente associadas a um maior risco de infecção por *S. mansoni*, como demonstrado em nosso modelo de regressão comunitária, que mostrou um risco sete vezes maior em indivíduos envolvidos na agricultura. A agricultura de subsistência é muito comum em áreas rurais no Brasil (Brasil, 2017) e a dependência da água de córregos para irrigar essas plantações expõe esses trabalhadores a riscos contínuos de infecção. O trabalho em campos irrigados pode desempenhar um papel crucial na manutenção e disseminação da doença; os trabalhadores rurais são frequentemente expostos à água de canais de irrigação, que pode estar contaminada com cercárias de *S. mansoni* (Secor, 2014; Lund *et al.*, 2021).

Para reduzir o risco, recomendamos priorizar as seguintes medidas: (1) conclusão e expansão do sistema de abastecimento de água tratada; (2) construção de sistemas de irrigação fechados e mais seguros; (3) fornecimento de equipamentos de proteção individual (por exemplo, botas e luvas) para trabalhadores agrícolas; (4) implementação de campanhas regulares de educação em saúde com foco na mudança comportamental e no uso seguro da água. Além disso, a população residente nesses clusters persistentes pode se beneficiar da ADM, que, dada a prevalência observada em 2022, está alinhada à estratégia recomendada pelo

Ministério da Saúde do Brasil (Brasil, 2024). Essa foi a intervenção que propusemos às autoridades de saúde competentes.

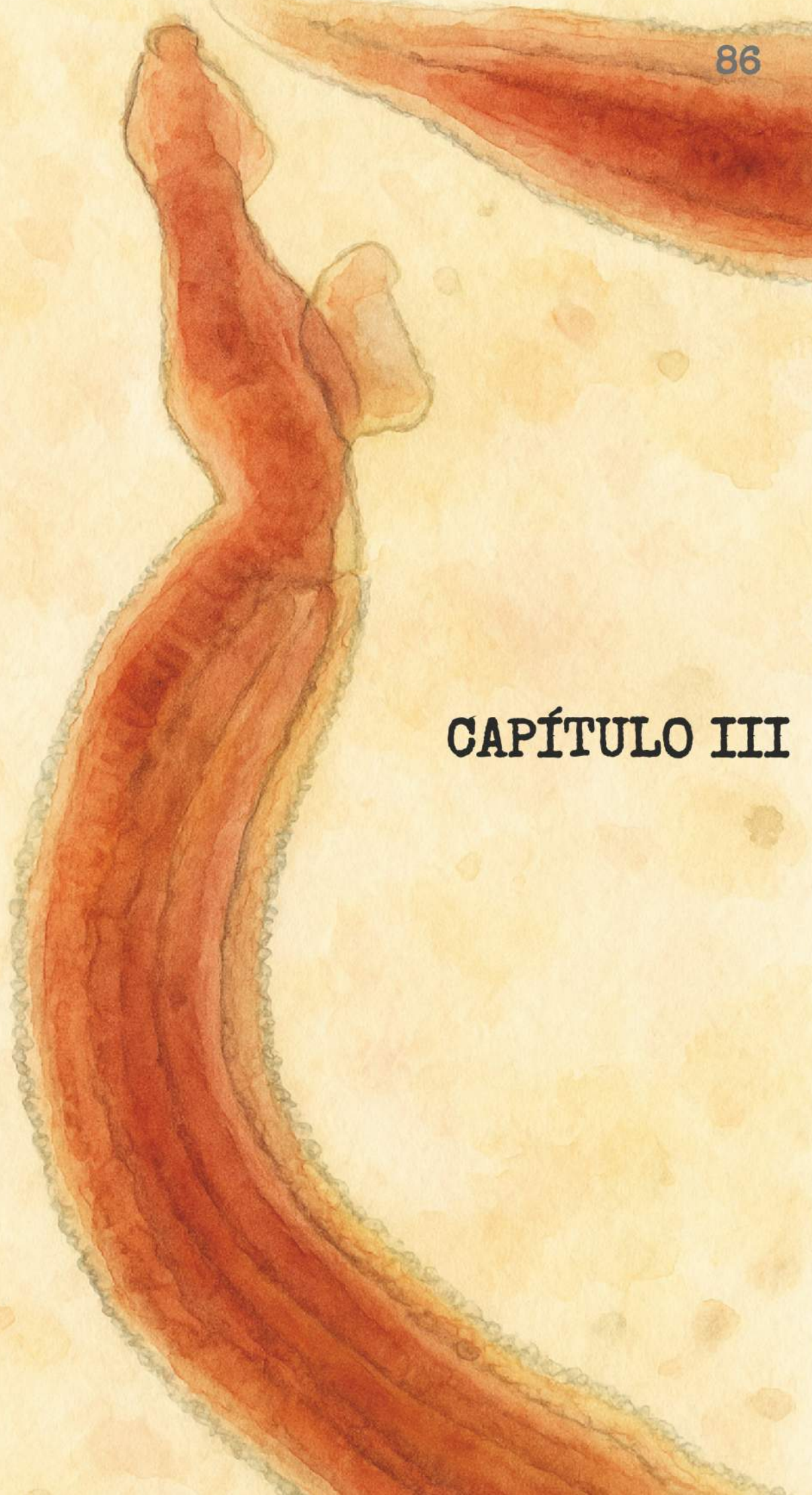
Um importante fator de risco relatado no estudo foi a distância entre o córrego Tocantins e as residências, em que a distância de 200 metros ou menos coloca o indivíduo em maior risco de infecção. Resultados semelhantes foram relatados por Lamberti e colaboradores (2021) em seu estudo conduzido no distrito de Mayuge, Uganda. Os pesquisadores descobriram que pessoas que viviam a 500 metros ou menos do Lago Vitória apresentavam maior risco de infecção e intensidade do que aquelas que viviam mais longe. A explicação mais provável para tais resultados é a facilidade de contato frequente e prolongado com os corpos d'água contaminados quando estão mais próximos da vida diária dos indivíduos (Hu *et al.*, 2015; Arnold *et al.*, 2020). Em nosso estudo, esse argumento é corroborado quando se observa que, para todas as áreas de risco identificadas, havia caramujos *Biomphalaria* sp. presentes, sugerindo que as infecções estão realmente acontecendo dentro dos aglomerados de residências positivas e não em outros lugares.

Apesar de nossos esforços malacológico, apenas dois caramujos infectados foram encontrados durante uma série de estudos transversais - um em 2015 e outro em 2022. Levantamentos anteriores enfrentaram dificuldades semelhantes em encontrar espécimes de *Biomphalaria* sp. eliminando cercárias de *S. mansoni*, mesmo em áreas endêmicas (Gandasegui *et al.*, 2018; Mesquita *et al.*, 2021). Esses achados refletem as limitações da técnica de fotoestimulação, cuja sensibilidade pode ser comprometida por fatores como infecções pré-patentes, baixa carga parasitária e mortalidade dos moluscos antes da análise (Abath *et al.*, 2006) Isso ressalta a importância de conduzir múltiplas coletas de amostras em diferentes estações, para levar em consideração a biologia dos caramujos na amostragem (Brasil, 2008; Hu *et al.*, 2015). Considerando as condições sanitárias observadas, nossos resultados demonstram que a mera presença de caramujos *Biomphalaria* já distingue a região como uma área potencialmente de risco para transmissão de *S. mansoni*.

Algumas limitações em nosso estudo merecem ser mencionadas. Embora tenhamos usado dois métodos parasitológicos diferentes, confeccionado mais lâminas do que o recomendado pela OMS e realizado os testes com equipe de laboratório bem treinada, os resultados diagnósticos podem ter uma sensibilidade limitada; isso também se aplica à identificação de caramujos naturalmente infectados. Estudos adicionais usando abordagens mais sensíveis (por exemplo, testes moleculares e imunológicos) são importantes para avaliar a situação parasitológica e malacológica com mais precisão. Além disso, os métodos parasitológicos aplicados nos três inquéritos (2014, 2015 e 2022) diferiram ligeiramente,

particularmente em relação à técnica de KK. A redução no esforço de amostragem em 2022 pode ter diminuído a sensibilidade para detecção de ovos de *S. mansoni*, especialmente em indivíduos com baixas cargas parasitárias. O aumento do número de amostras demonstrou melhorar a sensibilidade em aproximadamente 10,3 pontos percentuais, de acordo com um estudo conduzido por nosso grupo (Oliveira *et al.*, 2018). Isso sugere que a estratégia adotada em 2022, com apenas uma amostra fecal e a preparação de seis lâminas de KK, potencialmente deixou de detectar entre 20 e 25 casos na população. Para mitigar essas limitações, o método Helmintex foi empregado em todos os inquéritos devido à sua sensibilidade superior a 80% em comparação com a técnica de KK (Favero *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2018). No entanto, diferenças metodológicas ao longo dos anos podem ter introduzido viés, o que deve ser considerado na interpretação das tendências temporais de prevalência.

Os resultados destacam a necessidade de infraestrutura sanitária adequada e o fornecimento de água limpa para o controle da esquistossomose, bem como de outras doenças transmitidas pela água, nessas áreas de risco. Para a atenção primária à saúde, tais intervenções integradas de saúde devem ser orientadas e direcionadas por fortes evidências de dados epidemiológicos e juntamente com intervenções educacionais permanentes, a fim de fornecer soluções e alternativas eficientes para o controle da esquistossomose.



**CAPÍTULO III**

**Diagnóstico da esquistossomose mansoni em uma área historicamente endêmica: comparação de técnicas diagnósticas (Kato-Katz, Helmintex e POC-CCA) e detecção de anticorpos específicos para *S. mansoni* em urina e soro de pacientes infectados**

**Objetivos:**

- Avaliar o desempenho dos métodos de diagnóstico parasitológico Kato-Katz e Helmintex individualmente ou em conjunto na detecção da infecção por *Schistosoma mansoni*.
- Avaliar o desempenho do teste rápido POC-CCA para o diagnóstico da infecção por *Schistosoma mansoni* considerando o método de Kato-Katz e Helmintex como referência.
- Investigar possível influência de parâmetros anormais, detectados pela Tira Reagente de Urina Biocon Bio10®, sobre o desempenho do teste POC-CCA para o diagnóstico de *S. mansoni*.
- Avaliar o desempenho do ensaio imunológico de ELISA indireto (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), baseado na detecção de IgG específico contra antígenos de verme adulto (SWAP), uma fração derivada do antígeno SWAP (*SmJ1*), antígenos solúveis de ovo (SEA) e uma proteína quimera (*qSmp*), em amostras de soro e urina de pacientes positivos para *S. mansoni*.
- Avaliar a influência da concentração da urina utilizando filtros Amicon na detecção de IgG específico contra antígenos solúveis de ovo (SEA) em amostras de pacientes positivos para *S. mansoni*.

Esse trabalho teve como principal objetivo avaliar o desempenho de diferentes métodos parasitológicos e imunológicos em amostras de soro e urina de pacientes de uma área endêmica para esquistossomose. Os resultados demonstraram que o método de Helmintex apresentou maior sensibilidade, enquanto que o Kato-Katz teve sensibilidade variável, de acordo com o número de lâminas analisadas. Nos testes sorológicos, o antígeno solúvel de ovo (SEA) mostrou o melhor desempenho, e a fração *SmJ1* foi mais específica em comparação ao antígeno solúvel de verme adulto (SWAP). A detecção de IgG na urina mostrou baixa reatividade, com baixo poder discriminatório entre grupo negativo e positivo para infecção por *S. mansoni*.

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento e o uso de métodos diagnósticos que sejam sensíveis e específicos para detecção de doenças infecciosas e parasitárias são essenciais para a vigilância e mapeamento em programas de controle de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs). A esquistossomose, causada por helmintos do gênero *Schistosoma*, destaca-se como uma das principais DTNs, ficando atrás apenas da malária. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu um roteiro para a eliminação global da esquistossomose como um problema de saúde pública até 2030, com metas como a diminuição da prevalência de infecções de intensidade moderada e alta por meio da quimioterapia com praziquantel (WHO, 2022). No entanto, um dos principais obstáculos para alcançar esse objetivo é a limitação dos métodos diagnósticos disponíveis, que apresentam baixa sensibilidade, principalmente em áreas de baixa prevalência (Oliveira *et al.*, 2018).

Os avanços do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) no Brasil, com a implementação de estratégias de triagem, diagnóstico precoce e tratamento individual resultou na redução dos casos graves e mortes por *S. mansoni*, com uma acentuada redução na prevalência e carga parasitária dessa parasitose na população brasileira (Brasil, 2014). Nessas áreas, particularmente aquelas com baixa intensidade de infecção, há uma necessidade de desenvolver e implementar novas ferramentas de diagnóstico mais precisa. Para a detecção da infecção por *S. mansoni*, a OMS recomenda o método de Kato-Katz, que consiste na observação de ovos do parasito em amostras fecais. Apesar da alta especificidade, limitações no seu desempenho devido a carga parasitária do hospedeiro, distribuição desigual dos ovos dentro da amostra fecal e a variação diária da excreção dos ovos do parasito pode prejudicar a detecção de indivíduos infectados em áreas de baixa endemicidade (Ogongo *et al.*, 2022). Avanços nos métodos coproparasitológicos, como o método do gradiente salino e Helminx, têm sido desenvolvidos para superar essas limitações. Porém, apesar da sua alta sensibilidade, essas abordagens demandam longo tempo de processamento e podem não ser adequadas para triagens em larga escala (Teixeira *et al.*, 2007; Coelho *et al.*, 2009).

Devido à maior sensibilidade, métodos sorológicos que detectam anticorpos contra antígenos de *S. mansoni* têm sido empregados. Entre os antígenos utilizados, destacam-se o antígeno solúvel de ovos (SEA) e o antígeno solúvel de vermes adultos (SWAP), ambos com elevadas proporções de frações antigênicas (Doenhoff; Chiodini; Hamilton, 2004). No entanto, essas preparações contêm proteínas e glicanos que podem apresentar reatividade cruzada com outros parasitos, comprometendo a sua especificidade (Zhou; Zheng; Jiang, 2011; Doenhoff *et al.*, 2016). Para superar essa limitação, alternativas como o fracionamento de extratos

antigênicos, destacando-se os antígenos *Adult Microsomal Antigen* (MAMA) e a fração catiônica de SEA (CEF6), além do uso de antígenos recombinantes, têm sido explorados para identificar proteínas mais específicas (Maddison *et al.*, 1985; Doenhoff *et al.*, 2003; Silva-Moraes *et al.*, 2019b; Mambelli *et al.*, 2020). Outra limitação significativa dos ensaios sorológicos é a necessidade da coleta de sangue, que torna a técnica invasiva e exige equipe treinada. Como alternativa, a detecção de anticorpos em amostras de urina tem surgido como uma abordagem menos invasiva e promissora (Eamudomkarn *et al.*, 2018).

Por tanto, é fundamental desenvolver métodos de diagnóstico mais sensíveis e específicos que possam orientar de maneira eficaz os programas de controle, bem como garantir a vigilância contínua em cenários pós-eliminação. Com o objetivo de abordar essa necessidade, nosso estudo avaliou a sensibilidade e especificidade de diferentes métodos diagnósticos, incluindo os métodos parasitológicos de Kato-Katz, Helmintex, o teste imunológico POC-CCA e ensaios de ELISA utilizando os antígenos SWAP, uma fração derivada de SWAP (*SmJ1*), SEA e uma proteína recombinante (*qSmP*) em um painel de soros e urinas coletadas de indivíduos residentes na comunidade de Brejo do Amparo, distrito de Januária, Minas Gerais, Brasil.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de material biológico

Para esse capítulo, foram utilizadas amostras de sangue e urina proveniente dos pacientes que passaram por extensos exames parasitológicos, conforme descrito no capítulo II. Os resultados dos exames parasitológicos foram utilizados para avaliação do desempenho dos métodos avaliados nesse capítulo.

#### 2.1.1 Sangue

A coleta de sangue venoso foi conduzida em adultos e crianças, sendo coletado um tubo de 5mL por paciente, contendo EDTA, para a confecção de hemograma. Este exame foi realizado pelo laboratório terceirizado Millenium, situado no município de Januária. Além disso, foram coletados dois tubos de 10mL sem anticoagulante para obtenção de soro; estes foram centrifugados à 1.500 rpm por 10min e o soro obtido foi aliqotado em microtubos e armazenados a -80°C.

#### 2.1.2 Urina

Para a realização do teste POC-CCA (*EcoDiagnóstico* (Nova Lima, Brasil), Urinalise (Biocon Bio10® Yercon Diagnostic, China) e para detecção de anticorpos na urina pelo ensaio de ELISA, foram distribuídos a cada indivíduo um coletor de amostras biológicas descartável com capacidade para 80mL (NeoLab), previamente identificado. Os indivíduos foram orientados a coletar cerca de 20mL da primeira urina da manhã, dispensando-se o primeiro jato. Ainda de manhã, as urinas foram recolhidas e transferidas para o laboratório do Centro Avançado de Pesquisa e Tratamento das Leishmanioses de Januária, situado na sede do Município de Januária. Cada amostra de urina foi aliqotada e estocada em microtubos (1,5mL) devidamente identificados e armazenados em ultrafreezer à -80°C.

### 2.2 Teste rápido de urina POC-CCA

O teste foi realizado com uma amostra de urina ainda no mesmo dia da coleta, antes do congelamento e conforme indicação pelo distribuidor *EcoDiagnóstico* (Nova Lima, Brasil; lote# 201806011). Para a realização desse método, a amostra de urina foi homogeneizada e, com o auxílio de uma pipeta plástica, duas gotas (100 µL) foram transferidas para o poço circular da placa plástica. As gotas se distribuíram por toda a placa e a reação foi observada após 20 minutos de incubação em temperatura ambiente. O teste só foi considerado válido quando a banda controle foi visualizada, sendo os testes válidos pontuados como negativos ou

positivos de acordo com a aparência da faixa teste. O resultado do teste foi considerado negativo quando a linha de teste apresentou ausência de banda (Figura 1A). O aparecimento de banda na linha teste fortemente positiva foi considerado um teste positivo (Figura 1C). Na literatura, ainda não há consenso sobre os resultados dos traços observados nos testes diagnósticos do POC-CCA (Figura 1B). Assim, os resultados do POC-CCA foram apresentados de duas formas distintas: a primeira considerando o traço como resultado negativo ( $t-$ ) e a segunda considerando traço positivo ( $t+$ ). Os resultados foram interpretados por um leitor treinado.

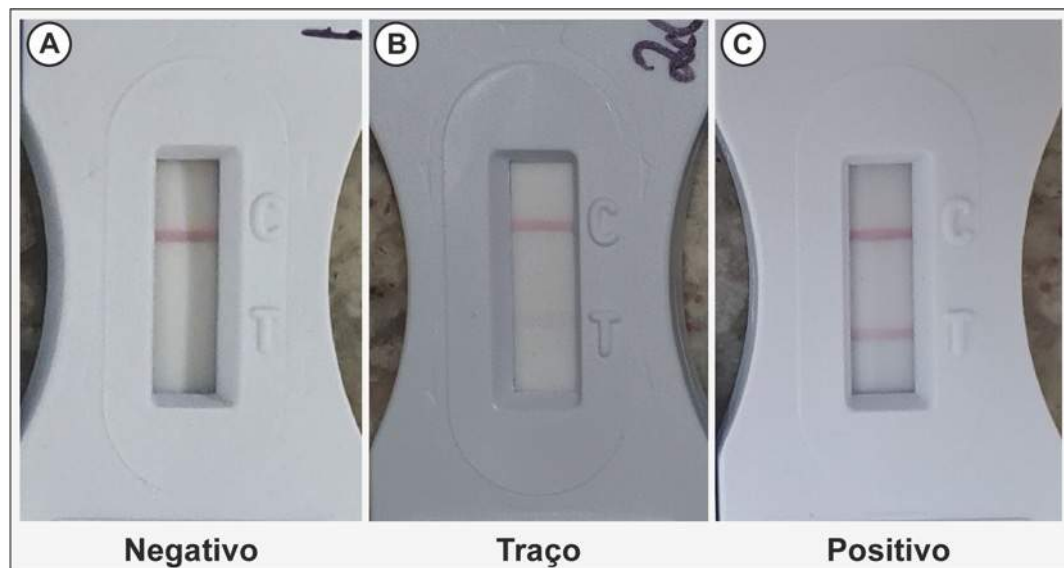


Figura 1. Teste rápido de urina para antígeno catódico circulante (POC-CCA). (A) Negativo: linha teste não aparente. (B) linha teste fracamente positiva. (C) linha teste fortemente positiva. C: banda controle; T: banda teste para antígeno catódico circulante.

### 2.3 Tira reagente de urina

A Tira Reagente de Urina Biocon Bio10® (Yercon Diagnostic, China; lote# 20210811) (Figura 2) foi utilizada conforme o protocolo do fabricante, logo após a realização do teste POC-CCA. Este teste permite a análise de dez parâmetros na amostra de urina: glicose, bilirrubina, cetona, densidade, sangue, pH, proteína, urobilinogênio, nitrito e leucócitos. Para evitar confusões e facilitar a imersão da fita nas amostras de urina, transferimos as amostras para tubos cônicos de 15 mL individualmente previamente identificados. As tiras reagentes foram então imersas nos tubos contendo urina e, após o tempo determinado pelo fabricante (entre 30 e 160 segundos), comparadas com a tabela de referência fornecida no kit. Esses parâmetros foram analisados para identificar possíveis alterações físico-químicas na urina que pudessem interferir no diagnóstico do POC-CCA, potencialmente gerando resultados falso-negativos

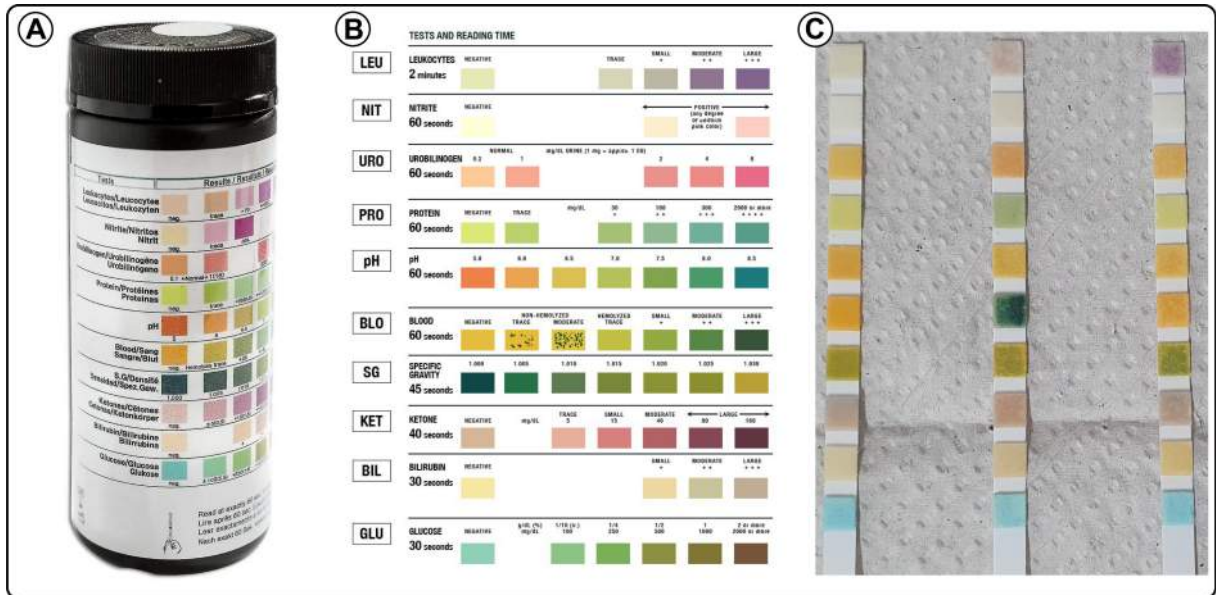


Figura 2. Análise de urina utilizando a tira reagente de urina Biocon Bio10®. (A) Kit de Urinalise baseado em tiras reagentes. (B) Grade colorimétrica de referência onde amostras de cores são organizadas em forma de tabela. (C) Tiras de teste de urina com sensores multianálitos, demonstrando reações para Leucócitos, Proteína e Sangue.

## 2.4 Obtenção de antígenos

A concentração de proteínas nos diferentes antígenos utilizados neste estudo foi obtida a partir do kit Pierce™ BCA Protein Assay (Thermo Scientific, USA), seguindo as instruções do fabricante

### 2.4.1 Antígeno solúvel de verme adulto (SWAP)

Para a produção do SWAP, camundongos BALB/c foram infectados com aproximadamente 100 cercárias da cepa LE de *Schistosoma mansoni*, que tem sido mantida no Laboratório de Esquistossomose e Imunoparasitologia do Departamento de Parasitologia (ICB/UFMG). Após 45-50 dias, os camundongos foram anestesiados via intraperitoneal com uma mistura de Ketamina (88 mg/kg - Dopalen – Sespo Indústria e Comércio Ltda, Jacareí, Brasil) e Xilazina (16 mg/kg - Kensol - Laboratórios Köing S.A. - Avellaneda, Argentina) e posteriormente eutanasiados por deslocamento cervical, sendo perfundidos pelo sistema porta-hepático para recuperação dos vermes adultos (Pellegrino; Siqueira, 1956). Os vermes recuperados foram lavados três vezes em tampão fosfato salino (PBS: 3.7mM NaCl, 0.27 mM KCl, 0.43 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.14mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), congelados em nitrogênio líquido e macerados. O macerado foi ressuspensão em PBS contendo de inibidor de protease (Protease Inhibitor Cocktail, Sigma-Aldrich Brasil Ltda) e o extrato antigênico foi homogeneizado em 30 ciclos de 30 segundos no homogeneizador de tecidos (Dremel - Brasil), permanecendo em repouso pelo

mesmo tempo, seguido por 5 ciclos de 30 seg no sonicador (Sonicador Ultrassônico- Ecosonics, Brasil). A solução antigênica foi transferida para microtubos de 1,5mL e centrifugada (Eppendorf 5810R, 11.200g a 4°C por 60 minutos); o pellet foi descartado e o sobrenadante coletado e armazenado a - 80°C.

#### 2.4.2 Frações derivadas de SWAP (*SmJ1*)

Para aumentar a especificidade do diagnóstico, o antígeno total do verme adulto (SWAP) foi fracionado e testado em ensaios de Western Blot para identificar frações com proteínas imunogênicas. Essa etapa foi realizada em colaboração com o Laboratório de Esquistossomose e Imunoparasitologia (LABESIM – ICB/UFMG), coordenado pela Profa. Dra. Deborah Aparecida Negrão-Côrrea e com auxílio do doutorando João Marcelo Peixoto Moreira (Moreira, JMP; Tese de Doutorado, 2025).

Resumidamente, o SWAP foi fracionado por precipitação sequencial com sulfato de amônio (incrementos de 25%, 50%, 75% e 100%), com agitação contínua e incubação, seguido de centrifugação para separar frações solúveis e insolúveis. Posteriormente, uma amostra de SWAP foi submetida à coluna de exclusão molecular (Superdex® 200 Increase 10/300 GL da Pharmacia LKB Biotechnology, USA) para separação de proteínas entre 600-10 kDa. A eluição foi feita com tampão PBS, coletando frações de 2mL monitoradas por bomba de precisão (Pharmacia Biotech P-500 LKB), e posteriormente concentradas para 0,5 ml por centrifugação a vácuo (Centrífuga Concentradora a Vácuo UNIVAPO 100H da UNIEQUIP, Itália). O fracionamento de SWAP na coluna de exclusão resultou na produção de 60 frações antigênicas; essas frações foram separadas por SDS\_PAGE seguida de transferência para membranas de PVDF e testadas por Western Blot com pool de soro de indivíduos infectados com *S. mansoni* para confirmar a especificidade do reconhecimento dessas proteínas por IgG4 sérica. A análise de Western Blot revelou que proteínas das frações 10-13 (140-260kDa) foram especificamente reconhecidas por IgG4 do soro de indivíduos infectados. Essas frações, denominadas *SmJ1*, foram coletadas e armazenadas a - 80°C.

#### 2.4.3 Antígeno Solúvel de Ovos (SEA)

O Antígeno Solúvel de Ovos (SEA) foi preparado a partir de ovos do parasito, isolados do fígado de animais infectados, conforme descrito por Dunne *et al.* (1981). Após a realização da necropsia nos camundongos, os fígados com granulomas foram separados e processados em solução gelada de NaCl a 2%, em baixa rotação, por dois minutos. O líquido obtido foi filtrado e submetido à sedimentação em cálice, sendo mantido a uma temperatura de 2-5°C por 40

minutos. Transcorrido o tempo, o sobrenadante foi aspirado e, em seguida, adicionado uma nova solução gelada de NaCl a 2%, repetindo-se esse processo até que o sobrenadante ficasse límpido. O material sedimentado contendo os ovos foi então passado por uma série de filtros com porosidades decrescentes (150 e 45 $\mu$ m). O material retido no filtro de 45  $\mu$ m foi recolhido e centrifugado (200g a 4°C por 10 minutos) em tubos de polipropileno (Falcon®) de 50 mL. Durante todo o procedimento, os tubos foram mantidos em NaCl 2% (4°C) para evitar a eclosão de miracídios. Após confirmar a limpeza dos ovos, eles foram ressuspensos em 1 mL de PBS contendo inibidor de protease (*Protease Inhibitor Cocktail Sigma-Aldrich Brasil Ltda*), e transferidos para um tubo de vidro acoplado a um homogeneizador (Virtiz®). A trituração dos ovos foi realizada por aproximadamente 30 minutos em gelo, garantindo a completa destruição dos mesmos, confirmada por microscopia óptica. O homogenato foi então centrifugado a 10.000g por 30 min. à 4 °C, e o sobrenadante, denominado SEA, coletado e armazenado a -80°C.

