

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

EPIDEMIOLOGIA AMBIENTAL DA ESQUISTOSSOMOSE EM ALVORADA DE MINAS, MESORREGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS: Caracterização populacional de *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae), distribuição geográfica e observações sobre infecções naturais.

PAULO RICARDO SILVA COELHO

Belo Horizonte
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

EPIDEMIOLOGIA AMBIENTAL DA ESQUISTOSSOMOSE EM ALVORADA DE MINAS, MESORREGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS: Caracterização populacional de *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae), distribuição geográfica e observações sobre infecções naturais.

PAULO RICARDO SILVA COELHO

Dissertação de Mestrado 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 Mestre em Parasitologia

Orientador: Dr. Stefan Michel Geiger
Coorientadora: Dra. Roberta Lima Caldeira
Área de concentração: Helminologia

Belo Horizonte
2020

043

Coelho, Paulo Ricardo Silva.

Epidemiologia ambiental da esquistossomose em Alvorada de Minas, mesorregião metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais: caracterização populacional de *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae), distribuição geográfica e observações sobre infecções naturais [manuscrito] / Paulo Ricardo Silva Coelho. - 2020.

115 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Stefan Michel Geiger. Coorientadora: Dra. Roberta Lima Caldeira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. *Schistosoma mansoni*. 3. Análise espacial. 4. Moluscos. I. Geiger, Stefan Michael. II. Caldeira, Roberta Lima. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 576.88/.89

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

EPIDEMIOLOGIA AMBIENTAL DA ESQUISTOSSOMOSE EM ALVORADA DE MINAS, MESORREGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS: Caracterização populacional de *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae), distribuição geográfica e observações sobre infecções naturais.

PAULO RICARDO SILVA COELHO

Foi avaliada pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Stefan Michel Geiger – UFMG (Orientador)

Prof^a. Dra. Roberta Lima Caldeira – IRR/Fiocruz-Minas (Coorientadora)

Dra. Lângia Colli Montresor – IRR/Fiocruz-Minas (Avaliadora)

Dr. Martin Johannes Enk – IEC/SVS/MS - Pará (Avaliador)

Dissertação defendida e aprovada em: 18/02/2020



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
Paulo Ricardo Silva Coelho

404/2020/02
entrada
1º/2018
2018654947

Às quatorze horas do dia 18 de fevereiro do ano de 2020, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, a Comissão Examinadora da Dissertação, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: “Epidemiologia ambiental da esquistossomose em Alvorada de Minas, mesorregião metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais: Caracterização populacional de *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae), distribuição geográfica e observações sobre infecções naturais” área de concentração: **Helmintologia**. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, **Dr. Stefan Michael Geiger**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do (a) candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do (a) candidato (a) e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	Indicação
Dr. Stefan Michael Geiger	UFMG	APROVADO
Dra. Lângia Colli Montresor	IRR/FIOCRUZ - MG	APROVADO
Dr. Martin Johannes Enk	IEC, Para	APROVADO
Dra. Roberta Lima Caldeira	IRR/FIOCRUZ - MG	Aprovado

Expedição do resultado final.

CONSIDERAÇÕES GERAIS – SOBRE TESE APRESENTADA PELO (A) O (A) CANDIDATO (A):

Exigências	_____
Recomendações	_____
Sugestões	conforme repassadas ao candidato

Pelas indicações, o (a) candidato(a) foi considerado(a): APROVADO

O resultado final foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.
Belo Horizonte, 18 de fevereiro de 2020.

Dr. Stefan Michael Geiger _____
(Orientador)

Dra. Lângia Colli Montresor _____

Dr. Martin Johannes Enk _____

Dra. Roberta Lima Caldeira _____
(Coorientadora)

Prof. Daniella Gastanheira Bartholomeu
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Parasitologia
SIAPE: 1517341

Dedico este trabalho a todos que são acometidos pela esquistossomose.

*Dedico também aos meus amados pais, **Maria de Lourdes Silva Coelho e Dircio Amaral Coelho** e a minha esposa **Ludmila Alves Costa**.*

“O conhecimento emerge apenas através da invenção e da reinvenção, através da inquietante, impaciente, contínua e esperançosa investigação que os seres humanos buscam no mundo, com o mundo e uns com os outros”

Paulo Freire

Esta dissertação foi realizada no *Laboratório de Helminthoses Intestinais do ICB-UFMG*, e graças ao apoio das seguintes instituições e colaboradores:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG

- Departamento de Parasitologia

Professora Dra. Deborah Aparecida Negrão-Corrêa

Professor Dr. Hudson Alves Pinto

Me. Fabricio Thomaz de Oliveira Ker

- Centro de coleções taxonômicas

Me. Marco Antônio Anacleto

- Departamento de Zoologia

Professora Dra. Teofânia Heloisa Dutra Amorim Vidigal

Professor Dr. Paulo Christiano Anchieta Garcia

INSTITUTO RENÉ RACHOU – FIOCRUZ

- Grupo de Pesquisa em Helmintologia e Malacologia Médica

Bióloga Amanda Domingues de Araújo

Pesquisador Dr. Cristiano Lara Massara

- Olimpíada Brasileira de Saúde e Meio Ambiente (OBSMA)

Bióloga Stephanie dos Santos Cabral

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE – SES/MG

Enfermeira Michelle Souza Costa – Coord. da Vigilância de Fatores de Riscos Não-Biológicos

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS

Laboratório Divisão de Vigilância Sanitária – DIVISA

INSTITUIÇÕES PÚBLICAS DO MUNICÍPIO

Prefeitura Municipal de Alvorada de Minas – MG

Escola Estadual Daniel Utsch - MG

SUPORTE FINANCEIRO

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

AGRADECIMENTO

Ao orientador, **Stefan Michael Geiger**, pela acolhida em seu laboratório, amizade, ensinamentos, e pelas companhias nos trabalhos de campo, os quais me proporcionaram realização e admiração pelo sistema público de saúde.

À Coorientadora, **Roberta Lima Caldeira**, por compartilhar os ensinamentos, pelo incentivo, atenção, paciência e inspiração.

À minha querida esposa **Ludmila Alves Costa**, por ter me apoiado e incentivado na busca deste sonho, por ter enfrentado as dificuldades ao meu lado, com amor e compreensão.

Aos meus pais **Maria de Lourdes Silva Coelho** e **Dircio Amaral Coelho**, por iluminar os meus sonhos, sempre ao meu lado, em todos os momentos, apoiando e incentivando. Nada disso teria sentido sem a ajuda de vocês. Amo vocês!

Aos meus sogros **Verônica Alves de Sousa Costa** e **Márcio Roberto da Costa** pelo carinho, amizade e conforto nas horas difíceis.

Ao meu irmão **Carlos Eduardo Silva Coelho** e cunhada **Fabiana Santos Silva Coelho** pelos momentos que passamos juntos, amizade, carinho e apoio! E a minha sobrinha que está a caminho trazendo muita alegria e esperança para todos nós.

À minha cunhada **Savana Márcia Alves Costa** e **Augusto Ballardin**, pela amizade, companhia e confiança depositada.

À **FAMÍLIA** e **AMIGOS**, por todos os encontros durante os últimos dois anos. Foi lindo, intenso, com muito amor e união!

À equipe da **Secretaria de Saúde do Município de Alvorada de Minas** pelo apoio logístico para a realização do trabalho de campo. De modo especial, à **Danilio Clessio Ferreira**, **Juliana Alves**, **Juliano Cesar Ferreira**, **Maria Lucinete De Miranda Barbosa**, **Geraldo Lucio dos Passos** e **Alisson Jose Ribas**, pela atenção, disponibilidade e simpatia presentes desde o primeiro contato realizado.

Aos companheiros do **Laboratório de Helminthoses Intestinais (LHI)** **João Paulo dos Santos**, **Roney Elias da Silva**, **Vanessa Normandio de Castro**, **Dayane Costa de Souza**, **Diogo Tavares Cardoso**, **Manon Duhazé**, **Warllem Junio de Oliveira** e **Daniely Marques Pereira** pela contribuição direta ou indireta e pelos bons momentos compartilhados, regados com café e bom humor.

Ao responsável pelo Moluscário da UFMG, **José Carlos Reis dos Santos**, obrigado pela atenção, pelo espaço cedido e pela ajuda na criação dos caramujos. Aos funcionários do Moluscário Lobato Paraense (IRR) por ceder alguns exemplares de *Biomphalaria glabrata*.

Ao **Fabricio Thomaz de Oliveira Ker** e a **Amanda Domingues de Araújo** pela colaboração que foi de extrema importância na realização deste estudo.

Ao **Cristiano Lara Massara**, **Stephanie dos Santos Cabral** e **Olimpíada Brasileira de Saúde e Meio Ambiente (OBSMA)** pela amizade, pelas boas conversas e por acreditarem, assim como eu, numa educação transformadora capaz de reduzir desigualdades.

Ao **Marco Antônio Anacleto** pela sensibilidade e disponibilidade em ilustrar o ciclo do parasito.

À **Professora Deborah Aparecida Negrão-Corrêa** e ao **Professor Hudson Alves Pinto** pelos conselhos, atenção e valiosas sugestões. Agradeço também aos seus alunos pela ajuda e os momentos de descontração.

À **Michelle Souza Costa** da **Secretaria do Estado de Minas Gerais** e a **FUNED** pelos Kits de coliformes fecais cedidos para este estudo. A **Professora Teofânia Heloisa Dutra Amorim Vidigal** por disponibilizar os equipamentos de coleta de moluscos. Ao **Professor Paulo Christiano Anchieta Garcia** por ceder o equipamento para o registro fotográfico das conchas e aos seus alunos **Igor Rodrigues Fernandes** e **Daniela Fonseca dos Santos** pela disponibilidade em ajudar no uso do equipamento. Ao professor **Francisco Antônio Rodrigues Barbosa** por ceder gentilmente a sonda de multiparametros e aos seus alunos pelo treinamento.

As minhas tias **Lindaura Amaral Coelho Simões** e **Maria das Dores Coelho Berteli** e aos meus primos **Pablo Simões Amaral**, **Fernanda Iracema Amaral Simões**, **Lucas Coelho Berteli** e **Luan Coelho Berteli** pelos momentos de alegria e acolhida em Alvorada de Minas e no Serro durante a realização do trabalho de campo. A minha tia **Neiva Neves Komel** (*in memoriam*) pelo incentivo e por se emocionar com o significado deste trabalho.

Ao **Lucas José de Almeida Lana** pela amizade e pela disponibilidade em produzir o equipamento de coleta dos moluscos. Ao **Guilherme Silva Miranda** e a **Karine Ferreira Lopes** pela paciência e disponibilidade em ajudar nas análises estatísticas.

À **Cynthia de Paula Andrade** pelos ouvidos, amizade, enormes ensinamentos e os incentivos na vida acadêmica.

À **Escola Estadual Daniel Utsch** por nos receber de braços abertos e nos proporcionar um espaço de diálogo com a comunidade. De modo especial, à **Nídia Kelen Moraes Moreira** e **Paola Maysa Nascimento Andrade**.

À turma de mestrado “**Degringolados**” (2018-2020), pelos momentos de alegria e cumplicidade. A todos os funcionários, professores e alunos do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do ICB/UFMG.

À **Mariza Márcia Silvino Fernandes** e a **Talita Alves Carneiro de Oliveira** da MILCOPY ICB pelas boas ideias, boas risadas e o excelente trabalho prestado.

À **Sibele Abreu** e **Sumara Aparecida Guilherme** da Pós-graduação em Parasitologia. Pessoas adoráveis, sempre prestativas e acessíveis.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES)** pela concessão da bolsa de mestrado.

Agradeço a **Universidade Federal de Minas Gerais**, o **Instituto de Ciências Biológicas**, o **Programa de Pós-graduação em Parasitologia** e ao **Instituto René Rachou** da **Fundação Oswaldo Cruz** pela oportunidade e suporte prestado para a realização deste trabalho.

RESUMO

A esquistossomose, doença parasitária causada pelo trematódeo *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) e endêmica no Brasil, apresenta em nosso meio os moluscos *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *B. tenagophila* (d'Orbigny, 1835) e *B. straminea* (Dunker, 1848) como hospedeiros intermediários naturais. Estudos visando avaliar a distribuição espacial e aspectos biológicos e taxonômicos dos vetores da esquistossomose são ainda necessários nas áreas de transmissão da doença. Em Alvorada de Minas, município localizado a cerca de 210 km ao norte da capital do estado de Minas Gerais, na rota turística da Estrada Real, os últimos levantamentos parasitológicos apontaram a ocorrência de casos de esquistossomose na população, o que justifica a realização de estudos visando à determinação dos potenciais focos de transmissão. No presente estudo, foram feitas cinco coletas malacológicas, entre outubro de 2018 e setembro de 2019. Todos os pontos de coleta foram georreferenciados, caracterizados ambientalmente e quanto a presença de coliformes fecais na água. Os moluscos capturados foram avaliados individualmente, em laboratório, para a detecção de possíveis infecções por larvas de trematódeos. As cercárias encontradas foram montadas em lâminas de vidro e identificadas em preparações não permanentes. Posteriormente, os moluscos foram identificados taxonômicamente, a partir de critérios morfológicos e para as espécies do gênero *Biomphalaria* por métodos moleculares (PCR-RFLP). Paralelamente, para a confirmação da suscetibilidade, *B. glabrata* (geração F1) provenientes de três localidades e *B. kuhniana* foram desafiados com *S. mansoni* (cepa LE) da UFMG. Os dados foram georreferenciados e representados em mapas. De 46 pontos analisados, a presença de moluscos foi constatada em 16 destes, sendo que exemplares do gênero *Biomphalaria* foram encontrados em 13 pontos. Os gastrópodes foram encontrados em rios, açudes, lagos, lagoas e bebedouros de animais domésticos. Após a triagem, constatou-se a presença total de 1125 moluscos vivos pertencentes aos seguintes gêneros e frequências: *Biomphalaria* (68%), *Physa* (19,9%), *Drepanotrema* (5,8%), *Omalonyx* (3,9%), *Pseudosuccinea* (1,4%) e *Pomacea* (0,7%). A partir das análises moleculares foi identificada a ocorrência de *B. glabrata*, *B. straminea*, *B. tenagophila*, *B. cousini* (Paraense, 1966) e *B. kuhniana* (Clessin, 1883). Embora negativos para *S. mansoni*, foram encontrados outros tipos cercarianos nos gastrópodes, como: Xifidiocercária, Estrigiocercária e larvas do tipo Equinóstoma. Dos ambientes verificados, foram 36% ambientes lóticos e 64% ambientes lênticos. A avaliação rápida de qualidade dos habitats identificou uma maior presença de moluscos nos ambientes impactados e entre os pontos com presença de moluscos 72% apresentaram coliformes fecais. A infecção experimental de *B. glabrata* revelou positividade da geração F1 de animais oriundos das três localizações avaliadas, com taxa de infecção de 70%, 85% e 100%. Já *B. kuhniana* apresentou resistência a *S. mansoni* em infecção laboratorial. A confecção de mapas permitiu identificar a distribuição e agrupamento dos moluscos límnicos no município e, conseqüentemente, determinar as possíveis áreas de maior risco de transmissão da esquistossomose em Alvorada de Minas. A atenção epidemiológica e a intervenção com medidas de controle no município devem ser priorizadas nas regiões leste, centro e norte, devido ao maior risco de infecção. Este trabalho pode incentivar a criação de protocolos de vigilância mais eficazes, adequado ao perfil epidemiológico de cada área endêmica, para o controle da esquistossomose mansoni.

Palavras chave: *Schistosoma mansoni*. Malacologia. Análise espacial. Caracterização ambiental. Áreas de risco.

ABSTRACT

Schistosomiasis, a parasitic disease caused by the trematode *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) is endemic in Brazil and has in this environment the molluscs *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *B. tenagophila* (d'Orbigny, 1835) and *B. straminea* (Dunker, 1848) as natural intermediate hosts. The municipality Alvorada de Minas is located about 210 km north of the capital of the state of Minas Gerais, on the tourist route of 'Estrada Real'. The latest parasitological surveys pointed to the frequency of new cases of schistosomiasis in the population, which justifies carrying out studies aiming at determining potential sources of transmission. In the present study, five malacological surveys were made between October 2018 and September 2019. All collection points were georeferenced, environmentally characterized and the presence of faecal coliforms in the water was analyzed. The captured molluscs were individually evaluated, in the laboratory for the detection of possible infections by larvae of trematodes. The cercariae found were mounted on glass slides and identified in non-permanent preparations. Subsequently, the molluscs were identified taxonomically, based on morphological criteria and by molecular methods (PCR-RFLP) for species of the genus *Biomphalaria*. At the same time, for the confirmation of susceptibility, *B. glabrata* (F1 generation) from three locations and *B. kuhniana* was challenged with *S. mansoni* (strain LE) from UFMG. The data were georeferenced and represented on maps. Of 46 collection points, the presence of molluscs was confirmed in 16 of them, and specimens of the genus *Biomphalaria* were found in 13 field sites. Gastropods were found in rivers, brooks, lakes, ponds and drinking fountains for domestic animals. After screening, 1125 live mollusks belonging to the following genera and frequencies were found: *Biomphalaria* (68%), *Physa* (19,9%), *Drepanotrema* (5,8%), *Omalonyx* (3,9%), *Pseudosuccinea* (1,4%) and *Pomacea* (0,7%). By molecular analysis, the occurrence of *B. glabrata*, *B. straminea*, *B. tenagophila*, *B. cousini* (Paraense, 1966) and *B. kuhniana* (Clessin, 1883) was confirmed. Even though, all collected snails were negative for *S. mansoni*, other cercariae types were found in other gastropod species, such as: Xifidiocercaria, Strigiocercaria and *Echinostoma*-type larvae. Of the verified environments the examined field sites were characterized as 36% lotic environments and 64% lentic environments. The rapid assessment of habitat quality identified a greater presence of mollusks in the impacted environments and among the points with the presence of molluscs 72% presented faecal coliforms. Experimental infections of *B. glabrata* revealed a high susceptibility of the F1 generation of animals from the three locations evaluated, with an infection rate of 70%, 85% and 100%. *B. kuhniana* presented resistance to *S. mansoni* in laboratory infection. The making of maps made it possible to identify the distribution and grouping of limnic molluscs in the municipality and, consequently, to determine the possible areas of greater risk for transmission of schistosomiasis in Alvorada de Minas. Epidemiological care and intervention with control measures in the municipality should be prioritized in the eastern, central and northern regions, due to the increased risk of infection. This work can encourage the creation of more effective surveillance protocols, appropriate to the epidemiological profile of each endemic area, for the control of schistosomiasis mansoni

Key words: *Schistosoma mansoni*. Malacology. Spatial analysis. Environmental characterization. Risk areas.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Distribuição geográfica da esquistossomose no mundo	18
Figura 2 – Distribuição geográfica da esquistossomose mansoni no Brasil	18
Figura 3 - Ciclo de vida de <i>Schistosoma mansoni</i> no Brasil	20
Figura 4 - Distribuição espacial das espécies hospedeiros intermediários de <i>Schistosoma mansoni</i> no Brasil	25
Figura 5 - Distribuição das espécies de <i>Biomphalaria</i> no Estado de Minas Gerais.....	30
Figura 6 – Mapa do município de Alvorada de Minas	35
Figura 7 – Fluxograma com as etapas do trabalho	36
Figura 8 - Procedimento de embalagem para o transporte de gastrópodes	38
Figura 9 – Fotoestimulação dos moluscos para a eliminação de cercárias	43
Figura 10 - Representantes da malacofauna límnic capturados no município de Alvorada de Minas	51
Figura 11 - Cercária do gênero <i>Echinostoma</i>	54
Figura 12 - Cercária tipo Xifidiocercária	54
Figura 13 – Cercária do tipo Estringeocercária.....	55
Figura 14 – Panorama dos ambientes de coleta que apresentaram os moluscos límnicos.....	59
Figura 15 - Distribuição dos 46 pontos amostrados no levantamento malacológico no município de Alvorada de Minas.....	67
Figura 16 - Mapa com a divisão das bacias hidrográficas e a distribuição da malacofauna nas 17 localidades.	68
Figura 17 - Mapa com a divisão das bacias hidrográficas e a distribuição das espécies de <i>Biomphalaria</i> nas 14 localidades.....	69
Figura 18 - Mapa de calor da distribuição de <i>Biomphalaria</i> a partir do Buffer.....	73
Figura 19 - Mapa de Kernel para a distribuição de <i>Biomphalaria</i> spp.	73
Figura 20 – Mapa de predição de <i>Biomphalaria</i> a partir da análise de Krigagem.....	75
Figura 21 – Mapa com a distribuição de <i>Biomphalaria</i> spp. e a predição com o fator peso para a indicação das áreas de risco, a partir da Krigagem.....	75
Figura 22 – Mapa de distribuição dos pacientes tratados com praziquantel	76
Figura 23 – Ações em educação em saúde na Escola Municipal Daniel Utsch,	86
Figura 24 – Ações em educação em saúde na Escola Municipal Daniel Utsch.	87
Figura 25 – Ações em educação em saúde na Escola Municipal Daniel Utsch.....	87

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Planejamento das coletas realizadas em Alvorada de Minas, Minas Gerais, Brasil.	37
Tabela 2 – Protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em trechos de bacias hidrográficas	39
Tabela 3 – Exposição dos moluscos da geração F1 a <i>Schistosoma mansoni</i> – Cepa LE	44
Tabela 4 - Grau de compatibilidade por cercárias eliminadas.....	45
Tabela 5 – Planilha de pontuação arbitrária das variáveis obtidas em campo.	46
Tabela 6 – Classificação arbitrária das áreas estudadas em relação as variáveis	47
Tabela 7 – Pontos amostrados com a presença de moluscos e número de coletas realizada em cada ponto.....	49
Tabela 8 – Moluscos coletados por ponto e localidade em Alvorada de Minas em outubro de 2018; fevereiro, março, maio e setembro de 2019.	50
Tabela 9 – Identificação das espécies do gênero <i>Biomphalaria</i> por morfologia e PCR-RFLP.	52
Tabela 10 – Ocorrência de famílias, gêneros e espécies de moluscos capturados por ponto de coleta em Alvorada de Minas outubro de 2018; fevereiro, março, maio e setembro de 2019.	53
Tabela 11 – Ambientes lóticos e lênticos relacionados com a presença moluscos	57
Tabela 12 – Resultados da análise de pH e temperatura	61
Tabela 13 – Resultados da análise microbiológica das coleções hídricas com moluscos.	62
Tabela 14 – Primeira infecção experimental - Desafio com a cepa LE de <i>Schistosoma mansoni</i>	63
Tabela 15 – Segunda infecção experimental - Desafio de linhagens de <i>Biomphalaria glabrata</i> com a cepa LE de <i>Schistosoma mansoni</i>	65
Tabela 16 – Número e procedência de indivíduos diagnosticados com esquistossomose no Município de Alvorada de Minas e tratados com praziquantel nos anos de 2017-2019. Dados obtidos da Secretaria de Saúde, Prefeitura de Alvorada de Minas.	66
Tabela 17 – Identificação das bacias hidrográficas e presença das variáveis condicionantes para o valor arbitrário do peso.....	70

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Comparação do número de moluscos capturados nas quatro coletas (2º,3º,4º e 5º) em 11 pontos com pluviosidade média, registradas na estação meteorológica de Conceição do Mato Dentro em 2019.....	56
Gráfico 2 - Comparação do número de moluscos capturados nas quatro coletas (2º,3º,4º e 5º) nos 11 pontos com temperatura compensada média, registradas na estação meteorológica de Conceição do Mato Dentro em 2019.....	56
Gráfico 3 – Pluviometria e total de número de moluscos capturados do gênero <i>Biomphalaria</i> e <i>Physa</i> referente a quatro coletas (2º, 3º, 4º e 5º) correspondente a sete pontos (1, 5, 6, 9, 10, 15, 33) que apresentaram os dois gêneros. Correlação realizada pelo Teste de Pearson.	57
Gráfico 4 - Aplicação do protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats. Pontuação de classificação dos ambientes visitados. Modificado do EPA, 1987; Callisto et al., 2002 e Brito et al., 2011.	60
Gráfico 5 - Desafio com a cepa LE de <i>Schistosoma mansoni</i> . Resultado da infecção experimental de <i>B. glabrata</i> com <i>S. mansoni</i> (cepa LE/UFMG). Moluscos provenientes da UFMG, Ponto 6 e Ponto 9 de Alvorada de Minas. (#) estatisticamente diferente entre os grupos Ponto 9 e UFMG; (*) estatisticamente diferente entre os grupos Ponto 9 e Ponto 6 pelo Teste de comparações múltiplas de Tukey.....	64
Gráfico 6 – Curva de mortalidade de linhagens de <i>Biomphalaria glabrata</i> provenientes de Alvorada de Minas (Pontos 6 e 9) e grupo controle (UFMG). Comparação realizada pelo Teste de Log-Rank (p = 0,36).	64

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- BDMEP** - Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa
- CMM** – Coleção de Malacologia Médica
- DALYs** – Anos de vida ajustados por incapacidade. Do inglês: *Disability-Adjusted Life Years*
- DATASUS** – Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
- FIOCRUZ** – Fundação Oswaldo Cruz
- FUNED** – Fundação Ezequiel Dias
- FUNASA** - Fundação Nacional de Saúde
- GDB** – Carga global de doenças. Do inglês: *Global Burden of Disease*
- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ICB** – Instituto de Ciências Biológicas
- ICMBio** – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
- IEC** – Instituto Evandro Chagas
- IEF** – Instituto Estadual de Florestas
- IGAM** - Instituto Mineiro de Gestão das Águas
- IRR** – Instituto René Rachou
- LHI** – Laboratório de Helminthoses Intestinais
- MMA** – Ministério do Meio Ambiente
- MS** – Ministério da Saúde
- NTD** – Doenças Tropicais Negligenciadas. Do inglês: *Neglected Tropical Disease*
- OMS** - Organização Mundial de Saúde
- PCE** - Programa de Controle da Esquistossomose
- PCR-RFLP** – Reação em Cadeia da Polimerase. Do inglês: *polymerase chain reaction Restriction fragment length polymorphism*.
- PECE** – Programa Especial de Controle da Esquistossomose
- PZQ** – Praziquantel
- SINAN** – Sistema de Informação de Agravos de Notificação
- SISPCE** – Sistema de Informação do Programa de Controle da Esquistossomose
- SVS** – Secretaria de Vigilância em Saúde
- UFMG** – Universidade Federal de Minas Gerais
- WHO** – Organização Mundial de Saúde. Do inglês: *World Health Organization*

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Esquistossomose no mundo e no Brasil	17
1.1.1	Ciclo do parasito.....	19
1.1.2	Controle da esquistossomose mansoni no Brasil	21
1.2	Gastrópodes límnicos – Hospedeiros intermediários	23
1.2.1	<i>Biomphalaria</i> spp.	23
1.2.2	Características dos hospedeiros intermediários e dos seus habitats	26
1.3	Contaminação fecal dos recursos hídricos e sua relação com a esquistossomose....	26
1.4	Suscetibilidade e compatibilidade dos moluscos do gênero <i>Biomphalaria</i> a <i>Schistosoma mansoni</i>	27
1.5	Epidemiologia ambiental da esquistossomose	29
2.	JUSTIFICATIVA	32
3.	OBJETIVOS.....	33
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1	Área de estudo	34
4.2	Levantamento malacológico.....	36
4.3	Dados meteorológicos	38
4.4	Caracterização da diversidade de habitats aquáticos.....	39
4.5	Análise da água.....	40
4.5.1	Dados de pH e temperatura	40
4.5.2	Coleta de água para análise microbiológica	40
4.5.3	Análise dos coliformes	40
4.6	Identificação taxonômica dos moluscos	41
4.7	Manutenção de moluscos no laboratório e pesquisa da helmintofauna associada ...	42
4.8	Infecção Experimental.....	43
4.9	Estudo observacional da população tratada com praziquantel	45
4.10	Análise espacial	46
4.11	Análises estatísticas	48
5.	RESULTADOS	49
5.1	Malacológico e parasitológico.....	49
5.1.1	Identificação morfológica e molecular (PCR-RFLP).....	49

5.1.2	Helmintofauna associada à malacofauna.....	54
5.2	Dados meteorológicos	55
5.3	Caracterização da diversidade de ambientes aquáticos	57
5.4	Análise da água.....	61
5.4.1	Dados de pH e Temperatura	61
5.4.2	Microbiológica para coliformes	62
5.5	Infecção experimental - Desafio com a cepa LE de <i>Schistosoma mansoni</i>	63
5.6	Análise descritiva dos pacientes tratados com Praziquantel	66
5.7	Análise espacial	66
5.7.1	Moluscos	67
5.7.2	Análise de Kernel e Buffer	71
5.7.3	Análise de Krigagem	74
5.7.4	Humano	76
6.	DISCUSSÃO.....	77
7.	DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA	86
8.	CONCLUSÃO.....	88
9.	REFERÊNCIAS	89
10.	APÊNDICE	107
10.1	Coordenadas geográficas dos pontos.....	107
10.2	Teste de detecção de coliformes totais e <i>E.coli</i>	108
10.3	Mapas de Alvorada de Minas – Análise espacial	109
10.4	Produções científicas	111
10.4.1	Trabalhos apresentados	111
11.	ANEXOS.....	112
11.1	Termo de Anuência	112
11.2	Convênio para a construção da fossa séptica.....	113

1. INTRODUÇÃO

1.1 Esquistossomose no mundo e no Brasil

A esquistossomose é uma doença parasitária que afeta populações em 78 países, e estima-se que cerca de 240 milhões de pessoas estejam infectadas e mais de 700 milhões expostas à infecção (WHO, 2016). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), trata-se de um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, e por esta razão, consta na lista das Doenças Tropicais Negligenciadas (NTD – *Neglected Tropical Disease*), pois prevalece em condições tropicais e subtropicais e regiões de maior pobreza (LINDOSO & LINDOSO, 2009; UTZINGER et al., 2011, WHO, 2019). Em 2016, segundo o estudo global da carga de doenças (GDB - *Global Burden of Disease Study*) foi estimado uma significativa taxa de morbidade de 1,9 milhão de anos perdidos por incapacidade (DALYs - *disability-adjusted life years*) para a esquistossomose no mundo.

Causada pelos trematódeos do gênero *Schistosoma* (Trematoda: Schistosomatidae): são reconhecidas seis espécies infectantes para humanos que apresentam distribuição diferenciada ao redor do mundo: *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, *Schistosoma guineensis* Pages e Cols, 2003, *Schistosoma intercalatum* (Fisher 1934), *Schistosoma japonicum* (Katsurada 1904), *Schistosoma mekongi* (Voge, Bruckner & Bruce, 1978) e *Schistosoma haematobium* (Bilharz, 1852) (WHO, 2015). Os parasitos *S. haematobium*, *S. mansoni* e *S. japonicum* são as espécies responsáveis pela maioria dos casos humanos e a doença apresenta uma ampla distribuição na região tropical e subtropical do globo, com focos na África Subsaariana, América do Sul, no Oriente Médio, no Sudeste Asiático e na China (WHO, 2018) (Figura 1).

Apenas *S. mansoni* tem registro de infecção nas Américas, incluindo a Venezuela, ilhas do Caribe, Suriname e Brasil (COURA & AMARAL, 2004; BRASIL, 2014). Estudos no Brasil indicam que a esquistossomose mansoni foi introduzida pelos portos no Nordeste em meados do século XVI, com o comércio de escravos africanos infectados com *S. mansoni*. No contexto histórico do desenvolvimento social, político e econômico do país, no início do século XVIII, ocorreu a primeira corrente migratória para a exploração de ouro e diamante no Estado de Minas Gerais. Posteriormente, no meio do século XIX, iniciou outro evento de migração para o estado

de São Paulo e para o norte do Paraná, onde vários focos de esquistossomose foram instalados (LAMBERTUCCI et al., 1987; AMARAL & PORTO, 1994; PRADO JÚNIOR, 1986).

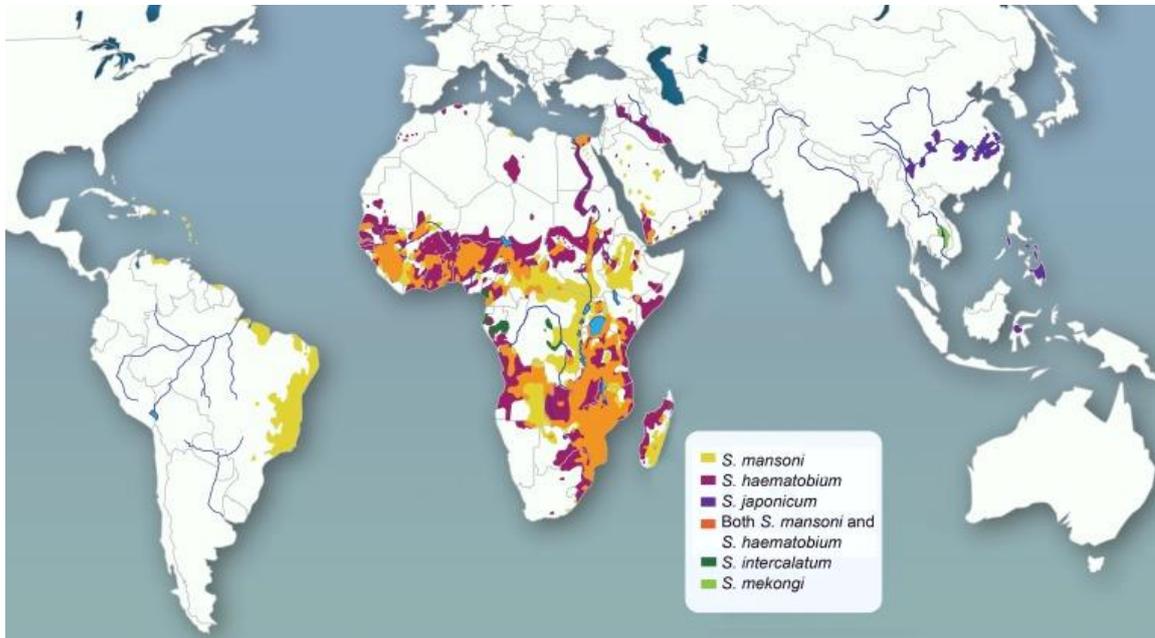


Figura 1 - Distribuição geográfica da esquistossomose no mundo. FONTE: WEERAKOON et al. (2015).

No Brasil, foi registrada a presença da doença em 18 estados e no Distrito Federal. O agravo ocorre de forma endêmica nos estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais. Já nos estados do Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e no Distrito Federal, a transmissão é focal, não atingindo grandes áreas (BRASIL, 2018) (Figura 2).

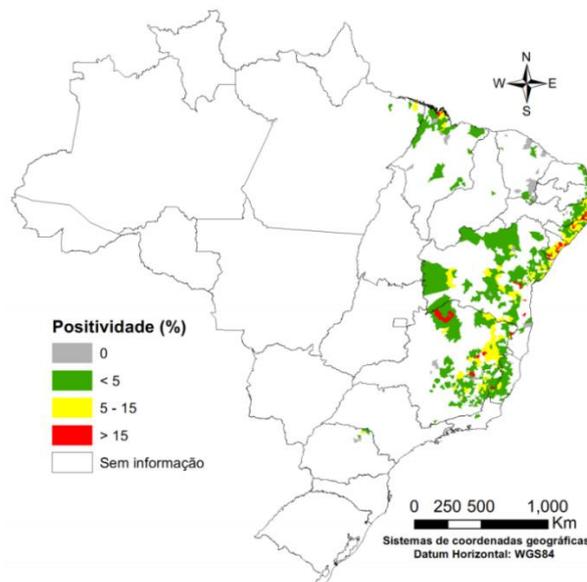


Figura 2 – Distribuição geográfica da esquistossomose mansoni no Brasil de 2009 a 2017. Fonte: BRASIL. (2019)

1.1.1 Ciclo do parasito

O ciclo de *S. mansoni* é heteroxeno com reprodução assexuada em hospedeiros invertebrados (moluscos) e sexuada em hospedeiros vertebrados (humano, roedores, primatas, marsupiais, cães, bovinos e bubalinos). Os vermes adultos são dioicos e habitam preferencialmente as vênulas do plexo mesentérico do hospedeiro vertebrado, onde depositam seus ovos. A fêmea se encontra dentro do canal ginecóforo do macho onde acontece a fecundação e a postura dos ovos. Os ovos com 150 micrômetros de comprimento e 60 micrômetros de largura apresentam formato oval e na sua parte mais larga uma espícula lateral. Nos vertebrados, estes ovos, atravessam a mucosa intestinal e são eliminados com as fezes, quando alcançam uma coleção hídrica em condições físico-químicas adequadas: temperaturas 28 e 30 °C, luz intensa e oxigenação da água, os miracídios eclodem dos ovos. Estes nadam ativamente em busca do hospedeiro invertebrado suscetíveis (caramujos de água doce do gênero *Biomphalaria*). A atração é mediada por quimiorreceptores reponsáveis por sinalizar substâncias secretadas pelo muco dos moluscos (SAMUELSON, QUINN and CAULFIELD 1984 e MACINNIS 1965). Ao entrar em contato com o molusco, penetram em seus tecidos a partir de enzimas histolíticas, secretadas por glândulas cefálicas da larva. Os miracídios, por poliembrionia, se transformam em esporocistos primários na região cefalopodal, que geram os esporocistos secundários. Estes esporocistos secundários no 18º dia após a penetração migram para a glândula digestiva, após 25 a 30 dias, modificam em cercárias com ventosas embrionárias e cauda bifurcada. As cercárias eliminadas pelo hospedeiro invertebrado, 4-6 semanas após a infecção, nadam ativamente por até 72 horas e, ao entrarem em contato com o hospedeiro vertebrado, penetram na pele e perdem a cauda transformando-se em esquistossômulos. Estes chegam ao sistema porta intra-hepático e alcançam a fase adulta. Os vermes adultos acasalam-se e migram para as vênulas da parede intestinal e a fêmea inicia a postura dos ovos entre 4 a 6 semanas após a penetração cercariana, completando o ciclo. Os ovos podem ficar presos na mucosa intestinal, serem arrastados para o fígado ou chegam à luz intestinal sendo eliminados com as fezes (JENKINS-HOLICK & KAUL et al., 2013; NEVES et al., 2016) (Figura 3).

ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

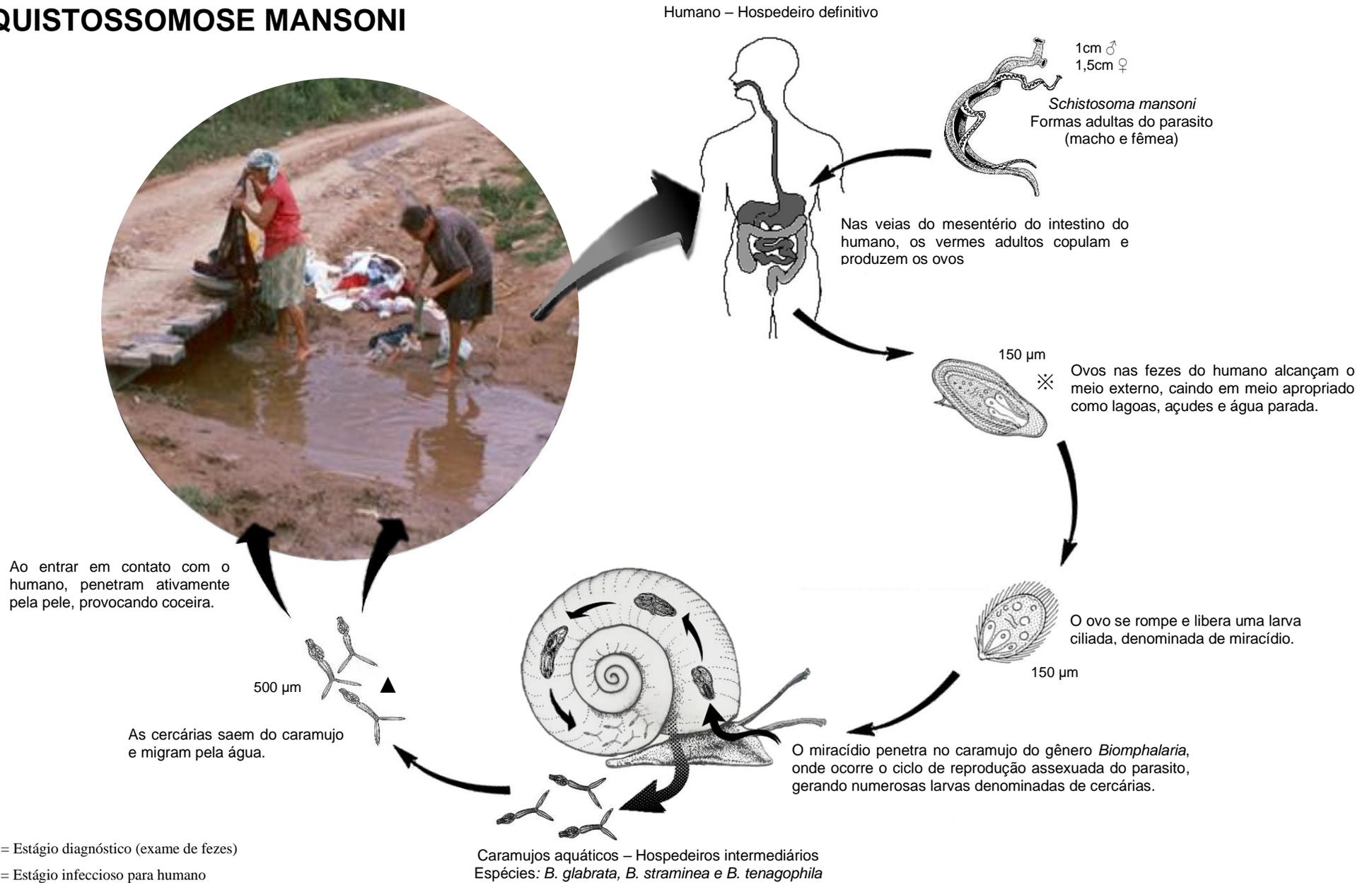


Figura 3 - Ciclo de vida de *Schistosoma mansoni* no Brasil. Ilustração: Marco Antônio Anacleto

1.1.2 Controle da esquistossomose mansoni no Brasil

A OMS avaliou que, nas últimas duas décadas, o Brasil alcançou com sucesso as medidas de controle visando reduzir o número de casos de esquistossomose (WHO, 2013). Após a implementação do Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PECE), em 1975, e, posteriormente, com o Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), em 1996, houve uma diminuição do número de doentes, a partir da melhoria no abastecimento de água e rede de esgoto, aplicação de moluscicida, diagnóstico e tratamento com praziquantel (PZQ) (KATZ, 2018). A doença teve redução acentuada nas taxas de mortalidade e nos casos graves com altas cargas parasitárias (WHO, 2012; GRENFELL et al., 2013, ROLLISSON et al., 2012).

Embora tenha sido notável a melhora dos casos, o PCE que até o ano de 1999 era coordenado e administrado pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA/MS), passou pela descentralização dos programas de saúde no ano de 2000 e transferiu o controle da doença para os municípios, isso gerou a descontinuidade do programa em várias áreas que eram monitoradas e controladas (DRUMMOND et al., 2006).

Nas áreas endêmicas, desde 1995 a recomendação para a notificação da doença é o Sistema de Informação do Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (SISPCE). A partir de 2014, a esquistossomose mansoni passou a ser doença de notificação compulsória nas áreas não endêmicas, conforme a Portaria nº 1.271 de 06 de junho de 2014 da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde (MS). Nessas áreas não endêmicas, a notificação dos casos passou ser realizada no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN).

Nos últimos 70 anos, foram realizados três inquéritos de abrangência nacional com o objetivo de descrever a prevalência da esquistossomose. Comparando os dados dos inquéritos de Pellon & Teixeira (1949-1953); do Programa Especial de Controle da Esquistossomose (1975-1978) e do Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelminthoses (2010-2015) em 11 estados endêmicos para esquistossomose, a positividade caiu de 10,09% para 9,24% e posteriormente para 1,79%, respectivamente (KATZ, 2018). No último Inquérito realizado entre 2010 e 2015 a prevalência da doença no Brasil foi estimada em 0,99% (KATZ, 2018).

Apesar da queda significativa da prevalência, a doença continua expandindo e adquirindo novo perfil epidemiológico de baixa carga parasitária, resistindo às ações

convencionais de controle e tratamento (COURA & AMARAL, 2004; KATZ, 1998). A transmissão ativa está concentrada nas regiões Sudeste (2,35%) e Nordeste (1,27%), sendo Minas Gerais e Pernambuco os estados mais afetados (WHO/PAHO, 2014; KATZ, 2018).

Contraditoriamente, no ano de 2016, pelo PCE foram registrados no Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), o total de 353.540 exames de diagnóstico da esquistossomose em todo o território nacional, desses foram identificados 12.009 infectados, representando uma positividade de 3,4%. Foram tratados 8.582 casos detectados nos estados de Alagoas, Pernambuco, Maranhão, Espírito Santo, Minas Gerais e Pará. A taxa bruta de mortalidade pelo Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) foi de 509 óbitos para o mesmo ano.

Os dados obtidos pelo programa apresentam duas estratégias para o diagnóstico: 1) busca ativa (Formulário PCE-101 – Diário de Coproscopia e Tratamento), e 2) pelo atendimento a demanda espontânea (Formulário PCE-108 – Casos Detectados na Rede Básica em Áreas Endêmicas) (Brasil, 2014). Seguindo recomendações da OMS, o método parasitológico referência é o Kato-Katz (KATZ et al., 1972) com a produção de 1 lâmina/1 amostra fezes (WHO, 2018). Atualmente o método comercial ofertado é o HELM TEST – BioManguinhos e o seu desempenho é capaz de avaliar qualitativamente e quantitativamente. O Kit apresenta placas quantificadoras que comportam 41,7 mg de fezes para a produção de cada lâmina e a intensidade das infecções são determinadas por ovos por gramas (OPG).

Apesar dos sucessivos programas de controle, a doença se encontra em expansão geográfica, devido à falta de políticas públicas para esgotamento sanitário, pela descontinuidade do PCE, por expansão territorial dos hospedeiros intermediários, pelo turismo rural e ecológico e os fluxos migratórios, assim como pela ineficiência das ações em educação em saúde (ENK & SCHALL 2003; MASSARA et al., 2008, KLOOS et al., 2010, FAVRE & MASSARA, 2018).

A OMS anunciou na resolução WHA65.21 de 2012, metas de identificação precoce e tratamento oportuno da infecção na população de países endêmicos. Para o Brasil, a determinação foi intensificar o controle da morbidade até 2019 e eliminar a transmissão em 2020 (WHA, 2012). A quimioterapia, embora seja essencial e certamente deve continuar, nunca alcançará a eliminação da doença caso seja utilizada sozinha (GRAY, 2010). Então, para que resultados próximos desta meta sejam alcançados, estratégias de controle no nível municipal devem se sustentar em ações integradas de saneamento básico, educação em saúde, diagnóstico

precoce, tratamento dos infectados e controle dos hospedeiros intermediários (MCMANUS, 2018). Neste estudo daremos ênfase no papel do monitoramento dos moluscos hospedeiros intermediários de *S. mansoni*.

1.2 Gastrópodes límnicos – Hospedeiros intermediários

Os gastrópodes de água doce pertencem a um dos maiores filos de seres vivos na terra, Filo Mollusca (BOUCHET et al., 2005). Em números, estima-se que existam 4.000 espécies no mundo e aproximadamente 533 espécies na região Neotropical (STRONG et al., 2008). No Brasil há registros de 224 espécies de gastrópodes límnicos catalogados (SIMONE et al., 2006).

Os gastrópodes geralmente apresentam morfologia típica com massa cefalopediosa, massa visceral e concha espiralada. Outra estrutura importante é a cavidade palial que abriga os órgãos vitais responsáveis pela circulação, respiração, excreção e reprodução (BRASIL, 2008; SIMONE et al., 2006).

As espécies do filo Mollusca podem atuar como hospedeiras intermediárias para uma diversidade de helmintos de interesse médico e veterinário (ADEMA et al., 2012 e KIM et al., 2014; KOSTADINOVA et al., 2014; GREWAL et al., 2003; ESCH et al., 2002; POULIN & MOURAND, 2004; LITTLEWOOD, 2006; POULIN, 2007). Atualmente, estima-se que doenças causadas por helmintos transmitidos por gastrópodes afetem mais de 300 milhões de pessoas em todo o mundo (WHO, 2015 e GIANNELLI et al., 2016).

No tocante as infecções transmitidas por moluscos, o termo "doenças tropicais negligenciadas" aplica-se, a todas, a saber esquistossomose, fasciolose, fasciolopsíase, paragonimíase, opistorquíase, clonorquíase e angiostrongilose (BRUUN et al., 2008; MORLEY et al., 2010; ADEMA et al., 2012).

1.2.1 *Biomphalaria* spp.

A história evolutiva dos moluscos como os primeiros hospedeiros dos trematódeos digenéticos tem sido estudada desde o século XIX, no intuito de compreender o surgimento dessa íntima relação e o alto grau de especificidade.

O primeiro registro de infecção dos moluscos do gênero *Biomphalaria* como hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil se deve aos trabalhos de

Lutz (1916, 1917a, 1917b, 1918, 1919). As suas pesquisas foram inspiradas nos trabalhos desenvolvidos no Egito por Leiper (1915a, 1915b e 1915c) que identificou os moluscos como hospedeiros intermediários.

No Brasil, foram descritas onze espécies e uma subespécie de moluscos límnicos do gênero *Biomphalaria* (Preston, 1910): *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848), *Biomphalaria peregrina* (Orbigny, 1835), *Biomphalaria schrammi* (Crosse, 1864), *Biomphalaria. kuhniiana* (Clessin, 1883), *Biomphalaria intermedia* Paraense & Deslandes 1962, *Biomphalaria amazonica* PARAENSE & DESLANDES, 1966, *Biomphalaria oligoza* PARAENSE, 1974, *Biomphalaria occidentalis* PARAENSE 1981, *Biomphalaria cousini* PARAENSE, 1966 e *Biomphalaria tenagophila guaibensis* PARAENSE, 1984. Entre estas, somente as três primeiras são encontradas naturalmente infectadas por *S. mansoni*. Enquanto *B. amazonica*, *B. peregrina* e *B. cousini* são considerados hospedeiros potenciais com base em infecções experimentais (PARAENSE & Correa, 1971, CORREIA & PARAENSE, 1973 e TEODORO et al., 2010).

Biomphalaria glabrata, figura 4A, é a espécie mais importante, pelo alto grau de suscetibilidade e compatibilidade com o parasito. Os exemplares adultos podem apresentar conchas de 40mm de diâmetro e 11 mm de largura (BRASIL, 2008).

Biomphalaria straminea, figura 4B, é a espécie que apresenta a mais abrangente distribuição entre as espécies hospedeiras. Possui baixa taxa de infecção natural a *S. mansoni*, inferior a 1%, entretanto essa espécie é capaz de manter altas taxas de infecção humana no Nordeste (PARAENSE & CORRÊA, 1963). Os adultos podem apresentar concha com até 16,5 mm de diâmetro, mas geralmente não passam de 12 mm de diâmetro.

Biomphalaria tenagophila, figura 4C, apresenta importância epidemiológica na transmissão do parasito nas regiões Sul e Sudeste. A concha de um indivíduo adulto pode chegar a 35 mm de diâmetro, porém o mais comum nas populações são conchas de 25 mm de diâmetro.

A ampla distribuição, a capacidade de colonizar ambientes diversos, o hermafroditismo, a rápida maturação sexual e a grande capacidade reprodutiva explicam o sucesso destes moluscos. No entanto, na natureza, a sobrevivência dos biomfalarias não vai além de um ano (Brasil, 2008).

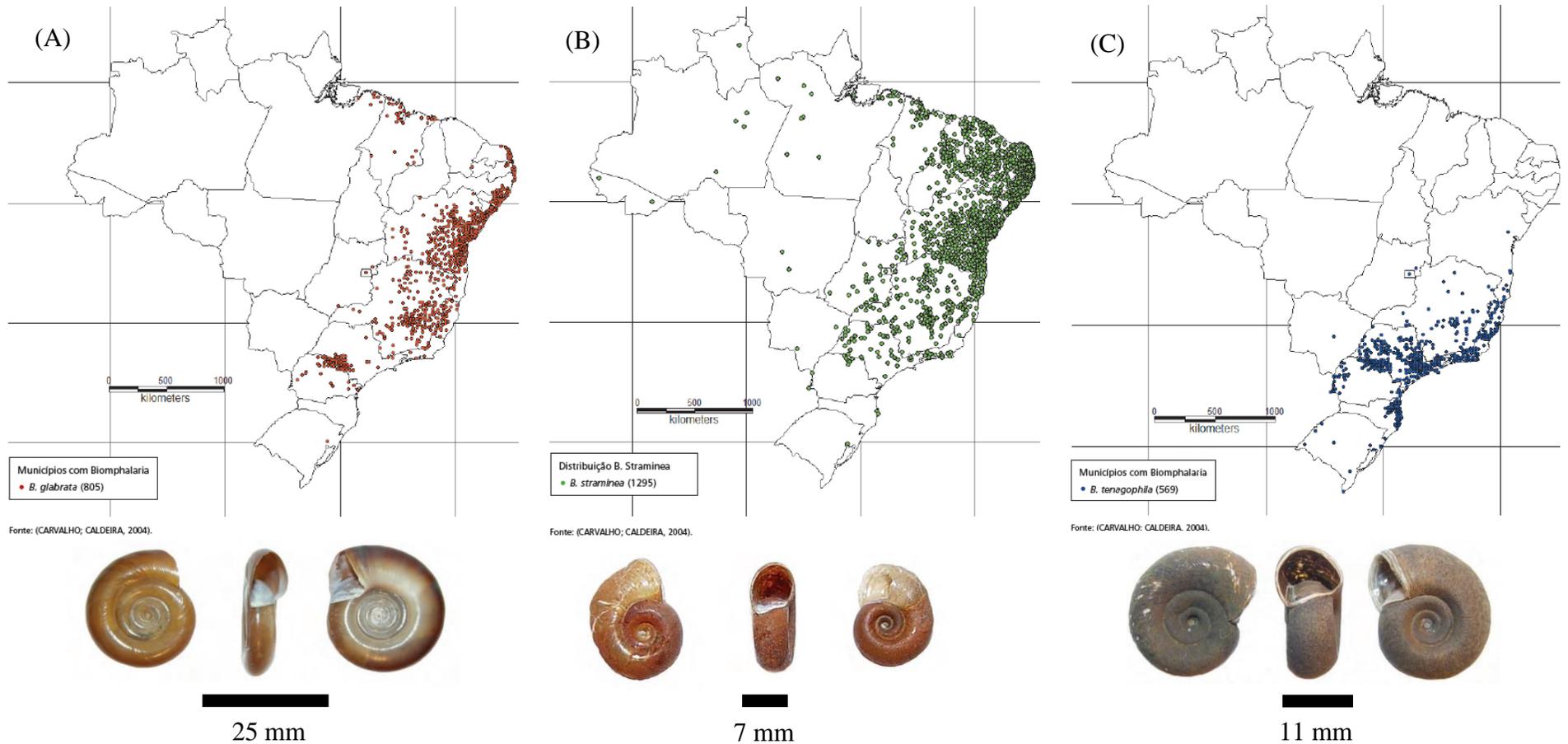


Figura 4 - Distribuição espacial das espécies (A) *Biomphalaria glabrata*, (B) *Biomphalaria straminea* e (C) *Biomphalaria tenagophila*, hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil (CARVALHO & CALDEIRA, 2004; BRASIL, 2008 com modificação)

1.2.2 Características dos hospedeiros intermediários e dos seus habitats

O sucesso desses moluscos de colonizar um maior número de habitats diversificados, está relacionado também a sua morfologia (BRASIL, 2008). Como o sistema respiratório que apresenta grande valor adaptativo pelas estruturas denominadas pseudobrânquias que permitem a imersão desses moluscos por longos períodos, permitindo a obtenção de oxigênio dissolvido na água e proteção contra possíveis predadores. Outra estrutura encontrada nesses moluscos pulmonados é o pneumóstomo, que permite as trocas gasosas na superfície da água, sendo uma estratégia de sobrevivência em ambientes pobres em oxigênio ou poluídos por matéria orgânica (TELES & CARVALHO, 2008).

As espécies de moluscos do gênero *Biomphalaria* habitam comumente pequenas coleções hídricas, tanto naturais (córregos, riachos, lagoas, pântanos) como artificiais (valas de irrigação, pequenos açudes), ambientes lóticos/lênticos com velocidade inferior a 30 cm/s e com vegetação necessária à sua alimentação e indispensável à proteção dos ovos depositados sob folhagens aquáticas (PARAENSE, 1972). Mesmo nas áreas sujeitas a secas sazonais, esses criadouros podem albergar populações permanentes, alimentados por esgoto (FERNANDEZ et al., 2008).

A maioria dos habitats já descritos apresentam também grande acúmulo de matéria orgânica, pouca turbidez, insolação, pH entre 6 a 8, teor de NaCl abaixo de 3 por 1000 e temperatura média entre 20 e 25°C (BRASIL, 2008). Entretanto, sabe-se que podem tolerar variações amplas nas características físicas, químicas e biológicas em seus ambientes e alguns exemplares podem migrar através de aves, peixes ou plantas, ocupando lentamente outros criadouros (PARAENSE, 1972; REY 2001). Na estação chuvosa, devido principalmente às inundações, a densidade populacional desses caramujos pode reduzir como descrito por Barbosa & Barbosa (1994).

1.3 Contaminação fecal dos recursos hídricos e sua relação com a esquistossomose

Dado a complexidade do ciclo de vida desse parasito e sua prevalência nas comunidades, os indicadores bacterianos que rastreiam as fontes humanas de contaminação fecal na água podem contribuir para a compreensão da dinâmica de transmissão da esquistossomose, assim como a presença de moluscos infectados (PONCE-TERASHIMA et al., 2014). Uma vez que a

infecção dos caramujos por *S. mansoni* depende da contaminação fecal humana nos criadouros (BARBOSA et al., 2017). Entre as bactérias utilizadas como bioindicadores de contaminação, a espécie *Escherichia coli* (T. Escherich, 1885) apresenta uma relação direta com o trato gastrointestinal humano e pode ser detectável em condições específicas em ambientes aquáticos, solos e nos vegetais. (DUARTE, 2011).

1.4 Suscetibilidade e compatibilidade dos moluscos do gênero *Biomphalaria* a *Schistosoma mansoni*

Os moluscos do gênero *Biomphalaria* podem apresentar diferentes níveis de suscetibilidade, isso devido a fatores intrínsecos, genéticos e epigenéticos dos hospedeiros e dos parasitos (ROLLINSON, 2012; MITTA et al., 2017). Nos últimos 70 anos, estudos laboratoriais elucidaram os possíveis fatores envolvidos na interação parasito-hospedeiro e suas variações entre populações e indivíduos.

Files e Cram (1949), observaram diferenças fisiológicas, intra e interespecíficas, entre os vermes de diferentes áreas endêmicas, a partir de testes de suscetibilidade, realizados com diversas linhagens de *S. mansoni*, com caramujos provenientes da Libéria, Egito, Porto Rico, Venezuela e Brasil.

Newton (1953) e Richards (1973) demonstraram a partir de experimentos laboratoriais que moluscos *B. glabrata* jovens são mais suscetíveis do que exemplares adultos. Posteriormente, Niemann & Lewis (1990), descreveram que o tamanho também poderia influenciar na suscetibilidade dos hospedeiros. De acordo com Abath et al. (2006) fatores como a frequência de exposição, infecções concomitantes e estado nutricional dos indivíduos infectados devem ser considerados na suscetibilidade do indivíduo.

Nessas interações parasito-hospedeiro, foram observados processos de eliminação rápida das larvas após a penetração nos moluscos, morte dos esporocistos em desenvolvimento, assim como o desenvolvimento de esporocistos viáveis e liberação de cercárias. Isso se justifica devido aos diferentes padrões genéticos de suscetibilidade e compatibilidade entre as linhagens fenotípicas de moluscos e trematódeos (GUARALDO et al., 1981; THERON e COUSTAU, 2005; COELHO et al., 2008; NACIF-PIMENTA et al., 2012).

A suscetibilidade dos moluscos apresenta diferentes fatores genéticos (NEWTON, 1953; RICHARDS, 1970; 1977; ZANOTTI-MAGALHÃES, MAGALHÃES, CARVALHO,

1971; BASCH, 1976; CARTON, NAPPI, POIRIE, 2005). Entre eles a presença de genes de resistência observados em populações de *B. tenagophila* Taim, testados em diferentes fases de desenvolvimento do molusco (SANTOS et al., 1979; MARTINS-SOUZA et al., 2003; COELHO et al., 2004).