#### 2.4.4 Proteína Quimera (qSmP)

A partir de peptídeos antigênicos selecionados por Bioinformática a partir do proteoma de *S. mansoni*, uma proteína quimera foi construída. Essa etapa foi realizada em colaboração com o Laboratório de Imunologia e Controle de Parasitos (LICP – ICB/UFMG), coordenado pelo Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujiwara e conduzido pela doutoranda Ana Cristina Loiola Ruas (Ruas *et al.*, 2025).

O proteoma de *S. mansoni* foi obtido da base WormBase (ID PRJEA36577), e epítomos lineares para células B foram preditos com o ImmunoRank, selecionando peptídeos de 15 aminoácidos com alta imunogenicidade ('score' mínimo: 0,5826). A identidade e cobertura dos peptídeos foram avaliadas contra proteomas de helmintos para evitar reatividade cruzada, utilizando o programa BLASTp. Somente peptídeos com identidade x cobertura < 6.000 foram selecionados e peptídeos redundantes ou repetitivos foram excluídos, conforme descrito por Fantin *et al.*, (2021) e Siqueira *et al.*, (2023). No total, 422 peptídeos foram selecionados, sintetizados em membrana de celulose, utilizando um sintetizador automatizado (Intavis, Alemanha). A membrana contendo os peptídeos foi então submetida a ensaios de immunoblotting, permitindo a análise do desempenho sorológico dos peptídeos com pools de soros de indivíduos infectados por *S. mansoni*. Nove peptídeos, que apresentaram os melhores resultados de cobertura de reconhecimento, foram utilizados para confecção de um plasmídeo para a produção de uma proteína quimera.

As sequências de aminoácidos previamente selecionadas foram inseridas no vetor de expressão pET28a(+)-TEV, contendo uma etiqueta de histidina em sua região N-terminal. Células eletrocompetentes de *E. coli* ArcticExpress foram transformadas com o plasmídeo recombinante pET-TEV28a(+)-TEV/qSmP por eletroporação, usando um MicroPulser Electroporation Apparatus (Bio-Rad Laboratories, EUA). A inserção correta do gene foi confirmada por PCR de colônia, usando primers universais T7 (Macrogen, Coreia do Sul). A expressão em larga escala da proteína foi induzida a partir da adição de 1 mM de isopropil β-D-1-tiogalactopiranosídeo (IPTG, Promega, EUA), por 24h a 180rpm e 12°C. As células foram rompidas por um homogeneizador de alta pressão (Avestin Emulsiflex-C3 High Pressure Homogenizer) e centrifugadas a 10000 x g por 1 hora a 4°C. A proteína recombinante foi purificada usando uma coluna de afinidade HisTrap HP 5 mL (GE Healthcare, EUA) conectada ao sistema A<sup>+</sup> KTA Prime Plus (GE Healthcare, EUA). A proteína qSmP purificada foi coletada e armazenada a - 80°C.

## 2.5 Detecção de anticorpos por ensaio imunoenzimático (ELISA)

Antígenos derivados de ovos (SEA – Soluble Egg Antigen), de vermes adultos (SWAP – Soluble Antigen Worm Protein), uma fração derivada de SWAP (*SmJ1*) e uma proteína quimera (qSmP) da espécie de *S. mansoni* foram diluídos em uma solução de tampão carbonato-bicarbonato 0.1M (pH 9,6) nas concentrações de 5µg/mL, 10µg/mL, 1µg/mL e 1µg/ mL, respectivamente. Para os antígenos SEA e *SmJ1*, microplacas de 96 poços ‘half-area’ (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Alemanha; 675061) foram sensibilizadas com 25µl do antígeno diluído. Para os antígenos SWAP e qSmP, microplacas de 96 poços de poliestireno (Nunc Maxisorp (Thermo) foram sensibilizadas com 100µl do antígeno. Todas as placas foram protegidas com plástico filme para evitar a dessecação e incubadas por 12h a 4°C. Entre cada etapa de incubação, as placas foram lavadas quatro vezes com uma solução de lavagem (PBS contendo 0,5% de Tween-20, pH 7,2). Após a sensibilização, as placas com SEA, SWAP e *SmJ1* foram bloqueadas com uma solução tampão de PBS contendo 1% de albumina de soro fetal bovino (BSA, Sigma, EUA) por 1 hora à temperatura ambiente; placas contendo proteína qSmP foram bloqueadas com uma solução de PBS 1x + BSA 5% e incubadas a 37°C em estufa. Para a etapa de incubação com amostras humanas com soro e urina, os antígenos SEA, SWAP e *SmJ1* foram incubados com soro diluído (1:100 em PBS 1x + 0,1% de BSA) por 2 horas à temperatura ambiente (Placas Nunc: 100 µL/poço; Placas Greiner ‘Half-Area’: 25 µL/poço); para a proteína qSmP, o soro foi diluído em PBS 1x + 0,5% de BSA e incubado por 1 hora a 37°C. Amostras de urina não diluída foram utilizadas, seguindo o mesmo tempo e temperatura

de incubação. A presença de anticorpo parasito-específico foi detectada pela adição de anti-IgG humano conjugado a fosfatase alcalina na diluição de 1:7.000. A reação foi revelada pela adição do substrato pNPP (p-Nitrophenyl Phosphate) diluído em 20mL de água destilada (Placas Nunc: 100 µL/poço; Placas 'Half-Area': 25 µL/poço). A reação ocorreu por 40 minutos, sendo interrompida com a adição de 50 µL de solução de 3M de NaOH para as placas Nunc e 20 µL para as placas 'Half-Area'. As placas foram lidas no leitor de microplacas VersaMax (Molecular Devices, San José, CA, EUA) a 405nm.

O ponto de corte para os testes sorológicos foi definido utilizando as curvas ROC (*receiver operating characteristic curve*) e TG-ROC (*two-graph receiver operating curves*). As curvas foram construídas a partir da reatividade de indivíduos não infectados, os quais apresentaram resultados negativos para ovos de helminto e cisto de protozoário em múltiplos exames parasitológicos realizados, desde 2014, além de baixa eosinofilia no hemograma (<200mm<sup>3</sup>). Para o grupo infectado, foram incluídos indivíduos com infecção confirmada pela presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes, detectados nas duas primeiras lâminas do exame pelo método de Kato-Katz. O valor de corte para cada ensaio foi estabelecido baseado no ponto de intersecção entre as curvas de sensibilidade e especificidade estabelecida pela curva TG-ROC, considerando-se como soros reativos aqueles com valores de absorbância acima desse ponto de corte.

## **2.6 Concentração de urina por ultrafiltração**

Para avaliar a influência da concentração de amostras de urina na reatividade de IgG específico para SEA, foram selecionadas 10 amostras positivas e 10 amostras de indivíduos ovo-negativos com base nos testes parasitológicos. As amostras foram concentradas por ultrafiltração utilizando filtros Amicon Ultra-15 (Merck Millipore, Tullagreenm Carrigtwohill, Irlanda) com peso molecular de corte de 50kDa. Inicialmente, 3mL de urina foram adicionados ao filtro juntamente com 3mL de PBS 1x. As amostras foram centrifugadas a 4000 x g por 10min a 4°C (Mikro 200 R, Hettich GmbH, Alemanha). O volume final foi de 100µL, resultando em uma concentração de 30 vezes. O sobrenadante foi recuperado por pipetagem, com varrimento lateral para garantir a sua recuperação total. Os níveis de IgG específicos para SEA nas amostras de urina concentrada foram medidos por ELISA, conforme protocolo previamente descrito, e os resultados foram comparados com amostras de urina não concentrada.

## 2.6 Análises estatística

Os resultados dos testes realizados foram codificados e digitados em dupla entrada no Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corporation). As análises estatística e confecção dos gráficos foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism Versão 10.1.1 (San Diego, CA, EUA).

A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para análises comparativas entre dois grupos, os dados com distribuição não-paramétrica foram submetidos ao teste Mann-Whitney; para mais de dois grupos, o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado, com diferenças no valor de  $p \leq 0,05$  consideradas significativas. O coeficiente de correlação de postos de Spearman foi utilizado para avaliar a correlação entre anticorpos séricos e urinários. Para avaliar o desempenho dos diferentes testes para o diagnóstico da esquistossomose, utilizou-se um padrão de referência composto, considerando como positivos os indivíduos com resultado em pelo menos um dos testes parasitológicos (Kato-Katz e/ou Helmintex). A avaliação do desempenho dos métodos diagnóstico foi realizada por medidas de acurácia como sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN). A concordância entre os diferentes métodos de diagnóstico foi testada pelo índice kappa ( $\kappa$ ), utilizando a seguinte classificação: sem concordância ( $\kappa < 0,01$ ), concordância fraca ( $0,01 \leq \kappa \leq 0,20$ ), razoável ( $0,21 \leq \kappa \leq 0,40$ ), moderada ( $0,41 \leq \kappa \leq 0,60$ ), forte ( $0,61 \leq \kappa \leq 0,80$ ) e quase perfeita ( $\kappa > 0,81$ ), conforme Landis e Koch (1977).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Caracterização e perfil parasitológico da população

Um total de 271 indivíduos participaram deste estudo, fornecendo ao menos um tipo de amostra biológica para análise. Dentre eles, 265 (99,78%) forneceram amostra fecais, e 261 (96,30%) forneceram tanto amostras de fezes quanto de urina. A população de estudo foi composta por 52,03% de indivíduos do sexo masculino, com um média de idade de 34,88 (desvio padrão:  $\pm 18,12$ ). As análises das amostras fecais pelo método de Kato-Katz revelaram uma taxa de positividade de 18,11% (48/265) para *S. mansoni*, com uma média de  $63,33 \pm 200,3$  ovos por grama de fezes. Entre os 48 indivíduos infectados, 85,42% (41/48) apresentaram baixa carga, 12,5% (6/48) carga moderada e 2,08% (1/48) alta carga (Figura 3a). A intensidade da infecção por *S. mansoni* foi semelhante entre os indivíduos de diferentes faixas etárias (Figura 3b). Pelo método de Helmintex, a positividade foi de 25,66% e a combinação desses dois métodos resultou numa positividade de 26,04%. A positividade para *S. mansoni* no teste de urina POC-CCA foi de 7,38%, quando o resultado “traço” foi considerado negativo (POC-CCA t-) e 26,20%, quando o resultado “traço” foi considerado positivo (POC-CCA t+) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição das taxas de positividade e carga parasitária, de acordo com os métodos diagnósticos para *Schistosoma mansoni* em relação ao sexo e faixa etária da população de estudo.

Variáveis	Fezes (n=265)				Urina (n=271)		
	N	Kato-Katz (6 Lâminas)		Helmintex	POC-CCA		
		Positivos (%)	Carga parasitária – Ovos/g de fezes (Média±DP)	Positivos (%)	N	POC-CCA (t-)	POC-CCA (t+)
<b>Total</b>	265	48 (18,11)	63,33±200,3	68 (25,66)	271	20 (7,38)	71 (26,20)
<b>Gênero</b>							
Masculino	126	21 (16,67)	101,7±33,48	33 (26,19)	130	11 (8,46)	25 (19,23)
Feminino	139	27 (19,42)	33,48±57,37	35 (25,18)	141	9 (6,38)	36 (25,53)
<b>Faixa etária</b>							
<=10	29	6 (20,69)	254±545,9	7 (24,14)	29	6 (20,69)	10 (34,48)
11-20	39	8 (20,51)	88±99,94	14 (35,9)	42	4 (9,52)	15 (35,71)
21-40	93	14 (15,05)	30,57±49,08	18 (19,35)	96	3 (3,13)	16 (16,67)
41-60	80	14 (17,50)	19,14±32,62	21 (26,25)	80	6 (7,5)	16 (20)
>60	24	6 (25)	19,33±29,94	8 (33,33)	24	1 (4,17)	4 (16,67)

N: número de indivíduos; POC-CCA (t-): resultado do POC-CCA considerando traço um resultado negativo; POC-CCA (t+): resultado do POC-CCA considerando traço um resultado positivo.

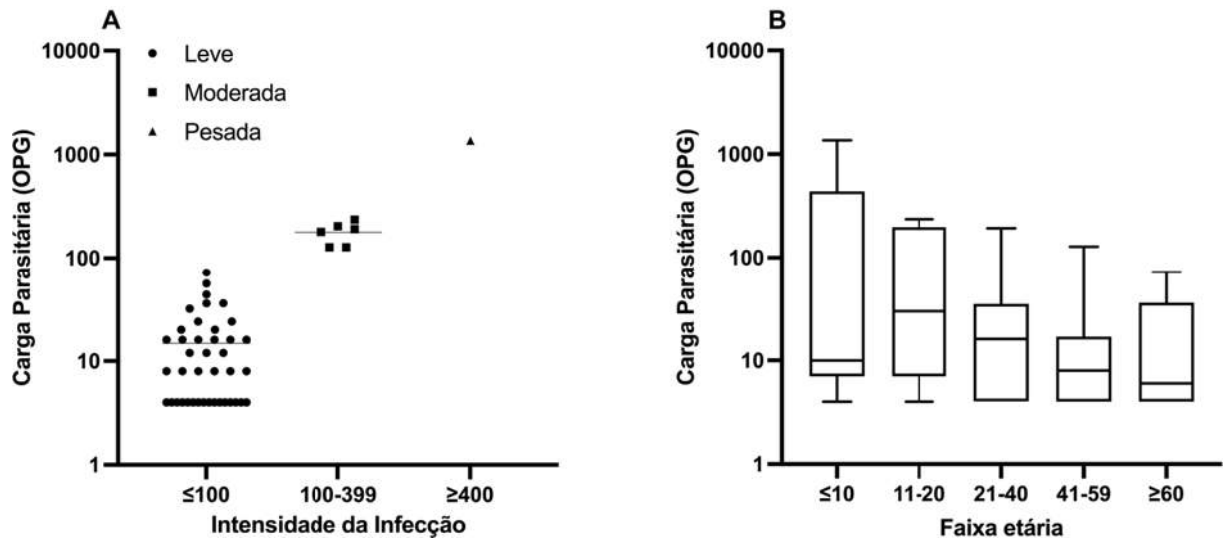


Figura 3. Classificação dos indivíduos infectados com *Schistosoma mansoni* de acordo com sua carga parasitária, determinado pelo método de Kato-Katz seis lâminas. (A) Contagem individual de ovos por gramas de fezes (OPG) de acordo com carga parasitária. (B) *Boxplot* mostrando a mediana e o intervalo interquartil da carga parasitária por faixa etária.

### 3.1.2 Desempenho dos métodos diagnósticos (Kato-Katz, Helmintex e POC-CCA) para a detecção da infecção por *S. mansoni*

Para avaliar a sensibilidade dos métodos empregados no estudo, utilizamos como padrão de referência a combinação do método de Kato-Katz (seis lâminas) e Helmintex. A leitura de duas lâminas de KK resultou em uma sensibilidade de 42,03 (31,11-53,79), enquanto a leitura de seis lâminas apresentou uma sensibilidade superior de 69,57 (57,92-79,15), com um coeficiente Kappa variando de 0,51 (0,41-0,61) a 0,77 (0,65-0,88) respectivamente. O método de Helmintex apresentou a maior taxa de sensibilidade, com 98,55 (92,24-99,74) e um coeficiente Kappa de 0,99 (0,86-1), indicando uma excelente concordância com o padrão de referência (Tabela 2).

Em relação ao teste de POC-CCA, a sensibilidade variou conforme a interpretação dos resultados (Tabela 2). Considerando o traço positivo, o teste de urina apresentou sensibilidade de 50,72 (39,21-62,17) e especificidade de 86,98 (81,48-91,02), com Kappa de 0,39 (0,18-0,37), indicando uma fraca concordância diagnóstica. Quando traço foi considerado negativo, a sensibilidade foi de 23,19 (14,81-34,4), com especificidade de 97,92 (94,77-99,19) e Kappa de 0,27 (0,18-0,37), indicando uma fraca concordância. Além disso, a ocorrência de parâmetros anormais não teve efeito significativo no resultado do POC-CCA (Tabela 3).

Tabela 2. Desempenho de diferentes métodos parasitológicos e imunocromatográficos para a detecção da esquistossomose mansoni em comparação com padrão de referência (seis lâminas de Kato-Katz e Helmintex).

Método		Padrão referência		Positividade	Sensibilidade (IC95%)	Especificidade (IC95%)	VPP (IC95%)	VPN (IC95%)	Kappa (IC95%)
		Pos	Neg						
KK (2 lâminas)	Pos	29	0	10,94	42,03	100	100	83,05	0,51
	Neg	40	196		(31,11-53,79)	(98,08-100)	(88,3-100)	(77,74-87,3)	(0,41-0,62)
KK (6 lâminas)	Pos	48	0	18,11	69,57	100	100	90,32	0,77
	Neg	21	196		(57,92-79,15)	(98,08-100)	(92,59-100)	(85,66-93,58)	(0,65-0,88)
Helmintex	Pos	68	0	25,66	98,55	100	100	99,49	0,99
	Neg	1	196		(92,24-99,74)	(98,08-100)	(94,65-100)	(97,17-99,91)	(0,86-1)
POC-CCA (t+)	Pos	35	25	22,98	50,72	86,98	58,33	83,08	0,39
	Neg	34	167		(39,21-62,17)	(81,48-91,02)	(45,73-69,94)	(77,3- 87,6)	(0,27-0,51)
POC-CCA (t-)	Pos	16	4	7,66	23,19	97,92	80	78,1	0,27
	Neg	53	188		(14,81-34,4)	(94,77-99,19)	(58,4-91,93)	(72,36-82,78)	(0,18-0,37)

VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo; POC (t-): resultado do POC-CCA considerando traço negativo; POC (t+): resultado do POC-CCA considerando traço positivo.

Tabela 3. Regressão logística binária entre os parâmetros de urina e o resultado do POC-CCA.

Parâmetros	Odds Ratio	Erro padrão	Intervalo de Confiança	
			Inferior	Superior
Leucócitos	1,006	0,385	0,473	2,138
Nitrito	1,745	1,250	0,151	20,221
Proteína	3,118	0,874	0,562	17,298
Sangue	1,487	0,528	0,528	4,190
Densidade	1,030	0,834	0,201	5,285
Cetona	0,591	0,701	0,150	2,337
Glicose	0,887	1,142	0,095	8,322

### **3.2 Reatividade de imunoglobulinas IgG contra antígenos de verme adulto (SWAP e *SmJ1*), do ovo (SEA) e uma proteína quimera (q*SmP*) de *S. mansoni* em soro de indivíduos infectados**

Dos 265 indivíduos que entregaram amostras de fezes para a realização do exame parasitológico, 230 (86,79%) forneceram uma amostra de sangue para avaliação dos métodos imunológicos. As amostras de soro da população de estudo foram utilizadas para detectar anticorpos IgG contra os antígenos SEA, SWAP, *SmJ1* e q*SmP*.

Curvas ROC e TG-ROC foram utilizadas para estimar os valores de corte e desempenho (sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e AUC) dos ensaios de ELISA. Amostras de indivíduos positivos nas duas primeiras lâminas de KK (N=26) foram utilizadas como grupo teste e indivíduos negativos para todos os métodos testados (KK, Helmintex e POC-CCA) e sem histórico de infecção (N=13) foram usados como grupo controle. A reatividade sérica de IgG contra os antígenos de verme adulto (SWAP e *SmJ1*) demonstrou um moderado poder de discriminação entre o grupo infectado e o grupo controle, com valores de AUC de 0,8757 (IC95%: 0,7686-0,9829) para SWAP e 0,8876 (IC95%: 0,7836-0,9916) para *SmJ1*. O ensaio de reatividade de IgG contra antígeno de ovo (SEA) mostrou um AUC inferior quando comparado aos antígenos de verme adulto, porém a sua sensibilidade e especificidade foram maiores (AUC:0,8580; Sensibilidade: 88,46; Especificidade: 92,31). A proteína quimera de *S. mansoni* apresentou um moderado poder de discriminação, com valor de AUC de 0,8609 (0,7441-0,9778). As análises de ROC e TG-ROC estão ilustradas na figura 4 e 5 respectivamente, e na tabela 4, onde os valores de corte estabelecidos foram utilizados para avaliar os ensaios sorológicos em todos os moradores das três comunidades rurais do Brejo do Amparo.

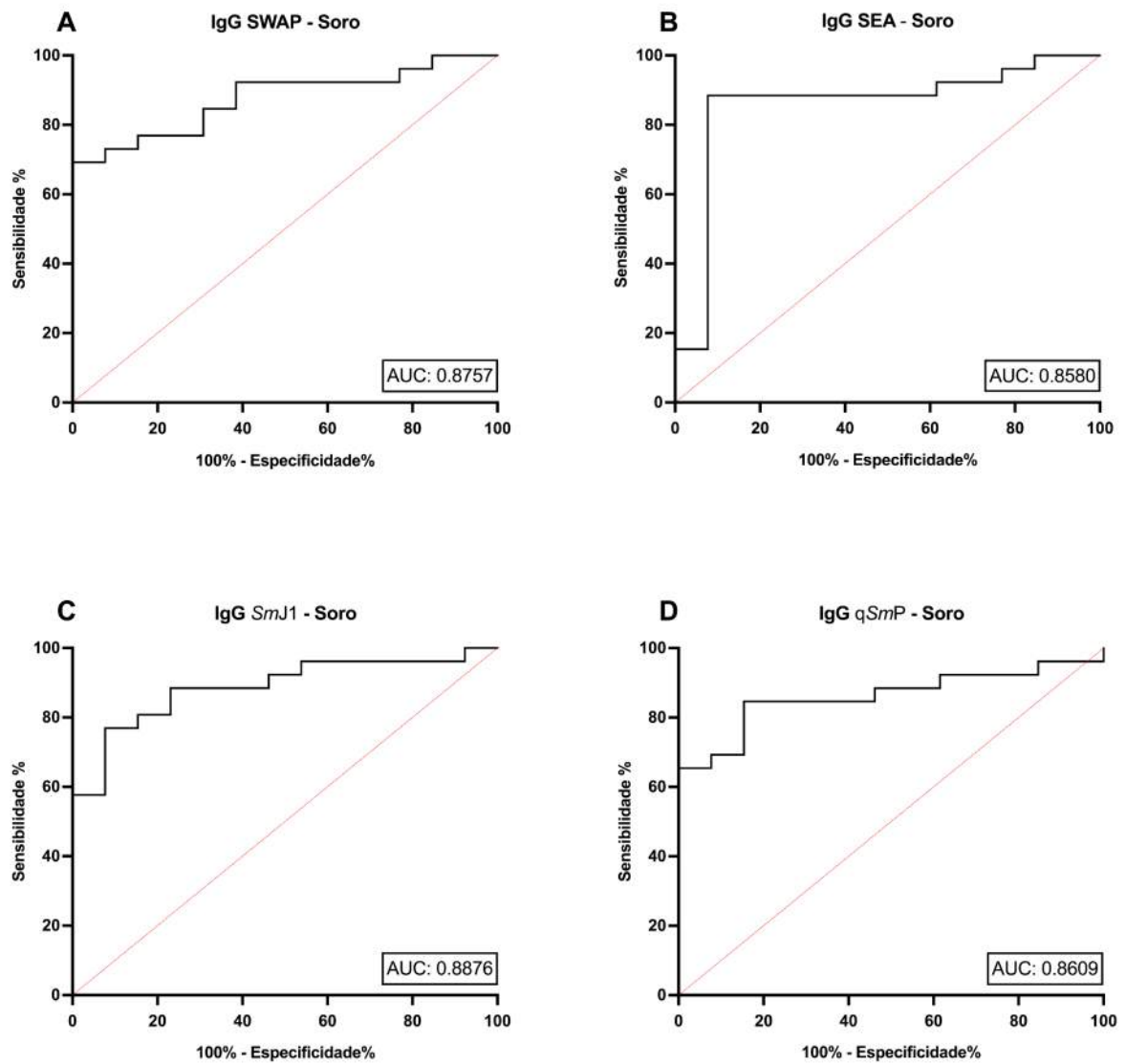


Figura 4. Análise de Curva ROC da reatividade de IgG contra antígenos de *Schistosoma mansoni* (SWAP, *SmJ1*, SEA e *qSmP*) em soros de moradores de três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil.

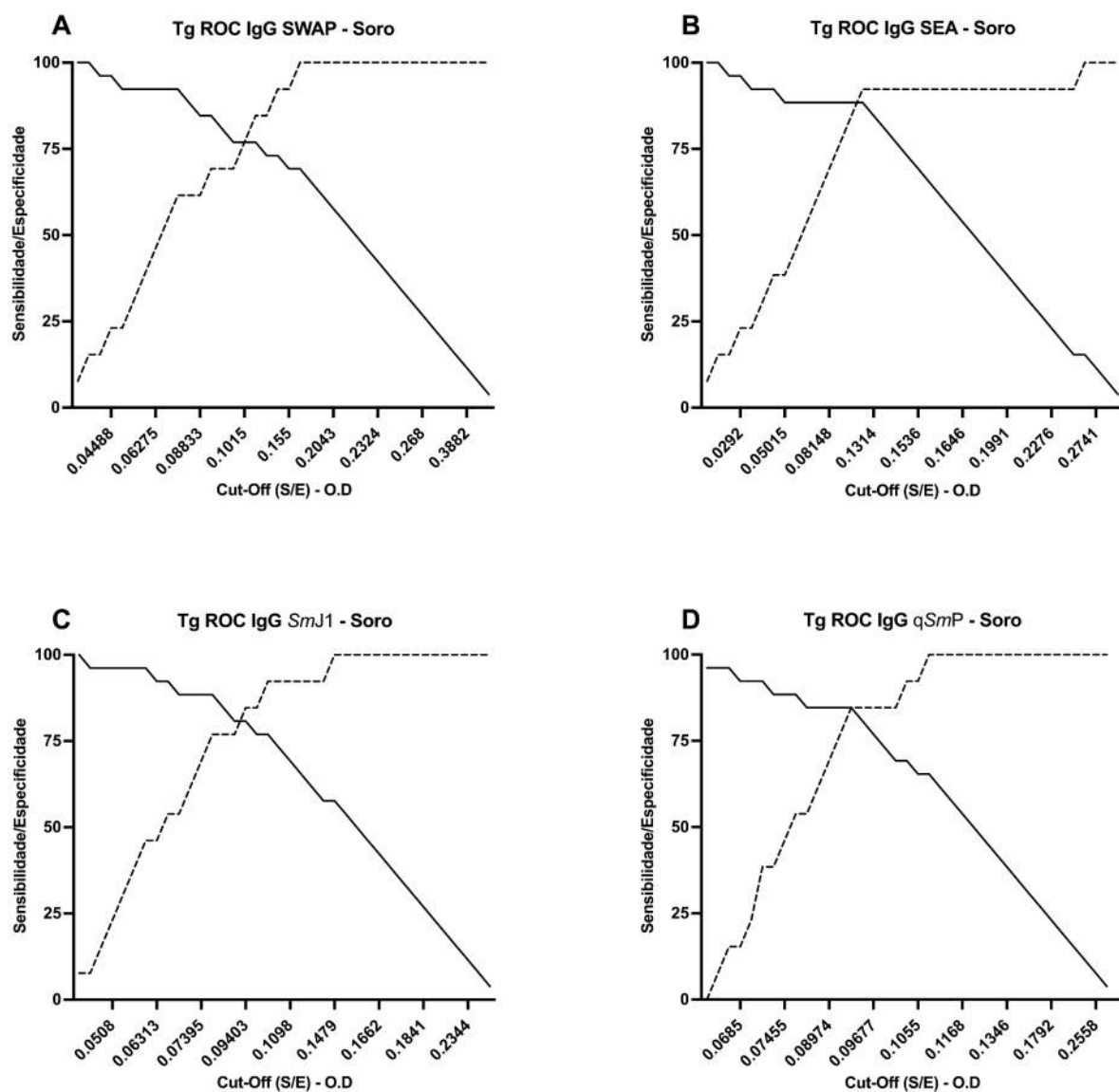


Figura 5. Análise de Curva TG-ROC da reatividade de IgG contra antígenos de *Schistosoma mansoni* (SWAP, SmJ1, SEA e qSmP) em soros de moradores de três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 4. Valores de corte para reatividade, sensibilidade, especificidade e área sob a curva (AUC) de ensaios de ELISA anti-IgG contra diferentes preparações de antígenos avaliadas.

<b>Antígeno</b>	<b>Ponte de corte</b>	<b>Sensibilidade (IC95%)</b>	<b>Especificidade (IC95%)</b>	<b>AUC (IC95%)</b>
<b>SWAP</b>	>0,1015	76,92 (57,95-88,97)	76,92 (49,74-91,82)	0,8757 (0,7686-0,9829)
<b>SEA</b>	>0,1131	88,46 (71,02-96,0)	92,31 (66,69-99,61)	0,8580 (0,7155-1)
<b>SmJ1</b>	>0,09403	80,77 (62,12-91,49)	84,62 (57,77-97,27)	0,8876 (0,7836-0,9916)
<b>qSmP</b>	>0,09333	84,62 (66,47-93,85)	84,62 (57,77-97,27)	0,8609 (0,7441-0,9778)

SWAP: preparação de antígeno de vermes adultos; SmJ1: fração do antígeno de vermes adultos; SEA: antígenos solúveis de ovos; AUC: Área sob a curva ROC; IC95%: Intervalo de confiança de 95%. O valor de corte foi definido pela interseção entre as curvas de sensibilidade e especificidades obtidas usando amostras de soro de indivíduos verdadeiramente infectados (n=26) e não infectados (n=13).

### 3.3 Desempenho das diferentes preparações antigênicas como ferramenta de diagnóstico para infecção ativa por *S. mansoni* na população de estudo

Comparado com o padrão de referência composto por seis lâminas de KK e um Helmintex, o ensaio de ELISA de IgG anti-SEA apresentou o melhor desempenho com sensibilidade de 81,97% (70,53-89,62), especificidade de 60,36% (52,83-67,42) e um índice Kappa indicando uma concordância fraca 0,3272 (0,21-0,44). Diferenças entre o antígeno bruto de verme adulto (SWAP) e a sua fração (SmJ1) foram observadas, com uma sensibilidade de 77,05% (65,09-85,81) para SmJ1 e 75,41% (63,32-84,49) para SWAP; a especificidade também variou de 53,89% (46,33-61,82) a 42,01% (34,84-49,55), respectivamente. A proteína quimera de *S. mansoni* apresentou alta sensibilidade com 80,33% (68,69-88,37), porém baixa especificidade (43,3%) e concordância ruim (Kappa=0.1634) (Tabela 5).

Tabela 5. Desempenho diagnóstico dos ensaios sorológicos IgG contra antígenos de *Schistosoma mansoni* (SWAP, *SmJ1*, SEA e *qSmP*) em moradores de três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, cidade de Januária, Minas Gerais, Brasil.

Antígeno		Teste referência		Sensibilidade (IC95%)	Especificidade (IC95%)	VPP (IC95%)	VPN (IC95%)	Kappa Score (IC95%)
		Pos	Neg					
SWAP	Pos	46	98	75,41	42,01	31,94	82,56	0,1214
	Neg	15	71	(63,32-84,49)	(34,83-49,55)	(24,88-39,94)	(73,2-89,14)	(0,02-0,22)
<i>SmJ1</i>	Pos	47	77	77,05	53,89	37,9	86,54	0,233
	Neg	14	90	(65,09-85,81)	(46,33-61,28)	(29,85-46,68)	(78,66-91,81)	(0,12-0,34)
SEA	Pos	50	67	81,97	60,36	42,74	90,27	0,3272
	Neg	11	102	(70,53-89,62)	(52,83-67,42)	(34,14-51,79)	(83,41-94,48)	(0,21-0,44)
<i>qSmP</i>	Pos	49	96	80,33	43,3	33,79	85,88	0,1634
	Neg	12	73	(68,69, 88,37)	(35,96, 50,73)	(26,6, 41,82)	(76,93-91,74)	(0,06-0,26)

SWAP: preparação de antígeno de vermes adultos; *SmJ1*: fração do antígeno de vermes adultos; SEA: antígenos solúveis de ovos; VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo; IC95%: Intervalo de confiança de 95%. No total, 230 amostras de soro coletadas da população de estudo foram avaliadas para os ensaios.

Para avaliar melhor a sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos na identificação de indivíduos reativos, a população de estudo foi dividida em dois grupos: indivíduos positivos para *S. mansoni* (n=61) e indivíduos negativos para infecção por *S. mansoni* (n=169), conforme determinado pelo padrão de referência dos testes parasitológicos. Conforme ilustrado na Figura 6 (A-D), a comparação dos valores de densidade óptica (O.D) entre os soros de indivíduos positivos para *S. mansoni* e indivíduos negativos revelou uma reatividade significativamente maior de IgG anti-SWAP, anti-*SmJ1* e anti-SEA no grupo infectado por *S. mansoni* (Figura 6A-C); nenhuma diferença significativa nos níveis de IgG anti-q*SmP* foi observada entre os grupos analisados (Figura, 6D).

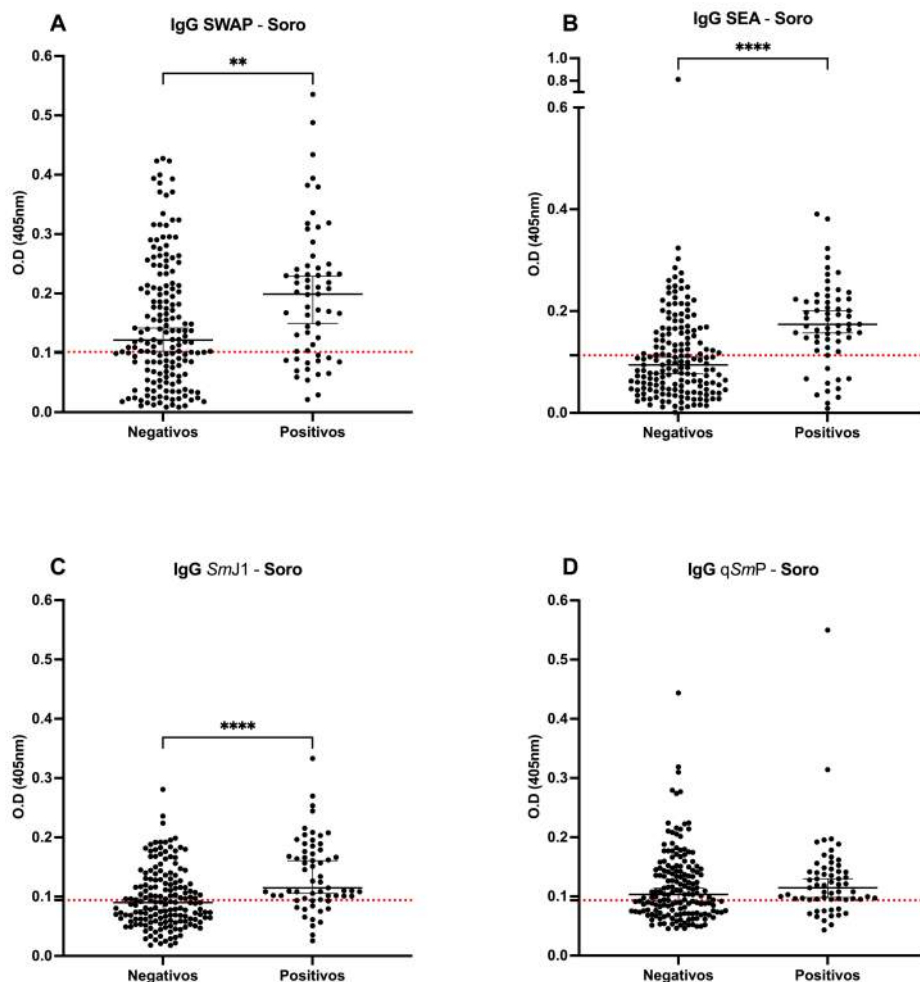


Figura 6. Reatividade sérica de IgG contra os antígenos SWAP (A), SEA (B), *SmJ1* (C) e q*SmP* (D) em participantes positivos para ovos de *Schistosoma mansoni* (n=61) e participantes negativos (n=169). Foram usadas as medianas individuais e a linha vermelha representa o ponto de corte determinado pela curva ROC e Tg-ROC. Os valores de *p* foram determinados usando o teste de Mann-Whitney. \*\**p*< 0,01; \*\*\*\**p*<0,0001.

Para avaliar a reatividade de indivíduos com histórico de infecção por *Schistosoma mansoni* sem infecção ativa, um grupo de indivíduos que tinham registros prévios de exames parasitológicos realizados pelo nosso grupo de pesquisa em 2014 e 2015 (**Capítulo II**) foram

divididos em dois subgrupos: indivíduos com histórico positivo para *S. mansoni* (n=53) e indivíduos sem histórico de infecção (n=51). A figura 7 ilustra a reatividade sérica de IgG aos antígenos de SWAP, *SmJ1*, SEA e *qSmP* nos indivíduos com os diferentes status parasitológicos. A reatividade de IgG para todos os antígenos testados, foi significativamente maior nos indivíduos com histórico de infecção para *S. mansoni*.

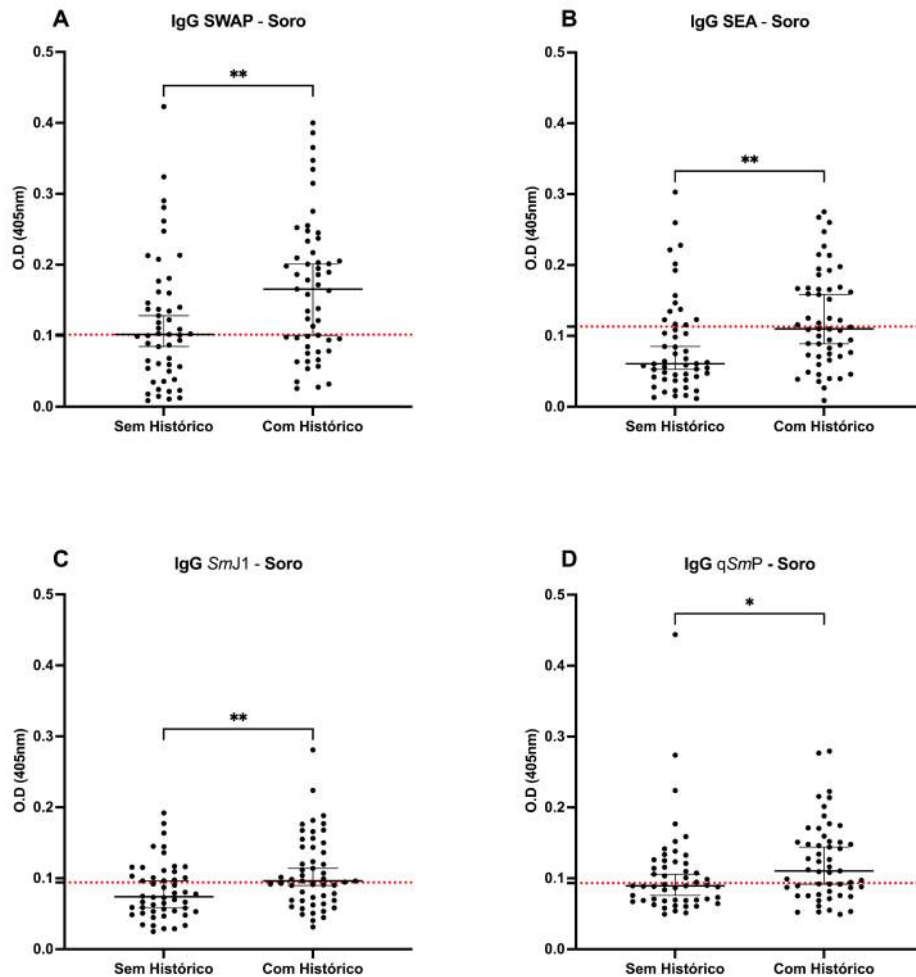


Figura 7. Reatividade sérica de IgG contra antígenos SWAP (A), SEA (B), *SmJ1* (C) e *qSmP* (D) em indivíduos negativos com histórico positivo (n=53) ou sem histórico de infecção (n=51) para *Schistosoma mansoni*. Foram usadas as medianas individuais e a linha vermelha representa o ponto de corte determinado pela curva ROC e Tg-ROC. Os valores de *p* foram determinados usando o teste de Mann-Whitney. \**p*<0,05; \*\**p*<0,01.

### 3.4 Reatividade de imunoglobulinas IgG contra antígenos de verme adulto (SWAP e *SmJ1*), do ovo (SEA) e uma proteína quimera (*qSmP*) de *S. mansoni* na urina de indivíduos infectados

Dos 265 indivíduos que entregaram amostras de fezes para a realização do exame parasitológico, 261 (98,49%) forneceram uma amostra de urina para avaliação dos métodos

imunológicos. As amostras de urina da população de estudo foram utilizadas para detectar anticorpos IgG contra os antígenos SEA, SWAP, *SmJ1* e *qSmP*.

Para avaliar a presença de IgG contra diferentes antígenos de *S. mansoni* na urina de pacientes saudáveis e infectados, curvas ROC foram geradas (Figura 8) utilizando amostras de indivíduos positivos nas duas primeiras lâminas de KK (N=29) como grupo teste e indivíduos negativos para todos os métodos testados (Kato-Katz, Helmintex e POC-CCA) e sem histórico de infecção (N=13) como grupo controle. Os valores de AUC variaram de 0,5332 a 0,5836, com valores de  $p > 0,05$ , indicando que não há nenhum poder de discriminação entre os grupos controle e teste nos ensaios de ELISA para urina avaliados.

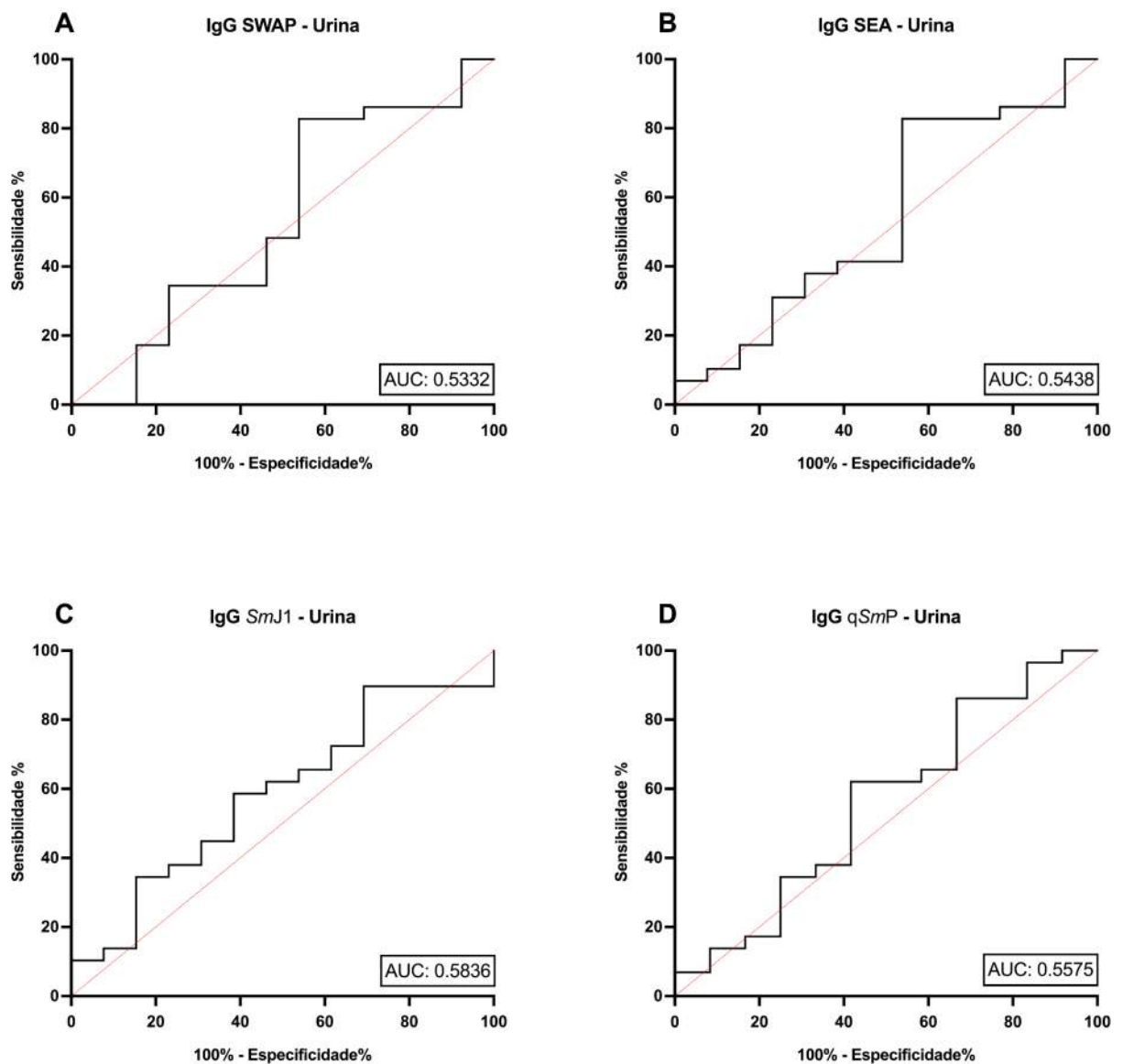
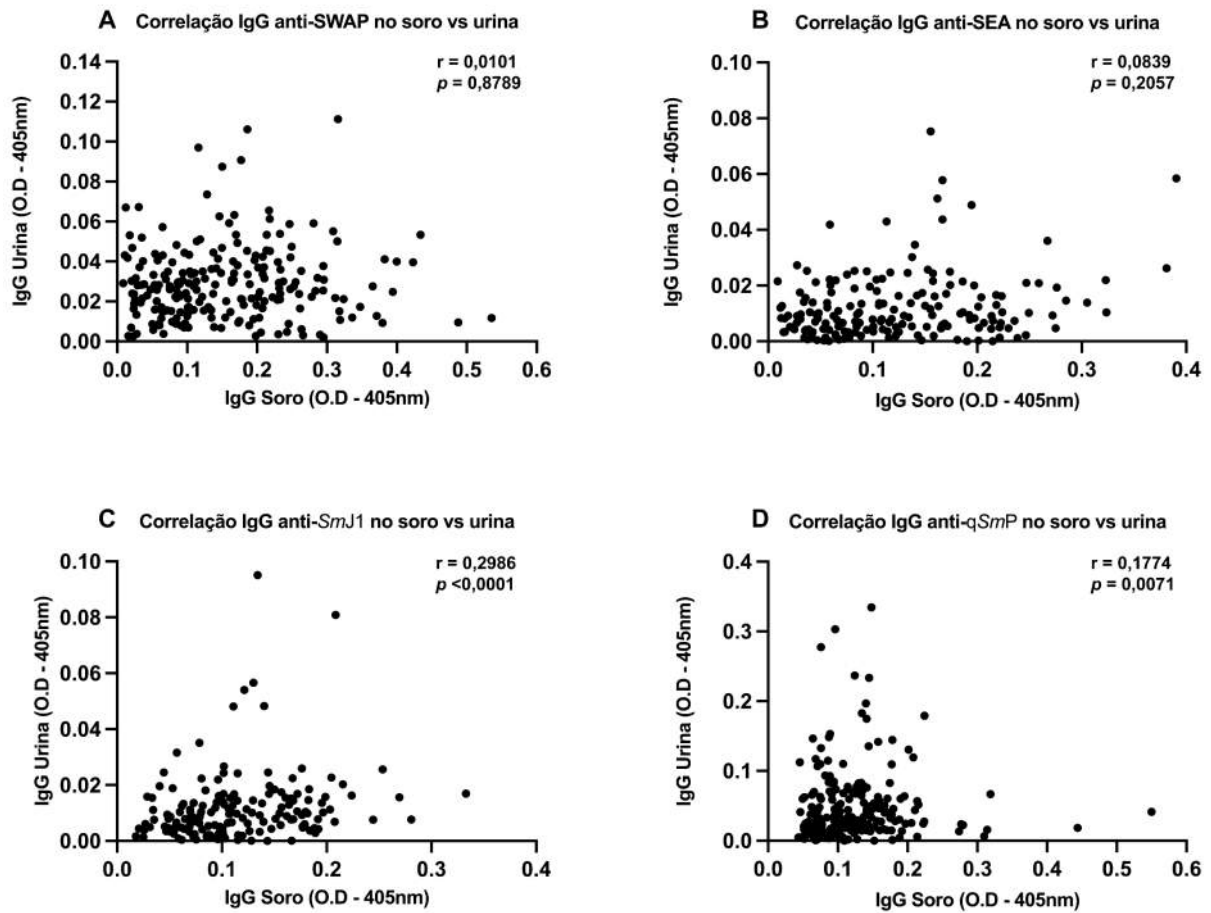


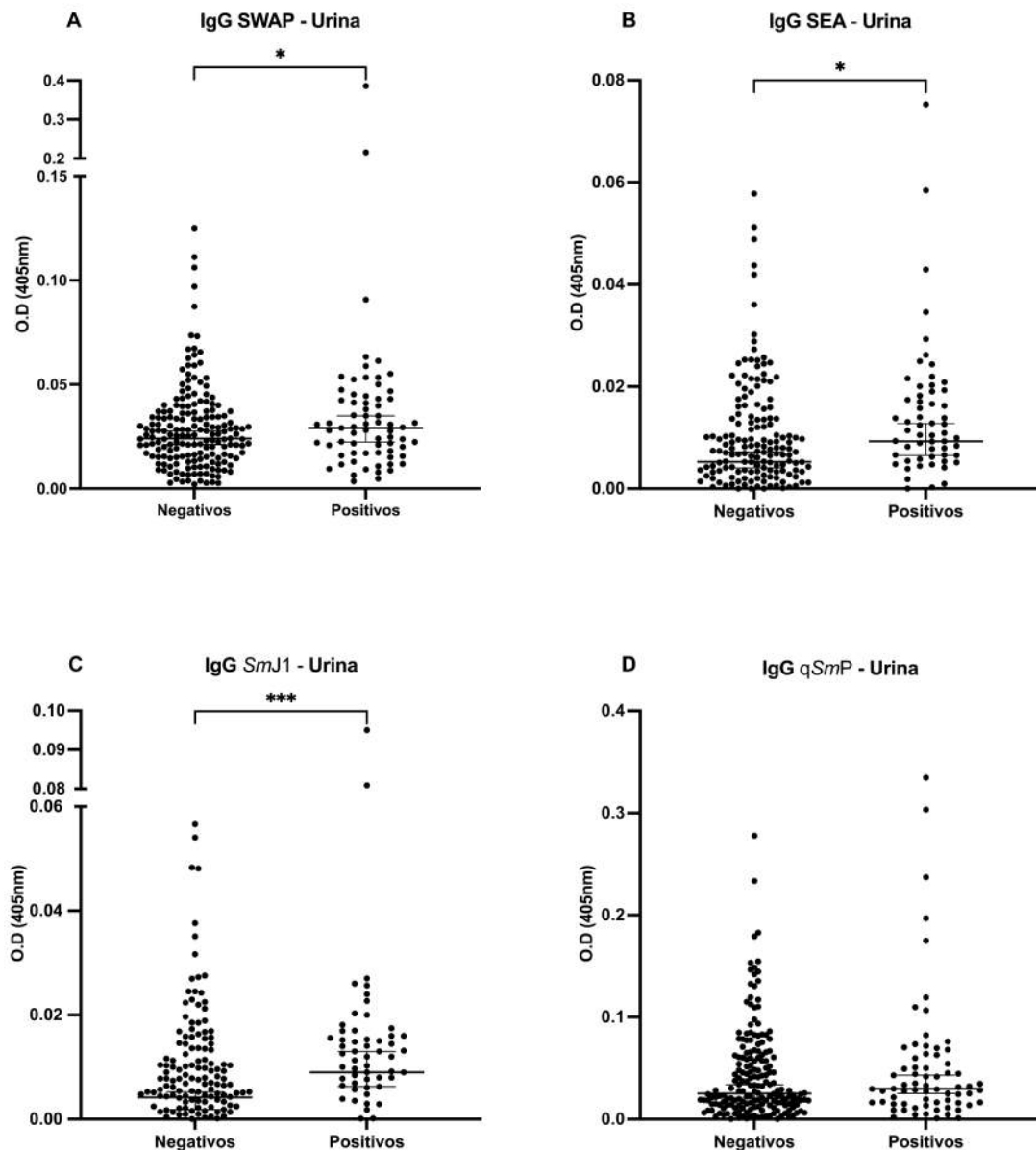
Figura 8. Análise de Curva ROC da reatividade de IgG contra antígenos de *Schistosoma mansoni* (SWAP, *SmJ1*, SEA e *qSmP*) em urina de moradores de comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais, Brasil.

A reatividade de IgG contra diferentes antígenos de *S. mansoni* foi avaliada em amostras emparelhadas de soro e urina de 229 indivíduos. A análise de correlação de Spearman revelou uma correlação positiva, embora baixa, entre a reatividade de IgG anti-*SmJ1* ( $r= 0,2986$ ,  $p<0,0001$ ) e IgG anti-*qSmP* ( $r=0,1774$ ,  $p=0,0071$ ) no soro e na urina. Não foram observadas correlações significativas para IgG anti-SWAP e IgG anti-SEA (Figura 9).



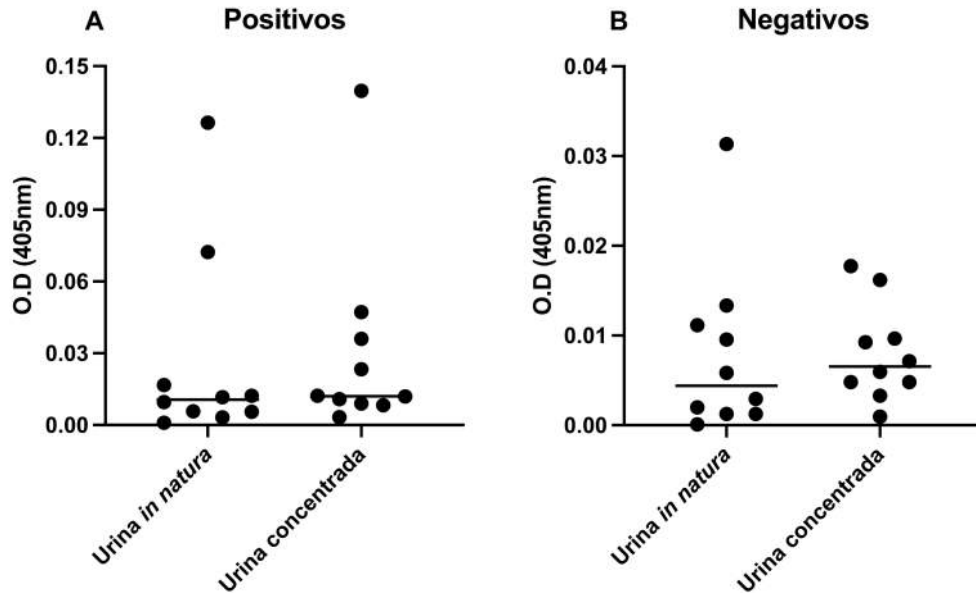
Figuras 9. Correlação entre reatividade de anticorpos IgG no soro e urina em amostras emparelhadas, avaliadas pelo coeficiente de correlação de postos de Spearman.

A reatividade de IgG na urina de indivíduos positivos para *S. mansoni* (N=69) e negativos (N=192) está ilustrada na Figura 10 (A-D). A comparação dos valores de O.D entre os grupos revelou uma reatividade significativamente maior de IgG anti-SWAP, anti-*SmJ1* e anti-SEA nos indivíduos infectados (Figura 10A-C). Por outro lado, não foi observada diferença significativa nos níveis de IgG anti-*qSmp* entre os grupos analisados (Figura, 10D).



Figuras 10. Reatividade urinária de IgG contra os antígenos SWAP (A), SEA (B), *SmJ1* (C) e *qSmp* (D) em participantes positivos para ovos de *Schistosoma mansoni* (n=61) e participantes negativos (n=169). Foram usadas as medianas individuais. Os valores de  $p$  foram determinados usando o teste de *Mann-Whitney*. \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

A influência da concentração de amostras de urina na detecção de IgG específico para SEA foi avaliada em 10 indivíduos positivos e 10 negativos para *S. mansoni*. A comparação dos valores de O.D entre amostras concentradas e *in natura* não revelou diferenças estatisticamente significativas (Figura 11A-B).



Figuras 11. Comparação da reatividade de IgG anti-SEA em amostras de urina *in natura* e concentrada de indivíduos positivos (A) e negativos (B) para *S. mansoni*. A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney, não sendo observada diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

## 4 DISCUSSÃO

Apesar dos avanços alcançados pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) no Brasil, com a redução da morbidade, mortalidade e das formas graves da doença, a persistência de infecções de baixa intensidade em áreas de baixa endemicidade revela limitações nas estratégias diagnósticas atualmente empregadas (Silva-Moraes *et al.*, 2019a). O método de Kato-Katz (KK), ainda utilizado como principal ferramenta para mapeamento e tomada de decisão terapêutica, apresenta sensibilidade reduzida em indivíduos com baixa carga parasitária, resultando em casos falso-negativos que não recebem tratamento e, conseqüentemente, continuam a contribuir para a manutenção do ciclo de transmissão (Santos *et al.*, 2021; Menezes, D.L. *et al.*, 2023). Esta limitação representa um entrave significativo para o alcance da meta de eliminação da esquistossomose como problema de saúde pública, conforme proposto pela OMS para o período de 2021/2030 (WHO, 2022). Neste contexto, torna-se urgente o desenvolvimento e validação de métodos diagnósticos mais sensíveis e específicos, capazes de detectar infecções residuais e permitir intervenções mais eficazes, especialmente em áreas em processo de eliminação da doença.