Outros recursos que podem interferir na relação hospedeiro-parasito são os mecanismos de defesa interna desses invertebrados a partir dos hemócitos que combatem a infecção, eliminando o parasito (NEGRÃO-CORRÊA et al., 2007) da mesma, pode ocorrer a resposta do tipo humoral, quando reconhecida as infecções prévias pelo caramujo (PINAUD et al., 2016). As condições fisiológicas relacionadas a condições ambientais podem influenciar a redução do metabolismo dos caramujos e nas infecções parasitárias, como no processo de estivação que pode favorecer a eliminação dos esporocistos secundário, gerando a cura dos moluscos (BARBOSA, 1965).

Nas estratégias infecciosas de *S. mansoni* a quantidade de miracidios penetrantes é um fator determinante para infecções efetivas (LIMA et al., 2019). Assim como sua capacidade de infectar naturalmente diferentes hospedeiros invertebrados e de controlar os níveis de infectividade com a presença de determinados genes (THERON & COUSTAU 2005).

Frandsen (1979) propôs uma definição para a taxa de eliminação de cercárias de *S. mansoni*, emitidas num intervalo de tempo para indicar o grau de compatibilidade molusco-parasito. Foram definidas sete classes de compatibilidade segundo o número de cercárias emitidas (índice TCP/100). Entre os trabalhos realizados no Brasil que abordam esta suscetibilidade e a compatibilidade, Souza et al. (1995) em condições laboratoriais submeteu as três espécies hospedeiras *Biomphalaria*, ao desafio com três linhagens de *S. mansoni* (LE, SJ e AL). Os resultados apontaram que *B. glabrata* foi altamente compatível com as três linhagens estudadas, *B. tenagophila* teve resultado compatível com SJ e AL e foi pouco compatível com LE. Já *Biomphalaria straminea* foi pouco compatível com SJ e fracamente compatível com LE e AL. A suscetibilidade observada apresentou diferença estatística entre as três espécies e também na mesma espécie, quando comparadas as infecções de linhagens distintas dos parasitos.

Lima et al. (2019) no estudo sobre combinações simpátricas¹ e alopátricas² de miracídeos e *B. glabrata* demonstraram haver baixa compatibilidade entre as combinações simpátricas e alta compatibilidade nas combinações alopátricas. Os autores especulam que, após 2 anos de interação entre combinações alopátricas, possa ter ocorrido uma modulação por mecanismos epigenéticos da linhagem de *S. mansoni*, para combater fatores imunológicos dos moluscos alopátricos e isso poderia justificar o alto grau de infectividade da cepa, quando observado em diferentes linhagens de *B. glabrata*.

Dando continuidade a tais estudos o nosso grupo de pesquisa propôs analisar a suscetibilidade e a compatibilidade das populações de *Biomphalaria*, visando avaliar os possíveis riscos de transmissão da esquistossomose.

1.5 Epidemiologia ambiental da esquistossomose

Estudos visando o conhecimento sobre a composição da malacofauna límnic tem sido realizada no Brasil (LUTZ, 1918; SIMONE et al., 2006). Entretanto algumas regiões estão sendo mais estudadas, com levantamento de moluscos de importância médica, geralmente com ênfase na esquistossomose, como nos estados de Minas Gerais (SOUZA, PEREIRA & RODRIGUES, 1981; SILVA et al., 1994; SOUZA et al., 1998, 2006; VIDIGAL et al., 2005; LIMAS et al., 2009; SOUZA & MELO, 2012), Rio de Janeiro (THIENGO et al., 2001, 2002a, 2002b, 2004a, 2004b; MENDEIROS, CRUZ & FERNANDEZ et al, 2003; MIYAHIRA, 2009 e 2010) e na região sul do país (SIMÕES, 2002; PFFEITER & PITONI, 2003; MARTELLO et al., 2008; AGUDO-PADRÓN, 2008, 2009; AGUDO-PADRÓN & LENHAR, 2011).

A distribuição dos moluscos do gênero *Biomphalaria* são dados importantes para o planejamento de programas de controle da doença (TELES, PEREIRA & RICHINITTI, 1991). A distribuição das três espécies hospedeiras intermediárias de *S. mansoni* no Brasil tem sido objeto de inúmeras publicações. O primeiro mapa de distribuição dos hospedeiros de *S. mansoni* no Brasil foi publicado por PARAENSE (1970), seguindo-se sucessivas atualizações (PARAENSE, 1972, 1975, 1986, 2001; MALONE et al., 2005; GUIMARÃES et al., 2009; SCHOLTE et al., 2012; SCHOLTE et al., 2014; BRASIL, 2019).

¹ Simpátrica - Duas espécies ou populações que ocorrem na mesma área geográfica.

² Alopátrica - Duas espécies ou populações que ocorrem em diferentes áreas geográficas.

O uso de análises espaciais está cada vez mais recorrente nos trabalhos científicos na área de saúde humana, pois permitem redução de custo de implantação e manutenção dos programas de vigilância e controle (OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2013). Estudos da esquistossomose no Brasil por essas geotecnologias foram feitos nos estados da Bahia (BAVIA et al., 1996, 1999, 2001); Minas Gerais (MOURA et al., 2005; BROOKER et al., 2006; FONSECA et al., 2007, 2014; FONSECA, 2009; FREITAS et al., 2006; GAZZINELLI et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2006, 2008, 2009, 2010a-b, 2012; MARTINS, 2008; MARTINS-BEDÊ et al., 2009, 2010; CARVALHO et al., 2008b, 2010, 2018; TIBIRIÇA et al., 2011); Pernambuco (BARBOSA et al., 2004; ARAÚJO et al., 2007; GALVÃO et al., 2010; PAREDES et al., 2010) e Pará (MORAIS et al., 2014).

Guimarães et al. (2012) realizaram um estudo da distribuição dos moluscos do gênero *Biomphalaria* em Minas Gerais, a partir de dados depositados na Coleção de Malacologia Médica - Fiocruz-CMM (Figura 5A). No mesmo artigo, os autores elaboraram um mapa de Krigagem, que permitiu a predição da distribuição dos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* (Figura 5B). Vale ressaltar que no Brasil, o estado de Minas Gerais apresentou o segundo maior número de pacientes positivos, para os municípios com até 500 mil habitantes, no último inquérito por KATZ, 2018.

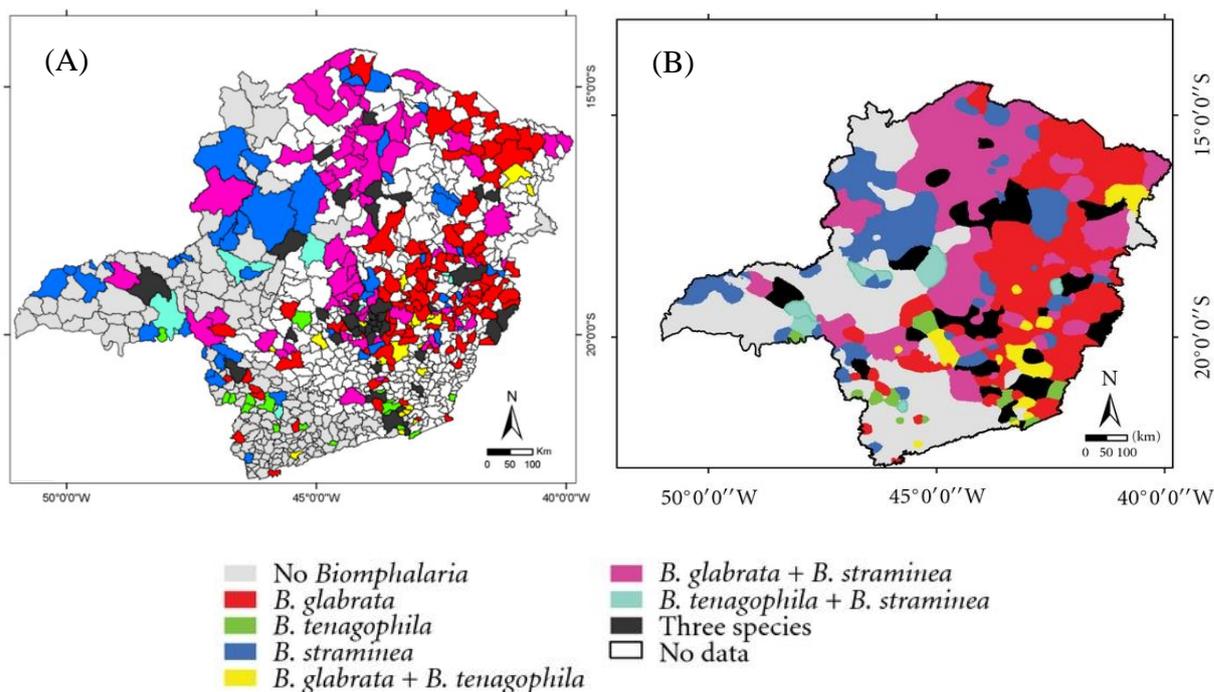


Figura 5 - Distribuição das espécies de *Biomphalaria* no Estado de Minas Gerais (A) Mapa de distribuição feito pelos registros da coleção de Malacologia Médica da Fiocruz-CMM. (B) Mapa de distribuição estimada das espécies de *Biomphalaria* em Minas Gerais (GUIMARÃES et al., 2012).

Estes dados podem contribuir significativamente para a escolha das estratégias de controle pelos gestores de saúde pública, permitindo-lhes, priorizar os municípios que necessitam de mais atenção de saneamento, e, por outro lado, concentrar-se nas medidas preventivas dos municípios, onde pode ocorrer a transmissão da doença (GUIMARÃES, 2010). No entanto, ainda são necessárias pesquisas mais pontuais para a confirmação da malacofauna “in situ” e a identificação das possíveis áreas de risco nos municípios (CANTANHEDE, 2014).

Em Minas Gerais (MG), Souza et al. (2001) compilaram observações publicadas e não publicadas sobre a distribuição geográfica das bionfálias em 283 municípios e esses dados contribuíram para a elaboração do mapa planorbídico do estado. Carvalho et al. (2018) realizaram um estudo transversal em 120 municípios onde não haviam registros da malacofauna entre os anos de 2012 e 2014. Destes, 79 municípios apresentaram espécimes suscetíveis a infecção natural. Diante destes estudos podemos constatar a carência de dados e a necessidade do levantamento malacológico, para melhor compreensão da distribuição real dos moluscos nos 853 municípios do estado.

Conhecer a distribuição das espécies pertencentes ao gênero *Biomphalaria*, além das três espécies hospedeiras de *S. mansoni* é também necessário, pois elas atuam como hospedeiras intermediárias de outros trematódeos que causam impactos a saúde humana através de infecções acidentais, na saúde animal e na economia. Pouco se sabe ainda sobre a distribuição desses trematódeos no Brasil, além de sua presença detectada em estudos pontuais, como o estudo de Pinto & Melo (2013) na região da Lagoa da Pampulha em Belo Horizonte/MG.

A experiência de outros países que obtiveram bons resultados com intervenções malacológicas, talvez possam nos auxiliar no desenvolvimento de intervenções mais efetivas, como no trabalho de Jian et al. (2016) que observaram na China pelo monitoramento da distribuição espacial-temporal da *Oncomelania hupensis* (Gredler, 1881), uma redução da área total de habitats de caramujos ao longo do rio Yangtze que foi de 57,7 km² em 2001 para 25,4 km² em 2013, e nas áreas que abrigavam caramujos infectados em 16,3 km² em 2001, posteriormente, a partir de 2010 não houve outros registros de caramujos infectados.

Os trabalhos atuais refletem a busca por novas intervenções e tais resultados encorajam medidas integradas condizentes a realidade de cada região. A partir disso, é evidente a necessidade de conhecer a distribuição dos caramujos para o controle efetivo da doença.

2. JUSTIFICATIVA

A compreensão dos riscos das doenças negligenciadas por determinados agravos na saúde pública vem se difundindo no Brasil, com uma base conceitual mais abrangente, integradora de aspectos sociais e ecológicos, que podem contribuir na redução da vulnerabilidade social a partir de políticas públicas (Porto, 2012). A esquistossomose mansoni, uma doença que está associada ao modo de vida das populações, é ainda considerada um grave problema de saúde pública, isso devido aos expressivos índices de transmissão (MARTINS-MELO et al., 2016). O estado de Minas Gerais apresentou o segundo maior número de casos de esquistossomose no Brasil no período de 2007 a 2017 (DATASUS), provavelmente pela limitação do sistema de esgoto e pela expansão da distribuição dos moluscos hospedeiros, fazendo-se necessários estudos que possam desenvolver modelos capazes de estimar ou detectar as áreas de risco.

Dando continuidade aos trabalhos de controle e monitoramento da esquistossomose do Laboratório de Helmintoses Intestinais (LHI) da UFMG, desenvolvidos na região metropolitana de Belo Horizonte, e somados aos interesses da gestão atual da Secretaria Municipal de Saúde do município de Alvorada de Minas (Anexo 11.1), este projeto se justifica devido à escassez de dados epidemiológicos sobre a malacofauna e sua helmintofauna associada.

O presente estudo propõe o uso de abordagens para estimar as áreas de risco para a esquistossomose em ambientes de áreas endêmicas, como é o caso de Alvorada de Minas. Embora haja o registro de *B. glabrata* e *B. straminea*, ainda se faz necessária a compreensão da sua distribuição e localização dos possíveis focos de transmissão.

Assim, essa dissertação apresenta resultados que podem auxiliar na elaboração de plano de ação por parte da secretaria Municipal de Saúde no controle e prevenção desta e de outras doenças de veiculação hídrica. Esses dados serão utilizados para o direcionamento da construção de 86 fossas sépticas nas áreas com maior risco de transmissão de *S. mansoni*, devido ao convênio firmado entre prefeitura e uma empresa privada (Anexo 11.2).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral:

Conhecer a distribuição dos moluscos límnicos e seus helmintos associados e mapear as áreas de risco de transmissão da esquistossomose no município de Alvorada de Minas, Minas Gerais.

3.2 Específicos:

3.2.1 Identificar taxonomicamente os moluscos e seus helmintos associados;

3.2.2 Caracterizar a diversidade de habitats aquáticos e analisar a presença de coliformes totais e *Escherichia coli*;

3.2.3 Avaliar a suscetibilidade e compatibilidade da geração F1 dos espécimes do gênero *Biomphalaria* coletados no município frente a cepa LE de *S. mansoni*;

3.2.4 Mapear a distribuição dos dados malacológicos, microbiológicos e caracterização ambiental das coleções hídricas e dos pacientes tratados com praziquantel;

3.2.5 Confeccionar mapas de risco para identificar os focos de transmissão da esquistossomose.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no município de Alvorada de Minas, Minas Gerais, Brasil (18° 43' 7" S 43° 22' 5" W) localizado na mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte e na Microrregião de Conceição do Mato Dentro, a 210 km ao norte da capital mineira, no caminho da antiga Estrada Real. O município, atualmente é constituído pela sede urbana, pelo distrito de Itapanhoacanga e por dez comunidades: Ribeirão de Trás, Fazenda da Ponte, Lapinha, Dom Paulo, Rio das Pedras, Alto do Paulo, Serra dos Monteiros, Arrudas, Barbeiro, Jassém e Rocinha/Passa Mal. Limita-se com os municípios de Serro, Conceição do Mato Dentro, Dom Joaquim e Sabinópolis.

Sua população, conforme estimativas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018) é de 3.606 habitantes em uma área correspondente a 374.910 km² (Figura 6). Atualmente a principal atividade econômica é a mineração e a pecuária (Apêndice 10.3A). O município apresenta vegetação de Mata Atlântica e clima tropical de altitude, com chuvas bem distribuídas entre setembro a março, onde os maiores índices pluviométricos são registrados, predominantemente, no verão. O principal curso d'água do município é o Rio do Peixe que possui uma extensão de 164,469 km e banha também os municípios de Serro, Dom Joaquim, Carmésia, Conceição do Mato Dentro, e uma pequena porção de Ferros. A bacia tem uma área de 1.145 km² que pertence a bacia do Rio Doce.

Dados do IBGE 2017 demonstram que apenas 33,8% dos domicílios apresentam esgotamento sanitário adequado, o que gera uma situação de risco para doenças de veiculação hídrica. Nos últimos levantamentos da esquistossomose registrados pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), nos anos de 2010 a 2015, foram notificados 101 casos.

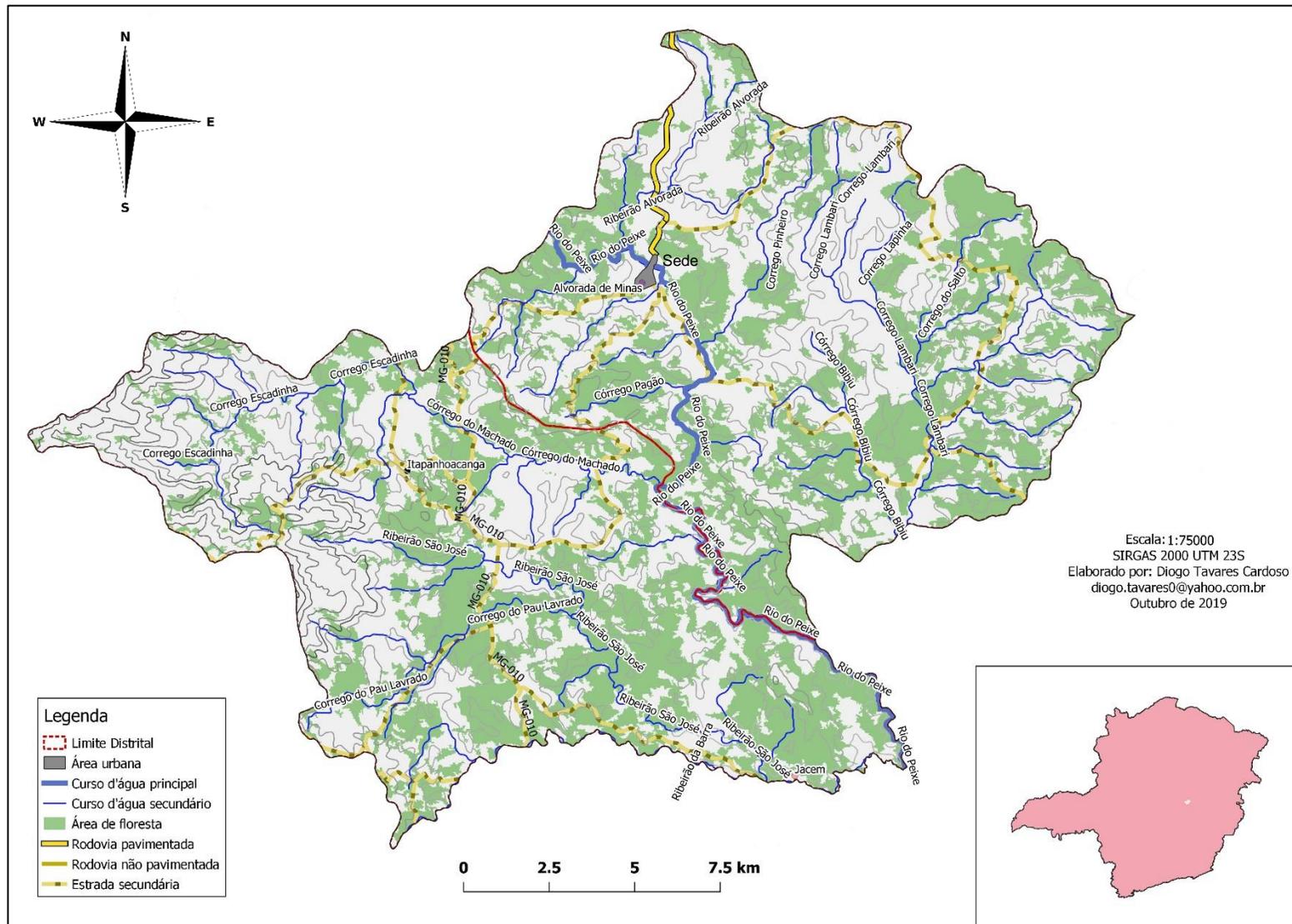


Figura 6 – Mapa do município de Alvorada de Minas

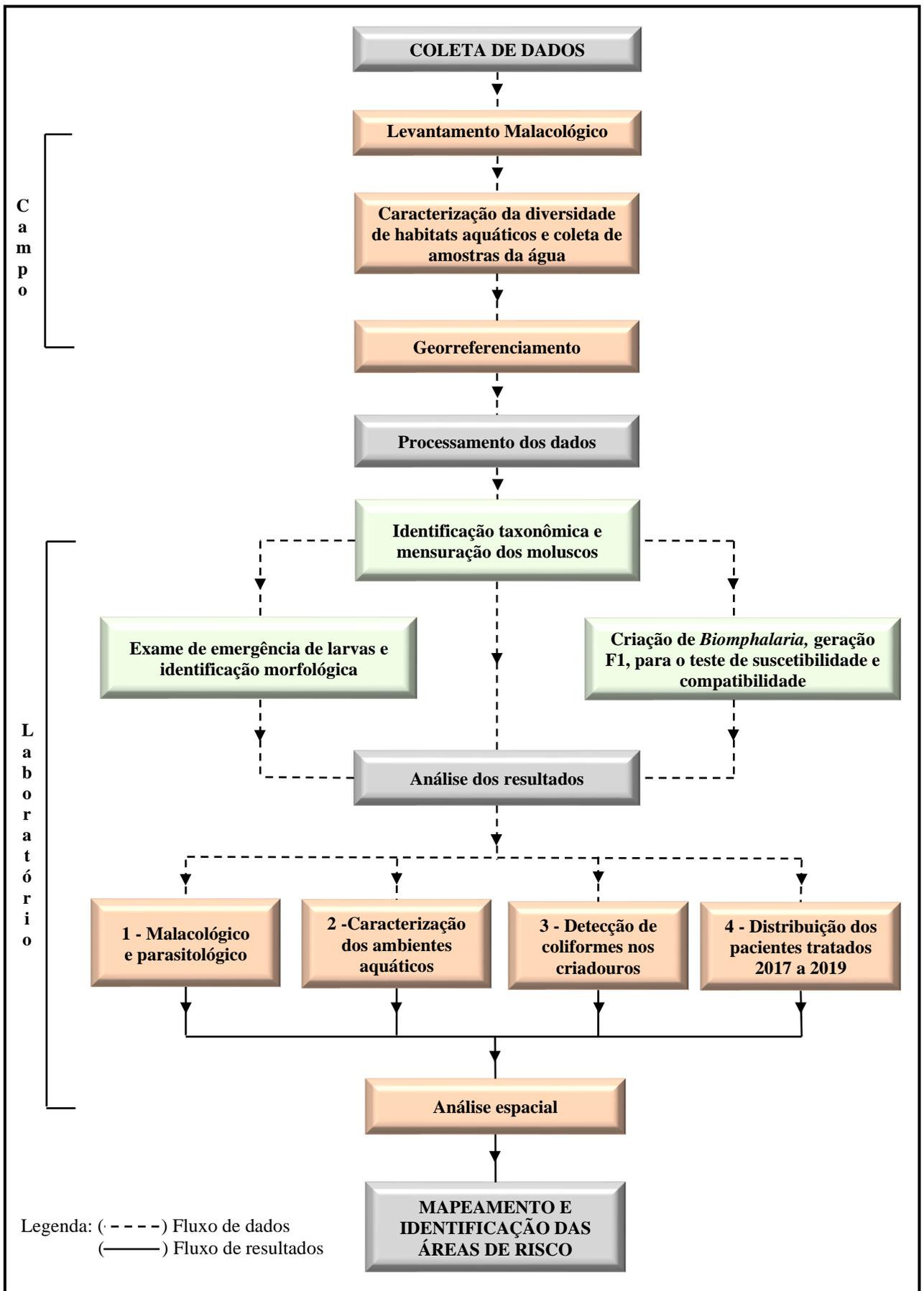


Figura 7 – Fluxograma com as etapas do trabalho

4.2 Levantamento malacológico

As coletas malacológicas foram realizadas entre os meses de Outubro de 2018 a Setembro de 2019 com amostragem qualitativa, em cinco campanhas com duração média de quatro dias cada uma, variando o número de pontos visitados por campanha (tabela 1). Os moluscos foram coletados às margens de potenciais criadouros, selecionados a partir de critérios como: indicação pelos agentes de saúde, utilização pela população em atividades básicas (domésticas e higiene) ou recreativas, proximidade das moradias (urbanas e rurais) principalmente à dos moradores diagnosticados com esquistossomose, e vias de acesso (estradas e rodovias). Durante as coletas todos os pontos foram georreferenciados usando GPS (GPSMAP 62S, GARMIN INTERNATIONAL INC, Olathe, Kansas, EUA).

Tabela 1 - Planejamento das coletas realizadas em Alvorada de Minas, Minas Gerais, Brasil.

Campanhas	Datas das coletas	Número de pontos investigados
1	3 a 5 de outubro de 2018	21
2	4 a 7 de fevereiro de 2019	31
3	19 a 21 de março de 2019	41
4	22 a 24 de maio de 2019	41
5	16 a 20 de setembro de 2019	46

As atividades de campo contaram com uma equipe composta pelo Laboratório de Helmintoses Intestinais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (LHI/ICB/UFMG) e também pelos técnicos da Secretária Municipal de Saúde de Alvorada de Minas, que disponibilizaram recursos humanos e apoio logístico durante a execução dos trabalhos.

Para as coletas, foram utilizadas conchas de captura perfuradas, produzidas pelo LHI. A captura dos moluscos consistiu no arraste aleatório da concha perfurada no curso d'água próximo as margens, na vegetação submersa e no fundo dos criadouros.

Na captura dos diferentes moluscos límnicos, foi utilizada a metodologia adaptada de Olivier e Schneiderman (1956), as campanhas foram realizadas por uma equipe fixa de três pessoas munidas com concha de captura e pinças, em esforço amostral de 20 minutos em cada ponto, totalizando um esforço de 1 hora por ponto de coleta. O material coletado foi devidamente acondicionado em sacos plásticos, etiquetados e transportados para o laboratório

de apoio localizado no centro de Alvorada de Minas, onde foram realizados os processos de triagem e embalagem dos moluscos.

Nas coletas, foram também recolhidos os moluscos mortos e as conchas vazias, apenas para o registro. Embora este trabalho tenha utilizado as conchas vazias em algumas análises espaciais, a malacofauna “in situ” teve como critério principal a presença dos moluscos vivos.

A metodologia recomendada para o transporte de gastrópodes límnicos foi a mesma descrita por Fernandez et al. (2008) a partir do acondicionamento dos exemplares em gaze umedecida (Figura 8). O acondicionamento e transporte dos espécimes de *Omalonyx* sp. foi feito em garrafas plásticas contendo uma lâmina d'água e vegetação aquática, conforme Cantanhede (2015).

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



Figura 8 - Procedimento de embalagem para o transporte de gastrópodes. Fonte: próprio autor

4.3 Dados meteorológicos

Os dados sobre temperatura e precipitação são correspondentes a média mensal do período de dezembro de 2018 a dezembro de 2019, obtidos no Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP) na estação localizada no município de Conceição do Mato Dentro, Minas Gerais, situado aproximadamente a 47km ao sudoeste de Alvorada de Minas.

4.4 Caracterização da diversidade de habitats aquáticos

A caracterização dos locais de coletas seguiu o protocolo de avaliação da diversidade de habitats, de acordo com *Environmental Protection Agency* EPA (1987) e adaptado de Callisto et al. (2002) e Brito et al. (2011). O protocolo avalia características dos trechos e os impactos ambientais decorrentes de atividades antrópicas. Foram modificados os parâmetros 8 e 10 para melhor descrição dos ambientes da malacofauna, conforme Paraense, 1972 (tabela 2).

A partir de uma adaptação de Callisto et al. (2002), foram definidos três níveis de preservação: 0 a 15 pontos indicam trechos impactados, 16 a 25 pontos trechos alterados e superior a 26 pontos trechos naturais.

Tabela 2 – Protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em trechos de bacias hidrográficas

Cidade/Localização:			
Ponto:		Data da coleta:	
Tempo (situação do dia):			
Responsável:			
Tipo de Ambiente: Córrego () Rio () Lago () Lagoa () Cachoeira () Outros ()			
Parâmetro	Pontuação		
	4 Pontos	2 Pontos	0 ponto
1. Tipo de ocupação das margens do corpo d'água (principal atividade)	Vegetação natural ()	Campo de pastagem, agricultura, monocultura, reflorestamento ()	Residencial, comercial e/ou industrial ()
2. Erosão próxima e/ ou nas margens do rio e assoreamento em seu leito	Ausente ()	Moderada ()	Acentuada ()
3. Alterações antrópicas	Ausentes ()	Alterações de origem doméstica (esgoto, lixo) ()	Alterações de origem industrial urbana ()
4. Cobertura vegetal no leito	Parcial ()	Total ()	Ausente ()
5. Odor da água	Nenhum ()	Algas e/ou esgoto ()	Óleo/ Industrial ()
6. Oleosidade da água	Ausente ()	Moderada ()	Abundante ()
7. Cor da água	Transparente ()	Turva/ cor de chá forte ()	Opaca ou colorida ()
8. Presença de plantas aquáticas	Abundante ()	Moderada ()	Ausente ()
9. Tipo de fundo	Pedras/ cascalho ()	Lama/ areia ()	Cimento/ canalizado ()
10. Diversidade de habitat	Estável para manutenção de comunidades aquáticas ()	Disponibilidade insuficiente ()	Ausência de habitats ()

Fonte: modificado do protocolo da Agência de Proteção Ambiental de Ohio, EUA (EPA, 1987; Callisto et al, 2002 e Brito et al, 2011).

4.5 Análise da água

4.5.1 Dados de pH e temperatura

A análise do pH e da temperatura foram realizados em ambientes com presença de moluscos com o equipamento portátil (Kasvi - K39-0014PA, Kasvi Importação e Distribuição de Produtos Para Laboratórios Ltda, São Jose Dos Pinhais, PR, Brasil).

4.5.2 Coleta de água para análise microbiológica

A seleção dos pontos das coletas de água teve como critério a presença dos moluscos. Foram utilizados sacos estéreis, dos Kits do Colilert®, com capacidade de 100ml de água para cada ponto de coleta, o material foi coletado antes das coletas malacológicas, na porção superficial da coluna d'água com a menor quantidade de sedimento possível, os sacos de coletas foram devidamente identificados com a numeração dos pontos e refrigerados com gelo em caixa de isopor para evitar variações bruscas de temperatura. As coletas de água contaram com a participação dos técnicos do setor de endemias que realizam o mesmo procedimento no município, em outras localidades.

4.5.3 Análise dos coliformes

Foram realizadas 17 análises de água, sendo 15, referente as amostras do campo em locais com presença de caramujos, uma amostra do campo de ambiente recreativo público, sem presença de caramujo e outra amostra para o controle do experimento, com água proveniente da torneira do posto de saúde.

Após a realização das coletas, os materiais foram encaminhados para o posto de saúde do centro de Alvorada, onde foram realizados os procedimentos para o preparo do meio de cultura. Os coletores foram abertos para a adição do meio nutricional do kit Colilert® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA), gentilmente cedidos pela FUNED e em seguida lacrados e acondicionados em estufa por 24 horas a $36^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, conforme a recomendação do fabricante.

O kit é usado para a detecção simultânea de coliformes totais e *E. coli* em água para consumo e esgoto. A tecnologia patenteada apresenta dois indicadores nutricionais

cromogênicos, orto-nitrofenil- β -d-galactopiranosídeo (ONPG) e 4-metilumbeliferil- β -d-glucuronídeo (MUG). A leitura do teste ocorre pela metabolização desses carboidratos à medida que os coliformes totais e *E.coli* crescem no meio de cultura do Colilert®. O coliforme usa a enzima β -galactosidase para metabolizar o ONPG e modifica o meio de cultura de incolor para amarelo. *E. coli* usa a enzima β -glucuronidase para metabolizar MUG e criar fluorescência. Como a maioria dos não coliformes não possui essas enzimas, eles são incapazes de crescer. Os poucos não coliformes que possuem essas enzimas são seletivamente suprimidos pela matriz especificamente formulada no Colilert® (KAMPFER et al., 2008, FRICKER et al., 1997).

Para a identificação de *E. coli* foi necessário a utilização de uma lâmpada de luz ultravioleta de 365 nm conforme Feng et al. (2002).

4.6 Identificação taxonômica dos moluscos

Para a identificação dos moluscos, foram utilizados os dados morfológicos que seguiram os critérios conquiológicos a partir de identificação específica para cada espécie utilizando as referências: *Pseudosuccinea columela* (PARAENSE, 1976; UETA, 1976); *Pomacea* sp.; *Physa* sp.; *Drepanotrema* sp. e *Omalonyx* sp. (SIMONE, 2006; PARAENSE, 1986) e para o gênero *Biomphalaria* foi realizado a análise morfológica e o método de biologia molecular. Os moluscos obtidos foram fotografados (LEICA DFC450) no Laboratório de Herpetologia do ICB/UFMG.

A identificação específica do gênero *Biomphalaria* foi conduzida pelo Grupo de Pesquisa em Helmintologia e Malacologia Médica do IRR/FIOCRUZ. O procedimento teve início com a identificação da morfologia das conchas, sistema reprodutivo e crista renal dos moluscos (DESLANDES, 1951; PARAENSE, 1975) e para biologia molecular foi utilizado o método PCR-RFLP (Reação em Cadeia da Polimerase e análise do polimorfismo de fragmentos de restrição) com a enzima *DdeI*. Os protocolos e os perfis obtidos foram comparados aos estabelecidos por Vidigal et al. (2000) e Caldeira et al. (2016).

Após a identificação taxonômica os moluscos foram armazenados na Coleção de Malacologia Médica do Instituto René Rachou (IRR) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) (CMM Fiocruz) e na coleção do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

4.7 Manutenção de moluscos no laboratório e pesquisa da helmintofauna associada

Na avaliação da infecção por larvas de helmintos de todos os moluscos capturados no levantamento, o método utilizado foi de Kuntz (1946) adaptado por Jannotti-Passos et al. (2008), que consiste em colocar individualmente os moluscos em recipientes com água desclorada expostos à fotoestimulação artificial e a temperatura entre 28 e 30 °C, com a utilização de lâmpadas de 60W incandescentes por um período de 2 horas. Em seguida a água foi examinada com auxílio de microscópio estereoscópico para a verificação de larvas de trematódeos, conforme a Figura 9. Posteriormente, os moluscos foram expostos ao escuro durante a noite, para a identificação de possível emergência de formas larvais, que apresentam hábitos noturnos. As cercárias emergidas dos moluscos naturalmente infectados foram coletadas com auxílio de micropipeta para a montagem de preparações não permanentes, com corantes vitais (solução aquosa de vermelho neutro e sulfato azul do Nilo a 0,05%) entre lâmina e lamínula.

As larvas obtidas foram fotografadas (LEICA ICC50 HD, Leica do Brasil Importação e Comércio Ltda., São Paulo, Brasil) no Laboratório de Biologia de Trematódeos do ICB/UFMG e a identificação das cercárias foi baseada em critérios morfológicos de acordo com Pinto & Melo (2013).

Após análise inicial, os moluscos negativos foram mantidos em aquários devidamente rotulados pelo ponto de coleta, no Laboratório de Esquistossomose e Imunohelmintologia da UFMG, e uma vez a cada sete dias durante 30 dias, foram reavaliados quanto à infecção. Nesse período, as desovas dos moluscos do gênero *Biomphalaria* foram isoladas para a obtenção da F1 e posteriormente utilizadas nos testes de suscetibilidade a *S. mansoni*. Após a última análise e a negativação da infecção de todos os moluscos, uma parte foi esmagada entre placas de vidro para busca de possíveis esporocistos e/ou metacercárias (FERNANDEZ et al., 2008) e outra parte, foi encaminhada para a identificação conforme item 4.6.

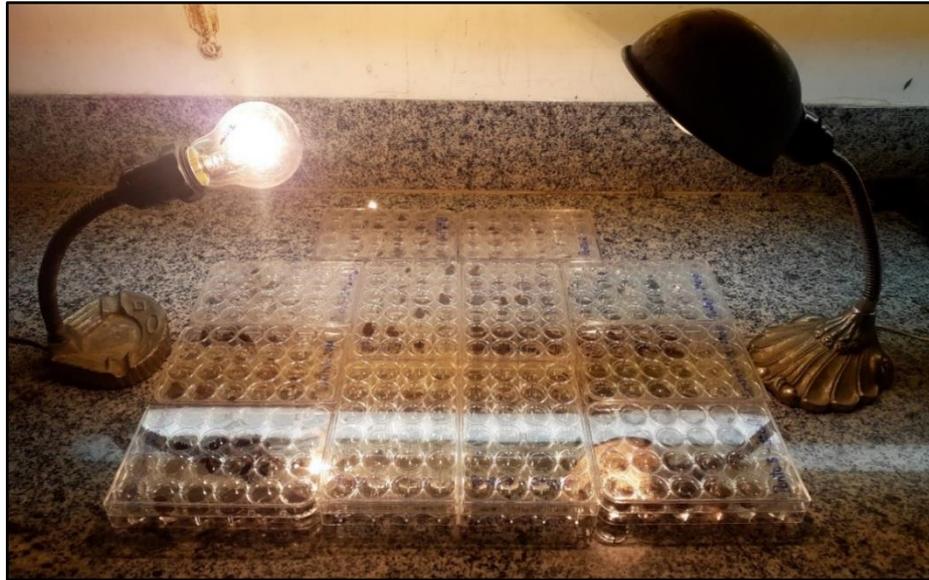


Figura 9 – Fotoestimulação dos moluscos para a eliminação de cercárias Fonte: próprio autor

4.8 Infecção Experimental

Para avaliar a suscetibilidade dos exemplares do gênero *Biomphalaria* a *S. mansoni*, utilizou-se o método de Pellegrino e Katz (1968) modificados por Souza et al. (1995).

Foram utilizados parasitos da cepa LE, isolado de paciente residente em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e mantida em laboratório desde 1959 de um paciente com infecção crônica (VALADARES et al., 1981), em passagens sucessivas entre hamsters (*Mesocricetus auratus*) e *B. glabrata*, de acordo com a técnica descrita por Pellegrino & Katz (1968). O procedimento para a obtenção dos miracídios faz parte da manutenção do ciclo do parasito no Laboratório de Esquistossomose e Imunohelmintologia do ICB/UFMG.

Na infecção experimental, foram utilizados 20 exemplares de moluscos da geração F1 do gênero *Biomphalaria*, provenientes de diferentes pontos do município de Alvorada de Minas. Foram desafiados, individualmente, com dez e vinte miracídios de *S. mansoni* após atingirem a maturidade sexual com aproximadamente 72 dias, em placas de cultura de células de 24 poços. O diâmetro dos moluscos e o número de miracídios/molusco seguiram as metodologias descritas por Fernandez & Thiengo (2002) conforme a tabela 3.

Os moluscos foram expostos aos miracídios por 4 horas sob luz artificial (lâmpada de 60 W) com 2ml de água/poço. Após 15 horas, os moluscos foram transferidos para aquários contendo 2.000 ml de água desclorada, trocada semanalmente, com alimentação a base de alface e sem condições controladas de temperatura.

Tabela 3 – Exposição dos moluscos da geração F1 a *Schistosoma mansoni* – Cepa LE

	Moluscos	Origem geográfica	Ponto de coleta	Número de moluscos desafiados	Diâmetro (mm)	Número de miracídios/molusco
1º experimento	<i>B. glabrata</i>	Alvorada de Minas	6	20	7-8mm	10 miracídios
	<i>B. glabrata</i>	Alvorada de Minas	9	20	7-8mm	10 miracídios
	<i>B. glabrata</i> (Controle)	UFMG	-	20	7-8mm	10 miracídios
	<i>B. kuhniiana</i>	Alvorada de Minas	2	20	4-5mm	20 miracídios
	<i>B. glabrata</i> (Controle)	UFMG	-	20	7-8mm	20 miracídios
2º experimento	<i>B. glabrata</i>	Alvorada de Minas	15	20	7-8mm	10 miracídios
	<i>B. glabrata</i> (Controle)	UFMG	-	20	7-8mm	10 miracídios
	<i>B. glabrata</i> (Controle)	IRR	-	20	7-8mm	10 miracídios

Decorridos trinta dias da exposição, os moluscos foram examinados quanto a eliminação de cercárias, no período de sete semanas ou até a morte. O método realizado para a avaliação de eliminação de cercárias está descrito no item 4.7. Em seguida a taxa de infecção foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de infecção} = \frac{100 \times \text{número de moluscos positivos}}{\text{Total de moluscos expostos}}$$

Durante a avaliação da taxa de infecção dos caramujos, foi identificado também o grau de compatibilidade, conforme a tabela 4, para isso, os moluscos foram acompanhados por um período de sete semanas ou até a morte para a quantificação de cercárias de *S. mansoni* eliminadas por caramujo.

Para a contagem das cercárias, após a fotoestimulação artificial, os moluscos presentes nas placas de 24 poços, foram transferidos para os aquários, com a separação dos positivos e dos negativos. Com auxílio de uma pipeta automática para a homogeneização dos poços, foram pipetados 20µl de cada poço para obtenção do número de cercárias eliminadas por caramujo. Todos os valores foram multiplicados por 100 para chegar ao valor total de larvas eliminadas por poço com 2 ml de água. A mortalidade também foi contabilizada durante as análises do experimento.

Para definir o grau de compatibilidade dos moluscos, foi necessário estimar o total de cercárias liberadas por cada molusco. O cálculo contou com soma total de cercárias encontradas, e esse valor foi dividido pelo número de dias em que os moluscos foram expostos à luz para obter uma média diária de cercárias por molusco. A média diária foi multiplicada pelo número de dias do período cercariano, para obtenção do valor total estimado por molusco. Esse valor foi utilizado no cálculo do índice TCP/100, conforme a metodologia utilizada por Frandsen (1979), Souza et al. (1995) e Guimarães et al. (1997) com adaptação na contagem das cercárias.

$$\text{Taxa de mortalidade} = \frac{100 \times \text{Número de moluscos mortos ao final do experimento}}{\text{Número de moluscos no início dos experimentos}}$$

Tabela 4 - Grau de compatibilidade por cercárias eliminadas

Classe	Caramujo exposto - TCP/100	Descrição verbal
0	0	Resistente, incompatível
I	1 – 10.000	Não é muito compatível
II	10.001 – 50.000	Baixa compatibilidade
III	50.001 – 150.000	Compatível
IV	1500.001 – 250.000	Bem compatível
V	250.001 – 500.000	Muito compatível
VI	500.001 -	Extremamente compatível

Fonte: Dados da descrição verbal modificados de Frandsen (1979). (TCP/100 = número total de cercárias produzidas, multiplicado por cem e dividido pelo número de moluscos expostos)

4.9 Estudo observacional da população tratada com praziquantel

O estudo realizado trata-se de uma análise observacional e retrospectiva dos dados coletados de fichas de casos detectados na rede básica em área endêmica do Programa de controle da esquistossomose de pacientes tratados para esquistossomose entre o período de 2017 a 2019. Os prontuários permanecem arquivados na Farmácia Popular da Secretaria Municipal de Saúde de Alvorada de Minas. As informações extraídas das fichas dos pacientes foram utilizadas para análise epidemiológica e espacial.

4.10 Análise espacial

Este estudo ecológico analisou os padrões espaciais de moluscos com ênfase em *Biomphalaria* spp. no município de Alvorada Minas. A cartografia base geocodificada, projeção/datum utilizados foi WGS 1984 UTM Zone 23S.

Foi criado um banco de dados contendo as coordenadas de cada ponto amostral e seus valores correspondentes de presença e ausência de cada espécie de molusco, presença de contaminação fecal, qualidade do habitat e peso.

Para relacionar a presença dos hospedeiros intermediários com os ambientes degradados e a falta de saneamento básico. Os critérios adotados foram: subtração dos valores nos casos de ausência de *E. coli* e nos casos de ambiente levemente impactados pelo protocolo de avaliação. Este critério foi adotado para evitar o viés da presença de *E. coli* e dos ambientes altamente impactados, na análise espacial em áreas e bacias hidrográficas que não foram amostradas.

O peso foi definido como o resultado da multiplicação da presença (1) ou ausência (0), entre valores atribuídos a cada variável específica conforme a tabela 5.

Tabela 5 – Planilha de pontuação arbitrária das variáveis obtidas em campo.

Variáveis	Pontuação	Critério da pontuação
<i>B. glabrata</i>	10	Maior suscetibilidade
<i>B. tenagophila</i>	5	Suscetível
<i>B. straminea</i>	4	Menor suscetibilidade
<i>B. cousini</i>	3	Suscetível em condições laboratoriais
<i>B. kuhniiana</i>	2	Não suscetível
<i>Biomphalaria</i> sp.	2	Suscetibilidade indefinida
<i>Pomacea</i>	1	Compartilha ambiente com <i>B. glabrata</i>
<i>Drepanotrema</i>	1	Compartilha ambiente com <i>B. glabrata</i>
<i>Omalonyx</i>	1	Compartilha ambiente com <i>B. glabrata</i>
<i>Pseudosuccinea</i>	1	Compartilha ambiente com <i>B. glabrata</i>
<i>Physa</i>	2	Compartilha ambiente com <i>B. glabrata</i> com maior frequência.
<i>E. coli</i>	-5	Ausência de <i>E. coli</i>
Habitat	-5	Atribuído aos ambientes levemente impactados

Após a avaliação e soma das variáveis, o total foi convertido em valores nominais que definem a variável “Peso” para a identificação das áreas de risco da presença de foco de equistossomose (tabela 6).

Tabela 6 – Classificação arbitrária das áreas estudadas em relação as variáveis obtidas em campo

Valores dos pesos	Definição	
-5.0	Zona não urgente	
- 4.9 até - 0.5	Zona pouco urgente	
-0,4 até 0,5	Não avaliado	
0.6 até 7,0	Risco Baixo	Zona de alerta
7,1 até 14,0	Risco médio	
14,1 até 19,0	Risco alto	

No ArcGis, a partir das coordenadas, gerou-se o shape de pontos contendo o banco de dados. Outros bancos de dados relacionados foram importados: limites municipais (IBGE), malha hidrográfica no Instituto Mineiro de Gestão as Águas (IGAM), setores censitários (IBGE) e floresta/campo no Instituto Estadual de Florestas (IEF). A partir destes bancos de dados, gerou-se mapas coropléticos para a análise de distribuição espacial dos dados em relação às variáveis ambientais.

Para a sugestão das áreas de risco, técnicas de geoprocessamento e ferramentas de análise espacial foram utilizadas para avaliar a distribuição dos moluscos e sugerir áreas de risco de ocorrência de *Biomphalaria* spp.. Foram utilizadas, a técnica de Kernel que apresenta uma análise exploratória espacial para detectar e mapear “áreas quentes” ou aglomerados (SANTOS et al., 2007). A técnica de Buffer utilizada para apontar a fonte suspeita no mapa, criando áreas de influência, para analisar quantos eventos existem dentro do polígono formado (SANTOS et al., 2007) e a técnica de Krigagem realiza para a predição espacial, a partir das mensurações feitas, para estimar valores da variável em locais que não houve medida (CÂMARA et al., 2004).

As sub-bacias hidrográficas do município foram isoladas e delimitadas. Foram gerados e fundidos *buffers* de 500 e de 1000 metros a partir dos pontos amostrais com presença e com ausência de *Biomphalaria* spp.. Foram cortados e destacados os trechos de recursos hídricos internos a estes *buffers*, excluindo-se aqueles trechos pertencentes a outras bacias. Foram gerados mapas de calor (Kernel Density, resolução 100m, raio de busca 1000m) da presença de *Biomphalaria* spp., da ausência de *Biomphalaria* spp. e do peso. Foram gerados mapas de predição (Kriging Interpolation, método ordinário, modelo de semivariograma esférico, resolução 100m, raio de busca variável) para a espécie de *Biomphalaria* spp. (Lag Size 0.02; Major Range 0.168; Partial Sill 0.059; Nugget 0.18), para qualidade do habitat (Lag Size 0.002; Major Range 0.02; Partial Sill 35.56; Nugget 21.29) e para peso (Lag Size 0.02; Major Range 0.147; Partial Sill 16.79; Nugget 20.41).

4.11 Análises estatísticas

Os bancos de dados foram criados no Programa Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) para organização e armazenamento dos dados referentes às coletas de caramujos, pontos de coletas georreferenciados, análise da água, caracterização dos ambientes, dados meteorológicos e dados das infecções experimentais. Outra finalidade do programa foi a produção de gráficos para a representação de resultados.

Os dados foram analisados nos programas GraphPad Prism® 8.0.2 (San Diego, CA, EUA) e Open Epi® versão 3.01 (disponível: http://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm). Inicialmente a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Foi utilizado o teste de Mann-Whitney para comparação dos dados não paramétricos. Correlações entre fatores abióticos e o número de caramujos coletados foram feitas pelo teste de correlação de Pearson. As frequências obtidas a partir dos dados categóricos dos ambientes (lótico e lêntico) e presença de caramujos foram comparadas pelo teste do Qui-quadrado. Especificamente para a comparação do número de cercárias eliminadas ao longo da infecção, foi feita a análise de variância (ANOVA) com o pós-teste de Tukey. O nível de significância de $p \leq 0,05$ foi adotado para todos os testes estatísticos aplicados.

5. RESULTADOS

5.1 Malacológico e parasitológico

Durante o estudo, foram investigados 46 pontos no município de Alvorada de Minas, desses foram identificados 17 (37%) com presença dos moluscos límnicos. Esses ambientes foram amostrados em diferentes coletas, conforme a tabela 7.

Tabela 7 – Pontos amostrados com a presença de moluscos e número de coletas realizada em cada ponto

Localidades	Ribeirão				Fazenda da Ponte		Centro			Barbeiro	Alto dos Monteiros	Jassém		Lambari			
	1	2	5	6	9	10	11	12	15	18	25	32	33	37	39	40	41
Pontos amostrados com presença de moluscos																	
Número de coletas realizadas em cada ponto	5	5	5	5	5	5	3	3	4	5	5	4	4	3	3	3	3

As coordenadas geográficas foram adicionadas no apêndice 10.1

5.1.1 Identificação morfológica e molecular (PCR-RFLP)

Os moluscos capturados pertencem a cinco famílias: Ampullariidae, Planorbidae, Succineidae, Lymnaeidae e Physidae. Um total de 1125 moluscos foram encontrados: 767 de *Biomphalaria* spp.; 224 de *Physa marmorata* Guilding, 1828; 66 de *Drepanotrema cimex* (Moricand, 1839); 44 de *Omalonyx* sp (d'Orbigny, 1837); 16 de *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817) e 8 *Pomacea* sp (Perry, 1810). Foram encontradas 270 conchas: 152 conchas de *Biomphalaria* spp.; 93 de *Physa marmorata*; 3 de *Pomacea* sp; uma de *Pseudosuccinea*; 20 de *Drepanotrema* e uma de bivalve (Tabela 8 e Figura 10).

Tabela 8 – Moluscos coletados por ponto e localidade em Alvorada de Minas em outubro de 2018; fevereiro, março, maio e setembro de 2019.

Localidades	Pontos de coleta	<i>Biomphalaria</i>	<i>Physa</i>	<i>Drepanotrema</i>	<i>Omalonyx</i>	<i>Pseudosuccinea</i>	<i>Pomacea</i>	Total
Ribeirão	1	76	6	0	0	0	0	82
	2	24	0	0	0	0	0	24
	5	23	13	1	0	0	1	38
	6	3	4	0	0	0	0	7
Fazenda da Ponte	9	3	1	0	0	0	0	4
	10	5	3	0	0	2	0	10
Centro	11	40	11	3	0	0	0	54
	12	10	25	0	0	0	0	35
	15	15	92	60	0	0	0	167
Barbeiro	18	0	15	0	44	14	0	73
Alto dos Monteiros	25	0	1	0	0	0	0	1
Jassém	32	4	0	2	0	0	0	6
	33	1	6	0	0	0	0	7
Lambari	37	7	0	0	0	0	0	7
	39	0	4	0	0	0	0	4
	40	3	0	0	0	0	0	3
	41	553	43	0	0	0	7	603
Total	-	767	224	66	44	16	8	1.125

A família Planorbidae apresentou o maior número de moluscos ao longo das cinco coletas no estudo, correspondente a 73,8% dos exemplares. Essa família foi representada pelas espécies do gênero *Biomphalaria* spp. (68%) e pela espécie *D. cimex* (5,8%). Em seguida, observou-se a família Physidae (19,9%) representada apenas pela espécie *P. marmorata*. Para as demais famílias, o número foi: Succineidae (3,9%) representada apenas pelo gênero *Omalonyx* sp.; Lymnaeidae representada apenas pela espécie *P. columella* (1,4%) e Ampullaridae (0,7%) com exemplares do gênero *Pomacea* sp.. Desta forma, os caramujos dos gêneros *Biomphalaria* e *Physa* foram coletados em maior quantidade quando comparado aos demais moluscos.

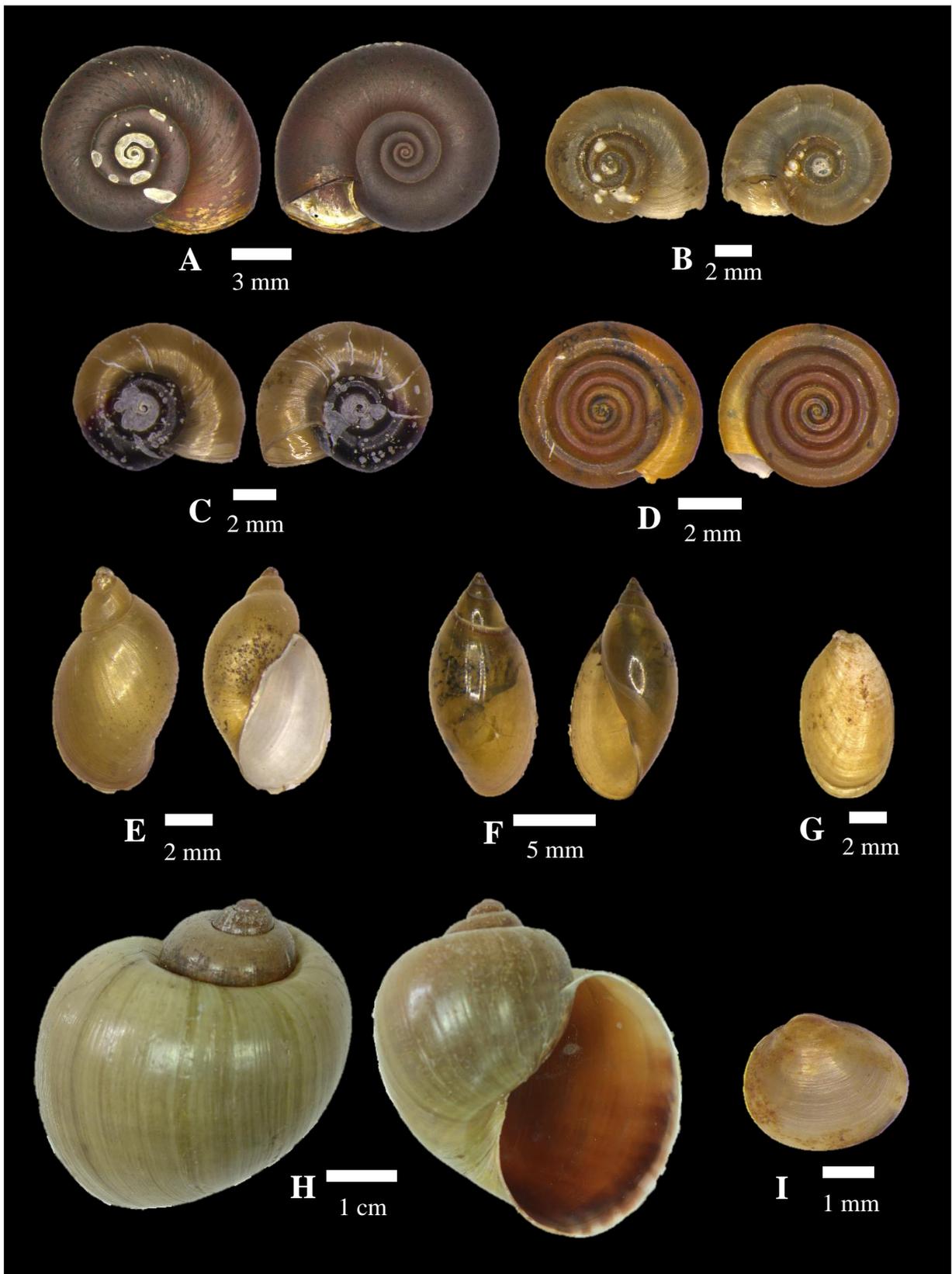


Figura 10 - Representantes da malacofauna límnic capturados no município de Alvorada de Minas (MG): (A) *Biomphalaria glabrata*; (B) *Biomphalaria straminea*; (C) *Biomphalaria kuhniiana*; (D) *Drepanotrema cimex*; (E) *Pseudosuccinea columella*; (F) *Physa marmorata*; (G) *Omalonyx* sp.; (H) *Pomacea* sp.; (I) Bivalve não identificado. As espécies *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria cousini* não tiveram o registro das conchas devido ao tamanho reduzido dos exemplares que tiveram o material totalmente processado para a identificação por PCR-RFLP.

A identificação morfológica e molecular foi realizada nos moluscos do gênero *Biomphalaria* de diferentes localidades (Tabela 9).

Tabela 9– Identificação das espécies do gênero *Biomphalaria* por morfologia e PCR-RFLP.

Localidades	<i>B. glabrata</i>	<i>B. straminea</i>	<i>B. tenagophila</i>	<i>B. cousini</i>	<i>B. kuhniiana</i>
Ribeirão	8	1			16
Centro	1				6
Jassém			1		
Lambari	4			3	7

Dos 46 pontos visitados, em 17 (37%) foram encontrados moluscos límnicos. Destes, em 14 (82%) observou-se os exemplares do gênero *Biomphalaria* e 10 (59%) apresentaram uma ou mais espécies que atuam na transmissão da esquistossomose. Em um dos pontos de coleta, foi identificada também a presença de *B. cousini*, que apresenta suscetibilidade confirmada a *S. mansoni* em condições laboratoriais (TEODORO et al., 2010). Este foi o primeiro registro das espécies *B. tenagophila*, *B. cousini* e *B. kuhniiana* no município de Alvorada de Minas.

A ocorrência de *D. cimex* e *Pomacea* sp. foi observada apenas em ambiente com a presença de *Biomphalaria* spp. *Physa marmorata* compartilhou nove ambientes com *Biomphalaria* spp. e mais outras três localidades. Na tabela 10, pode-se verificar que nos pontos de coleta onde foram encontradas conchas, também foram encontrados moluscos vivos.

Tabela 10 – Ocorrência de famílias, gêneros e espécies de moluscos capturados por ponto de coleta em Alvorada de Minas outubro de 2018; fevereiro, março, maio e setembro de 2019.

Localidades	Pontos	Ampullariidae	Planorbidae							Succineidae	Lymnaeidae	Physidae	Bivalve
		<i>Pomacea</i> sp.	<i>Biomphalaria</i> spp.	<i>B. glabrata</i>	<i>B. straminea</i>	<i>B. tenagophila</i>	<i>B. cousini</i>	<i>B. kuhniiana</i>	<i>Drepanotrema cimex</i>	<i>Omalonyx</i> sp.	<i>Pseudosuccinea columella</i>	<i>Physa marmorata</i>	
Ribeirão	1		X	X				X				X	
	2		X	X				X				C	
	5	X	X	X	X			X	X		C	X	
	6	C	X	X								X	C
Fazenda da Ponte	9		X	X								X	
	10		X	X						X			
Centro	11		X					X	X			X	
	12		X						C			X	
	15		X	X					X			X	
Barbeiro	18		C						X	X	X		
Alto dos Monteiros	25											X	
Jassém	32		X						X			X	
	33		X			X						X	
Lambari	37		X	X									
	39		C									X	
	40		X				X						
	41	X	X	X				X				X	

Legenda: X = presença dos moluscos; C = presença de concha.

5.1.2 Helmintofauna associada à malacofauna

A pesquisa das larvas de trematódeos associados aos moluscos coletados não revelou nenhum exemplar de *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* parasitados por *S. mansoni*. Entretanto, foram obtidos estádios larvais de trematódeos do gênero *Echinostoma* Rudolphi, 1809 (figura 11), com as seguintes características: cauda simples, corpo anterior a cauda, com presença de ventosa ventral na região mediana do corpo, e presença de um nítido colar cefálico com espinhos. Foram eliminados por um molusco da espécie *P. marmorata*, correspondente ao ponto 33 no período da 2ª coleta em fevereiro de 2019.