Os resultados do presente estudo demonstram que a sensibilidade do método de KK aumenta de acordo com o número de lâminas analisadas, com a sensibilidade passando de 42,03% com duas lâminas para 69,57% com seis. Contudo, é fundamental ressaltar que há um limite na ampliação do número de amostras ou lâminas analisadas, uma vez que incrementos adicionais podem não refletir em ganhos significativos na detecção da positividade (Oliveira *et al.*, 2018). Atualmente, o Ministério da Saúde do Brasil recomenda a análise de seis lâminas de KK por indivíduo em áreas de baixa endemicidade (Brasil, 2024). Para aprimorar a detecção da infecção por *S. mansoni*, utilizamos o método de Helmintex, que se baseia no processamento de grandes volumes de fezes (30g) e na recuperação dos ovos utilizando microesferas magnéticas. Esse método apresentou a maior taxa de sensibilidade, 98,55%. Sua elevada sensibilidade, especialmente em áreas com indivíduos com baixa carga parasitária, já foi evidenciada em estudos anteriores (Caldeira *et al.*, 2012; Lindholz *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2018; Menezes, D.L. *et al.*, 2023). Apesar da sua alta sensibilidade, o Helmintex apresenta custos mais elevados e demanda maior tempo para processamento e obtenção dos resultados, quando comparado ao método de KK (Lindholz *et al.*, 2018). Ainda assim, devido à sua eficácia, o Helmintex pode ser considerado um método de referência para a avaliação da acurácia de outras técnicas diagnósticas.

Além dos métodos parasitológicos, a detecção de antígenos do parasito, como POC-CCA, tem se mostrado uma alternativa promissora para o diagnóstico da esquistossomose,

especialmente como ferramenta de triagem em áreas com alta endemicidade (Colley *et al.*, 2020). Em nosso estudo, a positividade obtida com o POC-CCA (22,95%) foi 2,1 vezes superior à detectada pelo método de KK com duas lâminas (10,94%), que é o padrão preconizado pela OMS e foi utilizado pelo PCE no Brasil até o ano de 2024 (Brasil, 2024). Essa diferença pode ser atribuída à baixa sensibilidade do KK nessas configurações, sobretudo em infecções com baixa carga parasitária, uma vez que a excreção de ovos pode ser intermitente e sua distribuição nas fezes é notoriamente heterogênea (Berhe *et al.*, 2004; Krauth *et al.*, 2012). Por outro lado, observamos que, ao ampliar o número de lâminas analisadas ou utilizar métodos parasitológicos de maior sensibilidade – como o nosso padrão de referência composto –, a positividade parasitológica se torna superior à detectada pelo POC-CCA. Nessa comparação, o teste de POC-CCA apresentou sensibilidade de 50,72% quando consideramos o traço positivo e de apenas 23,19% quando o traço foi considerado negativo. Esse desempenho pode ser explicado pela baixa sensibilidade desse teste em infecções com carga parasitária muito baixa (Oliveira *et al.*, 2018), além de fatores como variações na sensibilidade entre diferentes lotes do teste, a ocorrência de resultados falso-positivos e o desafio na interpretação de resultados traço (Lindholz *et al.*, 2018; Viana *et al.*, 2019). Dessa forma, é necessário cautela na avaliação da sensibilidade do POC-CCA em diferentes contextos epidemiológicos. Esses fatores afetam não apenas a acurácia do diagnóstico individual, mas também têm implicações significativas em nível populacional. Dependendo do método diagnóstico empregado e da forma como os resultados do POC-CCA são classificados (traço positivo ou negativo), a categorização epidemiológica da área estudada pode ser alterada substancialmente, o que pode impactar diretamente as estratégias adotadas para o controle e eliminação da esquistossomose (Brasil, 2024).

A detecção de anticorpos é considerada altamente sensível e tem sido recomendada como uma ferramenta suplementar para o diagnóstico de esquistossomose em indivíduos com baixas cargas de infecção, que geralmente são difíceis de detectar por métodos parasitológicos (Ogongo *et al.*, 2022). As técnicas de diagnóstico sorológico da esquistossomose atualmente existentes variam em relação aos níveis de sensibilidade e especificidade devido à composição dos antígenos utilizados. Aqui, utilizamos dois extratos brutos, um de ovo (SEA) e outro de verme adulto (SWAP), além de uma fração do extrato bruto de verme adulto (*SmJ1*) e uma proteína quimera contendo peptídeos selecionados pela bioinformática (*qSmP*). Entre os extratos brutos avaliados, SEA apresentou o melhor desempenho diagnóstico, com sensibilidade de 81,97% e especificidade de 60,36%. Por outro lado, SWAP apresentou valores inferiores de sensibilidade (75,41%) e especificidade (42,01%). Esses resultados corroboram

com os dados apresentados por Magalhães *et al.*, (2023), os quais evidenciaram maior acurácia diagnóstica do SEA. A baixa especificidade observada em extratos brutos como o SWAP pode ser atribuída à presença de componentes antigênicos inespecíficos, com potencial para reações cruzadas, uma das principais limitações dos testes sorológicos baseados em anticorpos. Nesse contexto, o fracionamento desses extratos surge como alternativa para aprimorar a especificidades dos ensaios. A fração de 140-260kDa (*SmJ1*), derivada de SWAP, apresentou uma maior especificidade (53,89%) quando comparada à especificidade do extrato bruto SWAP (42,01%), representando um aumento de aproximadamente 28%. Outra abordagem para melhorar o desempenho desses ensaios é a utilização de antígenos recombinantes. O nosso ensaio com a proteína quimérica q*SmP* apresentou alta sensibilidade (80,33%), porém com baixa especificidade (43,3%). Embora a especificidade seja limitada, a alta sensibilidade do ensaio sugere que ele poderia ser integrado em uma abordagem diagnóstica em duas etapas. Nesse contexto, as Diretrizes da OMS sobre Controle e Eliminação da Esquistossomose Humana (WHO, 2022) recomendam o uso dessa estratégia para detectar a infecção por *S. mansoni*, especialmente em áreas de baixa endemicidade. Essa estratégia consiste em aplicar, inicialmente, um teste de alta sensibilidade, seguido de uma confirmação com um teste de alta especificidade. Novos ensaios e ajustes na proteína ainda são necessários para a sua otimização e eventual aplicação.

A detecção de anticorpos específicos contra *S. mansoni* em amostras de soro enfrenta limitações operacionais em contextos de campo e vigilância em larga escala. A coleta de sangue, por se tratar de um procedimento invasivo, requer infraestrutura adequada, profissionais treinados, materiais específicos para processamento e condições ideais de armazenamento e transporte. Além disso, pode gerar resistência por parte da população. Como alternativa, a utilização de amostras de urina para fins diagnósticos tem sido proposta como uma estratégia diagnóstica mais acessível. A urina é uma matriz biológica de obtenção simples, não invasiva, com mínimas implicações logísticas, podendo ser coletada pelo próprio indivíduo com orientação básica (Eamudomkarn *et al.*, 2018; Archer *et al.*, 2020). Avaliamos a capacidade diagnóstica de ensaios de ELISA na detecção de anticorpos IgG específico contra diferentes antígenos de *S. mansoni* em amostras de urinas dos residentes das três comunidades rurais do distrito de Brejo do Amparo. As nossas análises por curva ROC revelaram baixo desempenho discriminatório entre os indivíduos infectados e controles endêmicos negativos, com os valores de AUC variando de 0,5332 a 0,5836 e com valores de  $p > 0.05$ , indicando ausência de capacidade discriminatória entre os grupos. Esses achados contrastam com estudos anteriores que demonstraram reatividade diferencial de IgG na urina de indivíduos positivos e

negativos nos exames parasitológicos (Elhag *et al.*, 2011; Itoh *et al.*, 2003). Embora a presença de anticorpos IgG na urina de pacientes infectados por diferente parasitos já tenha sido documentada (Eamudomkarn *et al.*, 2018; Takagi *et al.*, 2019; Caraballo *et al.*, 2020), sabe-se que a concentração dessa imunoglobulina na urina é aproximadamente 10.000 vezes inferior à observada no soro (Katsuragi *et al.*, 1998; Takagi, 2003). Com o objetivo de superar essa limitação, realizamos a concentração das amostras utilizando ultrafiltração com filtros Amicon Ultra-15 (cut-off de 50kDa) e comparamos os resultados com amostras não concentradas. No entanto, não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos.

A barreira glomerular, em condições normais, impede a passagem de imunoglobulinas como a IgG para o filtrado urinário, devido a restrições de tamanho molecular e interações eletrostáticas com a carga negativa do endotélio glomerular (Eamudomkarn *et al.*, 2018). No entanto, a formação de imunocomplexos e a inflamação glomerular associadas à esquistossomose podem levar a alterações renais, com consequente aumento da permeabilidade glomerular, permitindo o extravasamento de anticorpos para a urina (Rodrigues *et al.*, 2010). Embora a infecção por *S. mansoni* esteja associada a manifestações renais como proteinúria, síndrome nefrótica e presença de quimiocinas inflamatórias na urina – especialmente em sua forma hepatoesplênica – essas alterações ocorrem de forma menos frequente e intensa quando comparadas à infecção por *S. haematobium* (Duarte *et al.*, 2014; Rosinger *et al.*, 2018). Além disso, fatores como a diluição urinária e o armazenamento das amostras podem comprometer a estabilidade e a detecção dos anticorpos urinários. Estudos indicam que a conservação prolongada a -20°C compromete os níveis de IgG e reduz o desempenho de testes como o POC-CCA (Klasen *et al.*, 1999; Mewamba *et al.*, 2021; Favre *et al.*, 2022). No presente estudo, as amostras de urina foram armazenadas a -80°C por dois anos, sem adição de conservantes.

A escolha do método diagnóstico tem implicações diretas sobre as decisões programáticas de controle da esquistossomose, especialmente em áreas de baixa endemicidade. Métodos como o KK, especialmente com a análise de apenas duas lâminas, apresentam sensibilidade limitada e tendem a subestimar a real prevalência da infecção, criando uma falsa sensação de controle da transmissão. Essa limitação pode comprometer as estratégias adotadas pelo Ministério da Saúde, que baseiam suas ações de tratamento na positividade detectada por exames parasitológicos (Brasil, 2024). Nossos resultados apontam para, no mínimo, três abordagens distintas: a positividade de 10% encontrada com KK utilizando duas lâminas indicaria o tratamento apenas para os positivos; com 18% de positividade utilizado seis lâminas, a recomendação seria estender o tratamento também aos conviventes; já a taxa de 25% observada com o método de Helmintex sugeriria a necessidade de tratamento em massa da

população (Brasil, 2024). Essa discrepância entre o número de lâminas e métodos diagnósticos reforça a necessidade de incorporar abordagens diagnósticas mais sensíveis para subsidiar de forma eficaz as estratégias de controle da esquistossomose. A adoção de técnicas com sensibilidade limitada pode comprometer a efetividade das intervenções, ao não detectar focos ativos de transmissão e contribuir para a perpetuação de um silêncio epidemiológico que oculta a persistência da doença em áreas consideradas sob controle. Esse cenário não apenas dificulta a alocação adequada de recursos, como também retarda o alcance das metas de eliminação da esquistossomose propostas pela Organização Mundial da Saúde para 2030.

## 5 CONCLUSÃO

Os achados deste estudo evidenciam que a esquistossomose permanece endêmica na população investigada, ainda que com predomínio de infecções com carga parasitária leve. A avaliação comparativa entre os métodos diagnósticos confirma a superioridade do Helmintex na detecção de infecções de baixa carga, enquanto o Kato-Katz e o POC-CCA demonstraram limitações, especialmente nesse contexto de baixa intensidade parasitária. Os testes sorológicos, em particular o ELISA anti-SEA e a fração *SmJ1*, mostraram desempenho promissor na triagem de casos, com destaque para a maior especificidade desta última. A persistência da resposta imunológica observada em indivíduos previamente tratados sugere a presença de memória imunológica duradoura, um fator relevante para o entendimento da dinâmica da infecção e sua vigilância. Embora a detecção de IgG na urina tenha apresentado baixa acurácia isoladamente, a correlação com os níveis séricos indica um potencial complementar que merece investigação adicional. Esses resultados contribuem para a discussão sobre estratégias mais sensíveis e integradas para o diagnóstico e monitoramento da esquistossomose, especialmente em áreas de baixa endemicidade.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho trouxe evidências relevantes sobre diferentes aspectos da esquistossomose em Minas Gerais, integrando análises de mortalidade, prevalência e desempenho diagnóstico. A avaliação das taxas de mortalidade por esquistossomose entre 2000 e 2019 revelou uma tendência geral de redução no estado, mas com variações regionais que destacam desigualdades persistentes. Regiões historicamente vulneráveis, como Jequitinhonha, Mucuri e Vale do Rio Doce, ainda apresentam elevados índices de mortalidade, refletindo fragilidades no acesso aos serviços de saúde, condições ambientais desfavoráveis e determinantes socioeconômicos que favorecem a permanência da transmissão.

Essa persistência também foi evidenciada nos estudos transversais realizados em comunidades rurais de Brejo do Amparo. Observou-se uma redução significativa na prevalência de *Schistosoma mansoni* após a primeira intervenção, seguida de um aumento da positividade ao longo dos anos. Tal padrão sugere que os efeitos das ações de controle não se sustentam no tempo quando não acompanhados por mudanças estruturais, como melhorias no saneamento e estratégias contínuas de educação em saúde. A presença de fatores de risco ambientais e a identificação de clusters espaciais em áreas específicas indicam a necessidade de abordagens territorializadas e integradas, alinhadas com a realidade local.

Nesse contexto, os achados relacionados ao desempenho dos métodos diagnósticos ganham relevância, uma vez que a efetividade das ações de controle depende diretamente da capacidade de detectar os indivíduos infectados. A população das comunidades estudadas apresentou uma carga parasitária média de 63,33 ovos por grama de fezes, sendo que 85,42% dos indivíduos apresentavam carga parasitária baixa. O método de Helmintex apresentou um desempenho superior em relação à sensibilidade diagnóstica e à concordância com o padrão de referência, superando significativamente os métodos convencionais, como Kato-Katz e POC-CCA. No âmbito sorológico, o ELISA de IgG anti-SEA demonstrou boa sensibilidade, enquanto a fração *SmJ1* destacou-se pela maior especificidade na identificação de indivíduos não infectados. A proteína quimera também apresentou elevada sensibilidade, mas uma baixa especificidade. Por outro lado, os ensaios urinários de IgG apresentaram limitações em discriminar indivíduos positivos dos negativos, apesar da correlação com a reatividade observada no soro desses indivíduos. Novos ensaios são recomendados para melhor avaliar o potencial diagnóstico dessa amostra biológica no diagnóstico da esquistossomose.

## REFERÊNCIAS

- ABATH, F. G. C. *et al.* Molecular approaches for the detection of *Schistosoma mansoni*: possible applications in the detection of snail infection, monitoring of transmission sites, and diagnosis of human infection. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 145-148, 2006.
- ABDEL-FATTAH, M. *et al.* Improving the detection limit of quantitative diagnosis of anti-*S. haematobium* antibodies using Falcon Assay Screening Test (FAST) ELISA by developing a new standard curve. **Parasitology Research**, v. 108, p. 1457-1463, 2011.
- ALLAM, A. F. *et al.* Performance of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for detection of *Schistosoma mansoni* infection compared with Kato–Katz and real-time PCR. **Journal of Helminthology**, v. 96, p. e28, 2022.
- ALVES, R. M. A. *et al.* Chagas' disease and ageing: the coexistence of other chronic diseases with Chagas' disease in elderly patients. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 622-628, 2009.
- ANSELIN, L. Local Indicators of Spatial Association—LISA. **Geographical Analysis**, v. 27, n. 2, p. 93–115, 1995.
- ANTUNES, J. L. F.; CARDOSO, M. R. A. Uso da análise de séries temporais em estudos epidemiológicos. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 565–576, 2015.
- ARCHER, J. *et al.* An update on non-invasive urine diagnostics for human-infecting parasitic helminths: what more could be done and how?. **Parasitology**, v. 147, n. 8, p. 873-888, 2020.
- ARNOLD, B. F. *et al.* Fine-scale heterogeneity in *Schistosoma mansoni* force of infection measured through antibody response. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 37, p. 23174–23181, 2020.
- AYABINA, D. V. *et al.* Gender-related differences in prevalence, intensity and associated risk factors of *Schistosoma* infections in Africa: A systematic review and meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 11, p. e0009083, 2021.
- BARBOSA, C. S. *et al.* Morbidity of mansoni schistosomiasis in Pernambuco—Brazil: Analysis on the temporal evolution of deaths, hospital admissions and severe clinical forms (1999–2014). **Acta Tropica**, v. 164, p. 10–16, 2016.
- BARRON, L.; WYNN, T. A. Fibrosis is regulated by Th2 and Th17 responses and by dynamic interactions between fibroblasts and macrophages. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 300, n. 5, p. G723-G728, 2011.
- BERHE, N. *et al.* Variations in helminth faecal egg counts in Kato–Katz thick smears and their implications in assessing infection status with *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 92, n. 3, p. 205-212, 2004
- BRASIL. Ministério da Saúde. **DATASUS: Programa de Controle da Esquistossomose – Minas Gerais**. Tabnet, [s.d]. Disponível

em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinan/pce/cnv/pcemg.def>. Acesso em: 21 nov. 2024.

BRASIL. **Sistemas de Informações Geográficas e Análise Espacial na Saúde Pública**. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. Disponível em: <[https://ares.unasus.gov.br/acervo/html/ARES/1198/1/livro\\_2.pdf](https://ares.unasus.gov.br/acervo/html/ARES/1198/1/livro_2.pdf)>. Acesso em: 17 jun. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica diretrizes técnicas**: programa de vigilância e controle da esquistossomose (PCE). 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **IBGE Cidades**. Brasília: Ministério do Planejamento e Orçamento, 2010a. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/januar/panorama>.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatísticas de Gênero**. Brasília: Ministério do Planejamento e Orçamento, 2010b. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/apps/snig/v1/?loc=0&cat=-1,-2,99,100,101,60,8,128,129&ind=4726>. Acesso 07 ago. 2024

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças Transmissíveis. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii**: Diretrizes técnicas. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agro**. Brasília: 2017. Disponível em: [https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo\\_agro/resultadosagro/index.html](https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/index.html)

BRASIL. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. **Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto**. Brasília: 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/cidades/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/saneamento/snis/produtos-do-snis/diagnosticos-snis>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças Transmissíveis. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii**: Diretrizes técnicas. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: [https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia\\_esquistossome\\_mansoni\\_diretrizes\\_tecnicas.pdf](https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_esquistossome_mansoni_diretrizes_tecnicas.pdf)

CALDAS, I.R. *et al.* Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. **Acta Tropica**, v.108, n.2-3, p.109-117, 2008.

CALDEIRA, K. *et al.* Comparison of the Kato-Katz and Helmintex methods for the diagnosis of schistosomiasis in a low-intensity transmission focus in Bandeirantes, Paraná, southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 690-692, 2012.

CAMPBELL, S. J. *et al.* Water, Sanitation, and Hygiene (WASH): A Critical Component for Sustainable Soil-Transmitted Helminth and Schistosomiasis Control. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 4, p. e2651, 2014.

- CANDIDO, R.R.F. *et al.* The affinity of magnetic microspheres for *Schistosoma* eggs. **International Journal for Parasitology**, v. 45, n. 1, p. 43-50, 2015
- CANDIDO, R.R.F. *et al.* Eggs and magnetism: new approaches for Schistosomiasis diagnosis. **Trends in Parasitology**, v. 34, n. 4, p. 267-271, 2018.
- CARABALLO, E. *et al.* The detection of anti-dengue virus IgM in urine in participants enrolled in an acute febrile illness study in Puerto Rico. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 1, p. e0007971, 2020.
- CARVALHO, O. S. *et al.* Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, 2012-2014. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, p. e2017343, 2018.
- CDC. Schistosomiasis: Laboratory Diagnosis. 2024. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>. Acesso em: 2 mai. 2025.
- CHEEVER, A. W.; HOFFMANN, K. F.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunology Today**, v. 21, n. 9, p. 465-466, 2000.
- CHEN, Y. New Approaches for Calculating Moran's Index of Spatial Autocorrelation. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e68336, 2013.
- CHEN, Y. A tutorial on kernel density estimation and recent advances. **Biostatistics & Epidemiology**, v. 1, n. 1, p. 161-187, 2017.
- CHIENG, B. *et al.* Comparison of quantitative polymerase chain reaction, Kato-Katz and circulating cathodic antigen rapid test for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection: A cross-sectional study in Kirinyaga County, Kenya. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v. 1, p. 100029, 2021
- CHUAH, C. *et al.* Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 3, p. 141-150, 2014.
- COELHO, P. M. Z. *et al.* Use of a saline gradient for the diagnosis of schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 720-723, 2009.
- COELHO, P. M. Z. *et al.* Improvement of POC-CCA interpretation by using lyophilization of urine from patients with *Schistosoma mansoni* low worm burden: towards an elimination of doubts about the concept of trace. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 6, p. e0004778, 2016.
- COLLEY, D. G. *et al.* Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253–2264, 2014.
- COLLEY, D. G. *et al.* Evaluation, validation, and recognition of the point-of-care circulating cathodic antigen, urine-based assay for mapping *Schistosoma mansoni* infections. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 1 Suppl, p. 42, 2020.

- COOLS, P. *et al.* Diagnostic performance of a single and duplicate Kato-Katz, Mini-FLOTAC, FECPAKG2 and qPCR for the detection and quantification of soil-transmitted helminths in three endemic countries. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. e0007446, 2019.
- CORSTJENS, P. L. *et al.* Circulating Anodic Antigen (CAA): a highly sensitive diagnostic biomarker to detect active *Schistosoma* infections—improvement and use during SCORE. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 1 Suppl, p. 50, 2020.
- COURA-FILHO, P. *et al.* Determinantes ambientais e sociais da esquistossomose mansoni em Ravena, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, n. 2, p. 254–265, 1995.
- COURA-FILHO, P. Uso do paradigma de risco para a esquistossomose em áreas endêmicas no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 10, n. 4, p. 464–472, 1994.
- COURA, J. R.; DE MENDONÇA, M. Z.; MADRUGA, J. P. Tentativa de avaliação do programa especial de controle da esquistossomose (PECE) no Estado da Paraíba, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20, n. 2, p. 67–76, 1982.
- CRUZ, J. I. N.; DE OLIVEIRA, G. S.; LA-CORTE, R. Retrocesso do Programa de Controle da Esquistossomose no estado de maior prevalência da doença no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 11, p. 9-9, 2020.
- DANSO-APPIAH, A. *et al.* Accuracy of point-of-care testing for circulatory cathodic antigen in the detection of schistosome infection: systematic review and meta-analysis. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 94, n. 7, p. 522, 2016.
- DAVIDSON, P. M.; DIGIACOMO, M.; MCGRATH, S. J. The Feminization of Aging: How Will This Impact on Health Outcomes and Services? **Health Care for Women International**, v. 32, n. 12, p. 1031–1045, 2011.
- DE MOIRA, A. P. *et al.* Microgeographical and tribal variations in water contact and *Schistosoma mansoni* exposure within a Ugandan fishing community. **Tropical Medicine & International Health**, v. 12, n. 6, p. 724–735, 2007.
- DESLANDES, N. Técnica de dissecação e exame de planorbídeos. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 2, p. 371-382, 1951.
- DOENHOFF, M. J. *et al.* The detection of antibodies against *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens (SEA) and CEF6 in ELISA, before and after chemotherapy. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 97, n. 7, p. 697-709, 2003.
- DOENHOFF, M. J.; CHIODINI, P. L.; HAMILTON, J. V. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies?. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 1, p. 35-39, 2004.

- DOENHOFF, M. J. *et al.* Cross-reactivity between *Schistosoma mansoni* antigens and the latex allergen Hev b 7: putative implication of cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs). **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0159542, 2016.
- DRUMMOND, S. C. *et al.* Morbidity of schistosomiasis mansoni in the state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, SUPPL. 1, p. 37–44, 2006.
- DRUMMOND, S. C. *et al.* Schistosomiasis control program in the state of Minas Gerais in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 519–523, 2010.
- DUARTE, D. B. *et al.* Renal function in hepatosplenic schistosomiasis—an assessment of renal tubular disorders. **PLoS One**, v. 9, n. 12, p. e115197, 2014.
- DUNNE, D. W. *et al.* Identification and partial purification of an antigen ( $\omega$ 1 from *Schistosoma mansoni* eggs which is putatively hepatotoxic in T-cell deprived mice. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 1, p. 54-71, 1981.
- DUNNE, D. W.; COOKE, A. A worm's eye view of the immune system: consequences for evolution of human autoimmune disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 5, p. 420-426, 2005.
- EAMUDOMKARN, C. *et al.* Diagnostic performance of urinary IgG antibody detection: A novel approach for population screening of strongyloidiasis. **PLoS One**, v. 13, n. 7, p. e0192598, 2018.
- EGESA, M. *et al.* *Schistosoma mansoni* schistosomula antigens induce Th1/Pro-inflammatory cytokine responses. **Parasite Immunology**, v. 40, n. 12, p. e12592, 2018.
- EL-LAKKANY, N. M. *et al.* Pharmacodynamics of mefloquine and praziquantel combination therapy in mice harbouring juvenile and adult *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 814-822, 2011.
- ELHAG, S. M. *et al.* Detection of schistosomiasis antibodies in urine patients as a promising diagnostic maker. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 10, p. 773–777, 2011.
- ESPÍRITO-SANTO, M. C. C. *et al.* Evaluation of real-time PCR assay to detect *Schistosoma mansoni* infections in a low endemic setting. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 1-10, 2014.
- FANTIN, R. F. *et al.* New highly antigenic linear B cell epitope peptides from Pv AMA-1 as potential vaccine candidates. **Plos one**, v. 16, n. 11, p. e0258637, 2021.
- FAVERO, V. *et al.* Optimization of the Helmintex method for schistosomiasis diagnosis. **Experimental Parasitology**, v. 177, p. 28–34, 2017.
- FAVRE, T. C. *et al.* Reliability of point-of-care circulating cathodic antigen assay for diagnosing schistosomiasis mansoni in urine samples from an endemic area of Brazil after one year of storage at -20 degrees Celsius. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 55, p. e0389-2021, 2022.

FERNÁNDEZ-SOTO, P. *et al.* A Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for early detection of *Schistosoma mansoni* in stool samples: a diagnostic approach in a murine model. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, e3126, 2014.

FERNÁNDEZ-SOTO, P. *et al.* Detection of *Schistosoma mansoni*-derived DNA in human urine samples by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). **PLoS One**, v. 14, n. 3, e0214125, 2019.

FIGUEIREDO, J. P. *et al.* Adult worm-specific IgE/IgG4 balance is associated with low infection levels of *Schistosoma mansoni* in an endemic area. **Parasite Immunology**, v. 34, n. 12, p. 604–610, 2012.

FILHO, A. M.; MARTINS, R. B. Slavery in a nonexport economy: nineteenth-century Minas Gerais Revisited. **Hispanic American Historical Review**, v. 63, n. 3, p. 537-567, 1983.

FOX, J.; WEISBERG, S. An R companion to applied regression. 3ed. Sage Publications, 2018

GANDASEGUI, J. *et al.* A field survey using LAMP assay for detection of *Schistosoma mansoni* in a low-transmission area of schistosomiasis in Umbuzeiro, Brazil: Assessment in human and snail samples. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 3, p. e0006314, 2018

GAZZINELLI, A. *et al.* Socioeconomic determinants of schistosomiasis in a poor rural area in Brazil. **Acta Tropica**, v. 99, n. 2-3, p. 260-271, 2006.

GOMES, A. L. V. *et al.* Development of a real time polymerase chain reaction for quantitation of *Schistosoma mansoni* DNA. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 133-136, 2006.

GOMES, D. S. *et al.* Risk clusters of COVID-19 transmission in northeastern Brazil: prospective space–time modelling. **Epidemiology & Infection**, v. 148, p. e188, 2020.

GOMES, D. S. *et al.* Intestinal schistosomiasis-related mortality in Minas Gerais, Brazil, 2000–2019: Temporal trends and spatial patterns for determining priority areas. **Tropical Medicine & International Health**, v. 28, n. 3, p. 215-225, 2023.

GRAEFF-TEIXEIRA, C. *et al.* Use of *Schistosoma mansoni* soluble egg antigen (SEA) for antibody detection and diagnosis of schistosomiasis: The need for improved accuracy evaluations of diagnostic tools. **Acta Tropica**, v. 215, p. 105800, 2021.

GRIMES, J. E. T. *et al.* The Relationship between Water, Sanitation and Schistosomiasis: A Systematic Review and Meta-analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 12, p. e3296, 2014.

GRYSEELS, B. *et al.* Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 2006.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 383-397, 2012.

GUIMARÃES, I. C. S.; TAVARES-NETO, J.. Transmissão urbana de esquistossomose em crianças de um bairro de Salvador, Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 5, p. 451–455, 2006.

GUIMARÃES, R. J. DE P. S. *et al.* A geoprocessing approach for studying and controlling schistosomiasis in the state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 524–531, 2010.

HAY, S. I. *et al.* Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 333 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet**, v. 390, n. 10100, p. 1260–1344, 2017.

HINZ, R. *et al.* Serological approaches for the diagnosis of schistosomiasis—A review. **Molecular and Cellular Probes**, v. 31, p. 2–21, 2017.

HU, Y. *et al.* Spatio-temporal Transmission and Environmental Determinants of Schistosomiasis Japonica in Anhui Province, China. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 2, p. e0003470–e0003470, 2015.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Portal Cidades**. 2021. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg>. Acessado em 10 jan. de 2022.

IHME - Institute for Health Metric and Evaluation. Schistosomiasis-level 3 cause. Seattle, WA: IHME, University of Washington; 2019. [https://www.healthdata.org/results/gbd\\_summaries/2019/schistosomiasis-level-3-cause](https://www.healthdata.org/results/gbd_summaries/2019/schistosomiasis-level-3-cause). Acesso em: 10 jul 2024.

IHME - Institute for Health Metric and Evaluation. **Schistosomiasis - Level 3 cause | Institute for Health Metrics and Evaluation**. Seattle, WA: IHME, University of Washington; 2021. Disponível em: <https://www.healthdata.org/research-analysis/diseases-injuries-risks/factsheets/2021-schistosomiasis-level-3-disease>. Acesso em: 10 jan. 2024.

IPEA (Instituto De Pesquisa Econômica Aplicada). **Atlas do Desenvolvimento Humano no Brasil**. Disponível em: <http://www.atlasbrasil.org.br/ranking>. Acesso em: 17 jun. 2024.

ITOH, M. *et al.* Sensitive enzyme-linked immunosorbent assay with urine samples: a tool for surveillance of schistosomiasis japonica. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 34, n. 3, p. 469–472, 2003.

JANNOTTI-PASSOS L. K., CALDEIRA R. L, CARVALHO O. S. **Técnicas utilizadas no estudo dos moluscos do gênero *Biomphalaria* e na manutenção do ciclo de *Schistosoma mansoni***. In OS Carvalho, PMZ Coelho, HL Lenzi, *Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 531-544. 2008

JASSIM, A. *et al.* Antibody isotypes of immune complexes in schistosomiasis mansoni in Sudan. **Parasite Immunology**, v. 9, n. 6, p. 651-665, 1987.

- JIZ, M. *et al.* Immunoglobulin E (IgE) responses to paramyosin predict resistance to reinfection with *Schistosoma japonicum* and are attenuated by IgG4. **Infection and Immunity**, v. 77, n. 5, p. 2051-2058, 2009
- JOSHI, M. S. *et al.* Evaluation of Urine as a Clinical Specimen for Diagnosis of Hepatitis A. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 9, n. 4, p. 840–845, 2002.
- KARL, S. *et al.* The iron distribution and magnetic properties of schistosome eggshells: implications for improved diagnostics. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 5, p. e2219, 2013.
- KATSURAGI, K. *et al.* Highly sensitive urine-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibody to *Helicobacter pylori*. **Helicobacter**, v. 3, n. 4, p. 289-295, 1998.
- KATO, K.; MIURA, M. Comparative examinations. **Japanese Journal of Parasitology**, v. 3, n. 35, 1954.
- KATZ, N. *et al.* A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 14, n. 6, p. 397-400, 1972.
- KATZ, N. *et al.* Prevalência da esquistossomose em escolares no Estado de Minas Gerais. In: **Resumos do XIV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, João Pessoa**. 1978.
- KATZ, N. Schistosomiasis control in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 33–35, 1998.
- KATZ, N. A descoberta da esquistossomose no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 2, 2009.
- KATZ, N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthoses. Belo Horizonte: Instituto René Rachou, 2018. Disponível em: [https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/25662/2/Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthoses.pdf](https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/25662/2/Inquérito%20Nacional%20de%20Prevalência%20da%20Esquistossomose%20mansoni%20e%20Geo-helminthoses.pdf). Acesso em: 3 jan. 2020.
- KLASEN, I. S. *et al.* Quantitative determination of low and high molecular weight proteins in human urine: influence of temperature and storage time. **Clinical chemistry**, v. 45, n. 3, p. 430-432, 1999.
- KRAUTH, S. J. *et al.* An in-depth analysis of a piece of shit: distribution of *Schistosoma mansoni* and hookworm eggs in human stool. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 12, p. e1969, 2012.
- KULLDORFF, M. A spatial scan statistic. **Communications in Statistics - Theory and Methods**, v. 26, n. 6, p. 1481–1496, 1997.
- Kuntz E. R. Effect of light and temperature on shedding of *Schistosoma mansoni* cercariae. **Naval Medical Research Institute**, v. 7 n. 16, 1946.

KURIYAMA, M. The detection of urinary immunoglobulins with ELISA. **The Japanese Journal of Urology**, v. 70, n. 2, p. 228-234, 1979

LAMBERTI, O. *et al.* *Schistosoma mansoni* infection risk for school-aged children clusters within households and is modified by distance to freshwater bodies. **PLoS One**, v. 16, n. 11, p. e0258915, 2021.

LAMBERTON, P. H. L. *et al.* Sensitivity and specificity of multiple Kato-Katz thick smears and a circulating cathodic antigen test for *Schistosoma mansoni* diagnosis pre-and post-repeated-praziquantel treatment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, p. e3139, 2014.

LAMBERTUCCI, J. R. *et al.* A esquistossomose mansoni em Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20, n. 1, p. 47–52, 1987.

LAMBERTUCCI, J. R. Acute schistosomiasis mansoni: revisited and reconsidered. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 105, n. 4, p. 422-435, 2010

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. **Biometrics**, p. 363-374, 1977.

LINDHOLZ, C. G. *et al.* Study of diagnostic accuracy of Helmintex, Kato-Katz, and POC-CCA methods for diagnosing intestinal schistosomiasis in Candéal, a low intensity transmission area in northeastern Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 3, p. e0006274, 2018.

LOPES, K. F. *et al.* Development and evaluation of an indirect ELISA using a multiepitope antigen for the diagnosis of intestinal schistosomiasis. **Parasitology**, v. 150, n. 8, p. 683-692, 2023.

LU, D.B. *et al.* Single-sex schistosome infections of definitive hosts: Implications for epidemiology and disease control in a changing world. **PLoS Pathogens**, v. 14, n. 3, p. e1006817, 2018.

LUND, A. J. *et al.* Land use impacts on parasitic infection: a cross-sectional epidemiological study on the role of irrigated agriculture in schistosome infection in a dammed landscape. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 10, p. 1-10, 2021

LV, C. *et al.* Evaluation of recombinant multi-epitope proteins for diagnosis of goat schistosomiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. **Parasites & Vectors**, v. 9, p. 1-11, 2016.

MADDISON, S. E. *et al.* Serodiagnosis of *Schistosoma mansoni* with microsomal adult worm antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay using a standard curve developed with a reference serum pool. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 34, n. 3, p. 484-494, 1985.

MAGALHÃES, F. C. *et al.* Accuracy of real-time polymerase chain reaction to detect *Schistosoma mansoni*-infected individuals from an endemic area with low parasite loads. **Parasitology**, v. 147, n. 10, p. 1140-1148, 2020.

MAGALHÃES, F. C. *et al.* Evaluation of isotype-based serology for diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in individuals living in endemic areas with low parasite burden. **Acta Tropica**, v. 248, p. 107017, 2023.

MAMBELLI, F. S. *et al.* Recombinant micro-exon gene 3 (MEG-3) antigens from *Schistosoma mansoni* failed to induce protection against infection but show potential for serological diagnosis. **Acta Tropica**, v. 204, p. 105356, 2020

MARTÍNEZ, P. *et al.* Urine samples as a possible alternative to serum for human immunodeficiency virus antibody screening. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 15, n. 10, p. 810–813, 1996.

MARTINS-MELO, F. R. *et al.* Trends in schistosomiasis-related mortality in Brazil, 2000–2011. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 14, p. 1055–1062, 2014.

MCMANUS, D. P. *et al.* Schistosomiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 1–19, 9 ago. 2018.

MEIRA, J. A. Esquistossomose mansoni. **Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo**, v. 7, n. 2, p. 187-230, 1953.

MENEZES, C. A. *et al.* FioSchisto's expert perspective on implementing WHO guidelines for schistosomiasis control and transmission elimination in Brazil. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1268998, 2023.

MENEZES, D. L. *et al.* Accuracy study of Kato-Katz and helmintex methods for diagnosis of Schistosomiasis mansoni in a moderate endemicity area in Sergipe, Northeastern Brazil. **Diagnostics**, v. 13, n. 3, p. 527, 2023.

MEWAMBA, E. M. *et al.* Field assessment in Cameroon of a reader of POC-CCA lateral flow strips for the quantification of *Schistosoma mansoni* circulating cathodic antigen in urine. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 15, n. 7, p. e0009569, 2021.

MESQUITA, S. G. *et al.* A loop-mediated isothermal amplification assay for *Schistosoma mansoni* detection in *Biomphalaria* spp. from schistosomiasis-endemic areas in Minas Gerais, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 14, p. 1-12, 2021.

MLACHA, Y. P. *et al.* Fine scale mapping of malaria infection clusters by using routinely collected health facility data in urban Dar es Salaam, Tanzania. **Geospatial Health**, v. 12, n. 1, 2017.

MUSISI, M.; NDULA, V. *Weak Links: The Breakdown in Mass Drug Administration for Bilharzia*. London: London School of Economics and Political Science, Centre for Public Authority and International Development, [s.d.]. Disponível em: <https://www.lse.ac.uk/africa/assets/Documents/CPAID-Comic-the-breakdown-in-mass-drug-administraton-for-bilharzia.pdf>.

MOOEE, D. V.; SANDGEOUND, J. H. The Relative Egg producing Capacity of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 5, n. 5, p. 831-840, 1956.

MUSUVA, R. M. *et al.* Unprotected water sources and low latrine coverage are contributing factors to persistent hotspots for schistosomiasis in western Kenya. **PLoS One**, v. 16, n. 9, p. e0253115, 2021.

NASCIMENTO, G. L. *et al.* The cost of a disease targeted for elimination in Brazil: the case of schistosomiasis mansoni. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, p. e180347, 2019.

NEGRÃO-CORRÊA, D. *et al.* Association of *Schistosoma mansoni*-specific IgG and IgE antibody production and clinical schistosomiasis status in a rural area of Minas Gerais, Brazil. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e88042, 2014.

NELWAN, M. L. Schistosomiasis: Life Cycle, Diagnosis, and Control. **Current Therapeutic Research**, v. 91, p. 5–9, 2019.

NOYA, O. *et al.* Schistosomiasis in America. *Em*: FRANCO-PAREDES, C.; SANTOS-PRECIADO (Eds.). **Neglected Tropical Diseases - Latin America and the Caribbean. Neglected Tropical Diseases**. Viena: Springer, 2015. p. 11–43.

OGONGO, P.; KARIUKI, T. M.; WILSON, R. A. Diagnosis of schistosomiasis mansoni: an evaluation of existing methods and research towards single worm pair detection. **Parasitology**, v. 145, n. 11, p. 1355-1366, 2018.

OGONGO, P. *et al.* The road to elimination: current state of schistosomiasis research and progress towards the end game. **Frontiers Immunology**, v. 3, p. 846108, 2022.

OKOYO, C. *et al.* Comparing the performance of circulating cathodic antigen and Kato-Katz techniques in evaluating *Schistosoma mansoni* infection in areas with low prevalence in selected counties of Kenya: a cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 18, n. 1, p. 478, 2018.

OLIVEIRA, W. J. *et al.* Evaluation of diagnostic methods for the detection of intestinal schistosomiasis in endemic areas with low parasite loads: Saline gradient, Helmintex, Kato-Katz and rapid urine test. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 2, p. e0006232–e0006232, 2018.

PALASIO, R. G. S. *et al.* Geographic information system-based association between the sewage network, geographical location of intermediate hosts, and autochthonous cases for the estimation of risk areas of schistosomiasis infection in Ourinhos, São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 54, p. e0851-2020, 2021.

PARÁ, M. Dados estatísticos de viscerotomia sobre doenças e condições mórbidas do homem no Brasil: I. Schistosomose Mansônica no período de 1937-1946. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 47, p. 521-534, 1949.

PARAENSE, W. L. Fauna planorbíca do Brasil. **Introdução à Geografia Médica do Brasil**, v. 1, p. 213-239, 1972.

PARAENSE, W. L. Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. **Arquivo do Museu Nacional**, v. 55, p. 105-111, 1975.

PAZ, W. S. DA *et al.* Spatiotemporal clusters of schistosomiasis mortality and association with social determinants of health in the Northeast region of Brazil (1980–2017). **Acta Tropica**, v. 212, p. 105668, 2020.

PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews Immunology*, v. 2, n. 7, p. 499–511, 2002.

PELLEGRINO, J.; SIQUEIRA, A. F. A perfusion technic for recovery of *Schistosoma mansoni* from experimentally infected guinea pigs. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 8, n. 4, p. 589-597, 1956.

PELLON, A. B.; TEIXEIRA, I. Distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no Brasil. Divisão de Organização Sanitária do Ministério da Saúde. Rio de Janeiro., [s. l.], 1950.

PELLON, A. B.; TEIXEIRA, I. O Inquérito helmintológico escolar em cinco Estados das Regiões: Leste, Sul e Centro Oeste. Divisão de Organização Sanitária do Ministério da Saúde Rio de Janeiro., 1953.

PLATT, R. N. *et al.* Genomic analysis of a parasite invasion: Colonization of the Americas by the blood fluke *Schistosoma mansoni*. **Molecular Ecology**, v. 31, n. 8, p. 2242-2263, 2022.

PINTO, H.A.; MELO, A.L. Larvas de trematódeos em moluscos do Brasil: panorama e perspectivas após um século de estudos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 4, 2014.

QUITES, H. F. D. O. *et al.* Avaliação das ações de controle da esquistossomose na Estratégia de Saúde da Família em municípios do Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 2, p. 375–389, 2016.

RABELLO, A. L. T. *et al.* Humoral immune responses in acute schistosomiasis mansoni: relation to morbidity. **Clinical Infectious Diseases**, v. 21, n. 3, p. 608-615, 1995.

RABELLO, A. L. T. *et al.* Humoral immune responses in patients with acute *Schistosoma mansoni* infection who were followed up for two years after treatment. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, n. 3, p. 304-308, 1997.

RATTANAXAY, P *et al.* Sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection in urine samples. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, n. 4, p. 362–365, 2001.

REIS, D. C. DOS *et al.* Accessibility to and utilisation of schistosomiasis-related health services in a rural area of state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 587–597, 2010.

REITZUG, F.; LEDIEN, J.; CHAMI, G. F. Associations of water contact frequency, duration, and activities with schistosome infection risk: A systematic review and meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 6, 2023.

RESENDES, A. P. DA C.; SOUZA-SANTOS, R.; BARBOSA, C. S. Internação hospitalar e mortalidade por esquistossomose mansônica no Estado de Pernambuco, Brasil, 1992/2000. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 5, p. 1392–1401, 2005.

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. **Bulletin of the United States Army Medical Department**, v.8, n. 4, 1948.

RODRIGUES, V. L. *et al.* Glomerulonephritis in schistosomiasis mansoni: a time to reappraise. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 638-642, 2010.

ROLLEMBERG, C. V. V. *et al.* Predicting frequency distribution and influence of sociodemographic and behavioral risk factors of *Schistosoma mansoni* infection and analysis of co-infection with intestinal parasites. **Geospatial Health**, v. 10, n. 1, p. 13–19, 2015.

ROSINGER, A. Y. *et al.* Schistosomiasis and hydration status: *Schistosoma haematobium*, but not *Schistosoma mansoni* increases urine specific gravity among rural Tanzanian women. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 166, n. 4, p. 952-959, 2018.

RUANTIP, Sirowan *et al.* Accuracy of Urine and Serum Assays for the Diagnosis of Strongyloidiasis by Three Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Protocols. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, n. 1, p. 127–129, 2019.

RUAS, A. C. L. *et al.* Immunoinformatic predictions and characterization of *Schistosoma mansoni* peptides as candidates for immunodiagnostic. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 111, n. 3, p. 116632, 2025.

SAHNI, A.K. *et al.* Usefulness of enzyme immunoassay (EIA) for screening of anti HIV antibodies in urinary specimens: A comparative analysis. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 70, n. 3, p. 211–214, 2014.

SAMAD, M. S. *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection using urine samples and its application in Bangladesh. **Parasitology International**, v. 62, n. 6, p. 564–567, 2013.

SANDOVAL, N. *et al.* A new PCR-based approach for the specific amplification of DNA from different *Schistosoma* species applicable to human urine samples. **Parasitology**, v. 133, n. 5, p. 581-587, 2006.

SANTO, A. H. Potencial epidemiológico da utilização das causas múltiplas de morte por meio de suas menções nas declarações de óbito, Brasil, 2003. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 22, n. 3, p. 178–186, 2007.

SANTOS, A. D. *et al.* Spatial analysis for the identification of risk areas for schistosomiasis mansoni in the State of Sergipe, Brazil, 2005-2014. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 05, p. 608-615, 2016.

- SANTOS, M. B. *et al.* Spatial analysis of viral hepatitis and schistosomiasis coinfection in an endemic area in Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 3, p. 383–387, 2017.
- SANTOS, I. G. A. *et al.* Analysis and spatial distribution of schistosomiasis mansoni in a historically endemic area of northeastern Brazil. **Tropical Medicine & International Health**, v. 25, n. 9, p. 1085–1092, 2020.
- SANTOS, I. G. A. *et al.* Aspects related to positivity for schistosomiasis: a cross-sectional study in a low prevalence area in Alagoas, Brazil, 2020. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 30, p. e2020520, 2021.
- SECOR, W. E. Water-based interventions for schistosomiasis control. **Pathogens and Global Health**, v. 108, n. 5, p. 246-254, 2014.
- SCHWARTZ, C.; FALLON, P. G. *Schistosoma* “eggs-iting” the host: granuloma formation and egg excretion. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 2492, 2018
- SCHOLTE, R. G. C. *et al.* Predictive risk mapping of schistosomiasis in Brazil using Bayesian geostatistical models. **Acta Tropica**, v. 132, p. 57-63, 2014.
- SILAS, S. *et al.* Human IgE responses to different splice variants of *Schistosoma mansoni* tropomyosin: Associations with immunity. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 6, p. 381–390, 2014.
- SILVA-MORAES, V. *et al.* Diagnosis of *Schistosoma mansoni* infections: what are the choices in Brazilian low-endemic areas? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, n. 2, p. e180478, 2019a.
- SILVA-MORAES, V. *et al.* Serological proteomic screening and evaluation of a recombinant egg antigen for the diagnosis of low-intensity *Schistosoma mansoni* infections in endemic area in Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, p. e0006974, 2019b.
- SILVA, B. M. *et al.* Persistence of schistosomiasis-related morbidity in northeast Brazil: An integrated spatio-temporal analysis. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 6, n. 4, p. 193, 2021.
- SILVEIRA, A.M. *et al.* High levels of IgG4 to *Schistosoma mansoni* egg antigens in individuals with periportal fibrosis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**.v.66, n.5, p.542-549, 2002.
- SIMÕES, T. C.; SENA, R.; MEIRA, K. C. The influence of the age-period-cohort effects on the temporal trend mortality from schistosomiasis in Brazil from 1980 to 2014. **PLoS One**, v. 15, n. 4, p. e0231874, 2020.
- SIQUEIRA, L. M. V. *et al.* A real-time PCR assay for the diagnosis of intestinal schistosomiasis and cure assessment after the treatment of individuals with low parasite burden. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 620417, 2021.

SIQUEIRA, W. F. *et al.* Immunogenic mapping of rDyn-1 and rKDDR-plus proteins and selection of oligopeptides by immunoblotting for the diagnosis of *Leishmania infantum*-infected dogs. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 8, p. e0011535, 2023.

SOUZA, M. A.A.; MELO, A. L. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos gastrópodes coletados em Mariana, Minas Gerais, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 102, p. 11-18, 2012.

SPENCER, S. A. *et al.* Five-Year Follow-Up on the Prevalence and Intensity of Infections of *Schistosoma mansoni* in a Hard-to-Reach District of Madagascar. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 5, p. 1841–1850, 2021.

STANDLEY, C. J. *et al.* Performance of circulating cathodic antigen (CCA) urine-dipsticks for rapid detection of intestinal schistosomiasis in schoolchildren from shoreline communities of Lake Victoria. **Parasites & Vectors**, v. 3, p. 1-5, 2010.

STEVERDING, D. The spreading of parasites by human migratory activities. **Virulence**, v. 11, n. 1, p. 1177-1191, 2020.

STOTHARD, J. R. *et al.* Diagnostics for schistosomiasis in Africa and Arabia: a review of present options in control and future needs for elimination. **Parasitology**, v. 141, n. 14, p. 1947-1961, 2014.

TAKAGI, A. Detection of *H. pylori* by serum and urine-based ELISA. **Nihon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine**, v. 61, n. 1, p. 88-91, 2003.

TAKAGI, Hidekazu *et al.* Surveillance of *Wuchereria bancrofti* infection by anti-filarial IgG4 in urine among schoolchildren and molecular xenomonitoring in Sri Lanka: a post mass drug administration study. **Tropical Medicine and Health**, v. 47, n. 1, p. 39, 2019.

TAKAHASHI, S *et al.* Detection of immunoglobulin G and A antibodies to rubella virus in urine and antibody responses to vaccine-induced infection. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, n. 1, p. 24–27, 1998.

TAMAROZZI, F. *et al.* Evaluation of microscopy, serology, circulating anodic antigen (CAA), and eosinophil counts for the follow-up of migrants with chronic schistosomiasis: a prospective cohort study. **Parasites & Vectors**, v. 14, p. 1-11, 2021.

TANGO, T. Spatial scan statistics can be dangerous. **Statistical Methods in Medical Research**, v. 30, n. 1, p. 75–86, 2021.

TANGO, T.; TAKAHASHI, K. A flexible spatial scan statistic with a restricted likelihood ratio for detecting disease clusters. **Statistics in Medicine**, v. 31, n. 30, p. 4207–4218, 2012.

TCHUEM-TCHUENTÉ, L-A. *et al.* Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-tests for diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in Cameroon. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 7, p. e1758, 2012.

TCHUEM-TCHUENTÉ, L-A. *et al.* Moving from control to elimination of schistosomiasis in sub-Saharan Africa: time to change and adapt strategies. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, 20 fev. 2017.

- TEIXEIRA, C. F. *et al.* Detection of *Schistosoma mansoni* eggs in feces through their interaction with paramagnetic beads in a magnetic field. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 1, n. 2, 2007.
- TENCER, J. *et al.* Size-selectivity of the glomerular barrier to high molecular weight proteins: Upper size limitations of shunt pathways. **Kidney International**, v. 53, n. 3, p. 709–715, 1998.
- TSANG, V. C. *et al.* *Schistosoma mansoni* adult microsomal antigens, a serologic reagent. I. Systematic fractionation, quantitation, and characterization of antigenic components. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 130, n. 3, p. 1359-1365, 1983.
- TSANG, V. C. *et al.* Demonstration of species-specific and cross-reactive components of the adult microsomal antigens from *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum* (MAMA and JAMA). **Journal of Immunology**, v. 132, n. 5, p. 2607-2613, 1984.
- UTZINGER, J. *et al.* From innovation to application: Social–ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 120, p. S121-S137, 2011.
- VAN DAM, G. J. *et al.* Diagnosis of schistosomiasis by reagent strip test for detection of circulating cathodic antigen. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5458-5461, 2004
- VAN LIESHOUT, L. *et al.* Circulating cathodic antigen levels in serum and urine of schistosomiasis patients before and after chemotherapy with praziquantel. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 311–312, 1993.
- VÁZQUEZ, S. *et al.* Kinetics of antibodies in sera, saliva, and urine samples from adult patients with primary or secondary dengue 3 virus infections. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 3, p. 256–262, 2007.
- VIANA, A. G. *et al.* Discrepancy between batches and impact on the sensitivity of point-of-care circulating cathodic antigen tests for *Schistosoma mansoni* infection. **Acta Tropica**, v. 197, p. 105049, 2019.
- VLAS, S. J. DE; GRYSEELS, B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. **Parasitology Today**, v. 8, n. 8, 1992.
- WALKER, J. W. *et al.* Environmental predictors of schistosomiasis persistent hotspots following mass treatment with praziquantel. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 2, p. 328, 2020
- WHO. **Prevention and Control of Schistosomiasis and Soil-Transmitted Helminthiasis**. Geneva: [s. n.], 2002. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-TRS-912>
- WHO. **Schistosomiasis: number of people treated worldwide in 2014**. Geneva: World Health Organization; 2016 Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer9105#>>. Acesso em: 17 jun. 2024.

WHO. **Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites**. Geneva: World Health Organization; 2019. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515344>

WHO. **Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals WHO: A road map for neglected tropical diseases 2021-2030** (World Health Organization). Geneva: World Health Organization; 2020a. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240052932>

WHO. Schistosomiasis. Key facts. [S. l.], 2020b. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>. Acesso em: 7 jul. 2021.

WHO. **WHO Guideline on control and elimination of human schistosomiasis**. [s. l.], p. 142, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240041608>. Acesso em: 31 mar. 2022.

WILSON, R. A. *et al.* *Schistosoma mansoni*: the activity and development of the schistosomulum during migration from the skin to the hepatic portal system. **Parasitology**, v. 77, n. 1, p. 57-73, 1978.

WOLMARANS, C. T. *et al.* Daily emergence of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* cercariae from naturally infected snails under field conditions. **Journal of Helminthology**, v. 76, n. 3, p. 273–277, 2002.

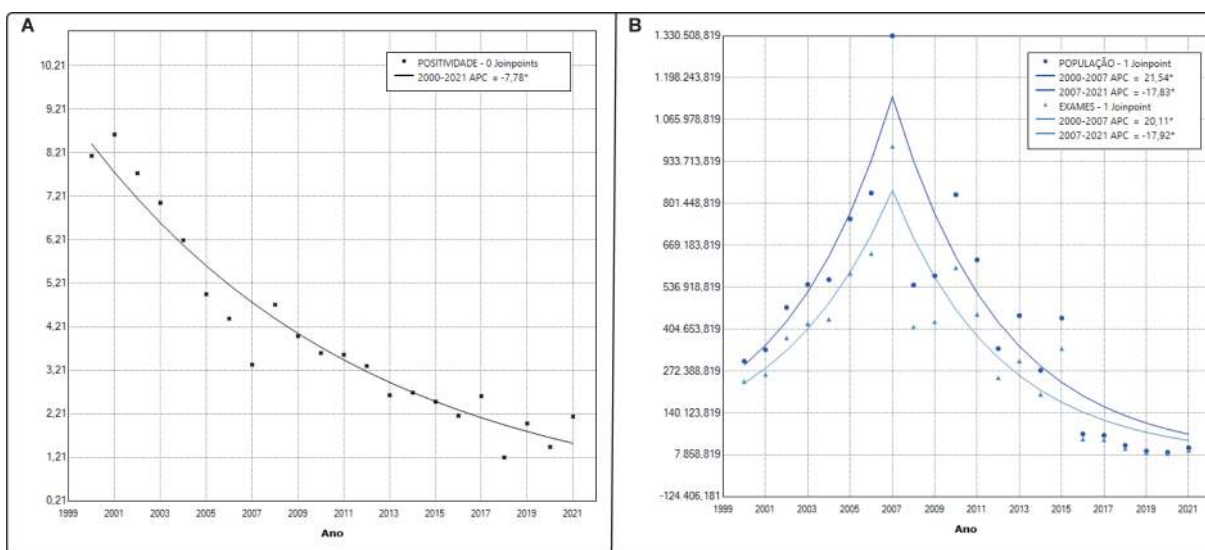
XIA, C. *et al.* Village-based spatio-temporal cluster analysis of the schistosomiasis risk in the Poyang Lake Region, China. **Parasites & Vectors**, v. 10, p. 1-10, 2017

XIA, S. *et al.* Epidemiological big data and analytical tools applied in the control programmes on parasitic diseases in China: NIPD's sustained contributions in 70 years. **Advances in Parasitology**, v. 110, p. 319-347, 2020.

ZHOU, Y.; ZHENG, H.; JIANG, Q. A diagnostic challenge for *Schistosomiasis japonica* in China: consequences on praziquantel-based morbidity control. **Parasites & Vectors**, v. 4, p. 1-7, 2011.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A - Indicadores operacionais e epidemiológicos do PCE em Minas Gerais



Apêndice A – Análise de tendência temporal da taxa de positividade (A), população trabalhada e exames realizados (B) no estado de Minas Gerais, Brasil 2000-2021.

# APÊNDICE B – Produção científica no período de doutoramento (2021-2025)

## ARTIGO DERIVADO DA TESE



DOI: 10.1111/tmi.13850

## RESEARCH ARTICLE

### Intestinal schistosomiasis-related mortality in Minas Gerais, Brazil, 2000–2019: Temporal trends and spatial patterns for determining priority areas

Dharlito Soares Gomes | Paulo Ricardo Silva Coelho |  
 Allan de Jesus Mendonça Severino | Tatyane Martins Cirilo |  
 Nathália Moreira Teodoro de Oliveira | David Soeiro Barbosa | Stefan Michael Geiger

Department for Parasitology, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

## Correspondence

Dharlito Soares Gomes, Department for Parasitology, Institute for Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Avenida Antônio Carlos 6627, 31270-901 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.  
 Email: darlilton@gmail.com

## Abstract

**Objective:** To identify priority areas for schistosomiasis control, we analysed the epidemiological characteristics, temporal trends and spatial patterns of schistosomiasis-related mortality in the state of Minas Gerais from 2000 to 2019.

**Methods:** Ecological and time-series study with spatial analysis techniques on deaths from *Schistosomiasis mansoni*. A log-linear regression model was used to identify changes in mortality rates. Moran's global index, local indicators of spatial association and a retrospective spatio-temporal permutation model were applied to identify the spatial and temporal distribution of mortality rates and assist in identifying priority areas for interventions.

**Results:** A total of 1290 deaths from schistosomiasis were recorded between 2000 and 2019, with an average mortality rate of 0.33 deaths/100,000. Although the overall mortality rate in the state of Minas Gerais decreased significantly over time (average annual percentage change =  $-9.6$ ; 95% confidence interval =  $-14.4$  to  $-4.6$ ;  $p < 0.001$ ), it increased in the mesoregions of Jequitinhonha, Mucuri Valley, and Rio Doce Valley. Spatial analysis identified the displacement and emergence of high-risk clusters from the central region of the state to the mesoregion of Rio Doce Valley.