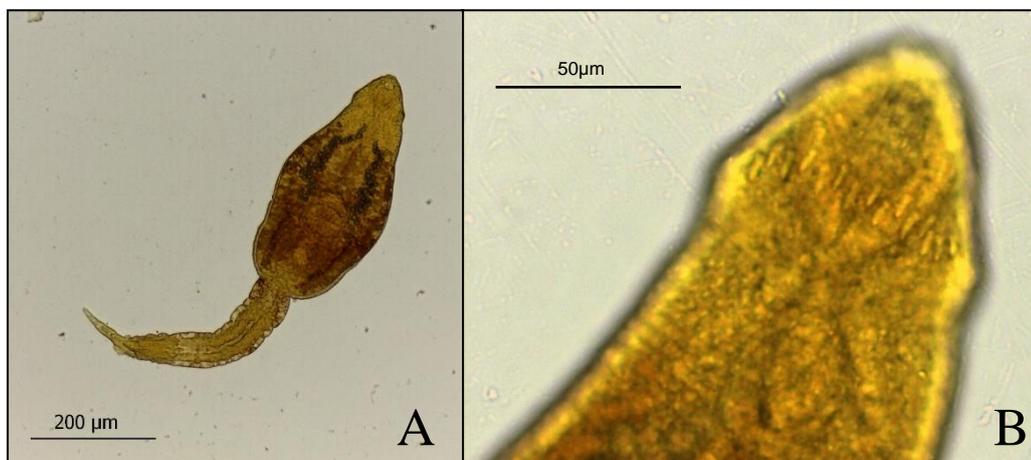


Figura 11 - Cercária do gênero *Echinostoma*. (A) Morfologia completa (B) colar cefálico com espinhos na região anterior.

Xifidiocercária (figura 12), apresentou cauda simples, corpo anterior a cauda, com presença de ventosa ventral na região mediana do corpo, presença de estilete na região da ventosa oral e ausência de ocelos pigmentados. Eliminados por um molusco da espécie *P. marmorata*, correspondente ao ponto 32 no período da 3ª coleta em março de 2019.



Figura 12 - Cercária tipo Xifidiocercária: (A) Morfologia completa (B) Estilete na região da ventosa oral.

Estringeocercária (figura 13), cauda bifurcada, tronco caudal longo, furca, boca na região anterior, cauda sem um par de apêndices anteriores, longifurcada, distoma e faringeadada. Eliminada por dois moluscos, de diferentes localidades da espécie *D. cimex*, correspondente ao ponto 11 no período da 3ª coleta em março de 2019 e no ponto 32 no período da 4ª coleta em maio de 2019.



Figura 13 – Cercária do tipo Estringeocercária (A) Morfologia completa (B) Imagem do corpo com a presença da faringe e ventosa ventral.

5.2 Dados meteorológicos

Na avaliação da distribuição mensal dos moluscos coletados em Fevereiro a Setembro de 2019 com a mesma quantidade de coletas realizadas, quatro coletas (2ª, 3ª, 4ª e 5ª) correspondentes a 11 pontos, observa-se maior número de moluscos (63,6%) nos meses de maio e setembro no período de seca, em comparação aos meses de fevereiro e março, período de chuva com 36,4%.

A variação de precipitação e das médias de temperatura durante o trabalho encontram-se nos gráficos. A precipitação variou de 232 mm em fevereiro a 0,9 mm em junho (Gráfico 1). As maiores médias de temperatura foram observadas em fevereiro (25°C) e as menores médias em junho (16°C) de 2019 (Gráfico 2).

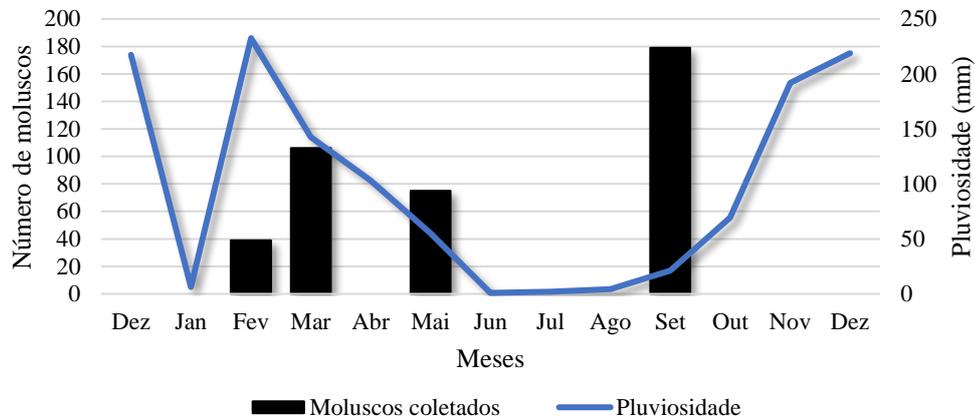


Gráfico 1 - Comparação do número de moluscos capturados nas quatro coletas (2°,3°,4° e 5°) em 11 pontos com pluviosidade média, registradas na estação meteorológica de Conceição do Mato Dentro em 2019.

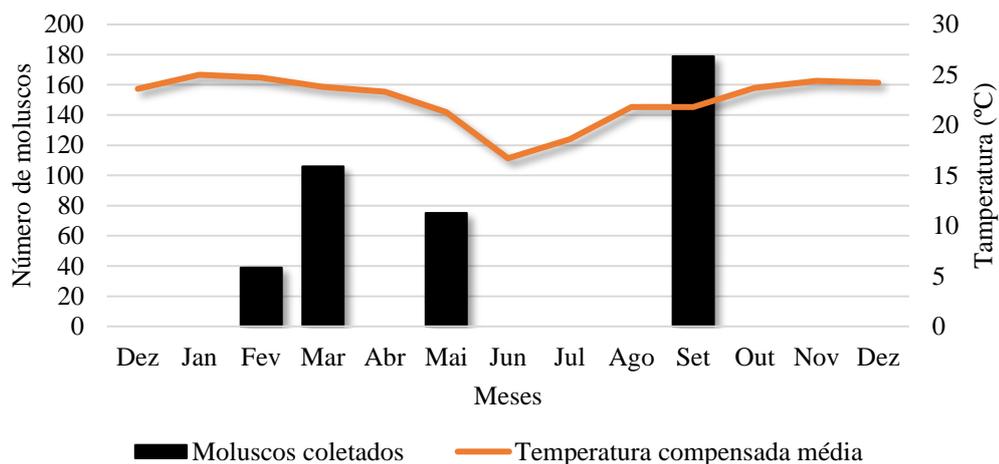


Gráfico 2 - Comparação do número de moluscos capturados nas quatro coletas (2°,3°,4° e 5°) nos 11 pontos com temperatura compensada média, registradas na estação meteorológica de Conceição do Mato Dentro em 2019.

Biomphalaria spp. e *P. marmorata* apresentaram uma relevante distribuição entre os criadouros no município. Analisando quatro coletas (2°, 3°, 4° e 5°) em sete pontos foi observada e comparada a presença das duas populações nos mesmos ambientes. No período de chuva, obteve-se 45 exemplares (61%) de moluscos do Gênero *Biomphalaria* e 29 exemplares (39%) de *P. marmorata*. No período de seca, ocorreu uma inversão nas porcentagens de *P. marmorata* com 95 exemplares (60%) e 64 exemplares (40%) para *Biomphalaria* spp. Especificamente para *Biomphalaria* e *P. marmorata*, a pluviosidade não influenciou estatisticamente no número de indivíduos coletados ($r = -0,289$; $p = 0,711$ e $r = -0,578$; $p = 0,422$, respectivamente) (gráfico 3).

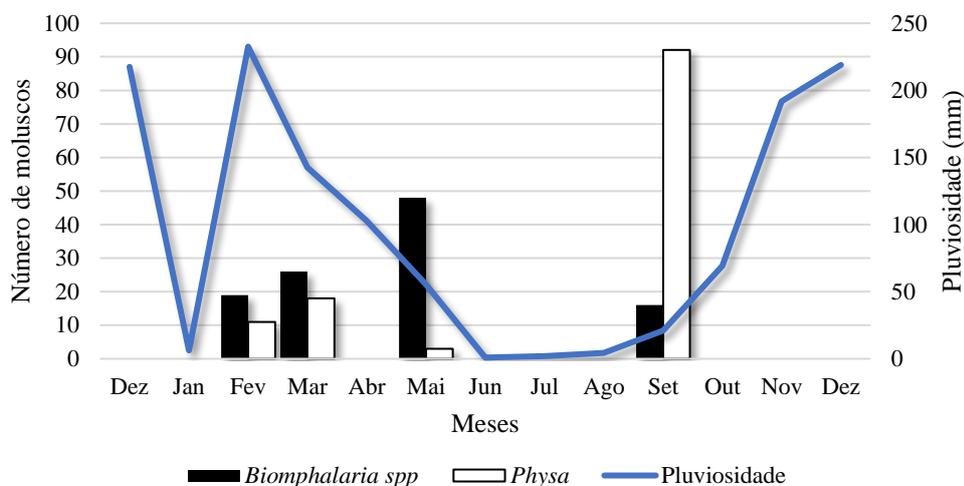


Gráfico 3 – Pluviometria e total de número de moluscos capturados do gênero *Biomphalaria* e *Physa* referente a quatro coletas (2°, 3°, 4° e 5°) correspondente a sete pontos (1, 5, 6, 9, 10, 15, 33) que apresentaram os dois gêneros. Correlação realizada pelo Teste de Pearson.

5.3 Caracterização da diversidade de ambientes aquáticos

As coleções aquáticas foram classificadas como lânticas (águas paradas ou de baixo fluxo, destacando-se ribeirões, lagos e lagoas) e lóaticas (água corrente, córregos, cachoeiras e rios). Foram avaliados 45 ambientes, classificados em 29(64,4%) ambientes lânticos e 16(35,6%) ambientes lóaticos, o ponto 41 não foi avaliado por se tratar de um bebedouro de animais, embora também seja um criador de caramujos. A frequência da ocorrência de moluscos em ambientes lânticos foi estatisticamente maior (15/29; 51,75%), quando comparado aos ambientes lóaticos (1/16; 6,2%) ($p = 0,02338$) (Tabela 11).

Tabela 11 – Ambientes lóaticos e lânticos relacionados com a presença moluscos

	Ambientes lânticos	Pontos com presença de caramujo	p
Lântico	29	15	
Lóatico	16	1	0,02338
Total	45	16	

Valor de p obtido pelo teste do Qui-quadrado.

Dos 17 pontos que apresentaram moluscos (Figura 14), em 15 pontos foi observado a utilização por pessoas e/ou animais com água. Sendo que em três pontos o motivo era recreativo

(Pontos 1, 10, e 12), em cinco para atividades domésticas (2, 5, 18, 33, 37), e nove para criação de animais domésticos (1, 2, 6, 12, 15, 37, 39, 40, 41). Entre os ambientes com presença de moluscos, apenas um ponto apresentou eliminação de esgoto evidente (Ponto 11) não representado na imagem. O ponto 41 apresentou um grande número de moluscos do gênero *Biomphalaria* e por ser correspondente a bebedouro de animais não foi utilizado na análise de avaliação de habitat, entretanto foi realizada a análise microbiológica da água.



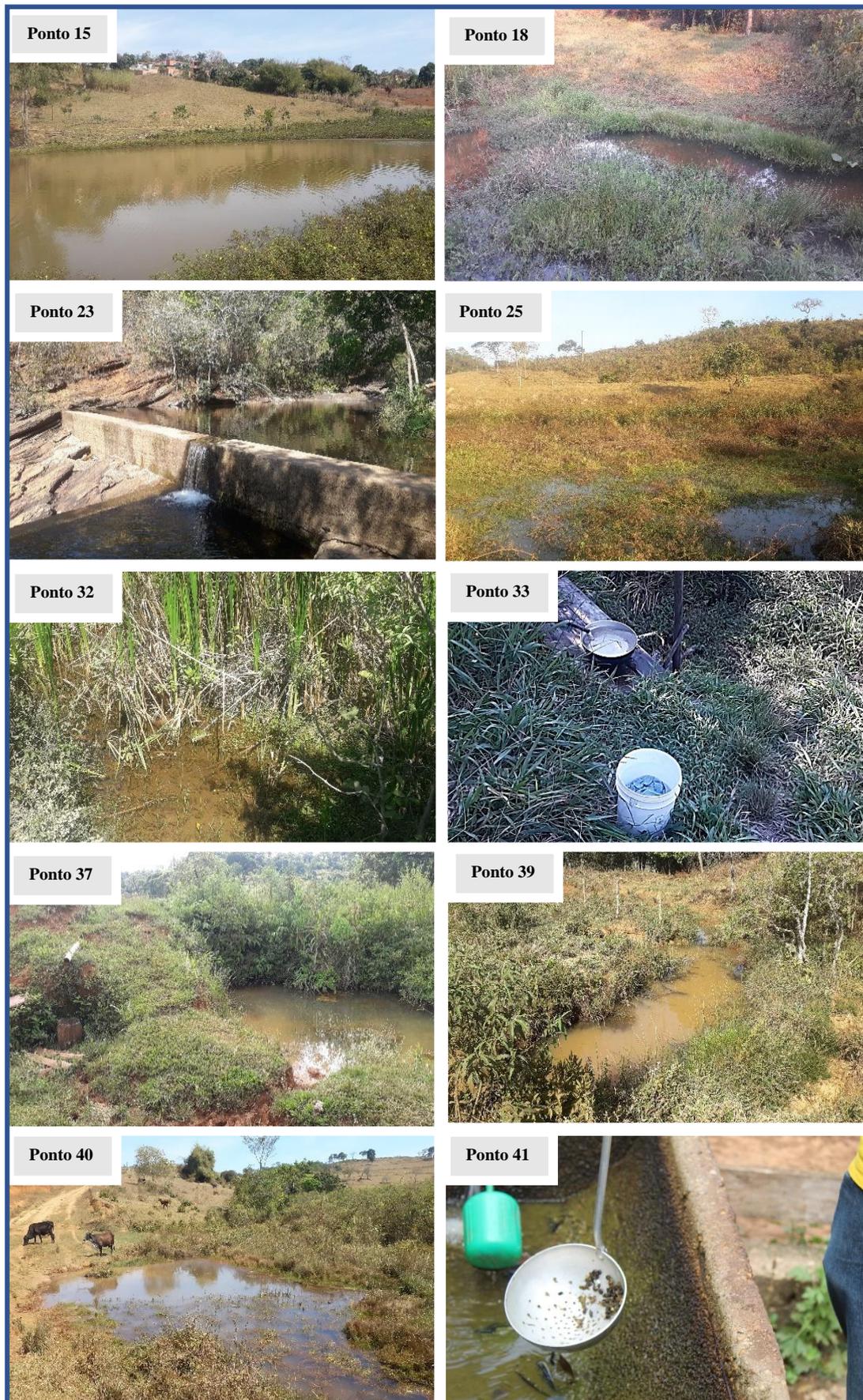
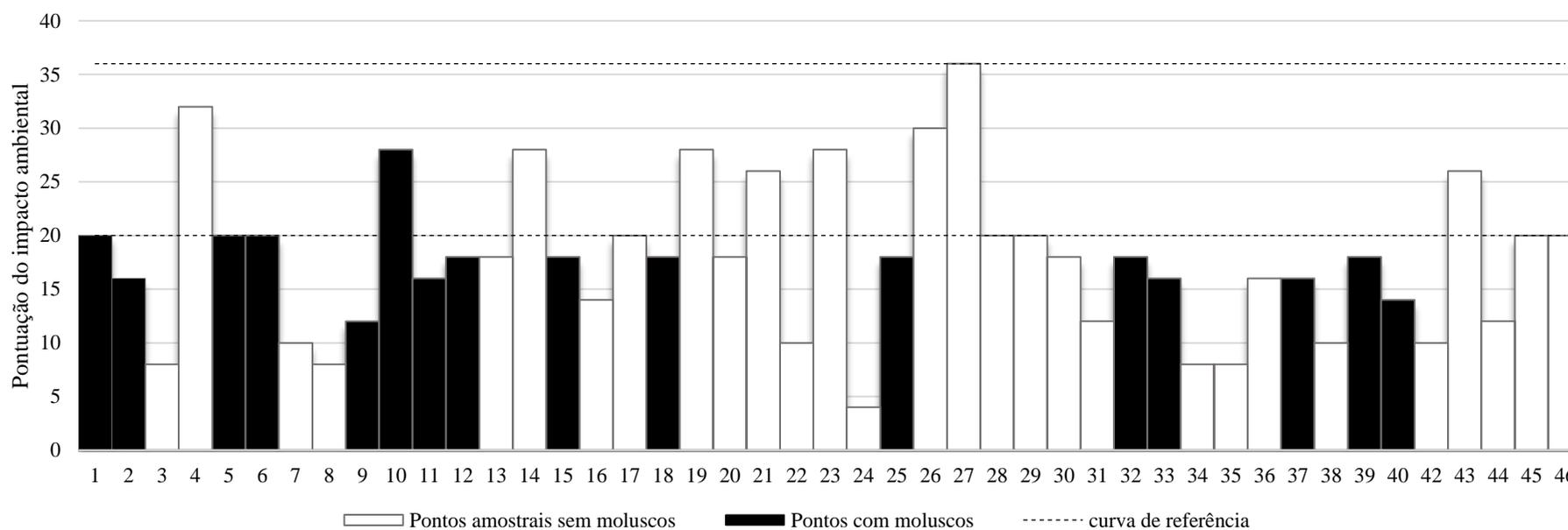


Figura 14 – Panorama dos ambientes de coleta que apresentaram os moluscos límnicos – (exceto o ponto 23 que não apresentou moluscos, embora tenha sido utilizado na análise microbiológica da água, por ser um ambiente muito explorado como área recreativa em Itapanhoacanga).

Os ambientes foram classificados como áreas impactadas, alteradas e naturais. Aquelas que obtiveram pontuação até 20 pontos foram consideradas altamente impactadas. Entre 20 e 36 pontos estão as áreas levemente impactadas e acima de 36 pontos as áreas naturais. O protocolo utilizado demonstrou a presença de ambientes altamente impactados (80%) e levemente alterados (20%) no município de Alvorada. Apenas o ambiente 41 não foi avaliado por ser um bebedouro de animais. Dos ambientes com moluscos avaliados 93,7% foi de trechos altamente impactados. No entanto, não houve diferença nas quantidades de caramujos coletados nos diferentes ambientes ($p=0,5121$) (Gráfico 4).



Trechos altamente impactados - até 20 pontos
 Trechos levemente impactados - > 20 < 35 pontos
 Trechos naturais - > 36 pontos

Gráfico 4 - Aplicação do protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats. Pontuação de classificação dos ambientes visitados. Modificado do EPA, 1987; Callisto et al., 2002 e Brito et al., 2011.

5.4 Análise da água

5.4.1 Dados de pH e Temperatura

Os valores de pH variaram entre 6,0 e 9,0 nos ambientes amostrados. Na avaliação da temperatura foram obtidos valores entre 23,5°C a 33,2°C (tabela 12). Não houve correlação significativa entre o número de moluscos coletados e os valores de pH ($r = -0,15$; $p = 0,54$) e temperatura ($r = 0,23$; $p = 0,35$) dos criadouros.

Tabela 12 – Resultados da análise de pH e temperatura

Localidade	Pontos de coleta	pH	Temperatura (°C)
Ribeirão	1	9.1	33,2 °C
	2	7.2	34,5°C
	5	6.7	26,5°C
	6	7.1	25,6°C
Fazenda da Ponte	9	6.3	27,1°C
	10	6.2	27,8°C
Centro	11	7	26,5°C
	12	7.1	23,5°C
	15	6.9	27,4°C
Barbeiro	18	6.2	30,6°C
Alto dos Monteiros	25	6.3	29,1°C
Jassém	32	6.3	26,2°C
	33	7.5	26°C
Lambari	37	6	25,2°C
	39	6.2	25°C
	40	6.5	26,4°C
	41	6.1	30°C

5.4.2 Microbiológica para coliformes

Na tabela abaixo, são apresentados os resultados da análise da presença de coliformes totais e presença de *E. coli* nas localidades de Ribeirão, Fazenda da Ponte, Centro, Barbeiro, Itapanhoacanga, Alto dos Monteiros, Jassém e Lambari.

As localidades Ribeirão, Fazenda da Ponte, Barbeiro e Itapanhoacanga apresentaram coliformes totais e *E. coli*. Nas localidades Centro, Jassém e Lambari não houve presença de *E. coli* em um dos pontos, assim como o controle.

A análise apresentou 100% de positividade para coliformes totais e 82,4% de positividade para *E. coli* nas localidades amostradas (Tabela 13). Os testes foram fotografados e indexados no apêndice 10.2 e distribuição espacial no apêndice 10.3B

Tabela 13 – Resultados da análise microbiológica das coleções hídricas com moluscos.

Localidade	Pontos de coleta	Coliformes	
		Totais	<i>E. coli</i>
Ribeirão	1	X	X
	2	X	X
	5	X	X
	6	X	X
Fazenda da Ponte	9	X	X
	10	X	X
Centro	11	X	X
	12	X	X
	15	X	0
Barbeiro	18	X	X
Itapanhoacanga	23	X	X
Alto dos Monteiros	25	SA	SA
Jassém	32	X	0
	33	X	X
Lambari	37	SA	SA
	39	X	X
	40	X	X
	41	X	0
Controle	-	X	0

Legenda: X = presente; 0 = ausente e SA = sem água no período da análise.

5.5 Infecção experimental - Desafio com a cepa LE de *Schistosoma mansoni*

No primeiro experimento de infecção da geração F1 de *B. glabrata*, provenientes dos pontos 6 e 9 e do controle (GIDE-UFMG), foi possível avaliar a suscetibilidade e a compatibilidade dos moluscos durante seis semanas. Na infecção com 10 miracídios, os moluscos dos pontos 6 e 9 apresentaram taxas de infecção de 70% e 85% respectivamente. No grupo controle a taxa de infecção foi de 15% (tabela 14). Ambos os experimentos foram realizados em condições não controladas para temperatura, umidade e luminosidade.

Tabela 14 – Primeira infecção experimental - Desafio com a cepa LE de *Schistosoma mansoni*

Procedência	Miracídios LE/UFMG	Nº de moluscos utilizados	Nº de moluscos mortos	Período pré-patente e última análise (Dias)	Taxa de infecção	TCP/100	Classe
Ponto 6 <i>B. glabrata</i>	10	20	4	30 – 76	70%	519.690	VI
Ponto 9 <i>B. glabrata</i>	10	20	6	30 – 76	85%	561.510	VI
UFMG <i>B. glabrata</i>	10	20	9	30 – 76	15%	3.230	I
Ponto 2 <i>B. kuhniiana</i>	20	20	2	30 – 76	0%	-	-
UFMG <i>B. glabrata</i>	20	20	11	30 – 76	15%	5.440	I

(TCP/100 = número total de cercárias produzidas, multiplicado por cem e dividido pelo número de moluscos expostos)

Na avaliação da compatibilidade, os moluscos dos pontos 6 e 9 apresentaram resultados de classe VI, ou seja, extremamente compatíveis. Os dados obtidos na infecção dos moluscos da UFMG, com 10 e 20 miracídios/molusco, apresentaram o perfil de classe I, com descrição “não muito compatíveis” para a cepa LE de *S. mansoni*.

No primeiro experimento, os dois grupos de *B. glabrata* de Alvorada de Minas eliminaram cercárias a partir de 42 dias pós-infecção, com elevado número de cercárias. No entanto, a população da UFMG iniciou a eliminação de cercárias em maior número a partir de 71 dias pós-infecção. Foi possível identificar uma diferença significativa na quantidade de cercárias eliminadas por *B. glabrata* do Ponto 9 aos 71 dias pós-infecção, quando comparado com a população do ponto 6 ($p=0,04$) e da UFMG ($p>0,0001$) (Gráfico 5). Não houve diferenças significativas nas taxas de mortalidade observadas para os caramujos infectados do ponto 6 (20%), do ponto 9 (30%) e da UFMG (45%) (Gráfico 6).

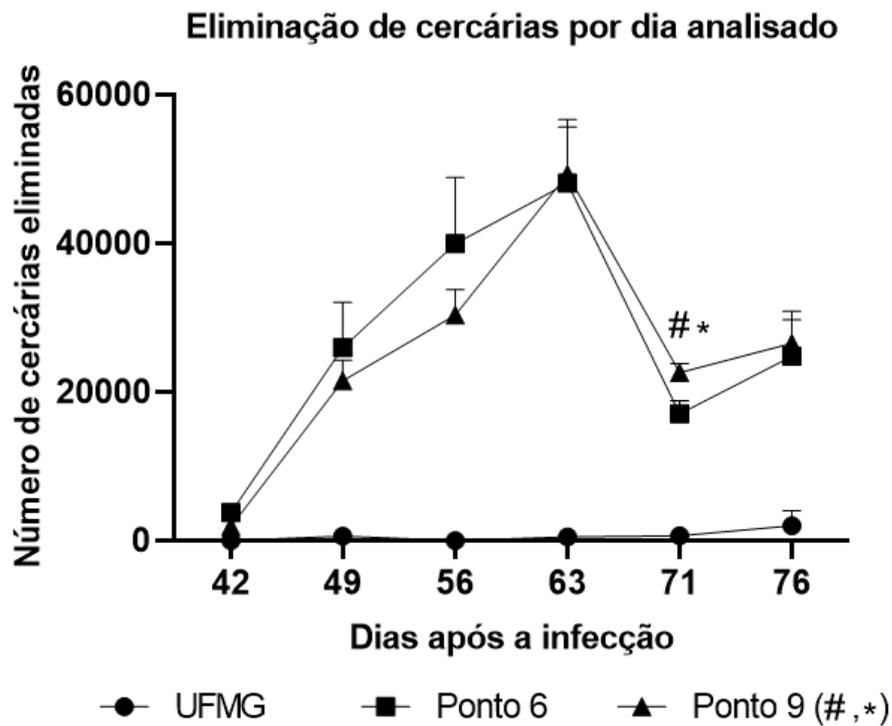


Gráfico 5 - Desafio com a cepa LE de *Schistosoma mansoni*. Resultado da infecção experimental de *B. glabrata* com *S. mansoni* (cepa LE/UFMG). Moluscos provenientes da UFMG, Ponto 6 e Ponto 9 de Alvorada de Minas. (#) estatisticamente diferente entre os grupos Ponto 9 e UFMG; (*) estatisticamente diferente entre os grupos Ponto 9 e Ponto 6 pelo Teste de comparações múltiplas de Tukey

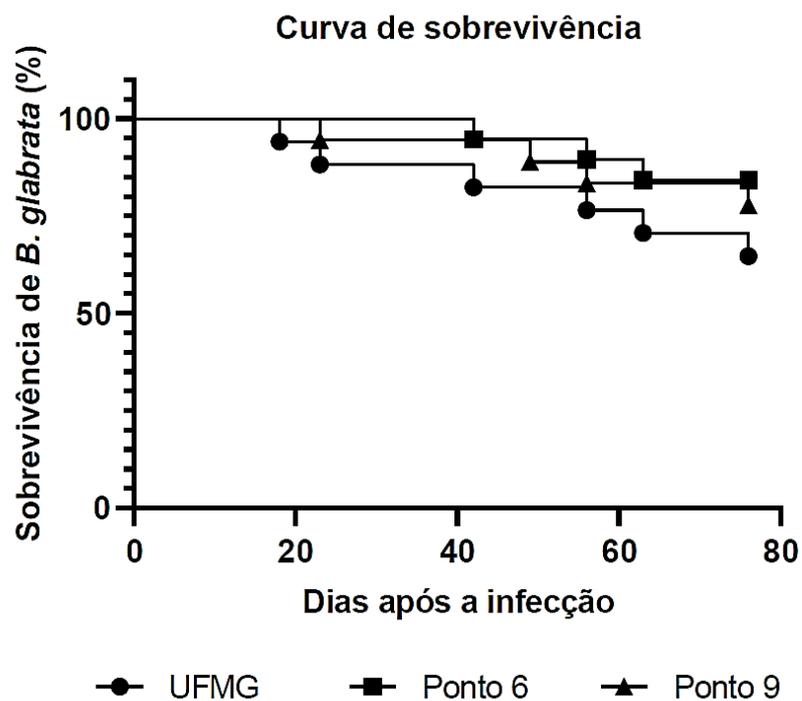


Gráfico 6 – Curva de sobrevivência de linhagens de *Biomphalaria glabrata* provenientes de Alvorada de Minas (Pontos 6 e 9) e grupo controle (UFMG). Comparação realizada pelo Teste de Log-Rank ($p = 0,36$).

Ainda no primeiro experimento, o grupo da espécie *B. kuhniana*, mantido nas mesmas condições, expostos a 20 miracídios, apresentaram 10% de mortalidade após a sexta semana, entretanto, não foi constatada a infecção nos indivíduos desafiados. Os resultados da população de *B. glabrata* da UFMG expostas a 20 miracídios/molusco não apresentaram diferenças significativas na mortalidade (55%) e na suscetibilidade (15%), comparados aos expostos com 10 miracídios.

No segundo experimento, o desafio da geração F1 de *B. glabrata* do ponto 15 de Alvorada de Minas, da população mantida na UFMG e da população mantida no IRR, os resultados mostraram uma taxa de infecção de 100%, 20% e 50%, respectivamente. Os moluscos do ponto 15 apresentam uma alta taxa de suscetibilidade, diferente dos resultados obtidos pelos moluscos dos laboratórios. Vale ressaltar que a população de *B. glabrata* mantida na UFMG é proveniente da região do Barreiro, Belo Horizonte, MG. Os moluscos do IRR são provenientes do Barreiro de Cima, Belo Horizonte (MG), e são mantidas a mais de 50 anos no laboratório (SOUZA, 1986; SOUZA et al., 1995). No entanto, os moluscos do IRR foram mais suscetíveis em comparação com a população da UFMG utilizando a cepa LE da UFMG (tabela 15).

Tabela 15– Segunda infecção experimental - Desafio de linhagens de *Biomphalaria glabrata* com a cepa LE de *Schistosoma mansoni*

Procedência	Miracídios LE/UFMG	Nº de moluscos utilizados	Período pré-patente e última análise (Dias)	Taxa de infecção
Ponto 15	10	20	30 - 45	100%
IRR	10	20	30 - 45	50%
UFMG	10	20	30 - 45	20%

5.6 Análise descritiva dos pacientes tratados com Praziquantel

Para a análise descritiva dos casos tratados pela farmácia municipal de Alvorada de Minas, entre os anos 2017 até outubro de 2019, foram utilizados apenas pacientes atendidos e residentes no município de Alvorada de Minas. A localidade que recebeu mais tratamentos em 2017, foi o Centro com 29,7%. Em 2018 e 2019, Ribeirão apresentou os maiores números de pessoas tratadas com 43,4% e 25%, respectivamente. Somando os três anos, Ribeirão (29,9%), Centro (21,4%) e Itapanhoacanga (13%) foram as localidades que apresentaram o maior número de pacientes tratados com PZQ (tabela 16).

Tabela 16– Número e procedência de indivíduos diagnosticados com esquistossomose no Município de Alvorada de Minas e tratados com praziquantel nos anos de 2017-2019. Dados obtidos da Secretaria de Saúde, Prefeitura de Alvorada de Minas.