**Conclusion:** Temporal changes and shifting of high-risk areas from the central region to the mesoregion of Rio Doce Valley may indicate possible failures in early diagnosis and treatment of the schistosomiasis control program in these areas. Our research contributes to a better understanding of the spatio-temporal dynamics of death rates due to schistosomiasis infections and might help health authorities to direct resources most efficiently to avoid serious clinical outcomes in Minas Gerais.

## KEYWORDS

Moran's  $I$ , mortality rate, schistosomiasis, space-time scan statistics

## INTRODUCTION

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by trematode parasites of the genus *Schistosoma* that affects humans and other mammalian hosts in many tropical regions. Human schistosomiasis accounts for approximately 140 million infections, ranging in second place after malarial infections [1]. It is considered a neglected tropical disease, closely linked to poverty and to regions with poor or no sanitation

[2]. Today, 78 countries in tropical or subtropical regions in Africa, Asia, and Latin America are considered endemic for schistosomiasis [3, 4]. The latest estimates from the Global Burden of Disease study calculated a total of 1.64 million disability-adjusted life years due to premature death and/or morbidity and around 11,500 deaths in 2019 [1].

Among schistosome species, *Schistosoma mansoni* merits special attention, because chronic infection can cause severe hepatic and intestinal pathologies causing considerable morbidity and mortality in regions of the African and American continents [5]. The parasite and its transmission

Sustainable Development Goal: Good Health and Wellbeing

Trop Med Int Health. 2023;28:215–225.

wileyonlinelibrary.com/journal/tmi

© 2023 John Wiley & Sons Ltd. | 215

1) GOMES, D.S.; COELHO, P.R.S.; SEVERINO, A.J.M.; CIRILO, T.M.; OLIVEIRA, N.M.T.; BARBOSA, D.S.; GEIGER, S.M. Intestinal schistosomiasis-related mortality in Minas Gerais, Brazil, 2000–2019: Temporal trends and spatial patterns for determining priority areas. *Tropical Medicine & International Health*, v. 28, n. 3, p. 215–225, 15 jan. 2023.

## ARTIGO DERIVADO DA TESE

Parasitology International 110 (2026) 103145



Contents lists available at ScienceDirect

Parasitology International

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/parint](http://www.elsevier.com/locate/parint)

## Mapping risk factors and spatial clusters of schistosomiasis mansoni in rural communities from Brazil: three cross-sectional studies between 2014 and 2022

Dharlilton Soares Gomes<sup>a,\*</sup>, Bianca Leal de Oliveira<sup>a,1</sup>, Paulo Ricardo Silva Coelho<sup>a</sup>, Allan de Jesus Mendonça Severino<sup>a</sup>, Nathália Moreira Teodoro de Oliveira<sup>a</sup>, Silvana Carvalho Thiengo<sup>b</sup>, Ricardo Toshio Fujiwara<sup>a</sup>, Deborah Aparecida Negrão-Corrêa<sup>a</sup>, Stefan Michael Geiger<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department for Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

<sup>b</sup> Department of Malacology, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, National Reference Laboratory for Schistosomiasis – Malacology, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

## ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Schistosomiasis  
*Schistosoma mansoni*  
Risk factors  
FlexScan  
Kernel density estimator  
Brazil

## ABSTRACT

This study aimed to determine the human positivity rate for *S. mansoni* infection and evaluate the association between socioeconomic factors and behavioral factors, as well as identify risk areas and changes in risk factors over the years 2014, 2015, and 2022 in rural communities in Brazil. We conducted three cross-sectional studies, included parasitological and malacological surveys, as well as risk questionnaires. To identify factors associated with *S. mansoni* infection, we used binomial generalized linear models. Spatial clusters of high-risk areas for *S. mansoni* infection were identified using Kernel and Flexible Spatial Scan. After anti-parasitic treatment and educational interventions, we observed a decline in prevalence from 2014 (45.9%) to 2015 (10.38%), followed by an increase to 26.03% in 2022. Proximity to streams (<200 m) and lack of household bathrooms remained significant risk factors in both 2014 and 2022. In 2022, using untreated water also increased the odds of infection. A persistent high-risk cluster was identified in the Tocantins community across all years (relative risk: 2.03–4.18), where residents continue to rely on a contaminated stream due to incomplete water infrastructure projects. These findings reveal the limitations of control strategies based only on diagnosis and treatment. Persistent transmission in vulnerable areas underscores the urgent need for integrated public health actions. Sustainable progress toward schistosomiasis elimination requires not only treatment, but also universal access to clean water, improved sanitation, and targeted health education. High-risk clusters like Tocantins demand prioritized, multisectoral interventions to reduce health disparities and interrupt the cycle of reinfection.

## 1. Introduction

Schistosomiasis is a neglected, tropical disease caused by blood flukes of the genus *Schistosoma*, which affect more than 151 million people and are endemic in 78 countries in Africa, Asia and Latin America [1]. In Brazil, it is estimated that about 1.5 million people are affected by intestinal schistosomiasis, caused by *Schistosoma mansoni* [2] and with a morbidity burden estimated at 22.13 disability-adjusted life years (DALYs) in 2021 [1]. For the transmission of schistosomiasis to occur, it

is necessary that the infected definitive hosts, principally human beings, dispose of their contaminated feces in untreated water collections [3]. The contact of *S. mansoni* eggs present in human feces with fresh water leads to the hatching of ciliated larvae, which might infect the intermediate hosts, snails of the genus *Biomphalaria* – especially *B. glabrata*, *B. straminea*, and *B. tenagophila* [4]. These infected snails release cercariae in huge quantities, through asexual reproduction, into aquatic environments, transforming these water bodies into infection sites for humans and other mammals.

\* Corresponding author at: Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Avenida Antônio Carlos 6627, Zip Code: 31270-901 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

E-mail address: [darligton@gmail.com](mailto:darligton@gmail.com) (D.S. Gomes).

<sup>1</sup> These authors contributed equally to this work and share first authorship.

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2025.103145>

Received 2 March 2025; Received in revised form 9 August 2025; Accepted 14 August 2025

Available online 17 August 2025

1383-5769/© 2025 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

2) GOMES, D.S.; OLIVEIRA, B.L.; COELHO, P.R.S.; SEVERINO, A.J.M.; OLIVEIRA, N.M.T.; THIENGO, S.C.; FUJIWARA, R.T.; NEGRÃO-CORRÊA, D.A.; GEIGER, S.M. *et al.* Mapping risk factors and spatial clusters of schistosomiasis mansoni in rural communities from Brazil: three cross-sectional studies between 2014 and 2022. **Parasitology International**, v. 110, p.103145, 2026.

## ARTIGO COMO PRIMEIRO AUTOR

Acta Tropica 231 (2022) 106434



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/actatropica](http://www.elsevier.com/locate/actatropica)

## *Lippia alba* and *Lippia gracilis* essential oils affect the viability and oviposition of *Schistosoma mansoni*

Dharlilton Soares Gomes<sup>a</sup>, Deborah Aparecida Negrão-Corrêa<sup>b,\*</sup>, Guilherme Silva Miranda<sup>b</sup>, João Gustavo Mendes Rodrigues<sup>b</sup>, Tamna Joanan Farias Lima Guedes<sup>c</sup>, Waldecy de Lucca Junior<sup>c</sup>, José Carlos Freitas de Sá Filho<sup>d</sup>, Daniela Aparecida de Castro Nizio<sup>d</sup>, Arie Fitzgerald Blank<sup>d</sup>, Vera Lúcia Corrêa Feitosa<sup>a</sup>, Silvio Santana Dolabella<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Postgraduate Program in Parasite Biology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, 49100-000, SE, Brazil

<sup>b</sup> Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, 31270-901, MG, Brazil

<sup>c</sup> RENORBIO, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, 49100-000, SE, Brazil

<sup>d</sup> Department of Agronomic Engineering, Center of Applied Agricultural Sciences, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, Sergipe 49100-000, Brazil

## ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Schistosomiasis  
Medicinal herbs  
*Lippia* spp.  
Treatment

## ABSTRACT

Schistosomiasis is a neglected tropical disease that affects millions of people around the world. Currently, the only drug available for the treatment of this disease is praziquantel, which has low efficacy against immature helminth stages and there are reports of drug resistance. In this study, the chemical composition and the *in vitro* effect of essential oils (EOs) and major compounds from *Lippia gracilis* and *Lippia alba* against schistosomula and adult *Schistosoma mansoni* worms were evaluated. Adult *S. mansoni* worms cultured for 8h in the presence of *L. gracilis* EO (50 and 100 µg/mL) or for 2h with its major compound, carvacrol (100 µg/mL), had a 100% reduction in viability. After interaction with *L. alba* EO (100µg/mL), there was a reduction of approximately 60% in the viability of adult worms after 24 hours of exposure; citral (50 and 100 µg/mL), its major compound, reduced the viability after 24 hours by more than 75%. Treatment of schistosomula with 100 µg/mL of *L. gracilis* or *L. alba* EOs for 6h led to a reduction in parasite viability of 80% and 16% respectively. Both EOs and their major compounds significantly reduced the oviposition of adult worms exposed to a non-lethal concentration (5 µg/mL). In addition, morphological changes such as the destruction of the tegument and disorganization of the reproductive system of male and female worms were visualized. Both EOs showed low cytotoxicity at a concentration of 50 µg/mL. The results encourage further investigation of these plants as a potential source of bioactive compounds against *S. mansoni*.

## 1. Introduction

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by blood flukes of the genus *Schistosoma*. The species *S. mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum* are responsible for most human infections (Colley et al., 2014). The transmission of these helminths is associated with poor sanitary conditions, disproportionately affecting individuals in a vulnerable socioeconomic situation and contributing to the perpetuation of a cycle of poverty due to its disabling character that reduces the productivity of the affected individual (McManus et al., 2018). Globally, it is estimated that more than 200 million people in 78 countries are infected with at least one of the *Schistosoma* species, and 700-800 million

people reside in endemic areas at risk of infection (WHO, 2010, 2017). In 2020, an estimated 236.6 million people needed treatment for schistosomiasis, although only 105.4 million received the necessary treatment (WHO, 2020).

Currently, the control of schistosomiasis is based on the periodic administration of praziquantel (PZQ), which is the only available and effective drug recommended by the World Health Organization against all species of *Schistosoma*. This drug has been used in mass administration programs as a chemoprophylaxis strategy, aiming to reduce morbidity and mortality (WHO, 2006). However, despite the observed success, PZQ does not prevent reinfections and has less activity against the immature forms of the parasite, resulting in low cure rates in areas of

\* Corresponding authors

E-mail addresses: [denegrao91@gmail.com](mailto:denegrao91@gmail.com) (D.A. Negrão-Corrêa), [dolabellaufs@gmail.com](mailto:dolabellaufs@gmail.com) (S.S. Dolabella).

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106434>

Received 2 November 2021; Received in revised form 23 March 2022; Accepted 28 March 2022

Available online 30 March 2022

0001-706X/© 2022 Published by Elsevier B.V.








1) GOMES, D. S.; NEGRÃO-CORRÊA, D. A.; MIRANDA, G. S.; RODRIGUES, J. G. M.; GUEDES, T. J. F. L.; LUCCA JUNIOR, W. DE; SÁ FILHO, J. C. F. DE; NIZIO, D. A. DE C.; BLANK, A. F.; FEITOSA, V. L. C.; DOLABELLA, S. S. *Lippia alba* and *Lippia gracilis* essential oils affect the viability and oviposition of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 231, p. 106434, 2022.

## ARTIGOS COMO COLABORADOR

DOI: 10.1111/tmi.14118

## RESEARCH ARTICLE

## Co-endemicity of schistosomiasis and tegumentary leishmaniasis: Spatial co-clustering in endemic areas

Genil Mororó Araújo Camelo  | Jeferson Kelvin Alves de Oliveira Silva  |  
 Dharliton Soares Gomes  | Laura Maggi  | Stefan Michael Geiger  |  
 David Soeiro Barbosa  | Deborah Aparecida Negrão-Corrêa 

Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

## Correspondence

Deborah Aparecida Negrão-Corrêa,  
 Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Pampulha – CEP, Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG, Brazil.  
 Email: denegrao@icb.ufmg.br

## Abstract

**Objectives:** Schistosomiasis and tegumentary leishmaniasis simultaneously affect areas in tropical and subtropical regions. Co-infected individuals show a less-than-optimal response to treatment and increased regulatory immune responses. However, no study has determined where *Schistosoma–Leishmania* co-infections are more likely to occur.

**Methods:** Data from The Global Health Observatory were collected to determine the worldwide endemicity status of schistosomiasis and tegumentary leishmaniasis in 2023. To determine co-endemic areas at a local level, an ecological study was conducted on confirmed cases of American tegumentary leishmaniasis and schistosomiasis in the State of Minas Gerais, Brazil, between 2013 and 2017. Local Indicators of Spatial Association analyses were used to search for co-endemic hotspots.

**Results:** Thirty-one countries were considered co-endemic, 23 of which presented active transmission of both diseases. Univariate Local Indicators of Spatial Association indicated 13 municipalities as high–high clusters for both American tegumentary leishmaniasis and schistosomiasis in Minas Gerais. Furthermore, bivariate Local Indicators of Spatial Association analyses identified 61 municipalities as high–high clusters, grouped in seven co-endemic hotspots.

**Conclusion:** Local Indicators of Spatial Association analyses are a useful tool for identifying areas where co-infection cases are more likely to occur. Similar analyses will assist authorities and healthcare providers when formulating policies and treating *Schistosoma–Leishmania* co-infected patients and will provide valuable data to enable researchers to explore the impact of this and other co-infections.

## KEYWORDS

bivariate LISA analysis, co-infection, *Leishmania*, neglected tropical diseases, *Schistosoma*, spatial correlation

## INTRODUCTION

The World Health Organisation (WHO) classifies 20 diseases as Neglected Tropical Diseases (NTDs) for their impact on impoverished communities [1, 2]. Prevalent in tropical and subtropical regions, NTDs thrive in populations that are exposed to pathogens and lack proper sanitation and

healthcare [1, 2]. Among these, schistosomiasis and leishmaniasis stand out as being two of the most debilitating NTDs.

Schistosomiasis is caused by the trematode *Schistosoma* spp. and is endemic to 78 countries, causing 2.5 million disability-adjusted life years in 2016 [3, 4]. Leishmaniasis, caused by the intracellular protozoan *Leishmania* spp., is divided into visceral manifestations (visceral leishmaniasis) and skin and mucosal manifestations (tegumentary leishmaniasis).

**Sustainable Development Goal:** Good Health and Wellbeing

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2025 The Author(s). *Tropical Medicine & International Health* published by John Wiley & Sons Ltd.

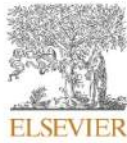
556 | [wileyonlinelibrary.com/journal/tmi](https://wileyonlinelibrary.com/journal/tmi)

*Trop Med Int Health*. 2025;30:556–568.

1) CAMELO, G.M.A.; SILVA, J.K.A.D.O.; GOMES, D.S.; MAGGI, L.; GEIGER, S.M.; BARBOSA, D. S.; NEGRÃO-CORRÊA, D.A. Co-endemicity of schistosomiasis and tegumentary leishmaniasis: Spatial co-clustering in endemic areas. *Tropical Medicine & International Health*, v.30, n.6, p.556-68, 2025.

## ARTIGOS COMO COLABORADOR

Parasitology International 100 (2024) 102867



Contents lists available at ScienceDirect

Parasitology International

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/parint](http://www.elsevier.com/locate/parint)

## *Idiopyrgus souleyetianus* (Gastropoda: Tomichiidae) as an intermediate host of the liver fluke *Amphimerus* sp. (Trematoda: Opisthorchiidae) in Brazil

Paulo R.S. Coelho, Danimar López-Hernández, Nathália M.T. Oliveira, Dharlison S. Gomes, Stefan M. Geiger, Hudson A. Pinto<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Parasitology, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

## ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Amphimerosis  
Brazil  
Cercariae  
Liver  
Snail  
Trematodes

## ABSTRACT

Despite the importance of fish-borne trematodes of the family Opisthorchiidae as causative agents of human liver fluke disease, studies on these parasites outside Asia are relatively scarce. In South America, human focus of amphimerosis is known in Ecuador since the mid-20th century, and *Amphimerus* spp. have also been reported in wild and domestic mammals. Nevertheless, the knowledge on the snails that act as the first intermediate host of these potentially zoonotic parasites are scarce. Herein, a new cercaria of the pleurolophocercous morphotype found in the freshwater snail *Idiopyrgus souleyetianus* from Brazil was subjected to morphological and molecular studies. Multigene phylogenetic analyses based on 28S, 5.8S-ITS-2 and *Cox-1* sequences enabled the identification of *Amphimerus* sp., a species distinct from that reported in humans from Ecuador. This cercariae was morphologically compared with other opisthorchiid cercariae known. The possible occurrence of human amphimerosis in Brazil is discussed.

The family Opisthorchiidae includes important fish-borne trematodes involved in human liver fluke disease, mainly in Asia. Estimates point to about 45 million infected individuals and >600 million living in areas of risk for infection with *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis* spp. [1,2]. The disease caused by these flukes can result in significant morbidity and even mortality if we consider them as inducers of cholangiocarcinoma [2]. Despite their endemicity in Asia, factors such as globalization, dissemination of food habits involving the ingestion of raw fish, and the introduction and spread of potential vectors in new areas reveal the possibility of liver fluke diseases by opisthorchiids being emerging or neglected in other continents. In this sense, liver flukes also should be a monitoring target in non-endemic areas.

Outside Asia, a human focus of fish-borne liver fluke is known in Ecuador since the mid-20th century [3]. The causative agent was identified as *Amphimerus* sp. and more recently suggested to be *Amphimerus lancea* [4]. So far, human amphimerosis is restricted to the Ecuadorian provinces of Manabi and Esmeraldas [3,5]. In recent years, new epidemiological information was published, including the identification of non-human vertebrates as definitive hosts, and fish and snails as intermediate ones [5–7]. Although *Amphimerus* spp. was reported to occur in other South American countries, studies on the life cycle and intermediate hosts of these parasites are non-existent. This gap in

knowledge contrasts with the possibility that human amphimerosis or other fish-borne trematode infections might be a future concern in Latin American countries other than Ecuador.

In this short report, we present the results of a malacological study, focused on the epidemiology of schistosomiasis mansoni, carried out in the municipality of Baldim (19° 17' 18" S; 43° 57' 25" W), State of Minas Gerais, Brazil, in October 2022. In total, 391 freshwater snails were collected and subjected to evaluation of infection with larval trematodes. Cercariae emerged from a specimen identified as *Idiopyrgus souleyetianus* (Fig. 1 A) were vitally stained (0.05% neutral red) for morphological characterization and analyzed in an optical microscope. A subsample of larvae killed in hot water was fixed in formalin, and subsequently measured with a micrometer eyepiece. DNA extraction of ethanol-fixed cercariae was made with a commercial kit (Qiagen micro kit, Thermo Fisher Scientific, USA). We amplified fragments of the 28S, ITS and *Cox-1* with primers widely used in the identification of trematodes (Dig12/1500R, BD1/BD2 and JB3/COI R-Trema, respectively). The reagents, PCR conditions and methods for phylogenetic analysis were as previously described [8]. Amplicons were subjected to Sanger sequencing, and the chromatograms were assembled in ChromasPro version 2.0.1 (Technelysium Pty Ltd., Australia). The contigs were compared with data available in GenBank, and alignments were

<sup>a</sup> Corresponding author.

E-mail address: [hudsonalvesufmg@gmail.com](mailto:hudsonalvesufmg@gmail.com) (H.A. Pinto).

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2024.102867>

Received 21 December 2023; Received in revised form 1 February 2024; Accepted 12 February 2024

Available online 15 February 2024

1383-5769/© 2024 Elsevier B.V. All rights reserved.

2) COELHO, P. R. S.; DANIMAR LÓPEZ-HERNÁNDEZ; OLIVEIRA, N. M. T.; GOMES, D. S.; GEIGER, S. M.; PINTO, H. A. *Idiopyrgus souleyetianus* (Gastropoda: Tomichiidae) as an intermediate host of the liver fluke *Amphimerus* sp. (Trematoda: Opisthorchiidae) in Brazil. *Parasitology International*, v. 100, p. 102867–102867, 2024.

## ARTIGOS COMO COLABORADOR



Diversitas Journal

ISSN 2525-5215

Volume 8, Número 1 (jan./mar. 2022) p. 0389 – 0400  
[https://diversitasjournal.com.br/diversitas\\_journal](https://diversitasjournal.com.br/diversitas_journal)
**Spatial distribution of triatomines in the municipality of Santana do Ipanema, Alagoas, Brazil: a cross-sectional descriptive study**
**Distribuição espacial de triatomíneos no município de Santana do Ipanema, Alagoas, Brasil: um estudo descritivo transversal**
**MATOS, Dalton Ferreira <sup>(1)</sup>; Santos Allan Bruno Alves de Sousa Lima <sup>(2)</sup>; CIRILO, Tatyane Martins <sup>(3)</sup>; GOMES, Dharliton Soares <sup>(4)</sup>; ALMEIDA, Delma Holanda de Almeida <sup>(5)</sup>.**
<sup>(1)</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6188-7536>; Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE Brasil. daltonmatosgn@gmail.com.

<sup>(2)</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6412-7164>; Faculdade de Educação São Francisco, Pedreiras, MA, Brasil. abass@faesf.com.br.

<sup>(3)</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9681-4284>; Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); Minas Gerais, MG, Brasil. tatyane Martins95@gmail.com.

<sup>(4)</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4181-2091>; Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); Minas Gerais, MG, Brasil. darlilton@gmail.com.

<sup>(5)</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7386-6046>; Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL); Santana do Ipanema, AL, Brasil. delma.holanda@uneal.edu.br.

**ABSTRACT**

American trypanosomiasis, known as Chagas disease, is a potentially fatal disease caused by the unicellular flagellated protozoan *Trypanosoma cruzi*, and its intermediate host is the hematophagous insect named the triatomine. In Brazil, 10 genera of triatomines are of epidemiological importance for the disease. Because of the preventive measures and epidemiological monitoring, this study aimed to verify the triatomine species in the municipality of Santana do Ipanema, belonging to the state of Alagoas, since there is no data in the literature with such information. For this, a cross-sectional descriptive study was conducted with data from the secretariat of the municipality of Santana do Ipanema to verify the species of captured and positive triatomines, between the years 2016 and 2020. During the study period, a total of 405 triatomines collected in the municipality were recorded, and three species were identified. It was observed that most of the collections occurred in the rural area of the municipality with almost 15 times more collections than in the urban area; however, the highest rate of positivity occurred in the urban area. The most common triatomine found in the municipality studied was *Rhodnius domesticus*, while *Triatoma brasiliensis* obtained more positive specimens. Although there are no confirmed cases of Chagas disease in the population of Santana do Ipanema, it was found that there is the presence of vectors that transmit Chagas disease and positive vectors for *Trypanosoma cruzi*. Therefore, our study suggests that entomological surveillance should be more present and continuous in both areas of the municipality for the effective control of Chagas disease.

**RESUMO**

A tripanossomíase americana, conhecida como doença de Chagas, é uma doença potencialmente fatal provocada pelo protozoário unicelular flagelado *Trypanosoma cruzi*, tendo como hospedeiro intermediário o inseto hematófago denominado de triatomíneo. No Brasil, 10 gêneros de triatomíneos possuem importância epidemiológica para doença. Diante das medidas preventivas e de monitorização epidemiológica, este estudo teve como objetivo verificar as espécies de triatomíneos no município de Santana do Ipanema, pertencente ao estado de Alagoas, Brasil, entre 2016 e 2020, uma vez que não há dados na literatura com essas informações. Para tanto, foi conduzido um estudo descritivo transversal com dados da secretaria de endemias do município de Santana do Ipanema. Durante o período de estudo, foram registrados um total de 405 triatomíneos coletados no município, sendo identificadas três espécies. Observou-se que a maioria das coletas ocorreram na zona rural do município, com quase 15x mais coletas do que na zona urbana; entretanto, a maior taxa de positividade ocorreu na zona urbana. O triatomíneo mais encontrado foi o *Rhodnius domesticus*, enquanto o *Triatoma brasiliensis* obteve mais espécimes positivos. Embora não haja casos confirmados de doença de Chagas na população santanense, verificou-se que há a presença de vetores transmissores da doença de Chagas e vetores positivos para *Trypanosoma cruzi*. Portanto, nosso estudo sugere que a vigilância entomológica tenha uma atuação mais presente e contínua em ambas áreas do município para o controle efetivo da doença de Chagas.

**INFORMAÇÕES DO ARTIGO**
**Histórico do Artigo:**

Submetido: 20/09/2022

Aprovado: 28/12/2022

Publicação: 10/01/2023


**Keywords:**
Chagas disease; *Rhodnius domesticus*; *Triatoma brasiliensis*; Entomological monitoring.
**Palavras-Chave:**
Doença de Chagas; *Rhodnius domesticus*; *Triatoma brasiliensis*; Vigilância entomológica.

DOI: 10.48017/dj.v8i1.2435

3) MATOS, D. F.; BRUNO, A.; CIRILO, T. M.; GOMES, D. S.; CHRYSTIAN, F. Distribuição espacial de triatomíneos no município de Santana do Ipanema, Alagoas, Brasil: um estudo descritivo transversal. *Diversitas Journal*, v. 18, n. 1, 2023.

## ARTIGOS COMO COLABORADOR

Parasitology Research (2022) 121:21–34  
<https://doi.org/10.1007/s00436-021-07372-9>

PROTOZOLOGY - REVIEW



## Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review

Luiz F. J. Nascimento<sup>1</sup> · Tatyane M. Cirilo<sup>1</sup> · Dharliton S. Gomes<sup>1</sup> · Ana Carolina A. Gomes<sup>2</sup> · Victor F. S. Lima<sup>1</sup> · R. Scher<sup>1,3</sup> · S. Jain<sup>4</sup> · Ricardo T. Fujiwara<sup>1,2</sup> · Silvio S. Dolabella<sup>1,3</sup>

Received: 5 August 2021 / Accepted: 1 November 2021 / Published online: 11 November 2021  
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

### Abstract

The leishmaniasis are a group of diseases caused by the protozoan parasite belonging to the genus *Leishmania*. In the New World, although dogs are considered the main parasite reservoir, in the last two decades, several studies have confirmed the role of cats (*Felis catus*) in the epidemiology of the disease and feline leishmaniasis (FeL) is now considered to be an emerging disease. The present review summarizes the current knowledge about FeL, focusing on important immunopathological aspects, epidemiology, and diagnostic methods applied for felines in Brazil. Cats are infected with the same species of *Leishmania* found in dogs (i.e., *Leishmania infantum*). Like dogs, skin lesions are the most common in cats with clinical FeL, mainly affecting the cephalic region and less frequently the legs which may be accompanied by generalized signs or visceral involvement. Information on the immune response of cats to *Leishmania* infection is scarce; however, efficient infection control is seen in most cases. For diagnosis, generally, the same methods as those in dogs are used, mainly serological tools. But there is a lack of studies focusing the performance of these methods for diagnosing FeL. The estimated overall prevalence of FeL in Brazil is 8%, with *L. infantum* being the most prevalent species. However, infections with *Leishmania braziliensis* and *Leishmania amazonensis* have also been reported. In conclusion, although there has been an increase in the publication related to FeL in Brazil in recent years, there is a lack of research relating immune response and diagnosis of these animals. Cats have been shown to be competent hosts for *Leishmania* parasites, and their role in the epidemiology of the disease cannot be underestimated, especially in areas of Brazil where the disease is historically endemic.

**Keywords** Diagnosis · Epidemiology · *Felis catus* · Leishmaniasis

### Introduction

The leishmaniasis are neglected tropical diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), of which more than 20 species infect humans. The main route of transmission to humans and other mammalian hosts is through the inoculation of parasites during the blood meal of the infected sand flies (Burza et al. 2018; WHO 2020).

There are three main forms of manifestation of the disease in humans: cutaneous leishmaniasis (CL), mucocutaneous leishmaniasis (MCL), and visceral leishmaniasis (VL). Depending on the source of infection, from an animal or human reservoir, leishmaniasis can be classified as either zoonotic or anthroponotic, respectively. The World Health Organization (WHO) estimates that about one billion people live in areas at risk for at least one of the clinical forms of the disease, with 556 million people at risk of developing

Section Editor: Domenico Otranto

✉ Ricardo T. Fujiwara  
 rtfujiwara@gmail.com

✉ Silvio S. Dolabella  
 dolabellauufs@gmail.com

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE 49100-000, Brazil

<sup>2</sup> Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brazil

<sup>3</sup> Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE 49100-000, Brazil

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Universidade Tiradentes, Aracaju, SE 49032-490, Brazil

Springer









4) NASCIMENTO, L. F. J.; CIRILO, T. M.; GOMES, D. S.; GOMES, A. C. A.; LIMA, V. F. S.; SCHER, R.; JAIN, S.; FUJIWARA, R. T.; DOLABELLA, S. S. Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review. *Parasitology Research*, v. 121, n. 1, p. 21–34, 2022.