Localidades	Anos			Total
	2017	2018	2019	
Ribeirão	6	20	6	32
Centro	11	9	3	23
Itapanhoacanga	10	3	1	14
Fazenda da Ponte	5	3	3	11
Lapinha	4	4	2	10
Passa Mal	1	1	0	2
Dom Paulo	0	2	0	2
Bom Jesus	0	1	0	1
Rio das Pedras	0	1	1	2
Palha de Cana	0	1	0	1
Não identificado	0	0	8	8
Outro município	0	1	0	1
Total	37	46	24	107

5.7 Análise espacial

Considerando a distribuição das amostras (Tabela 17), foram delimitadas 12 bacias hidrográficas distintas: Pau Lavrado (bh1); São José (bh2); Escadinha (bh3); Rio das Pedras (bh4); Dom Paulo (bh5); Pagão (bh6); Alvorada (bh7); Pinheiro (bh8); Lambari (bh9); Bibiu (bh10); Fazenda da Ponte (bh11) e Peroba (bh12) e seus afluentes menores sob forte influência do Rio e/ou sem pontos amostrais.

5.7.1 Moluscos

Os pontos amostrados foram agrupados pelas bacias hidrográficas: bh1 (42, 28, 29, 45); bh2 (26, 27, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 43, 44, 46); bh3 (18, 19, 20, 22, 23, 24, 25); bh4 (21); bh5 (11, 12, 16); bh6 (17); bh7 (37, 38, 39); bh8 (36, 40); bh9 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 41); bh10 (7, 8); bh11 (9); bh12 (13, 15); Rio do Peixe (10, 14) (figura 15).

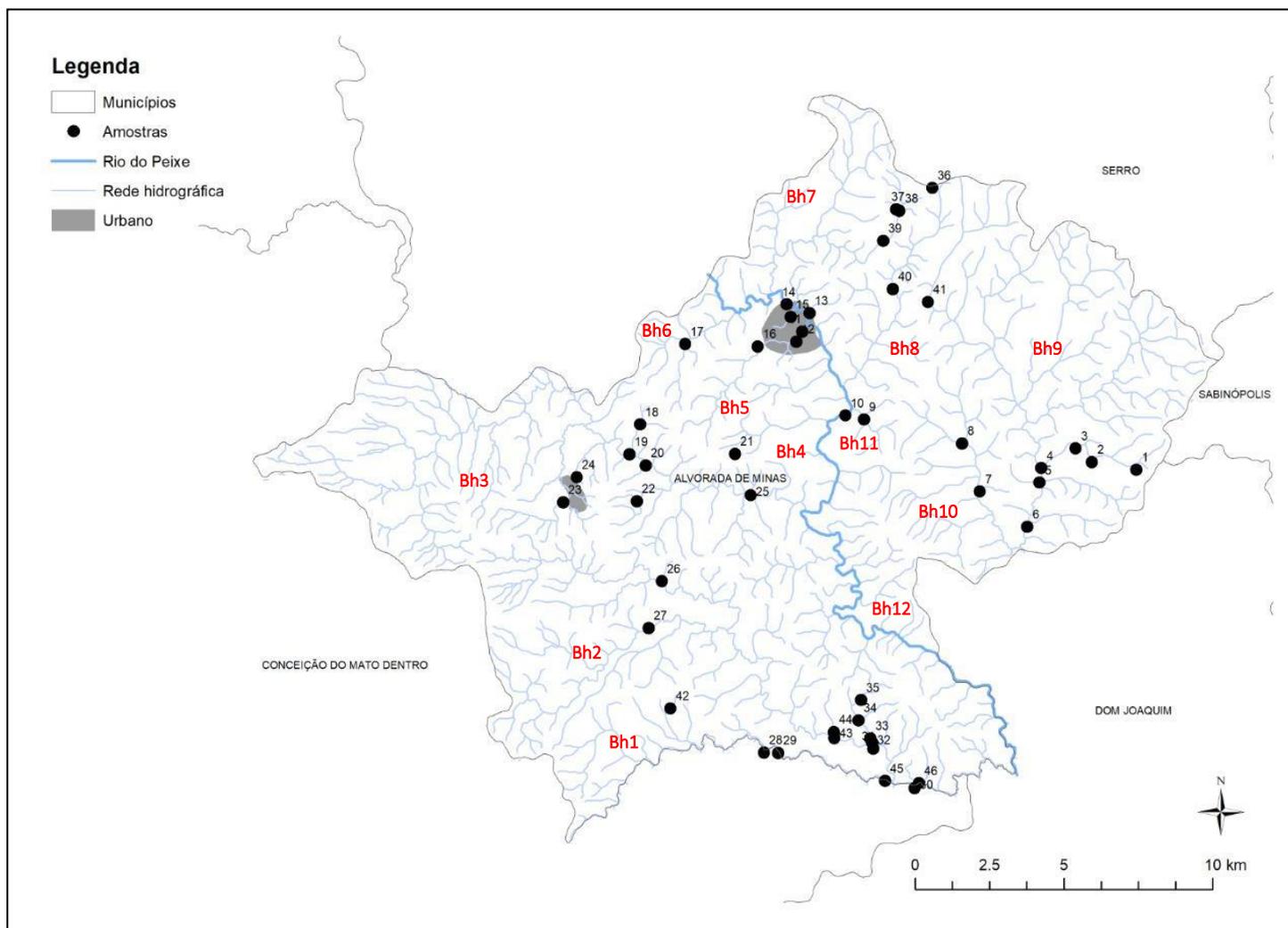


Figura 15 - Distribuição dos 46 pontos amostrados no levantamento malacológico no município de Alvorada de Minas.

Em 7 das 12 bacias hidrográficas foram coletados exemplares do gênero *Biomphalaria*. O gênero *Pomacea* foi encontrado apenas na bacia 9, o gênero *Drepanotrema* nas bacias 2, 9 e 12, o gênero *Omalonyx* na bacia 3, o gênero *Pseudosuccinea* nas bacias 3 e 12 e o gênero *Physa* nas bacias 2, 3, 5, 6, 9, 11 e 12. As bacias 1, 3, 4, 6 e 10 não apresentaram nenhuma espécie de *Biomphalaria* e as bacias 1, 4, 6 e 10 não apresentaram moluscos (Figura 16).

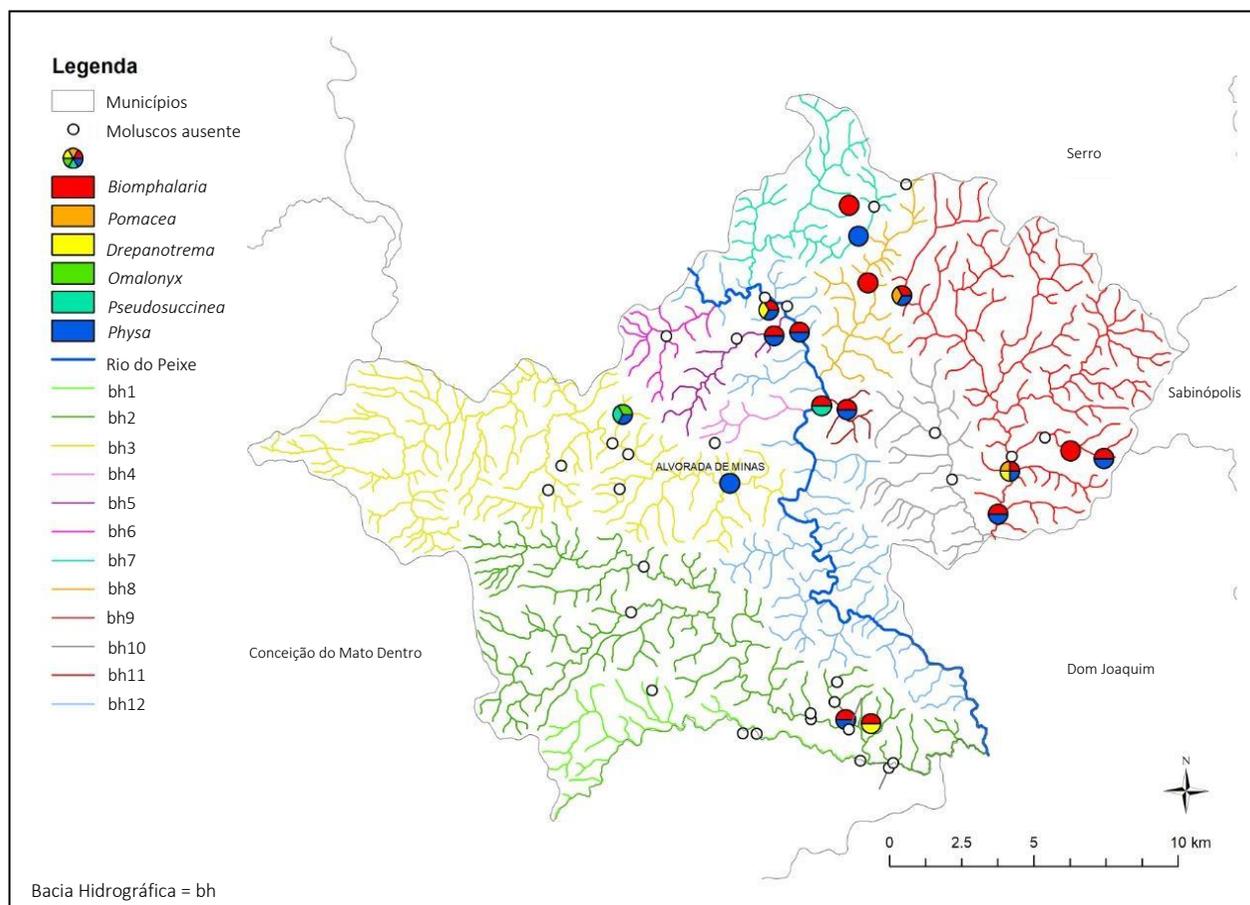


Figura 16 - Mapa com a divisão das bacias hidrográficas e a distribuição da malacofauna nas 17 localidades. (Outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019)

Espécies de *Biomphalaria* foram identificadas nas bacias 2, 5, 7, 8, 9, 11 e 12. *B. glabrata* foi identificada nas bacias 7, 9, 11 e 12, *B. tenagophila* na bacia 2, *B. straminea* na bacia 9, *B. cousini* na bacia 8, *B. kuhniana* nas bacias 9 e 12 (Figura 17).

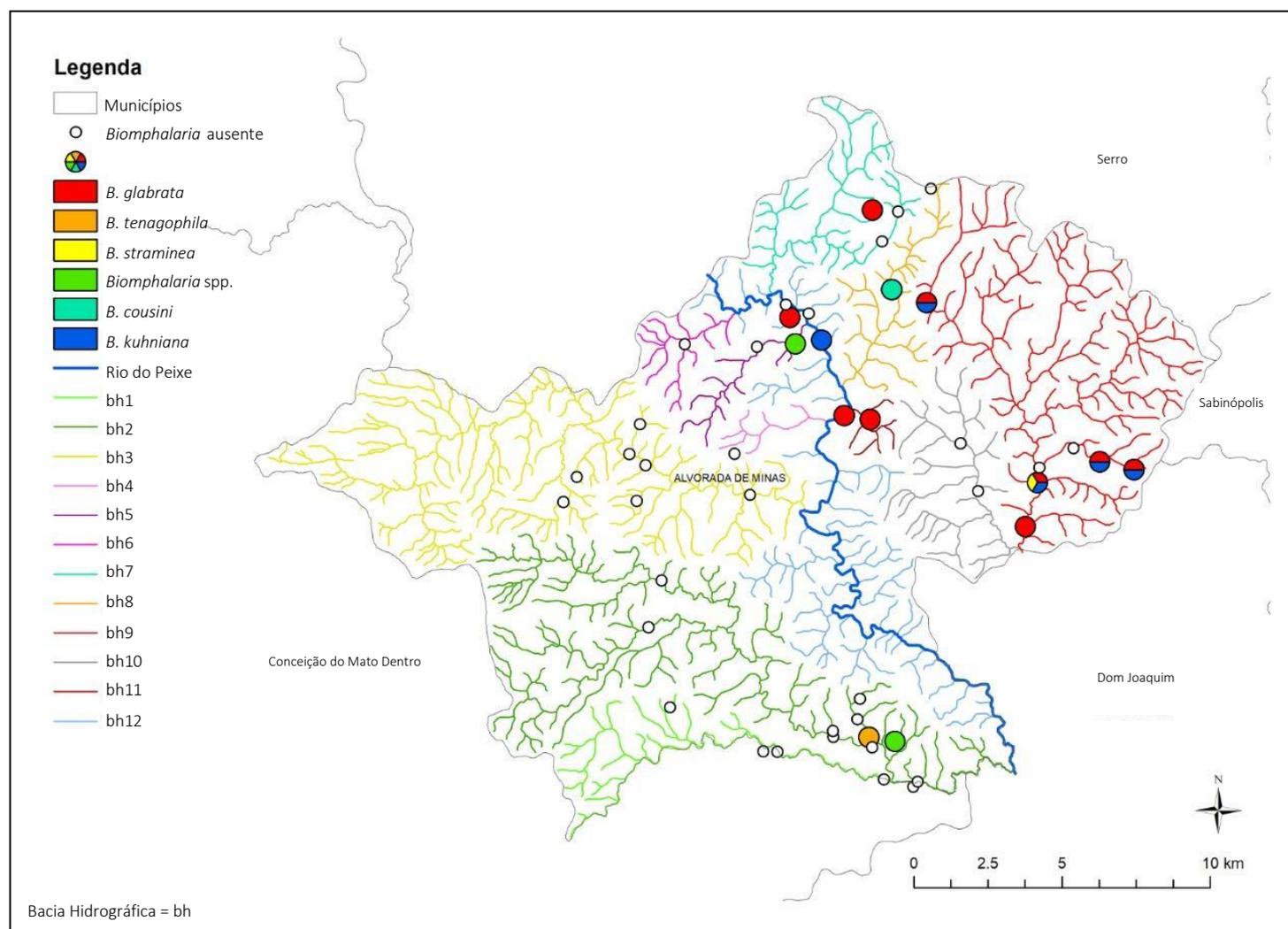


Figura 17 - Mapa com a divisão das bacias hidrográficas e a distribuição das espécies de *Biomphalaria* nas 14 localidades. (Outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019)

Tabela 17 – Identificação das bacias hidrográficas e presença das variáveis condicionantes para o valor arbitrário do peso

Bacias	Nº de pontos Amostrados	Espécies de <i>Biomphalaria</i>	<i>B. glabrata</i>	Outros moluscos	Contaminação Fecal	Intensidade dos Ambientes impactados	Peso (Risco)
1	4	Não	Não	Não	Sem Amostra	Altamente	Nulo
2	12	Sim	Não	Sim	Sim	Altamente/levemente	Baixo
3	7	Não	Não	Sim	Sim	Altamente /Levemente	Baixo
4	1	Não	Não	Não	Sem Amostra	Levemente	Baixo
5	3	Sim	Não	Sim	Sim	Altamente	Baixo
6	1	Não	Não	Não	Sem Amostra	Altamente	Nulo
7	3	Sim	Sim	Não	Sim	Altamente	Médio
8	2	Sim	Não	Não	Sim	Altamente	Médio
9	7	Sim	Sim	Sim	Sim	Altamente / Levemente	Alto
10	2	Não	Não	Não	Sem Amostra	Altamente	Nulo
11	1	Sim	Sim	Sim	Sim	Altamente	Médio
12	2	Sim	Sim	Sim	Sim	Altamente / Levemente	Médio
Rio do Peixe	2	Sim	Sim	Sim	Sim	Altamente / Levemente	Médio

Todas as bacias amostradas para qualidade de água (2, 3, 5, 7, 8, 9, 11 e 12) apresentaram contaminação fecal (presença de coliformes totais e *E. coli*). Todas as bacias apresentaram pontos altamente impactados, exceto a bacia 4 (Apêndice 10.3B). As bacias 2, 3, 9 e 12 apresentaram pontos altamente e levemente impactados e apenas a bacia 4 apresentou um ponto levemente impactado (Apêndice 10.3C).

5.7.2 Análise de Kernel e Buffer

Considerando os pesos, as bacias 2, 3, 9 e 12 apresentaram pontos sem risco potencial de *Biomphalaria*. As bacias 1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10 e 12 apresentaram pontos de risco nulo. As bacias 2, 3, 5, 7, 8 e 12 apresentaram pontos de baixo risco. As bacias 7, 9, 10 e 12 apresentaram pontos de médio risco e apenas a bacia 9 apresentou ponto de elevado risco. Nas bacias 9 e 12 foram identificados quatro gêneros de moluscos, nas bacias 2 e 3 foram três gêneros, as bacias 5, 7 e 11 foram dois gêneros e na bacia 8 um gênero.

No mapa de Buffer, figura 18, considerando o raio de 500m a partir de um ponto amostral, dezoito dos 46 pontos possuem uma distância maior que 1000m do ponto vizinho mais próximo, ou seja, aproximadamente 40% dos pontos estão isolados e 60% estão aproximados. Considerando o raio de 1000m a partir de um ponto amostral, apenas 2 dos 46 pontos possuem uma distância maior que 2000m do ponto vizinho mais próximo.

No raio de 1000m a partir dos pontos amostrais, que são por si só represas, áreas de lazer e de atividades domésticas, encontram-se duas áreas urbanas (sede e Itapanhoacanga), escolas rurais e aglomerados de residências rurais. O risco neste raio considera (i) as distâncias relativamente curtas, menores que 1km, entre as pessoas e o ponto de localização de *Biomphalaria* e (ii) o grande poder de dispersão de *Biomphalaria*, inclusive à montante³. É possível observar também quatro áreas onde a presença e ausência de *Biomphalaria* se sobrepõe. No entanto, sugere-se que a área de sobreposição deve ser considerada de risco.

Dos 46 pontos amostrais, em 14 foram identificados *Biomphalaria* os quais foram considerados pontos de risco. Ao sul do município na bacia 2 é possível observar dois pontos de risco próximos à jusante⁴, mas com pontos com ausência de *Biomphalaria* à montante e no raio de risco. Na região norte, na bacia 7 há um ponto de risco à montante com um ponto com ausência de *Biomphalaria* no raio de risco e outro à jusante. Na bacia 8, próxima ao centro, há um ponto de risco no meio da bacia e um ponto com ausência de *Biomphalaria* à montante. Na bacia 9, ao leste do município, há um ponto de risco à montante, próximo à bacia 8 e quatro pontos de risco à jusante. No entanto, entre estes quatro pontos há dois pontos com ausência de *Biomphalaria* dentro do raio de risco. No Rio do Peixe há duas áreas de risco: (i) na sede do município, adentrando a região da bacia 5, com três pontos de risco e dois pontos com ausência de *Biomphalaria* no raio de risco; e (ii) na região da bacia 11, com dois pontos de risco.

³ Montante - a nascente de um rio é o seu ponto mais a montante.

⁴ Jusante - a foz de um rio é o ponto mais a jusante.

No mapa de Kernel, figura 19, considerando o raio de 1 km, identificamos sete áreas de risco, sendo uma delas mais extensa na bacia 9 e quatro delas com pontos amostrais sem *Biomphalaria*. Cinco bacias não têm área de risco: 1, 3, 4, 6 e 10.

Em geral, as bacias da região oeste não possuem risco e as regiões da sede, norte e leste do Rio do Peixe são de maior risco. Algumas áreas das bacias não possuem amostras, ou as amostras não apresentaram *Biomphalaria*. No entanto, isso não significa que *Biomphalaria* esteja ausente ou que não sejam áreas de risco.

A densidade de Kernel para a distribuição de *Biomphalaria* revelou áreas de risco similares aos buffers. No entanto, com o Kernel foi possível notar uma área mais quente na região da sede, influenciada pela presença de três pontos amostrais mais próximos com presença de *Biomphalaria*, e notar que o risco diminui ao se afastar das áreas centrais de risco.

A densidade de Kernel do peso sugeriu seis áreas de alto risco (quatro áreas na bacia 9, uma área na sede/bacia 5 e uma na bacia 11/Rio do Peixe), três áreas de médio risco (bacia 2, 7 e 9), duas áreas de baixo risco (nas bacias 7 e 8) entre áreas de médio risco. Todas estas áreas (alto, médio e baixo risco) apresentam também *Biomphalaria*.

A técnica de peso permitiu diferenciar melhor as áreas de risco identificadas pelos buffers e pelo Kernel e permitiu identificar duas áreas de baixo risco localizadas na bacia 3, que não apresentam *Biomphalaria* e, por isso, não foram identificadas pelo buffer ou Kernel. O risco revelado pelo peso foi influenciado pela presença de outros moluscos, de contaminação fecal e pela baixa qualidade do habitat.

A densidade Kernel do peso também sugeriu seis áreas de boa qualidade (três áreas na bacia 2, duas áreas na bacia 3, uma área na bacia 4 e duas áreas de boa qualidade adjacentes às áreas de alto risco) no Rio do Peixe próximo à sede e na bacia 9. Diversos pontos amostrais apresentaram valores nulos, que não sugerem boa qualidade ambiental nem risco.

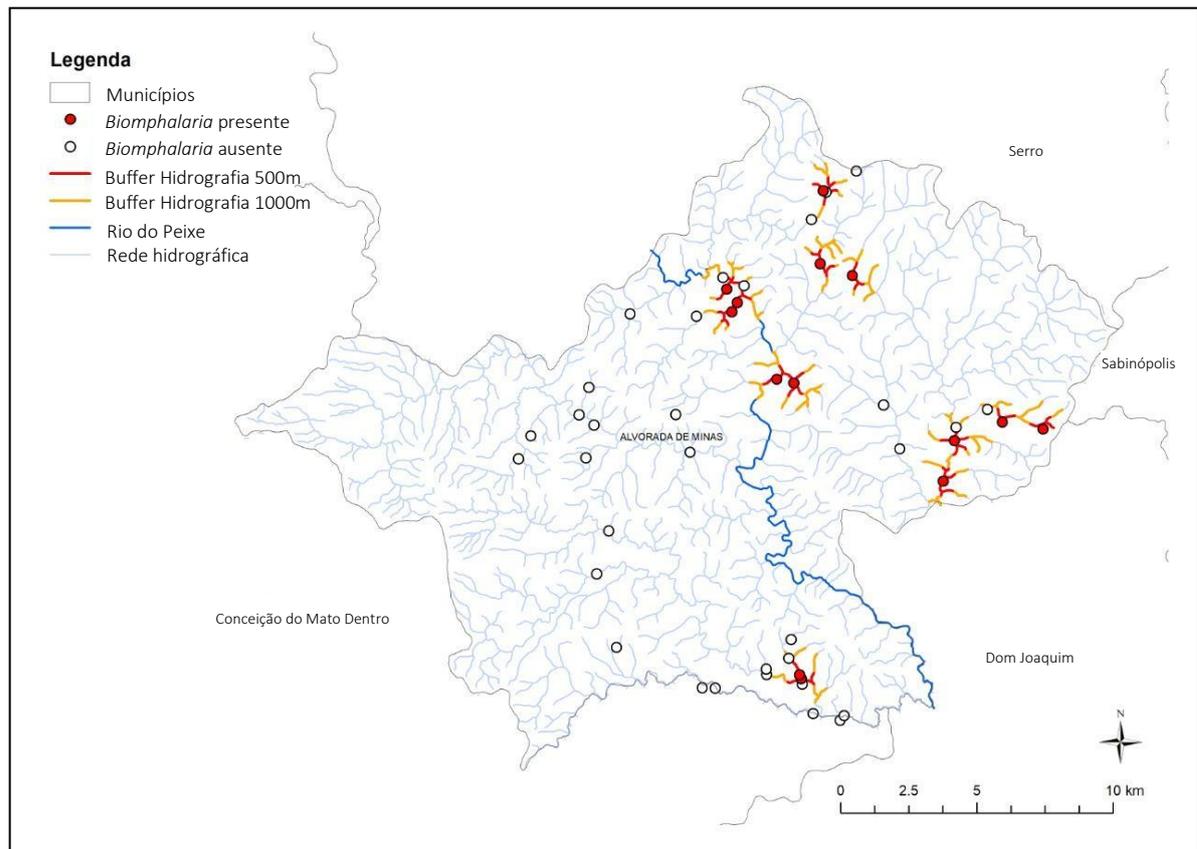


Figura 18 - Mapa de calor da distribuição de *Biomphalaria* a partir do Buffer. (Coletas em outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019)

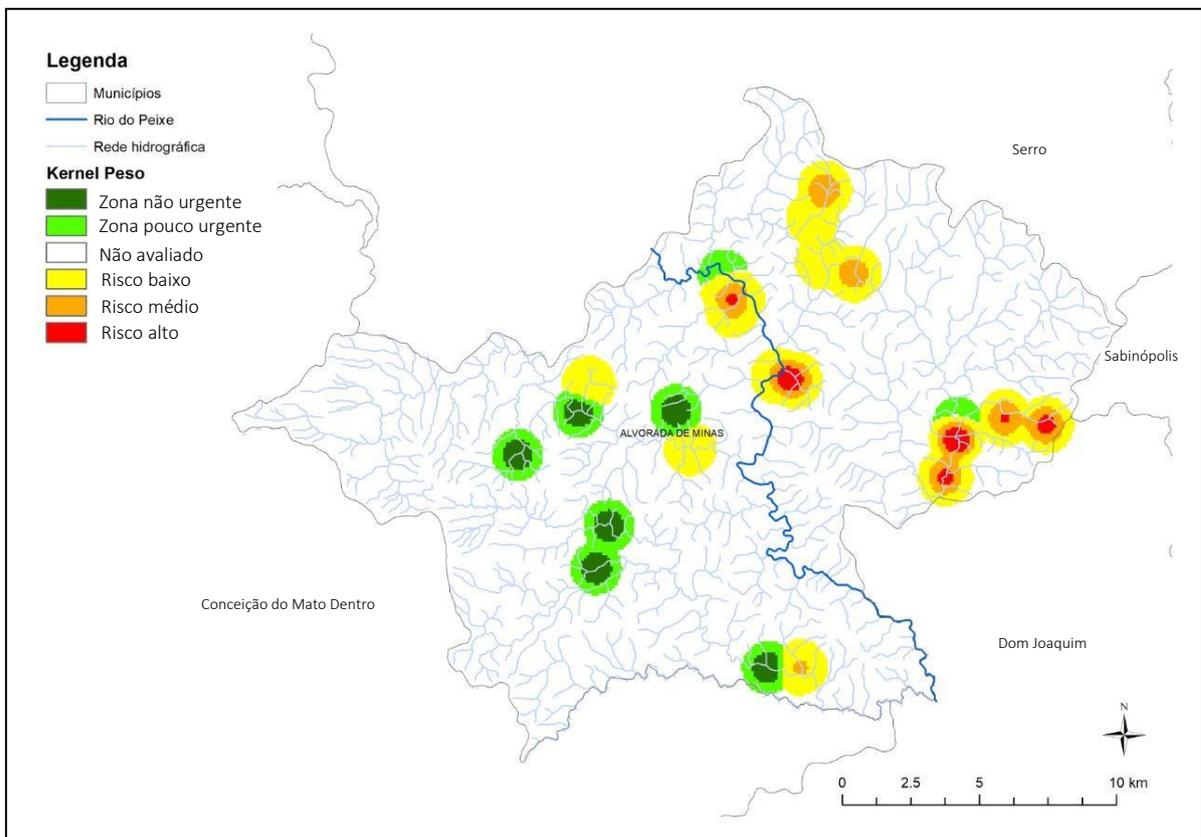


Figura 19 - Mapa de Kernel para a distribuição de *Biomphalaria* spp. com raio de 1km. (Outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019)

5.7.3 Análise de Krigagem

A interpolação pelo método de Krigagem permitiu prever a distribuição potencial de *Biomphalaria* com base nos dados de distribuição espacial das espécies. Há maior probabilidade de encontrar espécies de *Biomphalaria* à leste do Rio do Peixe e na sede municipal e menor probabilidade na região oeste do Rio do Peixe (Figura 20).

A Krigagem do peso permitiu prever as áreas de maior risco potencial de ocorrência de *Biomphalaria*. Diferente da Krigagem de *Biomphalaria*, o peso apontou maior potencial na região da bacia 9, médio potencial no restante das regiões leste e ao longo da bacia do Rio do Peixe e baixo potencial na região oeste do Rio do Peixe (Figura 21).

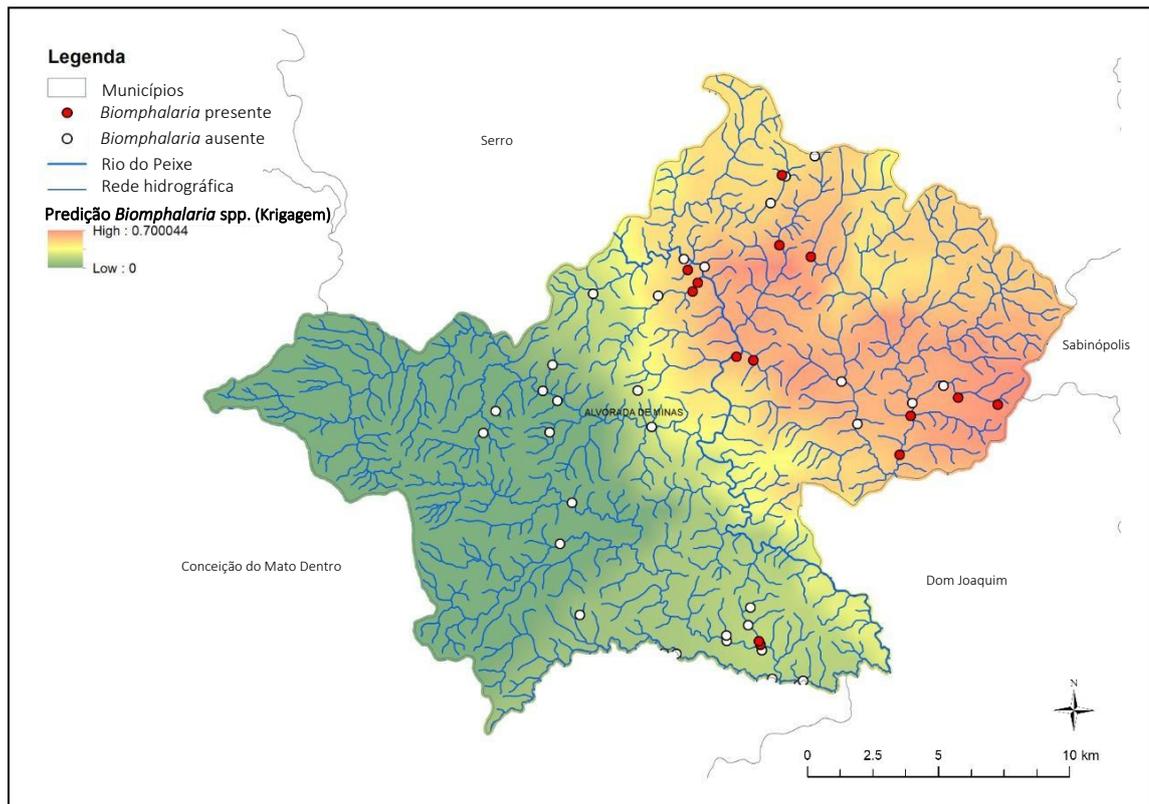


Figura 20 – Mapa de predição de *Biomphalaria* a partir da análise de Krigagem. (Coletas em outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019)

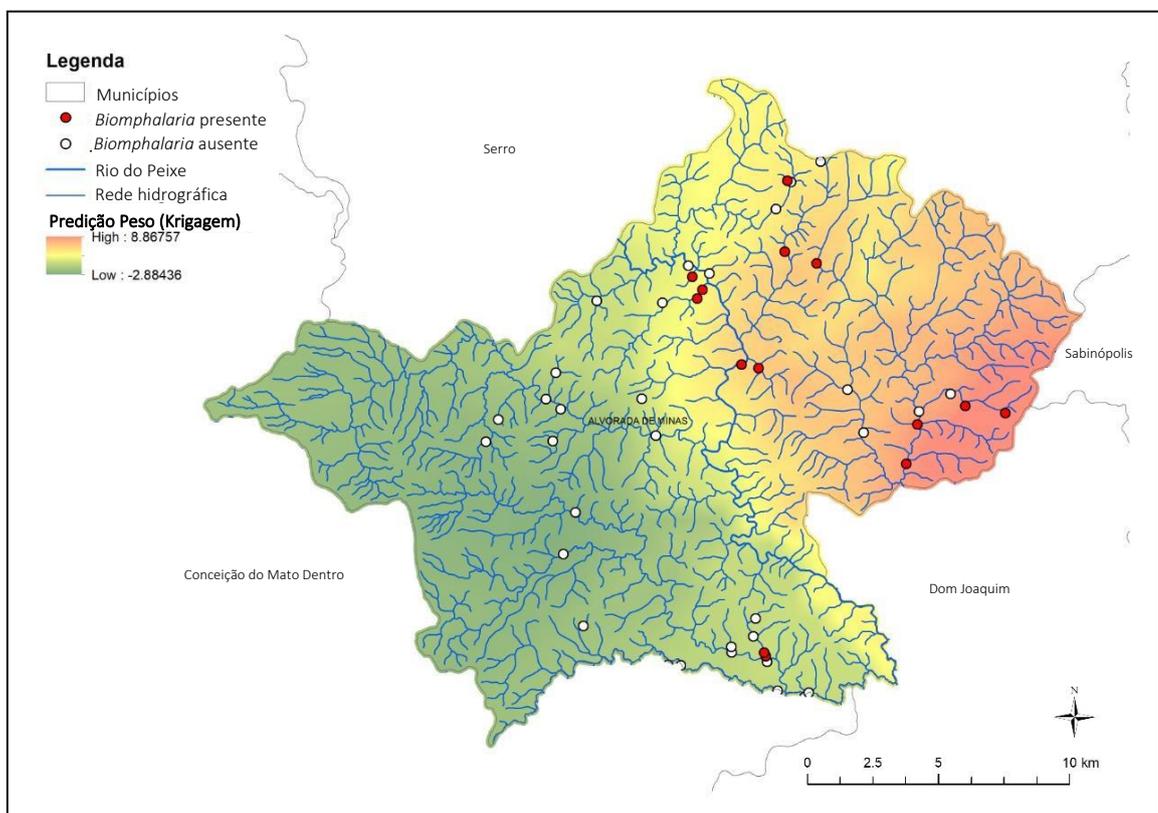


Figura 21 – Mapa com a distribuição de *Biomphalaria* spp. e a predição com o fator peso para a indicação das áreas de risco, a partir da Krigagem. (Coletas em outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019)

5.7.4 Humano

As comunidade Lapinha, Ribeirão, Fazenda da Ponte e Centro, localizadas nas bacias 7, 9, 11, 12, respectivamente, estão situadas próximas às áreas de risco com presença de *Biomphalaria* spp.. Estas áreas estão localizadas nas regiões leste e sede. As comunidades Itapanhoacanga, Dom Paulo, Bom Jesus e Palha de Cana estão situadas nas bacias 3, 5, 6, 10 respectivamente, em áreas que não apresentam *Biomphalaria*, como destaque para a comunidade de Itapanhoacanga e de duas localidades proximas: Rio das Pedras e Passa Mal, presentes na bacia 3, com grande número de pessoas em tratamento (figura 22).

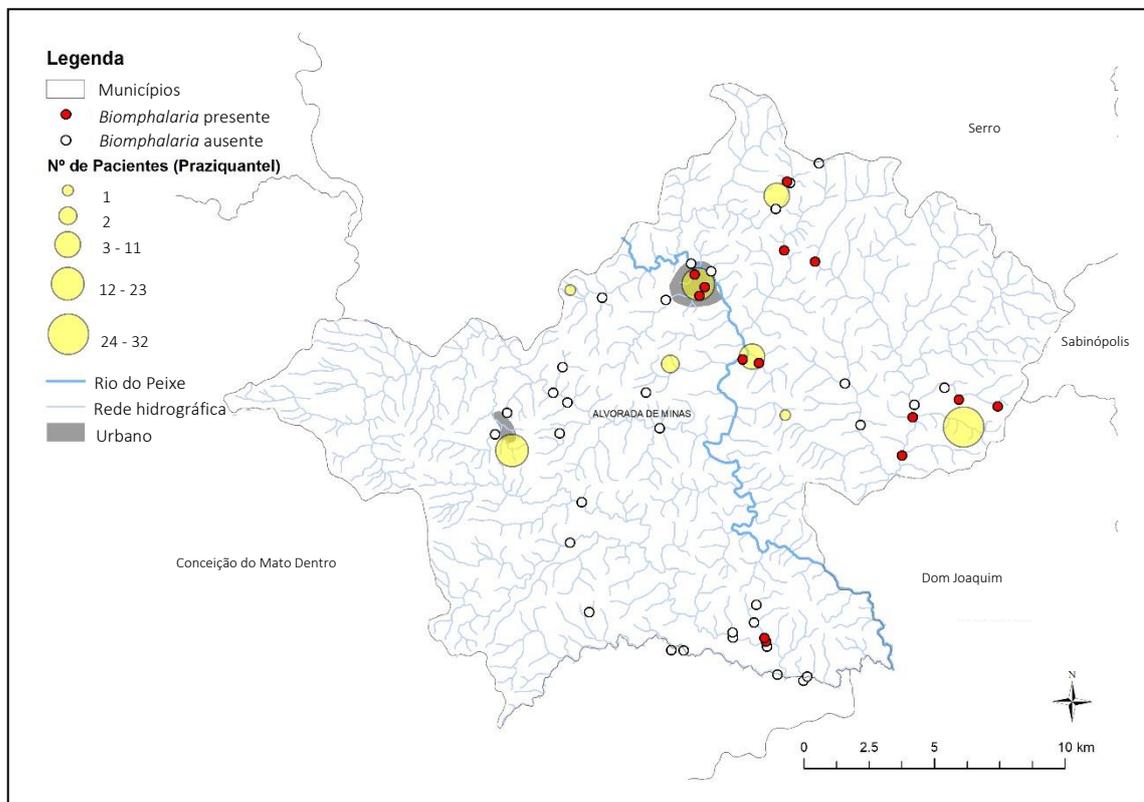


Figura 22 – Mapa de distribuição dos pacientes tratados com praziquantel (Acumulado do período de 2017 a 2019)

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho, foi realizado o inquérito malacológico no município de Alvorada de Minas, que resultou no registro de diferentes gêneros e espécies, frequentemente identificados nas bacias hidrográficas do Sudeste Brasileiro (MEDEIROS et al., 2014 e PALASIO et al., 2019)

Carvalho e colaboradores (2018) identificaram entre os anos de 2012 e 2014 as espécies *B. glabrata* e *B. straminea* em Alvorada de Minas, considerando os dados deste estudo o primeiro registro de *B. tenagophila* no município. Guimarães (2010), utilizando os dados da Coleção de Malacologia Médica (CMM) da Fiocruz, descreveu a distribuição de exemplares de *Biomphalaria* em vários municípios de Minas Gerais, inclusive do município de Dom Joaquim, com a notificação de *B. tenagophila*. A distância do ponto de coleta de *B. tenagophila* ao limite de Alvorada de Minas e Dom Joaquim, é de aproximadamente 10km. O que sugere uma recente colonização no ponto de coleta ou uma melhor amostragem de coleta realizada neste trabalho.

Foram identificados no presente estudo *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* hospedeiros intermediários que se infectam naturalmente com o *S. mansoni*. A espécie *B. cousini* que é hospedeira em potencial (TEODORO et al., 2010) e *B. kuhniiana*, espécie resistente a infecção (Floch e Fauran. 1954). Entre os ambientes de coleta foi também registrada a primeira ocorrência em simpatria das espécies *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. kuhniiana*, no mesmo ponto de coleta na região de Ribeirão. Estudos realizados por Barbosa (1973) e Attwood et al. (2015) mostraram a relação de deslocamento competitivo entre essas espécies. No entanto, este trabalho se limitou a identificar apenas a ocorrência das espécies, apesar da grande relevância em compreender a dinâmica de comunidade que foi estabelecida.

O levantamento malacológico permitiu identificar condições favoráveis para a transmissão de *S. mansoni* no município, devido à presença das três espécies de moluscos hospedeiros intermediários, bem como as condições ambientais favoráveis dos criadouros que são utilizados pela população para fins de lazer, agropecuária e tarefas domésticas. O registro dos três hospedeiros intermediários presentes na mesma localidade, foi notificado em apenas 37 dos 853 municípios do estado de Minas Gerais (GUIMARÃES et al., 2012). Isso demonstra a necessidade de novos estudos para suprir as limitações dos dados gerados

pelos municípios e para compreender a dinâmica de expansão territorial desses moluscos, relacionando-os às condições ambientes adequadas para a colonização.

A verificação da eliminação de cercária não evidenciou a presença de *S. mansoni*, porém este resultado pode ser justificado devido aos baixos índices de infecção natural em moluscos obtidos em campo, como discutido por Mota et al. (2012). Hamburger et al. (2004) descreveu as falhas do método de eliminação de cercária com baixas variações (variação = 0,14-3,4%) ou totalmente ausentes e a eficiência do teste PCR as altas taxas e persistência de prepatência (variação = 28-54%), indicando um grau significativo de contaminação da área. Diante do perfil epidemiológico de Alvorada de Minas, mortalidade dos moluscos transportados e possível persistência do período de prepatência, o teste molecular seria o mais adequado para a detecção da real infecção dos moluscos coletados em campo.

No entanto, foram identificados três tipos cercarianos sendo dois de importância médica veterinária: Xifidiocercária, subdividido no grupo Armata, que geralmente parasita anfíbios e répteis, e a forma Estringiocercária, identificada como parasito de intestino de aves e mamíferos. Também foi identificada uma cercária do gênero *Echinostoma*, que nas suas formas adultas, geralmente, parasitam vertebrados, inclusive seres humanos. A equinostomíase é uma doença inflamatória adquirida através da ingestão de alimentos contaminados com metacercárias de *Echinostoma* sp. que, uma vez dentro do homem, desenvolvem-se até a fase adulta e permanecem alojados no trato gastrointestinal (SAH et al., 2018). Normalmente, é uma doença assintomática, porém pode evoluir para infecções graves com náuseas, vômitos, diarreia, febre, dor abdominal e perda de peso (CDC 2018; TOLEDO et al., 2014). A equinostomíase humana está associada aos hábitos de ingestão de peixes e moluscos crus ou mal cozidos (GRACZYK & FRIED, 1998). Dando continuidade aos estudos, outro grupo de pesquisa obteve as formas adultas dessas larvas do tipo *Echinostoma*, em condições laboratoriais. O próximo passo será a identificação da espécie por sequenciamento, através da biologia molecular.

Neste estudo foi registrada a ocorrência de *P. columella*, espécie hospedeira intermediária de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (causadora da Fasciolose), parasito do homem, ovinos, bovinos, caprinos, suínos e de alguns animais silvestres. Essa parasitose tem ampla distribuição mundial e é considerada importante doença veterinária, devido às perdas na produção pecuária, acarretando sérios prejuízos econômicos. No Brasil, a fasciolose animal ocorre no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de

Janeiro e Minas Gerais (SERRA-FREIRE et al., 1995; SERRA-FREIRE 1999). Este registro é importante uma vez que Alvorada de Minas é uma região que depende da agropecuária como uma das principais atividades econômicas. Ainda se faz necessário, estudos sobre a população de *P. columella* e possível parasitismo nas criações de bovinos, para identificar possíveis riscos epidemiológicos quanto a transmissão da fasciolose. Apesar de existir registros de animais infectados por *F. hepatica* em Minas Gerais, o estado ainda não é considerado uma área enzoótica (LIMA et al., 2009). A ocorrência de *P. columella* foi documentada em 40 municípios de Minas Gerais por Medeiros et al. (2014), mas não para Alvorada de Minas, sendo este o primeiro registro.

Na lista de espécies ameaçadas de 2018 do Ministério do Meio Ambiente (MMA) e do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) foi incluída *P. marmorata* como espécie ameaçada, na categoria IUCN "vulnerável" (VU). Embora autores considerem a espécie amplamente distribuída nas regiões tropicais do Continente Sul-americano (MANSUR, 2012; SIMONE, 2006), foi detectado uma redução no registro das populações na última década, por degradação ambiental e competição com espécies exóticas. Dos 13 ambientes que esta espécie foi coletada, dez (77%) compartilhavam com espécimes do gênero *Biomphalaria*, por esta notificação seria indicado nas intervenções futuras de eliminação do caramujo hospedeiros intermediários de *S. mansoni* - como o uso de moluscicida - a análise do ambiente para detecção da presença da espécie ameaçada.

A presença de conchas vazias em localidades onde não foram registrados moluscos vivos, pode ser justificado por possível dispersão. Um evento que poderia favorecer esse deslocamento é o transporte pelo sistema de arraste no período das enchentes. Isso pode permitir a colonização de novos ambientes. Deve-se considerar também, que moluscos de água doce podem ser dispersados através de pássaros, peixes, mamíferos e comércio de plantas para curtas ou longas distâncias (CORREA et al., 1970; 1980; MADSEN & FRANSEN 1989).

Nos ambientes estudados, os criadouros de moluscos apresentaram pouca ou nenhuma correnteza, com exceção do ponto 10 (localidade Fazenda da Ponte, no Rio do Peixe) que apresentou velocidade ligeiramente maior. Os ambientes encontrados e descritos, corroboram com os dados da literatura que relataram que espécies de *Biomphalaria* preferem ambientes lênticos e possuem hábitos bentônicos (KLOOS et al., 2001; PESSOA & MARTINS 1988; SOUZA et al., 2006 e MIRANDA et al., 2016), embora possam colonizar também ambientes lóticos (BRASIL, 2008).

O protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats, apresentou uma maior presença de moluscos em trechos impactados como observado por Souza et al. (2006, 2008 e 2010) em levantamentos malacológicos realizados nos municípios de Mariana/MG, Jaboaão dos Guararapes e Goiana/PE. Moreno & Callisto (2006) também descrevem a grande resistência dos moluscos coletados em ambientes poluídos. Na análise espacial a maioria das bacias apresentaram pontos de baixa qualidade, usando como critério a caracterização dos habitats e presença de moluscos, coliformes e *E. coli*. Essa análise teve como exceção a bacia hidrográfica de número 4.

Sabe-se que variáveis abióticas exercem uma grande influência sobre as populações de moluscos límnicos (BRASIL, 2008). Os resultados, embora sejam correspondentes apenas à 3ª coleta, apresentaram valores de pHs intermediários entre 6,0 e 9,0 nos ambientes amostrados. De acordo com Chapman & Kimstack. (1992) o pH da maioria das águas naturais está entre 6,0 e 8,5. Nos ambientes com valores de pH baixo, próximos ao pH 0, a ocorrência se dá em águas com alto conteúdo orgânico e nos valores de pH mais altos, próximos ao pH 14, em águas alcalinas (CHAPMAN & KIMSTACK 1992). Silva et al. (2006), obtiveram resultados semelhantes e Brasil (2008) observaram que em ambientes ácidos (pH menor que 5,6), os moluscos são incapazes de depositar cálcio nas conchas. O que demonstra uma “adequada” condição dos recursos hídricos e um ambiente favorável para a colonização da malacofauna límnic.

Na avaliação da temperatura da água foram obtidos valores entre 23,5°C a 33,2°C que estão próximos a temperatura ideal para o desenvolvimento dos moluscos, conforme Barbosa, et al. (1994). Outro fator que poderia indicar uma condição favorável para a colonização dos moluscos do gênero *Biomphalaria* para esses ambientes.

Durante as atividades de campo, outros parâmetros da água além do pH e da temperatura foram avaliados, como o oxigênio dissolvido e a turbidez da água. No entanto, esses resultados não apresentaram a confiabilidade necessária, devido ao modelo da sonda de multiparametros Hydrolab que não foi compatível no comprimento da coluna d'água, por ser maior, na maioria dos ambientes amostrados.

A respeito dos dados pluviométricos comparados com a malacofauna coletada, foi observado um maior número de moluscos no período de seca (63,6%) em comparação ao período de chuva (36,4%). Souza et al. (2006) e Giovanelli et al. (2001) obtiveram os mesmos resultados com o maior número de moluscos no período de seca e descreveram a

dificuldade de encontrar os moluscos em períodos de chuva, devido ao efeito de arraste, que dispersa as populações de moluscos para outras localidades.

A análise microbiológica realizada no município evidenciou a presença de coliformes totais em 16 (100%) e de *E. coli* em 14 (82,4%) pontos com moluscos límnicos e água no período de coleta, o que mostra a frequente contaminação fecal em ambientes com moluscos, inclusive com planorbídeos suscetíveis a *S. mansoni*. Na análise espacial, todas as bacias amostradas apresentaram ao menos um ponto de coleta com contaminação fecal. O ponto 23, região do distrito Itapanhoacanga, não apresentou moluscos, mas foi realizada a análise microbiológica por ser muito frequentado para atividades recreativas e por ter apresentado uma porcentagem de 13% das infecções totais na população, entre os anos de 2017 a 2019. Os resultados desse ambiente apontaram presença para ambos os coliformes. Bezerra e colaboradores (2018) observaram resultados semelhantes tendo 72,7% de ambientes com coliformes fecais na região nordeste do Brasil. Assim como Gomes et al. (2018) que identificaram mais de 75% dos criadouros positivos para coliformes fecais e *E. coli* no estado de Pernambuco. Em conjunto, estes resultados indicaram a necessidade de melhorias no sistema de saneamento básico do município estudado devendo, portanto, monitorar os ambientes utilizados pela população e complementar com medidas de educação sanitária.

Embora a investigação no município de Alvorada de Minas não tenha detectado a presença de *S. mansoni* nos moluscos coletados, foram realizados experimentos laboratoriais para verificar a possibilidade de manutenção do ciclo do parasito no município. Ward & Lewis (1988) observaram em campo, baixa infecção de *Biomphalaria* por *S. mansoni*. Entretanto, em condições laboratoriais foi identificada uma alta suscetibilidade nas gerações subsequentes.

Na infecção experimental com a cepa LE de *S. mansoni* da UFMG, foi observado que a geração F1 de *B. glabrata* de Alvorada de Minas apresenta alta suscetibilidade e compatibilidade a esta cepa, além da baixa taxa de mortalidade, quando comparada com grupo controle. Os experimentos mostraram uma baixa taxa de infecção (15% a 20%) nos moluscos mantidos durante décadas pelo laboratório da UFMG. Silva e colaboradores (1994a) obtiveram 62% e 58% de suscetibilidade, em infecção experimental individual com *B. glabrata* BH e do município de Gagé (MG), respectivamente, desafiados com 10 miracídeos (LE). Souza et al. (1996) também observaram em experimentos laboratoriais, utilizando como controle *B. glabrata* com esta mesma cepa (UFMG), uma taxa de infecção

de 60%. Isso demonstra uma redução na taxa de infecção de *B. glabrata* da UFMG durante a manutenção laboratorial dos últimos 20 anos.

Biomphalaria glabrata cepa Barreiro, provenientes do IRR, apresentaram na infecção com a cepa LE da UFMG, apenas 50% de suscetibilidade. Contraditoriamente, Teodoro et al. (2010) obtiveram 100% de infecção, utilizando *B. glabrata* (IRR) exposta a 10 miracídios da cepa LE (IRR) em condições controladas do ambiente. Vários fatores podem ter contribuído para o resultado dessa infecção, entre elas a influência das condições ambientais não controladas (ROLLINSON, 2012; MITTA et al., 2017) e o polimorfismo de compatibilidade entre as combinações simpátricas e alopátricas (LIMA et al., 2019 e MITTA et al., 2017).

Apesar dos moluscos e cepas de *S. mansoni* (UFMG e IRR) serem de uma mesma localidade (Barreiro/BH/MG), conversas com técnicos responsáveis pela criação dos moluscos indicaram um manejo diferente nos moluscários das duas instituições. Desta forma, vários fatores ao longo dos anos poderiam ter interferido na infectividade: (i) manutenção do ciclo com controle de temperatura e luminosidade realizado apenas pelo IRR e (ii) utilização de moluscos maiores de 1cm nas infecções realizadas pela UFMG, enquanto que no IRR são utilizados moluscos com diâmetro menores que 1cm.

Newton (1953) e Richards (1973) Niemann & Lewis (1990), demonstraram a partir de experimentos laboratoriais que moluscos *B. glabrata* jovens são mais suscetíveis do que exemplares adultos, e assim como a idade, o tamanho também influencia na suscetibilidade dos hospedeiros. No ciclo parasitário, as variações de temperatura e luminosidade interferiram diretamente na motilidade dos miracídios durante a infecção e no momento de emissão das cercárias (COELHO & BEZERRA, 2006). Faro et al. (2013) descreveram a castração parasitária como alteração na função reprodutiva dos moluscos, com redução ou por interrupção completa da atividade ovipositória. No entanto, são necessários estudos mais aprofundados para explicar os resultados divergentes e melhor compreensão das diferenças observadas.

Nos experimentos realizados, a geração F1 da população de *B. kuhniana* também foi desafiada, com 20 miracídios, mas sem sucesso após 76 dias da exposição e com 10% de mortalidade. O mesmo foi observado por Floch e Fauran (1954) que mostraram a resistência de *B. kuhniana* à infecção por *S. mansoni*.

Além da taxa de infecção, foi avaliada a quantidade de cercárias eliminadas por molusco ao longo do tempo da infecção. No teste de compatibilidade com isolados de

B. glabrata (pontos 6 e 9, localizados em Ribeirão e Fazenda da Ponte, respectivamente) os índices TCP/100 foram “extremamente compatíveis” com a linhagem LE e os moluscos da UFMG foram classificados como “não muito compatível”, conforme classificação por Frendsén. (1969). Os resultados obtidos por Souza e colaboradores (1995), mostraram que a linhagem de *B. glabrata* proveniente do Barreiro, foi extremamente compatível para as cepas LE, SJ e AL. A avaliação da compatibilidade permite definir o grau de importância epidemiológica do município, pois a quantidade de cercárias eliminadas pode explicar os índices da doença em cada região (REY, 2001). O ideal seria que esta avaliação seja feita com cepa do parasito local, mas em nosso estudo não foram encontrados moluscos eliminando cercárias de *S. mansoni*, por isso, optamos por fazer esta avaliação apenas com a cepa LE disponível em nosso departamento.

A partir das análises espaciais foi possível dimensionar a distribuição dos exemplares de moluscos límnicos, compreender e prever cenários que possam ocorrer em Alvorada de Minas, uma área de baixa endemicidade para esquistossomose. A maioria dos pontos amostrados apresentaram um raio de 1000m de distância entre eles, o que permitiu agrupar diferentes ambientes para a definição das áreas de risco. Para pontuar o risco de transmissão de *S. mansoni*, assumindo as possibilidades de risco dos três hospedeiros intermediários, presença de outros moluscos, contaminação fecal e baixa qualidade do habitat, foi feito um mapa de intensidade de Kernel, utilizando a variável “Peso”. Através deste foi possível identificar sete áreas de risco, quatro delas com pontos amostrais sem *Biomphalaria*. Em geral, as bacias da região oeste não apresentaram risco e das regiões sede, norte e leste do Rio do Peixe foram de maior risco. Gomes et al. (2019), também agruparam os pontos amostrais com a distância de 1km, em Pernambuco, e obtiveram quatro focos de transmissão da esquistossomose e cinquenta e quatro focos potenciais de transmissão. Em um outro estudo em uma região urbana de Belém, Goveia e colaboradores (2019) utilizaram um método adaptativo arame apenas na presença de moluscos positivos para *S. mansoni*, para uma abordagem de intervenção mais imediata no controle da esquistossomose, o que demonstra diferentes formas de caracterizar as áreas de risco, a partir do perfil epidemiológico de cada estudo.

O mapa de risco buffer apresentou a distribuição dos moluscos *Biomphalaria* de forma restrita aos recursos hídricos, sem extrapolar as diferentes bacias hidrográficas, sendo identificados facilmente os quatorze pontos de área de risco, com as distâncias de 500 e 1000m de distância. Barbosa et al. (2015) utilizaram a mesma ferramenta para avaliar

a distância do foco e dos criadouros em relação às pousadas no bairro do município de Porto de Galinhas/PE. No caso, a distância aplicada em uma área urbanizada foi de 100 a 500m.

A interpolação pelo método de Krigagem permitiu prever a distribuição potencial de *Biomphalaria* com base nos dados de distribuição espacial das amostras com a presença das espécies. Há maior probabilidade de encontrar espécies de *Biomphalaria* à leste do Rio do Peixe e na sede municipal e menor probabilidade na região oeste do Rio do Peixe. Guimarães et al. (2009), utilizaram a Krigagem para realizar a predição de *Biomphalaria* em cinco municípios da bacia do Rio São Francisco dos quais não haviam registros sobre a malacofauna. Após a realização das coletas malacológicas os resultados corroboraram com o mapa estimado. No entanto, Guimarães et al. (2012), utilizando os mesmos recursos para prever a distribuição de *Biomphalaria* no estado de Minas Gerais, não previram a presença dos três hospedeiros intermediários em Alvorada de Minas. O que demonstra a necessidade de se realizar mais levantamentos malacológicos *in loco* para a compreensão da dinâmica das populações nos diferentes municípios.

A Krigagem generaliza muito a distribuição potencial de *Biomphalaria* por não considerar barreiras hidrográficas de dispersão e por haver algumas regiões não amostradas. No entanto, apresenta-se como ferramenta complementar na elaboração de mapas que auxiliam no trabalho de campo, considerando os locais com maior probabilidade de ocorrência das espécies de moluscos hospedeiros intermediários de *S. mansoni*.

A espacialização das comunidades ovo positivo tratados com PZQ no município serviu para identificar a concentração de casos de esquistossomose nos últimos três anos. A utilização destes dados é um fator essencial para a determinação das áreas de risco, no entanto, o acesso a eles se deu em período muito avançado deste trabalho. Por isso, a sua utilização em análises espaciais para determinar as áreas de risco será feita em trabalhos futuros.

O Município de Alvorada de Minas é considerado uma área de baixa endemicidade para a esquistossomose mansoni pela ocorrência isolada de novos casos humanos a cada ano. Um dos grandes desafios para o controle da esquistossomose no Brasil e dos municípios como Alvorada de Minas é a criação ou aprimoramento de um método diagnóstico com maior sensibilidade, pois a baixa sensibilidade do método referência (Kato-Katz) para as pequenas cargas parasitárias e/ou baixa prevalência, permitem resultados falsos negativos que condicionam a manutenção do ciclo do parasito. (DE

VCLASS & GRYSEELS, 1992; ENGELS et al., 1996; KONGS et al., 2004; NOYA et al., 2006).

O presente estudo representa um modelo epidemiológico ambiental que pode ser utilizado por outros municípios, com cenários epidemiológicos semelhantes e que apresentam dificuldades no controle e na transmissão da esquistossomose, gerado, talvez, pela municipalização do sistema de saúde. Dessa forma, espera-se que os resultados obtidos com o mapeamento das áreas de risco possam direcionar os programas de políticas públicas do Sistema Único de Saúde (SUS) a decidir as estratégias, permitindo-lhes, por um lado, limitar as áreas do município que devem priorizar o saneamento, com a construção das fossas sépticas, assim como o tratamento e as medidas preventivas para as possíveis áreas de transmissão da esquistossomose.

7. DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

Reconhecer a divulgação científica como uma ferramenta de comunicação social é fundamental para levar os trabalhos das Instituições de Pesquisa a população (MENDES, 2016). Em geral, o conhecimento científico fica restrito aos meios acadêmicos, sendo necessário que alguns cientistas invistam no desenvolvimento de alternativas e processos que permitam ampliar o que denominam de alfabetização científica para a população (ENK, 2007). Refletir sobre concepções de educação científica que estão sendo demandadas pela nossa sociedade, pode, de alguma forma, contribuir na transformação do ensino científico em um domínio da ciência como prática social (SANTOS, 2007).

Visando esclarecer aos escolares sobre a importância e os cuidados preventivos quanto esquistossomose na área, foram ministradas palestras na Escola Estadual Daniel Utsch da zona rural de Alvorada de Minas, com o intuito de conscientizar a população e apresentar alguns resultados obtidos na pesquisa. Posteriormente, foram apresentadas as conchas dos moluscos capturados no município e os helmintos de importância médica (figura 23, 24 e 25).



Figura 23 – Ações em educação em saúde na Escola Municipal Daniel Utsch, zona rural de Alvorada de Minas. Palestra educativa sobre os moluscos de Alvorada de Minas, Mestrando Paulo Ricardo Silva Coelho (UFMG) à esquerda e o Pesquisador Cristiano Lara Massara (Fiocruz/IRR) à direita.



Figura 24 – Ações em educação em saúde na Escola Municipal Daniel Utsch, zona rural de Alvorada de Minas. (A) - Palestra educativa sobre parasitoses, Doutorando Roney Silva (UFMG); (B) - Apresentação e exposição dos parasitos na feira de ciências com o Pesquisador Cristiano Lara Massara e a Bióloga Stephanie Santos Cabral (Fiocruz/IRR); (C) - Caixa malacológica com os moluscos coletados em Alvorada de Minas.