## ARTIGOS COMO COLABORADOR

ORIGINAL  
ARTICLE

## Aspects related to positivity for schistosomiasis: a cross-sectional study in a low prevalence area in Alagoas, Brazil, 2020

10.1590/S1679-49742021000200005

Israel Gomes de Amorim Santos<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0002-5210-6697Letícia Pereira Bezerra<sup>2</sup> -  orcid.org/0000-0001-6375-633XTatyane Martins Cirilo<sup>2</sup> -  orcid.org/0000-0001-9681-4284Laryssa Oliveira Silva<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0002-2713-1989João Paulo Vieira Machado<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0002-1693-1753Pedro Dantas Lima<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0002-9926-481XMartha Rejane Bispo Souza<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0002-3450-9660Sheilla da Conceição Gomes<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0003-1943-5189Glória Isabel Lisboa da Silva<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0003-4809-8142Ivisson Abreu Damasceno<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0001-8536-3721Vitória Jordana Bezerra Alencar<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0002-4220-6870Mikaelly Maria Vieira de Carvalho<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0001-7718-976XRosália Elen Santos Ramos<sup>2</sup> -  orcid.org/0000-0002-9958-9331Dharlilton Soares Gomes<sup>2</sup> -  orcid.org/0000-0003-4181-2091Wandklebson Silva da Paz<sup>2</sup> -  orcid.org/0000-0002-2898-2646Edmilson Genuíno Santos Júnior<sup>1</sup> -  orcid.org/0000-0001-6634-2167Luiz Carlos Alves<sup>3</sup> -  orcid.org/0000-0002-8384-3008Fábio André Brayner<sup>2</sup> -  orcid.org/0000-0002-8017-6780<sup>1</sup>Universidade Estadual de Alagoas, Laboratório de Parasitologia Humana e Malacologia, Santana do Ipanema, AL, Brazil<sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Morfologia, São Cristóvão, SE, Brazil<sup>3</sup>Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Parasitologia, Recife, PE, Brazil

## Abstract

**Objective:** To analyze aspects related to schistosomiasis positivity in an area of low prevalence in Brazil. **Methods:** This was a cross-sectional study, carried out in the first half of 2020, where we analyzed the proportion of positivity, according to the number of Kato-Katz slides, the diagnostic performance of the test and positivity estimates based on data from the Schistosomiasis Surveillance and Control Program Information System (SISPCE). **Results:** 2,088 slides from 348 individuals were analyzed, with proportion of positivity of 11.8%, 26.7% and 31.0% for 1, 4 and 6 slides analyzed, respectively. There was excellent agreement (Kappa = 0.91) between the readings of 4 and 6 slides. The SISPCE data was estimated to be underreported by up to 2.1 times. **Conclusion:** Increasing the number of slides increased Kato-Katz positivity, which can contribute to maximizing the control of the disease as a Public Health problem.

**Keywords:** Neglected Diseases; Cross-Sectional Studies; Sensitivity and Specificity; Public Health; Schistosomiasis Mansoni; Parasitic Diseases.

\*Article derived from the Doctoral thesis entitled 'Epidemiology of schistosomiasis mansoni in a low prevalence area in the state of Alagoas', to be submitted by Israel Gomes de Amorim Santos to the Biosciences and Biotechnology in Health Postgraduate Program, Biosciences and Biotechnology in Health Course, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Pernambuco. The study received financial support from the Alagoas State Research Support Foundation (FAPEAL) and the Ministry of Health: Process No. 60030.000857/2016.

## Correspondence:

Israel Gomes de Amorim Santos – Estrada BR 316, Km 87,5, Bebedouro, Santana do Ipanema, AL, Brazil. Postcode: 57500-000  
E-mail: israel.santos@uneal.edu.br



Epidemiol. Serv. Saude, Brasília, 30(2):2020520, 2021

1

5) SANTOS, I.G.A.; BEZERRA, L.P.; CIRILO, T.M.; SILVA, L.O.; MACHADO, J.P.V.; LIMA, P.D.; SOUZA, M.R.B.; GOMES, S.C.; SILVA, G.I.L.; DAMASCENO, I.A.; ALENCAR, V.J.B.; CARVALHO, M.M.V.; RAMOS, R.E.S.; GOMES, D.S.; PAZ, W.S.; SANTOS JÚNIOR, E.G.; ALVES, L.C.; BRAYNER, F.A. Aspects related to positivity for schistosomiasis: a cross-sectional study in a low prevalence area in Alagoas, Brazil, 2020. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 30, p. e2020520, 2021.

## ARTIGOS COMO COLABORADOR

## Diversitas Journal

ISSN 2525-5215

DOI: 10.17648/diversitas-journal-v6i1-1497

Volume 6, Número 1 (jan./mar. 2021) pp: 543-561.

[https://periodicos.ifal.edu.br/diversitas\\_journal/](https://periodicos.ifal.edu.br/diversitas_journal/)

© Diversitas Journal



## Moluscos e larvas de trematódeos em área não endêmica para a esquistossomose mansoni

### Mollusks and larvae of trematodes in a non-endemic area for schistosomiasis mansoni

Página | 543

Laryssa Oliveira Silva<sup>1</sup>; João Paulo Vieira Machado<sup>2</sup>; Letícia Pereira Bezerra<sup>3</sup>; Tatyane Martins Cirilo<sup>4</sup>; Dharlton Soares Gomes<sup>5</sup>; Israel Gomes de Amorim Santos<sup>6</sup>

<sup>1</sup>ORCID, <https://orcid.org/0000-0002-2713-1989>, graduanda em licenciatura em Ciências Biológicas; Universidade Estadual de Alagoas - UNEAL, Campus II; Santana do Ipanema, Alagoas, Brazil. E-mail: laryssaoliveira81@gmail.com;

<sup>2</sup>ORCID, <https://orcid.org/0000-0002-1693-1753>, graduando em licenciatura em Ciências Biológicas; UNEAL, Campus II; Santana do Ipanema, Alagoas; Brazil. E-mail: joao.p.v.machado@gmail.com;

<sup>3</sup>ORCID, <https://orcid.org/0000-0001-6375-633X>, mestranda em Biologia Parasitária; Universidade Federal de Sergipe - UFS, Campus São Cristóvão; São Cristóvão, Sergipe; Brazil. E-mail: leticia706@gmail.com;

<sup>4</sup>ORCID, <https://orcid.org/0000-0001-9681-4284>, mestranda em Biologia Parasitária; UFS, Campus São Cristóvão; São Cristóvão, Sergipe; Brazil. E-mail: tatyane Martins95@gmail.com

<sup>5</sup>ORCID, <https://orcid.org/0000-0003-4181-2091>, Mestrando em Biologia Parasitária; UFS; São Cristóvão - SE; Brazil. darlilton@gmail.com;

<sup>6</sup>ORCID, <https://orcid.org/0000-0002-5210-6697>, professor assistente; UNEAL, Campus II, Santana do Ipanema, Alagoas, Brazil. E-mail: israel.santos@uneal.edu.br.

Todo o conteúdo exposto neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 21 de outubro de 2020; Aceito em: 22 de outubro de 2020; publicado em 31 de 01 de 2021. Copyright © Autor, 2021.

**RESUMO:** A esquistossomose é uma relevante doença para a saúde pública do Brasil e de Alagoas, sendo importante a investigação da presença da doença em áreas endêmicas e não endêmicas para o progresso de erradicação desse agravo. Assim, o objetivo do estudo foi realizar uma investigação dos moluscos e das larvas de trematódeos em uma área não endêmica para a esquistossomose mansoni. O estudo foi realizado em Santana do Ipanema, Alagoas, por meio da captura dos caramujos no riacho Camoxinga e análise da positividade para larvas de trematódeos, incluindo larvas do *Schistosoma mansoni*, agente etiológico da esquistossomose mansoni. Além disso, foi realizada a análise da constância de captura das espécies e da influência dos períodos de estiagem e de chuva e da precipitação média mensal sobre a abundância das espécies de caramujos, para o período de agosto de 2018 a julho de 2019. Em todo período, foram capturados 2.431 caramujos, estando 443 (18,2%) mortos. Os animais capturados vivos (1.988) pertenciam às espécies *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) (Planorbidae) (989; 40%), *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774) (Thiaridae) (792; 32%), *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Ampullariidae) (133; 5,4%), *Drepanotrema depressissimum* (Moricand, 1839) (53; 2,18%), *Physa marmorata* (Guilding, 1828) (19; 0,78%) e *Cyanocyclus brasiliana* (Deshayes, 1854) (2; 0,03%). Além disso, *B. straminea* e *M. tuberculatus* foram as espécies constantemente coletadas e que apresentaram status de abundantes para a área de estudo. Em relação as duas espécies de maior constância e abundância na área de estudo, *B. straminea* e *M. tuberculatus* não foi possível estabelecer relação entre a abundância dos animais e o período de coleta (chuvoso ou seco,  $p = 0,2336$ ). O maior número de animais foi capturado nos meses de junho e julho de 2019 para *B. straminea* e *M. tuberculatus*, respectivamente. O aumento no número de animais coletados começou a ocorrer com o aumento dos índices pluviométricos janeiro a abril de 2019 com uma redução das chuvas e da abundância dos animais em maio de 2019 seguida de uma posterior elevação nos dois parâmetros, até o fim do período estudado. Constatou-se uma relação linear entre a pluviosidade e a abundância dos caramujos da espécie *B. straminea*. A análise da infecção dos animais coletados por larvas de trematódeos mostrou que nenhum animal da espécie *B. straminea* estava infectado por larvas do *Schistosoma mansoni*. Por outro lado, foi diagnosticado caramujos das espécies *B. straminea*, *D. depressissimum* e *M. tuberculatus* eliminando cercárias das espécies *Longifurcate pharyngeate distome* - Estregeocercária, *Echinocercaria sp.* e *Xiphidocercaria* que foram liberadas do molusco *M. tuberculatus*, *D. depressissimum* e *B. straminea*. Esta pesquisa notifica a distribuição de diferentes espécies de caramujos sendo o primeiro relato da presença dos moluscos *M. tuberculatus*, *D. depressissimum*, *Physa marmorata*, *Pomacea insularum*, *Cyanocyclus brasiliana* no Riacho Camoxinga, demonstrando a importância de estudos da malacofauna em área não endêmicas para a esquistossomose para assim promover a prevenção e controle desses animais de importância médica, uma vez que estes invertebrados podem atuar como hospedeiros intermediários de trematódeos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Malacofauna, *Schistosoma mansoni*, Doenças parasitárias

**ABSTRACT:** Schistosomiasis is a relevant disease for public health in Brazil and Alagoas, and it is important to investigate the presence of the disease in endemic and non-endemic areas for the progress of eradicating this disease. Thus, the objective of the study was to carry out an investigation of mollusks and larvae of trematodes in an area not endemic for schistosomiasis mansoni. The study was carried out in Santana do Ipanema, Alagoas, by capturing snails in the Camoxinga stream and analyzing positivity for trematode larvae, including *Schistosoma mansoni* larvae, the etiological agent of schistosomiasis mansoni. In addition, an analysis of the species' constancy of capture and the influence of periods of drought and rain and the average monthly precipitation on the abundance of snail species for the period from August 2018 to July 2019 was carried out. period, 2,431 snails were captured, with 443 (18.2%) dead. The animals captured alive (1,988) belonged to the species *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) (Planorbidae) (989; 40%), *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774) (Thiaridae) (792; 32%), *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Ampullariidae) (133; 5.4%), *Drepanotrema depressissimum* (Moricand, 1839) (53; 2.18%), *Physa marmorata* (Guilding, 1828) (19; 0.78%) and *Cyanocyclus brasiliana* (Deshayes, 1854) (2; 0.03%). In addition, *B. straminea* and *M. tuberculatus* were the species that were constantly collected and had abundant status for the study area. Regarding the two species of greatest constancy and abundance in the study area, *B. straminea* and *M. tuberculatus*, it was not possible to establish a relationship between the abundance of animals and the period of collection (rainy or dry,  $p = 0.2336$ ). The largest number of animals of both species was captured in the months of June and July 2019 for *M. tuberculatus* and *B. straminea*, respectively. The increase in the number of animals collected began to occur with the increase in rainfall indexes (January to April 2019) with a reduction in rainfall and animal abundance (May 2019), followed by a subsequent increase in both parameters, until the end of the year, end of the period studied. There was a linear relationship between rainfall and the abundance of *B. straminea* snails. The analysis of the infection of animals collected by larvae of trematodes showed that no animal of the species *B. straminea* was infected with larvae of *Schistosoma mansoni*. On the other hand, snails of the species *B. straminea*, *D. depressissimum* and *M. tuberculatus* were diagnosed eliminating cercariae of the species *Longifurcate pharyngeate distome* - Estregeocercária, *Echinocercaria sp.* and *Xiphidocercaria* that were released from the mollusk *M. tuberculatus*, *D. depressissimum* and *B. straminea*. This research notifies the distribution of different species of snails being the first report of the presence of mollusks *M. tuberculatus*, *D. depressissimum*, *Physa marmorata*, *Pomacea insularum*, *Cyanocyclus brasiliana* in the Riacho Camoxinga, demonstrating the importance of studies of malacofauna in non-endemic areas for schistosomiasis to promote the prevention and control of these animals of medical importance, since these invertebrates can act as intermediate hosts of trematodes.

**KEYWORDS:** Malacofauna, *Schistosoma mansoni*, Parasitic Diseases.

DIVERSITAS JOURNAL. Santana do Ipanema/AL. vol. 6, n. 1, p.543-561, jan./mar. 2021.




6) SILVA, L. O.; PAULO, J.; BEZERRA, L. P.; CIRILO, T. M.; GOMES, D. S.; GOMES, I. Moluscos e larvas de trematódeos em área não endêmica para a esquistossomose mansoni. *Diversitas Journal*, v. 6, n. 1, p. 543–561, 2021.

## ARTIGOS COMO COLABORADOR



<https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n05a810.1-7>

## Detecção de enteroparasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na feira livre de Santana do Ipanema, Alagoas

Maria de Fátima da Silva<sup>1</sup>, Tatyane Martins Cirilo<sup>2\*</sup> , Dharliton Soares Gomes<sup>2</sup> , Israel Gomes de Amorim Santos<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Alagoas, Campus III, Departamento de Biologia, Palmeira dos Índios, Alagoas, Brasil.

<sup>2</sup>Mestrando no Programa em Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Morfologia, São Cristóvão, SE, Brasil

<sup>3</sup>Doutor em Biociências e Biotecnologia em Saúde pela Fiocruz/PE e Professor Assistente do Curso de Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Alagoas, Campus II, Santana do Ipanema-AL, Brasil.

\*Autor para correspondência, E-mail: [tatyanemartins95@gmail.com](mailto:tatyanemartins95@gmail.com)

**Resumo.** Os enteroparasitos constituem grande problema de saúde pública, pois podem causar morbidades que prejudicam a qualidade de vida da população afetada. Sua transmissão acontece pela ingestão de alimentos ou águas contaminadas com agentes parasitários, como hortaliças que são consumidas *in natura*. Por isso, o objetivo desse estudo foi analisar a presença de enteroparasitos em alface (*Lactuca sativa*) comercializadas na feira livre de Santana do Ipanema, Alagoas. Para isso, foi realizado em 2014 e 2015 a coleta de 60 amostras de alfaces escolhidas aleatoriamente na feira livre do município. Essas amostras foram submetidas ao método de Sedimentação Espontânea com modificações. No total, das 60 amostras coletadas entre 2014 e 2015, 55,0% apresentaram alguma estrutura parasitária. Dentre os positivos, os helmintos estavam presentes em 87,9% das amostras. O geohelminto *Strongyloides stercoralis* foi o parasito mais prevalente dentre as amostras positivas com 75,0% em 2014 e 83,3% em 2015, seguido pelos ancilostomídeos com 41,7% em 2014 e 16,7% em 2015. Estes dados demonstram a importância epidemiológica dessa hortaliça como fômite para transmissão de diversos agentes parasitários e patológicos. Enfatiza a necessidade de atenção por parte da vigilância sanitária local sobre o padrão higiênico-sanitário desses ambientes e da forma como essas hortaliças são dispostas, além da necessidade de fornecer conhecimento à população sobre a compra, escolha e preparação mais adequada para consumo dessas hortaliças.

**Palavras-chave:** Helmintíases, protozoários, parasitoses intestinais, hortaliças

## Detection of intestinal parasites in lettuces (*Lactuca sativa*) commercialized in a free fair in Santana do Ipanema, Alagoas

**Abstract.** Intestinal parasites constitute a major public health problem, as they can cause morbidities that impair the quality of life of the affected population. Their transmission occurs through the ingestion of food or water contaminated with parasitic agents, such as vegetables that are consumed *in natura*. Therefore, the objective of this study was to analyze the presence of intestinal parasites in lettuce (*Lactuca sativa*) commercialized in the free fair of Santana do Ipanema, Alagoas. In 2014 and 2015, 60 samples of lettuce were randomly selected at the city. These samples were submitted to the method of Spontaneous Sedimentation with modifications. In total, of the 60 samples collected between 2014 and 2015, 55.0% had some parasite structure. Among the positive, helminths were present in 87.9% of the samples. *Strongyloides stercoralis*, a soil transmitted-helminth, was the most

## ARTIGOS COMO COLABORADOR



<https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n08a888.1-6>

## Tendência temporal e caracterização dos casos de sífilis gestacional no estado de Alagoas, Brasil

Karina Soares Silva<sup>1</sup>, Andressa Silva Cabral<sup>1</sup>, Vitória Jordana Bezerra Alencar<sup>1</sup>, Martha Rejane Souza Bispo<sup>1</sup>, João Paulo Vieira Machado<sup>1</sup>, Pedro Dantas Lima<sup>1</sup>, Glória Isabel Lisboa da Silva<sup>1</sup>, Sheilla da Conceição Gomes<sup>1</sup>, Wandklebson Silva Paz<sup>2</sup>, Rosália Elen Santos Ramos<sup>2</sup>, Letícia Pereira Bezerra<sup>2</sup>, Tatyane Martins Cirilo<sup>2</sup>, Dharlilton Soares Gomes<sup>2</sup>, Israel Gomes de Amorim Santos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Discente do curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, CAMPUS II, Santana do Ipanema – AL Brasil.

<sup>2</sup>Discente do Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Universidade Federal de Sergipe – UFS, São Cristóvão – SE Brasil.

<sup>3</sup>Professor, Doutor em Ciências, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, CAMPUS II, Santana do Ipanema – AL Brasil.

Autor correspondente: [karinasilva9686@gmail.com](mailto:karinasilva9686@gmail.com)

**Resumo.** A sífilis é uma doença infecciosa sistêmica de natureza bacteriana cujo agente etiológico é o *Treponema pallidum*, sendo uma das grandes doenças constituintes do grupo das infecções sexualmente transmissíveis – ISTs, que afeta um milhão de gestantes por ano em todo o mundo, induzindo a mais de 300 mil mortes fetais e neonatais. Em se tratando da sífilis gestacional (SG) a elevada frequência de desfechos mostra graves consequências para a gestação e para a criança. Diante disso, esse estudo buscou analisar a tendência temporal dos casos de sífilis em gestantes e caracterizar o perfil epidemiológico dessas mulheres no estado de Alagoas, no período compreendido entre os anos de 2009 a 2018, através de análises das variáveis sociodemográficas maternas obtidas por meio do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN) e tendência de série temporal relativa aos casos de SG. Os resultados demonstram que em paralelo ao que acontece em grande parte do Brasil, em Alagoas, o número de casos notificados de sífilis em gestantes tem sofrido um aumento constante nos últimos anos.

**Palavras-chave:** Epidemiologia, perfil epidemiológico, vigilância em saúde

## Temporal trend and characterization of gestational syphilis cases in the state of Alagoas, Brazil

**Abstract.** Syphilis is a systemic infectious disease of bacterial nature whose etiologic agent is *Treponema pallidum*, being one of the major diseases that constitute the group of sexually transmitted infections – STIs, which affects one million pregnant women a year worldwide, inducing more than 300 thousand fetal and neonatal deaths. In the case of gestational syphilis (SG), the high frequency of outcomes has serious consequences for pregnancy and for the child. Therefore, this study sought to analyze the temporal trend of syphilis cases in pregnant women and to characterize the epidemiological profile of these women in the state of Alagoas, in the period between the years 2009 to 2018, through analyzes of the maternal sociodemographic variables obtained through National Notifiable Diseases System (SINAN) and time series trend related to SG cases. The results demonstrate that, in parallel to what happens in a large part of Brazil, in Alagoas, the number of reported cases of syphilis in pregnant women has been constantly increasing in recent years.

**Keywords:** Epidemiology, epidemiological profile, health surveillance

8) SILVA, K.S.; CABRAL, A.S.; ALENCAR, V.J.B.; BISPO, M.R.S.; MACHADO, J.P.V.; LIMA, P.D.; SILVA, G.I.L.; GOMES, S. C.; PAZ, W.S.; RAMOS, R.E.S.; BEZERRA, L.P.; CIRILO, T.M.; GOMES, D.S.; SANTOS, I.G.A. Tendência temporal e caracterização dos casos de sífilis gestacional no estado de Alagoas, Brasil. *Pubvet*, v. 15, p. 176, 2021.

## ANEXO A - Aprovação Comitê de Ética 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Novos testes sorológicos para diagnóstico da esquistossomose mansoni e geohelmintíases - Da Sorologia Convencional para Bioinformática e Nanotecnologia

**Pesquisador:** Ricardo Toshio Fujiwara

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 55239522.3.0000.5149

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Minas Gerais

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.410.388

#### Apresentação do Projeto:

O estudo será conduzido nos estados federativos de Minas Gerais (MG), Alagoas (AL), Sergipe (SE) e Pará (PA). Estados com uma distribuição e cenários eco-epidemiológicos distintos, em relação à esquistossomose mansoni e às geo-helmintíases sob pesquisa

**Critério de Inclusão:** Serão incluídas indivíduos com idade entre 6 e 70 anos que concordarem em participar do estudo e preencherem o termo de consentimento livre e esclarecido.

#### Objetivo da Pesquisa:

Responder às diligências do CEP.

**Objetivo Primário:**

O objetivo geral da proposta é desenvolver e validar dispositivos point-of-care (teste imuno-cromatográfico ou espectrometria portátil de espalhamento de luz) para o diagnóstico e controle de cura da esquistossomose e das geo-helmintíases em áreas endêmicas utilizando amostras de sangue.

**Objetivo Secundário:**

- Selecionar sequências peptídicas imunogênicas por biologia computacional (bioinformática) a partir de dados genômicos e de proteômica.- Produção por expressão heteróloga de antígenos

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar 2005 2º Campus Pampulha

**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3409-4592

**E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 5.410.388

recombinantes contendo sequencias peptídicas de Schistosoma mansoni e de geo-helminthos.-Validação do reconhecimento sorológico dos antígenos selecionados e produzidos- Confeção de testes em fita para diagnóstico rápido para detecção de anticorpos (soro) - Otimização da detecção sorológica baseada no uso de Espectrômetro Portátil de Espalhamento de Luz- Teste e validação em campo dos novos dispositivos diagnósticos em áreas endêmicas utilizando amostras de sangue- Análise comparativa de performance dos testes rápidos em relação a outros métodos diagnósticos disponíveis.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos apresentados ao longo do TCLE:

Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em leve desconforto da picada da agulha durante a coleta do sangue e, possivelmente, desenvolvimento de equimose, entretanto, não existirão risco para a sua saúde. Entretanto, as amostras serão coletadas por profissionais qualificados que estarão aptos a auxiliar em qualquer contratempo.

Além disso, pedimos autorização para coletar algumas informações clínicas e para realizar ultrasonografia abdominal (UA) somente dos indivíduos positivos para a esquistossomose. A UA abdominal é uma técnica que não oferece perigos à saúde, e não apresenta efeitos colaterais. O exame é rápido e indolor. O desconforto está somente no jejum que será necessário fazer antes do exame, mas o indivíduo será orientado por um profissional da saúde antes do exame.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de carta resposta às diligências do CEP, contendo as informações abaixo:

PB: Anexar o TCLE para os pais e responsáveis de acordo com as recomendações disponíveis na página do CEP/UFMG. Vide: <https://www.ufmg.br/bioetica/coep/tale/>.

Comentário: Na submissão dos documentos a Plataforma Brasil anteriormente, o TCLE para os pais e responsáveis já constava anexado dentro do mesmo arquivo do TALE. Dessa forma, desmembramos os arquivos, e conforme solicitado, estamos enviando o TCLE para os pais e responsáveis do menor de 18 anos.

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos estão adequados na sua apresentação.

Nesta versão foram anexados as Informações básicas do projeto; Carta resposta à diligência;

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 5.410.388

Projeto Completo; TCLE para responsável; Folha de Rosto.

**Recomendações:**

Não há recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Somos, SMJ, favoráveis a aprovação do projeto "Novos testes sorológicos para diagnóstico da esquistossomose mansoni e geo-helmintíases - Da Sorologia Convencional para Bioinformática e Nanotecnologia", Pesquisador Responsável: Ricardo Toshio Fujiwara

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1670629.pdf	05/05/2022 15:08:34		Aceito
Outros	Carta_Resposta_II_PB.pdf	05/05/2022 15:07:13	Ricardo Toshio Fujiwara	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_DECIT_CEP.pdf	04/05/2022 10:02:34	Ricardo Toshio Fujiwara	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_responsavel_pelo_o_menor_de_18_anos.pdf	04/05/2022 09:59:33	Ricardo Toshio Fujiwara	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Pesquisa_Envolvendo_Seres_Humanos.pdf	22/01/2022 11:41:31	Ricardo Toshio Fujiwara	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** Av. Presidente Antonio Carlos, 6627  $\zeta$  2 $^{\circ}$ . Andar  $\zeta$  Sala 2005  $\zeta$  Campus Pampulha  
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

Página 03 de 04

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 5.410.388

BELO HORIZONTE, 16 de Maio de 2022

Assinado por:  
Crissia Carem Paiva Fontainha  
(Coordenador(a))

## ANEXO B – Aprovação Comitê de Ética 2014

CENTRO DE PESQUISAS  
RENÉ RACHOU/FUNDAÇÃO  
OSWALDO CRUZ/ CPQRR/



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Novas técnicas de diagnóstico para *Schistosoma mansoni* e geohelmintos.

**Pesquisador:** Paulo Marcos Zech Coelho

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 21824513.9.0000.5091

**Instituição Proponente:** Centro de Pesquisas René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz/ CPQRR/

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 450.263

**Data da Relatoria:** 29/10/2013

#### Apresentação do Projeto:

Projeto: *Schistosoma mansoni* e geohelmintos. Aprimoramento de técnicas diagnósticas para levantamento de prevalência e controle de cura, monitoramento da transmissão e identificação de marcadores de morbidade em áreas com cenários eco-epidemiológicos distintos, coordenado por Dr. Paulo Marcos Zech Coelho do CPQRR e equipe de pesquisadores de outras quatro instituições. Recursos do DCIT totalizando app R\$650.000,00

#### Objetivo da Pesquisa:

Meta: Realizar estudos parasitológicos, epidemiológicos e imunológicos em áreas de média a baixa endemicidade para a esquistossomose mansoni, visando obter uma visão real e atual dos aspectos de transmissão e morbidade associados à infecção por *Schistosoma mansoni* e geohelmintos que permita a proposição de estratégias de controle e tratamento compatível com realidade da doença e com a atuação do sistema de saúde.

#### Objetivos específicos:

1. Levantamento da prevalência da infecção por *S. mansoni* e geohelmintos em áreas da Amazônia, baixada Maranhense e Norte de Minas Gerais, onde as características de transmissão da infecção humana por helmintos são bastante diferenciadas.
2. Comparação da sensibilidade do método de Kato-Katz com os novos testes diagnósticos (Helmintex, gradiente, CCA modificado e PCR) para monitoramento da transmissão e cura após

Endereço: Avenida Augusto de Lima, 1715

Bairro: Barro Preto CEP: 30.190-002

UF: MG Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3349-7825 Fax: (31)3349-7825 E-mail: cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br

## ANEXO C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Maiores de 18 anos

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Participantes maiores de 18 anos)

BREJO DO AMPARO - MINAS GERAIS

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa "**Novos testes sorológicos para diagnóstico da esquistossomose mansoni e geo-helmintíases – Da Sorologia Convencional para Bioinformática e Nanotecnologia**". Pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do material biológico humano **fezes, urina e sangue**. A utilização do seu material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se Sr. (a) concordar em outros futuros. Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: "As amostras de sangue (20 mL) serão coletadas por profissionais experientes, posteriormente a coleta, serão separados em laboratório o soro. Caso você aceite participar, serão coletadas três amostras de sangue, utilizando materiais individuais e estéreis: uma antes do tratamento, outra após o tratamento com medicamento e outra um ano após o tratamento para avaliar reinfeção. Além disso, será coletada a primeira urina (30 mL) da manhã para avaliar a eficácia de um método de diagnóstico rápido. Serão coletadas, também, amostra de fezes (50mg) para comparar com o teste padrão ouro. Todas as amostras serão armazenadas em freezer -20°C e -80°C até o final da pesquisa. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em leve desconforto da picada da agulha durante a coleta do sangue e, possivelmente, desenvolvimento de equimose, entretanto, não existirão risco para a sua saúde. Entretanto, as amostras serão coletadas por profissionais qualificados que estarão aptos a auxiliar em qualquer contratempo. A pesquisa contribuirá para entender sobre a resposta imunológica em indivíduos com a doença e, possivelmente, auxiliará na confecção de um teste de diagnóstico rápido. Além disso, pedimos autorização para coletar algumas informações clínicas e para realizar ultrasonografia abdominal (UA) somente dos indivíduos positivos para a esquistossomose. A UA abdominal é uma técnica que não oferece perigos à saúde, e não apresenta efeitos colaterais. O exame é rápido e indolor. O desconforto está somente no jejum que será necessário fazer antes do exame, mas o indivíduo será orientado por um profissional da saúde antes do exame. O tratamento realizado para a esquistossomose será com o Praziquantel e para geo-helmintíases serão com Albendazol ou Mebendazol.

Para participar deste estudo o Sr. (a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito à indenização. O Sr. (a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar e a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a) pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados obtidos pela pesquisa, a partir de seu material biológico, estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O (A) Sr. (a) não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no **Laboratório de Imunologia e Genômica de Parasitos**, e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos na sala 167/E4 do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Rubrica do pesquisador: \_\_\_\_\_

Rubrica do participante: \_\_\_\_\_

Eu, \_\_\_\_\_, portador do documento de Identidade \_\_\_\_\_ fui informado (a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa **“Novos testes sorológicos para diagnóstico da esquistossomose mansoni e geo-helmintiases – Da Sorologia Convencional para Bioinformática e Nanotecnologia”**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

(  ) Concordo que o meu material biológico seja utilizado somente para esta pesquisa.

(  ) Concordo que o meu material biológico possa ser utilizado em outras pesquisa, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro termo de consentimento livre e esclarecido que explique para que será utilizado o material.

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

---

Nome completo do participante

Data

---

Assinatura do participante

**Nome completo do Pesquisador Responsável:**

Ricardo Toshio Fujiwara

Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627, Instituto de Ciências Biológicas, Sala 167/E4 Campus Pampulha.

CEP: 31270-901 / Belo Horizonte – MG

Telefones: (31) 3409-2871

E-mail: fujiwara@icb.ufmg.br

---

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

**COEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG**

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005.

Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

E-mail: coep@prpq.ufmg.br. Tel: 34094592.

## ANEXO D. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Pais e Responsáveis

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Pais ou responsáveis dos participantes menores de 18 anos)

BREJO DO AMPARO - MINAS GERAIS

Seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade, cujo nome é \_\_\_\_\_ foi convidado a participar voluntariamente do projeto de pesquisa: **“Novos testes sorológicos para diagnóstico da esquistossomose mansoni e geo-helmintíases – Da Sorologia Convencional para Bioinformática e Nanotecnologia”**

Pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do material biológico humano **fezes, urina e sangue** da criança. A utilização do material biológico está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se Sr. (a) concordar em outros futuros. Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: “As amostras de sangue (20 mL) serão coletadas por profissionais experientes, posteriormente a coleta, serão separados em laboratório o soro. Caso aceite a criança participar, serão coletadas três amostras de sangue, utilizando materiais individuais e estéreis: uma antes do tratamento, outra após o tratamento com medicamento e outra um ano após o tratamento para avaliar reinfecção. Além disso, será coletada a primeira urina (30 mL) da manhã para avaliar a eficácia de um método de diagnóstico rápido. Serão coletadas, também, amostra de fezes (50mg) para comparar com o teste padrão ouro. Todas as amostras serão armazenadas em freezer -20°C e -80°C até o final da pesquisa. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em leve desconforto da picada da agulha durante a coleta do sangue e, possivelmente, desenvolvimento de equimose, entretanto, não existirão risco para a sua saúde. Entretanto, as amostras serão coletadas por profissionais qualificados que estarão aptos a auxiliar em qualquer contratempo. A pesquisa contribuirá para entender sobre a resposta imunológica em indivíduos com a doença e, possivelmente, auxiliará na confecção de um teste de diagnóstico rápido.

Além disso, pedimos autorização para coletar algumas informações clínicas da criança e para realizar ultrasonografia abdominal (UA) somente dos indivíduos positivos para a esquistossomose. A UA abdominal é uma técnica que não oferece perigos à saúde, e não apresenta efeitos colaterais. O exame é rápido e indolor. O desconforto está somente no jejum que será necessário fazer antes do exame, mas a criança será orientada por um profissional da saúde antes do exame. O tratamento realizado para a esquistossomose será com o Praziquantel e para geo-helmintíases serão com Albendazol ou Mebendazol. Estes medicamentos podem trazer um leve desconforto ao ingerir, mas que serão minimizados com o oferecimento de um lanche para a criança antes de tomar.

Para participar deste estudo o Sr. (a) ou a criança não terão nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. O Sr. (a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para aceitar a participação da criança ou recusar a participação da criança a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico do menor armazenado no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A aceitação da participação da criança é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que a criança será atendido (a) pelo pesquisador, que tratará a identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados obtidos pela pesquisa, a partir do material biológico, estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação ou da criança não será liberado sem a sua permissão. O (A) Sr. (a) ou o menor não serão identificados (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no **Laboratório de Imunologia e Genômica de Parasitos**, e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos na sala 167/E4 do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

**Consentimento:** Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Fui informado que assinarei duas vias do consentimento e que uma delas ficará comigo. Concordo com a participação voluntária da criança nesta pesquisa.

Nome da criança: \_\_\_\_\_

Nome do responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do responsável \_\_\_\_\_

Assinatura do entrevistador: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 202

Endereço e telefone do pesquisador:

Para maiores informações sobre o estudo, você poderá se comunicar com o pesquisador responsável:

Dr. Ricardo Toshio Fujiwara

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia/ICB, Bloco E4, Sala 167; Avenida Antônio Carlos 6627, CEP 31270-901, Pampulha, Belo Horizonte-MG; Tel.: (31)3409-2871.

Para informações éticas do estudo, você poderá contatar o Comitê de Ética da UFMG (Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais).  
Endereço: Av. Antônio Carlos, nº 6627, Unidade Administrativa II, Sala 2005–Bairro Pampulha/ Belo Horizonte – MG. CEP: 31270-901. Tel.: (31) 3409 4592  
Email: [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br)

## ANEXO E. Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

### TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Crianças participantes (6-17 anos)

BREJO DO AMPARO - MINAS GERAIS

Titulo da pesquisa: **"Novos testes sorológicos para diagnóstico da esquistossomose mansoni e geo-helmintíases – Da Sorologia Convencional para Bioinformática e Nanotecnologia"**

#### DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO VOLUNTÁRIO

1. NOME DA CRIANÇA: \_\_\_\_\_

DATA DE NASCIMENTO: \_\_\_\_\_

#### Informações ao voluntário participante da pesquisa

Estamos convidando você para participar de um projeto de pesquisa desenvolvido por pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). O objetivo deste estudo é verificar se existe a presença de vermes ou produto deles nas suas amostras de fezes, de urina e no sangue para, assim, saber se você tem xistose ou outro verme. A xistose ou barriga d'água como é conhecida é uma doença que é transmitida no contato com águas que contém caramujos infectados. Importante saber que as pessoas que têm a doença podem ser tratadas e curadas, mas para isso é preciso saber se você tem ou não a doença. Caso seja encontrado algum verme, faremos o tratamento com remédio e um exame de ultrassom para avaliar a parte de dentro da sua barriga. Um mês após o tratamento e um ano após o tratamento, coletaremos fezes, urina e sangue novamente para saber como está a sua saúde.

#### Riscos e benefícios

Caso aceite participar da pesquisa, não existirão risco para a sua saúde. O que pode existir é um leve desconforto da picada da agulha durante a coleta do sangue. No entanto, a coleta será realizada por profissionais especializados. Isso irá te beneficiar, pois se for descoberto a presença do verme, nós iremos tratar e você ficará forte e saudável.

#### Confidencialidade

Não falaremos para ninguém que você está participando deste projeto.

#### Armazenamento de amostras biológicas para uso em pesquisas futuras

As suas amostras de fezes, urina e sangue que serão utilizadas para saber se você tem a xistose ou outro verme, serão guardadas em freezer.

**Participação voluntária:** Você não é obrigado a participar. Não haverá problemas nas suas atividades na escola. O seu tratamento médico será realizado se você quiser participar ou não da pesquisa.

**Assentimento:** Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Fui informado que assinarei duas vias do assentimento e que uma delas ficará comigo. Concordo com a minha participação voluntária nesta pesquisa.

Assinatura da criança (6 a 17 anos): \_\_\_\_\_

Assinatura do entrevistador: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 202\_

Impressão digital  
(opcional)

Endereço e telefone do pesquisador:

Para maiores informações sobre o estudo, você poderá se comunicar com o pesquisador responsável:

Dr. Ricardo Toshio Fujiwara

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia/ICB, Bloco E4, Sala 167; Avenida Antônio Carlos 6627, CEP 31270-901, Pampulha, Belo Horizonte-MG; Tel.: (31)3409-2871.

Para informações éticas do estudo, você poderá contatar o Comitê de Ética da UFMG (Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais). Endereço: Av. Antônio Carlos, nº 6627, Unidade Administrativa II, Sala 2005–Bairro Pampulha/ Belo Horizonte – MG. CEP: 31270-901. Tel.: (31) 3409 4592  
Email: [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br)

## ANEXO C. Questionário Socioeconômico e Comportamental – 2014

CARACTERIZAÇÃO DO ENTREVISTADO	
<b>NOME:</b> 1. <b>CÓDIGO DO PARTICIPANTE (preencher depois)</b> ____ - ____ - ____ - ____ (Comun-Casa-Número-NºVisita: ex. 02-014-2-II)	
2. <b>DATA DE NASCIMENTO:</b> ____/____/____	
3. <b>Idade:</b> _____ anos	
4. <b>Até que série o (a) Sr. (a) (ENTREVISTADO) estudou?</b> 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
5. <b>O (a) Sr.(a) (ENTREVISTADO) sabe ler uma carta ou um jornal com?</b> ( )1- Facilidade ( )2- Com dificuldade ( )3-Não sabe ler	Ler
6. <b>Você está trabalhando no momento?</b> ( )1- Sim ( )2- Não ( )3-Aposentado/pensionista ( )77-nqr ( )99 - nsabe/nlembra	Trabalha
6.1. <b>Se sim, qual o salário mensal? R\$</b> _____ ( )77- nqr ( )88- nsa ( )99 - nsabe/nlembra	
<b>7. TEVE ALGUM DESTES PROBLEMAS DE SAÚDE NO ÚLTIMO MÊS? (Pode Marcar Mais De 1 Alternativa - Estas Devem Ser Lidas)</b>	
<b>7.1 Diarréia</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	Diarr
<b>7.2 Duração da diarréia em dias ( )</b> ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	DuDiarr
<b>7.3 Sangue nas fezes</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	SanFez
<b>7.4 Febre</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	Febre
<b>7.5 Vômitos</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	Vomit
<b>7.6 Chiados no peito</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	ChiPeit
<b>7.7 Coriza</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	Coriz
<b>7.8 Tosse seca</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	Tosse
<b>7.9 Tosse com catarro claro</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	ToCaC
<b>7.10 Tosse com catarro esverdeado</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	ToCaE
<b>7.11 Tosse com catarro sanguinolento</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	ToCaS
<b>7.12 Perda de apetite</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	PerApet
<b>7.13 Eliminação de vermes</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	Verme
<b>7.14 Abatimento / tristeza</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	Abati

<b>7.14 Abatimento / tristeza</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>Abati</b>
<b>7.15 Problema de garganta</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>Gargan</b>
<b>7.16 Diabetes</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>DorDen</b>
<b>7.17 Coceira entre os dedos dos pés ou das mãos</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>CocInter</b>
<b>7.18 Já teve Leishmaniose</b>	<b>Leish</b>
( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.19 Qual Leishmaniose, tegumentar ( feridas na pele e mucosas) ou visceral?</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>LeishTeg</b>
<b>7.20 A quanto tempo teve Leishmaniose ( )</b> ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>TempLeish</b>
<b>7.21 Fez algum tratamento para Leishmaniose</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>TratLeish</b>

No último ano (ANTES do Projeto DECIT)

<b>8. Usou algum remédio para verme (lombriga)</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>RemVerm</b>
<b>9. Eliminou verme após o uso do remédio</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>EliVerm</b>
<b>Questionário ISAAC - MÓDULO 1</b>	
<b>10. Alguma vez na vida, você teve sibilos (chiado no peito)</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra  <b>Se respondeu Não, Nqr, Nsa e Nlembra, passe para a questão 16.</b>	<b>Chiad</b>
<b>11. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve sibilos (chiado no peito)</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra  <b>Se respondeu Não, Nqr, Nsa e Nlembra, passe para a questão 16.</b>	<b>DozChiad</b>
<b>12. Nos últimos 12 (doze) meses, quantas crises de sibilos (chiado no peito) você teve?</b> ( ) 1. nenhuma crise ( ) 2. Uma a três crises ( ) 88. Nsa ( ) 3. Quatro a doze crises ( ) 4. mais de doze crises ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>QtChiad</b>
<b>13. Nos últimos 12 (doze) meses, com que frequência você teve seu sono perturbado por chiado no peito?</b> ( ) 1. Nunca acordou com chiado ( ) 2. Menos de uma noite por semana ( ) 3. Uma ou mais noites por semana ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>SonoChiad</b>
<b>14. Nos últimos 12 (doze) meses, seu chiado foi tão forte a ponto de impedir que você conseguisse dizer mais de 2 palavras entre cada respiração?</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>RespChiad</b>
<b>15. Teve sibilos (chiado no peito) após exercício físico?</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>ExerChiad</b>

<b>16. Alguma vez na vida já teve asma?</b> <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	<b>Asma</b>
<b>17. Teve tosse seca à noite sem estar gripado ou com infecção respiratória?</b> <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	<b>TosNoit</b>
<b>Questionário ISAAC - MÓDULO 2</b>	
<b>18. Alguma vez na vida você teve problema com espirros ou coriza (corrimento nasal), quando não estava gripado?</b> <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	<b>Coriza</b>
<b>Se responder Não, Nqr, Nsa e Nlembra, passe para a questão 24.</b>	
<b>19. Nos últimos 12 (doze) meses, voce teve problema com espirros, coriza (corrimento nasal) ou obstrução nasal quando não estava gripado?</b> <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  <b>Se responder Não, Nqr, Nsa e Nlembra, passe para a questão 24.</b>	<b>DozCoriza</b>
<b>20. Qual a frequência dos espirros, coriza ou obstrução nasal?</b> <input type="checkbox"/> 1. uma ou duas vezes por ano <input type="checkbox"/> 2. uma vez por mês <input type="checkbox"/> 3. mais do que uma vez por mês <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>FreqCoriza</b>
<b>21. Nos últimos 12 (doze) meses, esse problema nasal foi acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?</b> <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 <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>Lacrimej</b>
<b>22. Em qual dos últimos 12 (doze) meses esse problema nasal ocorreu? (Por favor marque em qual ou quais meses isso ocorreu)</b> <input type="checkbox"/> Janeiro <input type="checkbox"/> Maio <input type="checkbox"/> Setembro <input type="checkbox"/> Fevereiro <input type="checkbox"/> Junho <input type="checkbox"/> Outubro <input type="checkbox"/> Março <input type="checkbox"/> Julho <input type="checkbox"/> Novembro <input type="checkbox"/> Abril <input type="checkbox"/> Agosto <input type="checkbox"/> Dezembro <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>MesCoriza</b>
<b>23. Quantas vezes suas atividades diárias (movimentos normais) foram atrapalhadas por esses sintomas nasais (espirro, coriza, coceira ou entupimento)?</b> <input type="checkbox"/> 1. nenhuma <input type="checkbox"/> 2. pouco (alguns minutos ou poucas horas do dia) <input type="checkbox"/> 3. moderado (uma parte do dia - manhã tarde ou noite) <input type="checkbox"/> 4. muito (sintomas diários e constantes) <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>QtVzAtr</b>
<b>Questionário ISAAC - MÓDULO 3</b>	
<b>24. Alguma vez na vida você teve manchas com coceira na pele (eczema), que apareciam e desapareciam por pelo menos 6 meses?</b> <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  <b>Se responder Não, Nqr, Nsa e Nlembra, passe para a questão 29.</b>	<b>Eczema</b>
<b>25. Nos últimos 12 meses, você teve manchas com coceira na pele (eczema)?</b> <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  <b>Se responder Não, Nqr, Nsa e Nlembra, passe para a questão 29.</b>	<b>DozEczem</b>

<p><b>26. Alguma vez essas manchas com coceira afetaram algum dos seguintes locais:: dobras dos cotovelos, atrás dos joelhos, na frente dos tornozelos, abaixo das nádegas, em volta do pescoço, orelha ou olhos?</b>  <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</p>	<b>LocEczem</b>
<p><b>27. Alguma vez essas manchas com coceira desapareceram completamente nos últimos 12 meses?</b>  <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</p>	<b>DesEczem</b>
<p><b>28. Nos últimos 12 meses, quantas vezes, aproximadamente, você ficou acordado à noite por causa dessa coceira na pele?</b>  <input type="checkbox"/> 1. Nunca nos últimos 12 meses    <input type="checkbox"/> 2. Menos de uma noite por semana  <input type="checkbox"/> 3. Uma ou mais noites por semana    <input type="checkbox"/> 88. Nsa    <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>SonoEcze</b>
<p><b>29. Quando tem contato com poeira mofo ou cheiro forte, ela tem coceira, espirro ou coriza?</b>  <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</p>	<b>ContPoe</b>
<p><b>30. Quando isso acontece, tem coceira nos olhos ou coceira na garganta?</b>  <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</p>	<b>Coceira</b>
<p><b>31. Apresenta alergia a medicamentos</b>  <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: _____</p>	<b>AlerMed</b>
<p><b>32. Apresenta alergia a alimentos</b>  <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: _____</p>	<b>AlerAli</b>
<p><b>33. Apresenta alergia a bebidas</b>  <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: _____</p>	<b>AlerBeb</b>
<p><b>34. Ingere bebida alcoólica com que frequência? (pergunta deve ser feita a pessoas acima de 10 anos)?</b>  <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</p>	<b>FreqAlc</b>
<p><b>35. Consome cigarros?</b>  <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</p>	<b>Fumo</b>
<p><b>36. Quantos por dia?</b>  Número de cigarros: (    )  <input type="checkbox"/> 77. Nqr    <input type="checkbox"/> 88. Nsa    <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>QuantCig</b>
<p><b>37. Para sair de casa é obrigado a pisar na água?</b>  <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</p>	<b>PisaAgu</b>
<p><b>38. Costuma ir ao riacho ou córrego</b>  <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   <b>Se responder: Não, Nqr, Nsa, Nlembra, passe para questão 40.</b></p>	<b>ContAg</b>
<p><b>38.1. Se sim, com qual finalidade vai ao riacho</b></p>	
a) Banho	<b>RiBan</b>
b) lavagem de roupa	<b>RiLavR</b>
c) lavagem de utensílios domésticos/utensílios de trabalho	<b>RiLavU</b>
d) nadar/lazer	<b>RiNad</b>
e) pegar água para limpeza da água	<b>RiPegAg</b>
f) lavagem de carro / moto / bicicleta	<b>RiLav</b>
g) lavagem de animais domésticos	<b>RiLavAn</b>
h) outros (especificar)	
<input type="checkbox"/> 77-Nqr <input type="checkbox"/> 88-Nsa <input type="checkbox"/> 9-Nsabe/Nlembra	

## ANEXO D. Questionário Socioeconômico e Comportamental – 2022

<b>QUESTIONÁRIO 1</b> <b>CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA, DOMICÍLIO E AMBIENTE</b>	
<b>1. Quantas pessoas moram na sua casa?</b>	<u>P</u> casa
<b>2. Quantos cômodos tem na sua casa?</b>	<u>C</u> casa
<b>3. Qual grau de escolaridade chefe da família?</b> <input type="checkbox"/> Analfabeto / Fundamental I incompleto <input type="checkbox"/> Fundamental I completo/ Fundamental II incompleto <input type="checkbox"/> Fundamental II completo/ Médio incompleto <input type="checkbox"/> Médio completo/ Superior incompleto <input type="checkbox"/> Superior completo <input type="checkbox"/> 77- Ngr      ( ) 88 - Nsa      ( ) 99- Nsabe/Nlembra	<u>E</u> scola
<b>4. Itens presentes no domicílio: Qual a quantidades desses itens na sua casa?</b> <b>Banheiro?</b> <input type="checkbox"/> -0    ( )-1    ( )-2    ( )-3    ( )-4 ou mais <b>Carro particular?</b> <input type="checkbox"/> -0    ( )-1    ( )-2    ( )-3    ( )-4 ou mais <b>Motocicleta particular?</b> <input type="checkbox"/> -0    ( )-1    ( )-2    ( )-3    ( )-4 ou mais <b>Empregada doméstica?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Máquina de lavar?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Geladeira?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Freezer?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Lava-louça?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Secadora de roupa?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>DVD?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Computadores/ tablets</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Micro-ondas</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Tem energia elétrica?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Tem água encanada?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <b>Sua rua é pavimentada?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim      ( )2- Não <input type="checkbox"/> 77- Ngr      ( ) 88 - Nsa      ( ) 99- Nsabe/Nlembra	<u>R</u> enda
<b>5. Na família alguém recebe:</b> <b>Bolsa família ou Bolsa escola ou Bolsa alimentação?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim    ( )2- Não    ( )77- ngr    ( )99- Nsabe/Nlembra	<u>AuxBol</u>
<b>6. Na família alguém recebe</b> <b>Outros auxílios de programas do governo?</b> <input type="checkbox"/> 1- Sim    ( )2- Não    se SIM Qual: _____	<u>AuxOut</u>
<b>CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DO DOMICÍLIO</b>	
<b>7. Qual é o destino do esgotamento da privada?</b> <input type="checkbox"/> 1- Rede pública    ( )2- Fossa séptica    ( )3- Fossa rudimentar <input type="checkbox"/> 4- Vala/Céu aberto    ( )5- Curso d'água <input type="checkbox"/> 77- Ngr      ( )8- Outro (ESPECIFICAR): _____ <input type="checkbox"/> 99- Nsabe/Nlembra	<u>DtEsg</u>
<b>8. Qual é o destino dado ao lixo de sua casa?</b> <input type="checkbox"/> 1- Coleta pública    ( )2- Enterra    ( )3- Queima    ( )4- Joga em terreno baldio <input type="checkbox"/> 5- Joga no lixão    ( )6- Joga no quintal    ( )7- Reciclagem <input type="checkbox"/> 77- Ngr      ( )8- Outro (ESPECIFICAR): _____ ( ) <input type="checkbox"/> 99- Nsabe/Nlembra	<u>DtLixo</u>
<b>9. Qual a origem da água?</b> <input type="checkbox"/> 1- Rede geral <input type="checkbox"/> 2- Poço artesiano comunitário <input type="checkbox"/> 3- Cisterna <input type="checkbox"/> 4- Caixa d'água (chuva) <input type="checkbox"/> 5- Barragem <input type="checkbox"/> 6- Nascente <input type="checkbox"/> 7- Rio/Córrego <input type="checkbox"/> 8- Caminhão pipa <input type="checkbox"/> 9- Outro (ESPECIFICAR): _____ <input type="checkbox"/> 77- Ngr      ( )99- Nsabe/Nlembra	<u>OriAgu</u>
<b>10. Na sua casa, qual o tratamento da água utilizada para beber?</b> <input type="checkbox"/> 1- Nenhum <input type="checkbox"/> 2- Filtração <input type="checkbox"/> 3- Cloração <input type="checkbox"/> 4- Decantação <input type="checkbox"/> 5- Fervura <input type="checkbox"/> 6- Mais de um método (ESPECIFICAR): _____ <input type="checkbox"/> 77- Ngr      ( )99- Nsabe/Nlembra	<u>TratAgu</u>

<b>QUESTIONÁRIO 2 CARACTERIZAÇÃO DO ENTREVISTADO</b>	
<b>11. CÓDIGO DO PARTICIPANTE (preencher depois)</b> ____ - ____ - ____ - ____ (Comunidade-Nº Casa-Número participante-01(número visita): ex; PS-02-01-01)	<b>CodIDUM</b>
<b>12. DATA DE NASCIMENTO:</b> ____/____/____	<b>DTnasc</b>
<b>13. Idade:</b> _____ anos	<b>DTIdade</b>
<b>15. Onde você nasceu (ENTREVISTADO)?</b> Cidade: _____ Estado: _____	
<b>16. Há quanto tempo mora nesta comunidade?</b> ANOS: _____ MESES: _____	<b>TempRes</b>
<b>17. Já residiu em outra comunidade dentro deste município?</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra QUAL (Especificar últimas 3) _____	<b>MudaNC</b>
<b>18. Já residiu em outro município?</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra QUAL (Especificar os últimos 3) _____	<b>MudaCid</b>
<b>19. Até que série o (a) Sr. (a) (ENTREVISTADO) estudou?</b> 1. ( <input type="checkbox"/> ) Sem Estudo 2. ( <input type="checkbox"/> ) Ensino fundamental incompleto 3. ( <input type="checkbox"/> ) Ensino fundamental completo 4. ( <input type="checkbox"/> ) Ensino médio incompleto 5. ( <input type="checkbox"/> ) Ensino médio completo 6. ( <input type="checkbox"/> ) Ensino superior incompleto 7. ( <input type="checkbox"/> ) Ensino superior completo	<b>Escola</b>
<b>21. TEVE ALGUM DESTES PROBLEMAS DE SAÚDE NO ÚLTIMO MÊS?</b> (Pode Marcar Mais De 1 Alternativa - Estas Devem Ser Lidas)	<b>Diarr</b>
<b>21.1 Diarréia</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	
<b>21.2 Duração da diarréia em dias</b> ( _____ ) ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 88. Nsa ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	<b>DuDiarr</b>
<b>21.3 Sangue nas fezes</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	<b>SanFez</b>
<b>21.4 Febre</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	<b>Febre</b>
<b>21.5 Eliminação de vermes</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	<b>Verme</b>
<b>21.6. NO ÚLTIMO ANO:</b> Usou algum remédio para verme (lombriga) ( <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	<b>RemVerm</b>
<b>21.7. Eliminou verme após o uso do remédio</b> ( <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	<b>EliVerm</b>
<b>22. Já teve Leishmaniose</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	<b>Leish</b>
<b>22.1 Qual Leishmaniose, tegumentar ( feridas na pele e mucosas) ou visceral?</b> ( <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	<b>LeishTeg</b>
<b>22.2 A quanto tempo teve Leishmaniose</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Último ano ( <input type="checkbox"/> ) 2. 2 a 5 anos ( <input type="checkbox"/> ) 3. Mais que 5 anos ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 88. Nsa ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	<b>TempLeish</b>
<b>NOS ÚLTIMOS 2 ANOS,</b> <b>23. Teve Covid-19?</b> ( <input type="checkbox"/> ) 1. Sim ( <input type="checkbox"/> ) 2. Não ( <input type="checkbox"/> ) 77. Nqr ( <input type="checkbox"/> ) 99. Ns/Nlembra	<b>TCOV</b>

<b>23.1 Fez algum teste ?</b> <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	<u>TestCOV</u>
<b>23.2 Qual?</b> <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	
<b>23.2 Tomou kit COVID?</b> <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	<u>KitCOV</u>
<b>23.4 Vacinado?</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<u>VCOV</u>
<b>23.5 Qual dose?</b> <input type="checkbox"/> 1. 1ª dose <input type="checkbox"/> 2. 1 e 2ªdose <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	<u>DosCOV</u>
<b>23.6 Quanto tempo?</b> <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	<u>TempCOV</u>
<b>24. Apresenta alergia a medicamentos</b> <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:	<u>AlerMed</u>
<b>25. Apresenta alergia a alimentos</b> <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:	<u>AlerAli</u>
<b>26. Apresenta alergia a bebidas</b> <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:	<u>AlerBeb</u>
<b>27. Ingere bebida alcoólica com que frequência? (pergunta deve ser feita a pessoas acima de 18 anos)?</b> <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	<u>FreqAlc</u>
<b>28. Para sair de casa é obrigado a pisar na água?</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<u>PisaAgu</u>
<b>29. Costuma ir ao riacho ou córrego ou igarapé</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<u>ContAg</u>
<b>Se responder: Não, Nqr, Nlembra, passe para questão 40.</b>	
<b>29.1. Se sim, com qual finalidade vai ao riacho</b>	
<b>a) Banho</b> <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	<u>RiBan</u>
<b>b) lavagem de roupa</b> <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	<u>RiLavR</u>
<b>c) lavagem de utensílios domésticos/utensílios de trabalho</b> <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	<u>RiLavU</u>
<b>d) nadar/lazer</b> <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	<u>RiNad</u>
<b>e) pegar água para limpeza da água</b> <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	<u>RiPegAg</u>
<b>f) lavagem de carro / moto / bicicleta</b> <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	<u>RiLav</u>
<b>g) lavagem de animais domésticos</b> <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	<u>RiLavAn</u>
<b>h) Atividade de pesca</b> <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	<u>RiPesca</u>
<b>i) Manejo de culturas e plantações</b> <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	<u>RiPlan</u>
<b>j) Extração areia</b> <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	
<b>k) outros (especificar)</b>	
<b>30. Tem contato direto com a terra?</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<u>ContTer</u>
<b>Se responder: Não, Nqr, Nlembra, passe para questão 41.</b>	
<b>30.1. Se sim, como é o contato com a terra?</b>	
a) trabalha como lavrador	<u>TerLav</u>
b) anda descalço	<u>TerDesc</u>
c) brinca na terra em torno do peridomicílio	<u>TerBrin</u>
d) cuida diretamente de horta/jardim	<u>TerHJar</u>
e) limpa valas e córregos	<u>TerLimp</u>
f) outros especificar	
<input type="checkbox"/> 77-Nqr <input type="checkbox"/> 88-Nsa <input type="checkbox"/> 99-Nsabe/Nlembra	