Figura 25 – Ações em educação em saúde na Escola Municipal Daniel Utsch, zona rural de Alvorada de Minas - Material de divulgação da Escola.

8. CONCLUSÃO

O presente trabalho permite concluir que o município de Alvorada de Minas, apresenta risco epidemiológico para a esquistossomose mansoni, com a presença de *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, assim como, pela presença de ambientes límnicos favoráveis como criadouros, contaminação fecal dos recursos hídricos e presença de pacientes infectados por *S. mansoni*.

Outra análise que reforça o risco epidemiológico, são os resultados dos experimentos laboratoriais que demonstraram uma alta suscetibilidade dos moluscos de Alvorada de Minas, espécie *B. glabrata* a infecção por *S. mansoni*. Outras infecções experimentais, utilizados como controle, sugerem que a população de *B. glabrata*, provenientes do Barreiro mantidos na UFMG, desenvolveram uma reduzida suscetibilidade a cepa LE de *S. mansoni* durante a infecção em laboratório nos últimos 20 anos.

A avaliação epidemiológica ambiental com o agrupamento dos dados malacológicos, microbiológicos e caracterização ambiental (denominados como “peso”) permitiu ampliar a forma de monitoramento da transmissão da doença, com a determinação de áreas em potencial para o risco, com ou sem a presença dos hospedeiros intermediários de *S. mansoni*.

A análise espacial mostrou ser um recurso eficiente para a compreensão e monitoramento da epidemiologia ambiental, no entanto, os dados coletados em campo foram fundamentais para resultados mais próximos da realidade do município. Dados que oportunizaram a identificação de novos registros malacológicos e da helmintofauna associada.

Faz-se necessário a implementação do PCE no município para o aprofundamento de estudos epidemiológicos da população e a criação de novos protocolos de investigação, com busca ativa, para o diagnóstico precoce dos novos casos.

Embora Itapanhoacanga tenha casos de pacientes infectados, os dados de epidemiologia ambiental não identificaram o distrito como uma área em potencial para o risco. A atenção epidemiológica e a construção das fossas sépticas devem ser priorizadas nas regiões: leste (Ribeirão), centro (Sede) e norte (Lambari) do município, devido ao maior risco epidemiológico nessas regiões.

9. REFERÊNCIAS

- ABATH F. G. C., et al. Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies? *Parasitology* 2006; 22:85-91. 2006
- ADEMA, C. M. et al. Will all scientists working on snails and the diseases they transmit please stand up? *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6, e1835. 2012.
- AGUDO-PADRÓN, A. I.; LENHARD, P. Continental mollusc fauna of the great Porto Alegre Central Region, RS, Southern Brazil. *Biodiversity Journal* 2(4):163-170. 2011
- AGUDO-PADRÓN, A. I. Recent terrestrial and freshwater molluscs of Rio Grande do Sul state, RS, southern Brazil region: a comprehensive synthesis and checklist. *Visaya*: 1-13. 2009
- AGUDO-PADRÓN, A. I.. Listagem Sistemática dos moluscos continentais ocorrentes no Estado de Santa Catarina, Brasil. *Comunicaciones de La Sociedad Malacológica Del Uruguay* 9(91):147-179. 2008
- ALRATHI, A.; et al. Distribuição espacial e potencial risco de esquistossomose na ilha do Mosqueiro, município de Belém, Pará, Brasil. *Revista De La Sociedad Latinoamericana De Percepción Remota Y Sistemas De Información Espacial*, v. 35, p. 19-25, 2013.
- ALVORADA DE MINAS (MG) | Cidades e Estados | IBGE [Internet]. *ibge.gov.br*. 2017 [cited 2020 Dec 5]. Available from: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/mg/alvorada-de-minas.html>
- AMATO, S. B. O papel dos moluscos nas estratégias de transmissão dos trematódeos digenéticos. Rio de Janeiro, RJ: Resumos XVIII Encontro Brasileiro de Malacologia: p74. 2003
- ARAÚJO K. C. G. M et al. Análise espacial dos focos de *Biomphalaria glabrata* e de casos humanos de esquistossomose mansônica em Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil, no ano 2000. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 23, n. 2, p.409-417, fev. 2007
- ATTWOOD, S. W.; HUO, G-N.; QIU, J-W. Update on the distribution and phylogenetics of *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae) populations in Guangdong Province, China. *Acta Tropica*; 141:258–270. 2015
- BARBOSA, C. S. et al. Turismo de risco para esquistossomose mansônica em Porto de Galinhas, Estado de Pernambuco, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude* [online]. 2015, vol.6, n.3, pp.51-58. 2015
- BARBOSA, C. S. et al. Spatial distribution of schistosomiasis foci on Itamaracá Island, Pernambuco, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. vol.99, suppl.1, pp.79-83. 2004.
- BARBOSA V. S., LOYO R. M., GUIMARÃES R. J. P. S., BARBOSA. C. S. Os Sistemas de Informação Geográfica em estudo sobre a esquistossomose em Pernambuco. *Rev. Saúde Pública*. 51:107. 2017

- BARBOSA F. S., BARBOSA C.S. 1994. The bioecology of snail vectors for schistosomiasis in Brazil. *Cad Saúde Públ* 10: 200-209. 1994
- BARBOSA, F. S. Possible competitive displacement and evidence of hybridization between two Brazilian species of planorbid snails. *Malacologia*, 14: 401-8, 1973
- BARBOSA, F. S. Ecology of the larval parasitic stages of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo* 7(2): 112-120. 1965
- BASCH P. F. Intermediate host specificity in *Schistosoma mansoni*. *Exp Parasitol* 39: 150-169. 1976
- BAVIA M. E., et al. Use of thermal and vegetation index data from earth observing satellites to evaluate the risk of schistosomiasis in Bahia, Brazil. *Acta Trop*, Vol. 79, No. 1, pp. 79-85, 2001.
- BAVIA M. E., et al. Geographic information systems and the environmental risk of schistosomiasis in Bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, Vol. 60, No. 4, pp. 566-572, 1999.
- BAVIA M. E. Geographic information systems for schistosomiasis in Brazil. 1996.99f. Tese Doutorado – Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, 1996.
- BEZERRA, F. S. M. et al. Identification of *Biomphalaria* sp. and other freshwater snails in the large-scale water transposition project in the Northeast of Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* [online]., vol.60. 2018
- BOUCHET P., et al. "Classification and nomenclator of gastropod families". *Malacologia: International Journal of Malacology. Hackenheim, Germany: ConchBooks. 47 (1-2): 1-397. ISSN 0076-2997. 2005*
- BRASIL, M. S. Distribuição da esquistossomose na área endêmica, por faixa de positividade, por município. BRASIL 2009 – 2017. 2019. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/imagens/pdf/2019/janeiro/25/Mapa-distribuicao-esquistossomose-2009-2017.pdf>> Acesso em 01/02/2020.
- BRASIL. M. S. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância da Esquistossomose Mansoní: diretrizes técnicas / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 4. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BRASIL. M. S. Secretaria 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) / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008.
- BRITO, M.T.S.; DINIZ, L.P.; SILVA-CAVALCANTI, J.S. MELO JÚNIOR, M. Protocolos de avaliação ambiental rápida de açudes do Semiárido: Adaptações regionais e um estudo de caso, 2011. In: MESSIAS, A.S.; FEITOSA, M.C.A. (Org.) A influência das

mudanças climáticas sobre os recursos hídricos. 6ª Edição. Recife: UNICAP. p. 130-137. 2011.

BROWN, D. S. Freshwater Snails of Africa and Their Medical Importance, Taylor & Francis, London, 2ª ed. 1994

BROOKER S., et al. Contrasting patterns in the small-scale heterogeneity of human helminth infections in urban and rural environments in Brazil. *Int. J. Parasitol.*, Vol. 36, No. 10-11, pp. 1143-1151, 0020-7519. 2006.

BRUUN B., AAGAARD-HANSEN J. The social context of schistosomiasis and its control. An introduction and annotated bibliography. Geneva: World Health Organization, Special Programme for Research and Training in Tropical Disease. 2008.

CALDEIRA, R. L. et al. Characterization of South American Snails of the Genus *Biomphalaria* (Basommatophora: Planorbidae) and *Schistosoma mansoni* (Platyhelminthes: Trematoda) in Molluscs by PCR-RFLP. *Biomed Research International*, v. , p. 1-5, 2016.

CALLISTO, M. et al. Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ). *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 14, p. 91-98, 2002.

CÂMARA G, et al. Análise espacial de áreas. In. Embrapa Cerrados. Análise espacial de dados geográficos. Planaltina, DF: Embrapa; p.157-209. 2004

CANTANHEDE, S. P. D. Gastrópodes límnicos e helmintofauna associada da Microrregião da Baixada Maranhense, MA, com ênfase nos transmissores da esquistossomose. 2015. 211f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Saúde) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2015

CARTON, Y. NAPPI, A. J.; POIRIE, M. Genetics of anti-parasite resistance in invertebrate. *Developmental and Comparative Immunology* 29: 9-32. 2005

CARVALHO O. S.; et al. Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, 2012-2014. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742018000300016>, *Epidemiol. Serv. Saúde* v. 27, p. 00, 2018.

CARVALHO O. S., et al. The Estrada Real project and endemic diseases: the case of schistosomiasis, geoprocessing and tourism. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 105, No. 4, pp. 532-536, 0074-0276. 2010.

CARVALHO O. S., JANNOTTI-PASSOS L. K., CALDEIRA R. L. Importância epidemiológica e biologia molecular aplicada ao estudo dos moluscos do gênero *Biomphalaria*. 311- 345p. In CARVALHO OS, COELHO PMZ, LENZI HL. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Ed: Fiocruz, Rio de Janeiro. 1124pp. 2008a.

- CARVALHO O. S., et al. Distribuição espacial de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*, hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil. In: Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi H, editors. *Schistosoma mansoni* & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; p. 393-418. 2008b.
- CARVALHO O. S., ROCHA R. S., MASSARA C. L., KATZ N. Expansão da esquistossomose mansoni em Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 82:295-298. 1987.
- CHAPMAN, D & KIMSTACK, V. The selection of water quality variables In: CHAPMAN, D (Ed.). *Water quality assessment*. London: Chapman & Hall Ltd., 1992. p. 51-117.
- COELHO, P. N. et al. Updated distribution and range expansion of the gastropod invader *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) in Brazilian waters. *BioInvasions Records*, v. 7, p. 405, 2018.
- COELHO, P. M. Z.; et al. Transmission control of schistosomiasis mansoni by introduction of a resistant strain of *Biomphalaria tenagophila* in areas where transmission is maintained by this species. *Acta Tropica*, 2008
- COELHO, J. R. and BEZERRA, F. S. M. Compatibility of *Biomphalaria tenagophila* with *Schistosoma mansoni*: a study of homologous plasma transference. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* [online]. vol.101, n.1. 2006
- COELHO P. M. Z., et al. 2004. *Biomphalaria tenagophila/Schistosoma mansoni* interaction: premises for a new approach to biological control of schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99 (Suppl. I): 109-111. 2004
- COIMBRA JR., C. E. A.; SANTOS, R. V. Moluscos aquáticos do Estado de Rondônia (Brasil), com especial referência ao gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 (Pulmonata, Planorbidae). *Revista de Saúde pública*, v. 20, n. 3, p. 227-34, 1986
- CORRÊA L. L. et al, 1980. Importância das plantas ornamentais dos aquários como veículos de propagação dos vetores de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 40: 89-96.
- CORRÊA L. R.; PARAENSE W. L. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to infection with two strains of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 1971
- CORRÊA R. R. et al, Dispersão de *Biomphalaria straminea*, hospedeira intermediária de *Schistosoma mansoni* através da distribuição de peixes. *Rev. Saúde São Paulo* 4: 117-127. 1970
- COSTA, C. S. et al. Programa de Controle da Esquistossomose: avaliação da implantação em três municípios da Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. *Saúde debate*. vol.41, n.spe, pp.229-241. ISSN 0103-1104. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-11042017s17>. 2017

COURA J. R., AMARAL R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004; 99 (Suppl.1): 13-19.

CDC-Center for Disease and Control Prevention. Disponível em: <https://www.cdc.gov/>.

DESLANDES N. Técnica de dissecação e exame de planorbídeos. *Revista de Saúde Pública*. 1951.

DINIZ, M. C. P. & SCHALL, V. Estudo exploratório sobre estratégias e materiais educativos utilizados na prevenção e controle da esquistossomose e outras helmintoses. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 52, 2000, Brasília. Anais... Brasília, 2000.

DINIZ, M. C. P. As Representações Sociais da Esquistossomose de Escolares de Área Endêmica de Minas Gerais. Dissertação de Mestrado, Belo Horizonte: Faculdade de Educação, Universidade Federal de Minas Gerais. 2003

DRUMMOND S. C., et al. Morbidity of *schistosomiasis mansoni* in the state of Minas Gerais, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 101, p.34-44, 2006

DUARTE, P. B. Microrganismos indicadores de poluição fecal em recursos hídricos. 2011. 52p. Monografia (Especialização em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011

ENK, M. J.. Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar prevalência e controle de esquistossomose em área de baixa endemicidade (Chonim de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil); recomendações de novas abordagens integradas. 2007. 170 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde na área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias)-Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2007

ENK M. J., AMORIM A., SCHALL V. T. Acute schistosomiasis outbreak in the metropolitan area of Belo Horizonte, Minas Gerais: alert about the risk of unnoticed transmission increased by growing rural tourism. Mem Inst Oswaldo Cruz. 98:745-750. 2003

EPA. Environmental Protection Agency. Biological criteria for the protection of aquatic life. Columbus: Division of water quality monitoring and assessment. 120 p. (surface water section). 1987

ESCH G. W., BARGER M. A., FELLIS K. J. The transmission of digenetic trematodes: style, elegance, complexity. Integr Comp Biol 42: 304-312. 2002

FARO, M. J et al., Biological, biochemical and histopathological features related to parasitic castration of *Biomphalaria glabrata* infected by *Schistosoma mansoni*. Experimental Parasitology, v. 134, p. 228-234, 2013

FAVRE T. C.; MASSARA, C. L. Trajetória de contribuições à pesquisa e ao controle da esquistossomose.. In: Tereza Cristina Favre e Cristiano Lara Massara. (Org.). Trajetória de

- contribuições à pesquisa e ao controle da esquistossomose.. 1ed.Rio de Janeiro: Fiocruz, v. 1, p. 315-469. 2018
- FENG, P., WEAGANT, S., GRANT, M. (2002). Bacteriological Analytical Manual. Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Food and Drug Administration. 8ª edição. 2002
- FERNANDEZ, M. A.; THIENGO, S. C.; AMARAL R. S. Técnicas malacológicas. *Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas*, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, p. 43-70. 2008
- FERNANDEZ, M. A.; THIENGO, S. C.; SIMONE, L. R. 2003. Distribution of the introduced freshwater snail *Melanoides tuberculatus* (Gastropoda: Thiaridae) in Brazil. *The Nautilus* 117:78-82. 2003
- FERNANDEZ, M.A.; THIENGO S.C. Susceptibility of *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) from Serra da Mesa Dam, Goiás, Brazil to infection with three strains of *Schistosoma mansoni* Sabon, 1907. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, v. 97, supl. 1, p. 59-60, 2002
- FILES, V.S. & CRAM, E.B. A study on the comparative susceptibility of snail vectors to strains of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.*, 35:555-60, 1949
- FLOCH H, FAURAN P. Bilharziöse intestinale et *Tropicorbis kühnianus* (Clessin) en Guyane Française. *Arch Inst Pasteur Guyane Française* 15: 1-7. 1954
- FRANSEN F Discussion of compatibility between *Schistosoma* and their intermediate hosts, assesment of the degree of host-parasite compatibility and evaluation of schistosome taxonomy. *Z Parasitenkd* 58: 275-296. 1978
- FRIED, B. & GRACZYK, T. K.. Echinostomes as experimental models for biological research. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers. 2000
- FONSECA F. R., et al. Desenvolvimento de um modelo de regressão linear para a predição da prevalência de esquistossomose no Estado de Minas Gerais. XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, INPE, Florianópolis-SC, pp. 2573-2580. 2007a
- FONSECA F. R., et al. Desenvolvimento de um índice hidrológico para aplicação em estudos de distribuição da prevalência de esquistossomose em Minas Gerais. XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, INPE, Florianópolis-SC, pp. 2589-2595. 2007b
- FONSECA F. R. Modelagem espacial da esquistossomose mansoni no estado de Minas Gerais, utilizando a conectividade de redes via estradas e rios. Sensoriamento Remoto, MSc Thesis, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, pp. 94. 2009
- FREITAS C. C., et al. Remote Sensing and Geographic Information Systems for the Study of Schistosomiasis in the State of Minas Gerais, Brazil, Geoscience and Remote Sensing Symposium. IGARSS. IEEE International Conference on, pp 2436-2439. 2006.

FRICKER, E.J., ILLINGWORTH, K.S., FRICKER, C.R.. Use of two formulations of Colilert and QuantiTray (TM) for assessment of the bacteriological quality of water. *Water Res.* 31, 2495e2499. 1997

GALVÃO A. F., et al. Spatial distribution of *Schistosoma mansoni* infection before and after chemotherapy with two praziquantel doses in a community of Pernambuco, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 105, No. 4, pp. 555-562, 0074-0276. 2010.

GAZZINELLI A., et al. The spatial distribution of *Schistosoma mansoni* infection before and after chemotherapy in the Jequitinhonha Valley in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 101, No. Suppl. I, pp. 63-71, 0074-0276. 2006.

GBD 2016 DALYs and HALE Collaborators. 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.

GERARD, C.; MONE, H.; THERON, A. *Schistosoma mansoni* - *Biomphalaria glabrata*: dynamics of the sporocyst population in relation to the miracidial dose and the host size. *Canadian Journal of Zoology- Revue Canadienne de Zoologie*, Montreal, v. 71, p. 18801885, 1993.

GIANNELLI, A.; et al. D. Gastropod-Borne Helminths: A Look at the Snail–Parasite Interplay. *Trends In 37 Parasitology*, [s.l.], v. 32, n. 3, p.255-264, mar. 2016.

GIOVANELLI, A et al. Abundância e infecção do molusco *Biomphalaria glabrata* por *Schistosoma mansoni* no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Saúde*. vol.35, n.6, pp.523-530. ISSN 0034-8910. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102001000600005>. 2001

GOMES, E, et al., Spatial risk analysis on occurrences and dispersal of *Biomphalaria straminea* in and endemic area for schistosomiasis. *Journal of Vector Borne Diseases* 55, 208–214. 2018

GOVEIA C. O. et al. Schistosomiasis Mansoni in the Amazon Region: Malacological Surveys of Intermediate Hosts for the Identification of Disease Transmission Areas in Belém, Pará, Brazil. *JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACOLOGY* , v. 7, p. 51-60, 2019.

GRAY D. J., et al. Schistosomiasis elimination: lessons from the past guide the future. *Lancet Infect Dis* 10: 733–736. 2010.

GRACZYK, T.K.; FRIED, B. Echinostomiasis: a common but forgotten foodborne disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.;58(4):501–4. 1998

GRENFELL R., et al. NEW approaches with different types of circulating cathodic antigen for the diagnosis of patients with low *Schistosoma mansoni* load. *PloS Negl Trop Dis*. 7(2):e2054. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002054> PMID: 23469295. 2013.

GREWAL, P. S. et al. Parasitism of molluscs by nematodes: types of associations and evolutionary trends. *J. Nematol.* 35, 146–156. 2003

GUARALDO, A. M. A. Evolução dos esporocistos de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1918) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1885). *Rev. Saúde Pública, São Paulo*, 15:436-48, 1981.

GUIMARÃES, Carlos Tito et al. Resistência de *Biomphalaria glabrata* à infecção por *Schistosoma mansoni*: variações no período pré-patente e na compatibilidade. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 30, n. 4, p.273-278, ago. 1997.

GUIMARÃES R. J. P. S. Ferramentas de geoprocessamento para o estudo e controle da esquistossomose no Estado de Minas Gerais. *Biomedicina*, PhD Thesis, Santa Casa de Belo Horizonte, Minas Gerais, pp. 226. 2010.

GUIMARÃES R. J. P. S., et al. Evaluation of a linear spectral mixture model and vegetation indices (NDVI and EVI) in a study of schistosomiasis mansoni and *Biomphalaria glabrata* distribution in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 105, No. 4, pp. 512-518, 0074-0276. A Study of Schistosomiasis Prevalence and Risk of Snail Presence Spatial Distributions Using Geo-Statistical Tools 277. 2010a.

GUIMARÃES R. J. P. S., et al. A geoprocessing approach for studying and controlling schistosomiasis in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 105, No. 4, pp. 524-531, 0074-0276. 2010b.

GUIMARÃES R. J. P. S., et al. Spatial distribution of *Biomphalaria* mollusks at São Francisco River Basin, Minas Gerais, Brazil, using geostatistical procedures. *Acta Trop*, Vol. 109, No. 3, pp. 181-186, 0001-706X. 2009.

GUIMARÃES R. J. P. S., et al. Schistosomiasis risk estimation in Minas Gerais state, Brazil, using environmental data and GIS techniques. *Acta Trop*, Vol. 108, No. 2-3, pp. 2008.

GUIMARÃES R. J. P. S., et al. Analysis and estimative of schistosomiasis prevalence for Minas Gerais state, Brazil, using multiple regression with social and environmental spatial data. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 101, No. Suppl. I, pp. 91-96, 0074-0276. 2006.

GRISOLIA, M. L. M.; FREITAS, J.R.. Características físicas e químicas do habitat da *Biomphalaria tenagophila* (Mollusca, Planorbidae). *Mem. Insr. Oswaldo Cruz*, 80 (2): 237-244. 1985

HAMBURGER, J. et al. Large-scale, polymerase chain reaction-based surveillance of *Schistosoma Haematobium* DNA in snails from transmission sites in coastal Kenya: a new tool for studying the dynamics of snails infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, 71, n. 6, p. 765-773. 2004

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

JENKINS-HOLICK D. S., KAUL T. L. Schistosomiasis. *Urol Nurs*; 33(4): 163-70. 2013.

JIAN H. E., et al. The spatio-temporal distribution of *Oncomelania hupensis* along Yangtze river in Jiangsu Province, China after implementation of a new, integrated schistosomiasis control strategy. *Geospatial Health – Article*. 2016.

JURBERG, P. et al.. Behavior of *Biomphalaria glabrata*, the intermediate host snail of *Schistosoma mansoni*, at different depths in water in laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 179-208. 1987

KAMPFER, P., et al. Molecular identification of coliform bacteria isolated from drinking water reservoirs with traditional methods and the Colilert-18 system. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 211, 374e384. 2008

KATZ, N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses (2010-2015). Instituto Rene Rachou - Fiocruz. Belo Horizonte, 2018.

KATZ, N. Schistosomiasis control in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 93, n. 1, p. 33-35, 1998

KATZ N, CHAVES A, PELLEGRINO J. A simple device for quantitative stool thick smear technique in Schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*; 14: 397-400, 1972.

KIM, J.R. et al. Diverse gastropod hosts of *Angiostrongylus cantonensis*, the rat lungworm, globally and with a focus on the Hawaiian Islands. *PLoS ONE* 9, e94969. 2014

KOSTADINOVA, A. AND PÉREZ-DEL-OLMO, A. Systematics of the Trematoda in digenetic trematodes. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 766) Toledo, R. and Fried, B., eds In pp. 21–44, Springer-Verlag 5. 2014

KLOOS, H. et al. The role of population movement in the epidemiology and control of schistosomiasis in Brazil: a preliminary typology of population movement. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 105, n. 4, p. 578-586, 2010.

Kulinkina AV, Kosinski KC, Plummer JD, et al. Indicators of improved water access in the context of schistosomiasis transmission in rural Eastern Region, Ghana. *Sci Total Environ.* ;579:1745–1755. 2017

KUNTZ E. R. Effect of light and temperature on shedding of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Naval Medical Research Institute* 7: 16, 1946.

LAMBERTUCCI JR, ROCHA RS, CARVALHO OS, KATZ N. A esquistossomose mansoni em Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop* 20: 47-52. 1987

LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, 1915. Part I. Transmission. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 25: 1-55, 1915a.

- LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, 1915. Part II. Prevention and eradication. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 25: 147-192, 1915b.
- LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, 1915. Part III. Development. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 25: 253-267, 1915c.
- LIMA, M. et al. Compatibility Polymorphism Based on Long-Term Host-Parasite Relationships: Cross Talking Between *Biomphalaria glabrata* and the Trematode *Schistosoma mansoni* From Endemic Areas in Brazil. *Frontiers in Immunology*, v. 10, p. 328, 2019.
- LIMA, W. S.; et al. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 18(2):27-30. 2009
- LITTLEWOOD D. T. J. The evolution of parasitism in flatworms. In AG Maule, NJ Marks (eds.), *Parasitic Flatworms: Molecular Biology, Biochemistry, Immunology and Physiology*, CAB International, Wallingford, p. 1-36. 2006
- LUTZ, A. Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. Nota prévia. *Brazil-Medico*, 30: 385-387, 1916.
- LUTZ, A. Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. Segunda nota prévia. *Brazil-Medico*, 31: 81-82, 89-90, 1917a.
- LUTZ, A. Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciências*, 1: 41-48, 1917b.
- LUTZ, A. Caramujos de água doce do gênero *Planorbis*, observados no Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 10: 65-82, 1918.
- LUTZ, A. O *Schistosomum mansoni* e a schistosomatose segundo observações, feitas no Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 11: 121-155, 1919
- MCMANUS, D. P. et al. Schistosomiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 4, n. 1, p.1-19, 2018
- MALONE C. D., et al. Germ line transcripts are processed by a Dicer-like protein that is essential for developmentally programmed genome rearrangements of *Tetrahymena thermophila*. *Mol. Cell. Biol.* 2005
- MARTINS F. T. Mapeamento do risco da esquistossomose no Estado de Minas Gerais, usando dados ambientais e sociais. MSc Thesis, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, pp. 144. Retrieved from Schistosomiasis 278 <http://www.dpi.inpe.br/geoschisto/publicacoes/Martins_dissertacao.pdf>. 2008
- MARTINS-MELO, F. R. et al. Trends and spatial patterns of mortality related to neglected tropical diseases in Brazil. *Parasite Epidemiology and Control*. 2016

- MARTINS-SOUZA R. L., et al. Differential lectin labelling of circulating hemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* resistant or susceptible to *Schistosoma mansoni* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101 (Suppl. I): 185-192. 2006
- MARTINS-BEDÊ F. T., et al. Risk Mapping of schistosomiasis in Minas Gerais, Brazil, Using MODIS and Socioeconomic Spatial Data. *Geoscience and Remote Sensing, IEEE Transactions on*, Vol. 47, No. 11, pp. 3899-3908, 0196-2892. 2009
- MARTINS-BEDÊ F. T., et al. Schistosomiasis risk mapping in the state of Minas Gerais, Brazil, using a decision tree approach, remote sensing data and sociological indicators. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 105, No. 4, pp. 541-548, 0074-0276. 2010
- MASSARA, C. L. *et al.* Caracterização de materiais educativos impressos sobre esquistossomose, utilizados para educação em saúde em áreas endêmicas no Brasil. *Epidemiol. Serv. Saúde* [online]. vol.25, n.3, pp.575-584. ISSN 1679-4974. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742016000300013>. 2016
- MASSARA, C. L.; et al. Esquistossomose em área de ecoturismo do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública (ENSP. Impresso)*, v. 24, p. 1709-1712, 2008.
- MASSARA, C. L. & SCHALL, V. T. A Pedagogical approach of schistosomiasis – an experience in health education in Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(1): 113-120, 2004
- MACHADO E SILVA, J. R.; NEVES, R. H.; GOMES, D. C.. Cap2.; Aspectos Filogenia, Co-evolução Morfológicos e Biológicos das Diferentes Fases de Desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* – Livro: *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008
- MADSEN H & FRANDBSEN F. The spread of freshwater snails including those of medical and veterinary importance. *Acta. Trop.* 46:139-146. 1989
- MARTELLO, A. R.; NUNES, I. G. W.; BOELTA RA & Leal LA. Malacofauna límnic associada à macrófitas aquáticas. *Ciência e Natura*, UFSM 30: 27-41. 2008
- MEDEIROS, C., SCHOLTE, R.G. C., D'ÁVILA, S., CALDEIRA, R. L. & CARVALHO, O. S. Distribuição espacial de Lymnaeidae (Mollusca, Basommatophora), hospedeiros intermediários de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda, Digenea) no Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56(3), 235-252. 2014
- MELO, D. P.; GENARO, O. Esquistossomose. In: REY, L. *Parasitologia* 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 204-223. 2001
- MITTA, G., et al. The Compatibility Between *Biomphalaria Glabrata* Snails and *Schistosoma Mansoni*: An Increasingly Complex Puzzle.. *Advances in Parasitology*, 97 . 2017

- MIYAHIRA, I. C. Moluscos de água doce da Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil: diversidade e distribuição. Monografia apresentada no Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 75p. 2009
- MIYAHIRA, I. C. Dinâmica populacional de *Melanooides tuberculatus* (Müller, 1774) em um riacho impactado da Vila do Abraão, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, Brasil. Dissertação de mestrado apresentado no Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 111p. 2010
- MORAES, C. N.; BICHARA, C.N.C.; PINTO, S. C. A. . Correlação De Criadouros De *Biomphalaria* sp., Hospedeiro de *Schistosoma mansoni*, Em Área De Baixa Infraestrutura Sanitária No Distrito De Mosqueiro, Belém, Pará. Hygeia. Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde, v. 10, p. 216-233, 2014.
- MORENO, P. & CALLISTO, M. 2006. Benthic macroinvertebrates in the watershed of an urban reservoir in southeastern Brazil. *Hydrobiologia* 560: 311-321.
- MORLEY N. J. Aquatic molluscs as auxiliary hosts for terrestrial nematode parasites: implications for pathogen transmission in a changing climate. *Parasitology* 137: 1041–1056. 2010.
- MOURA, A. C. M. *et al.* (2005). “Atualização de mapa de drenagem como subsídio para montagem de SIG para a análise da distribuição da esquistossomose em Minas Gerais” in Anais do XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. 8p. 2005.
- NACIF-PIMENTA, P., et al. *Schistosoma mansoni* in susceptible and resistant snail strains *Biomphalaria tenagophila*: in vivo tissue response and in vitro hemocyte interactions. *PLoS One*. v. 7. n. 9. set. 2012.
- NEGRÃO-CORRÊA D, et al. Molluscan response to parasite: *Biomphalaria* and *Schistosoma mansoni* interaction. *ISJ* 4: 101-111. 2007
- NEVES, D. P. *Parasitologia humana*. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016
- NEWTON, W. L. The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. *Exp. Parasit.*, 2:242-57, 1953.
- NIEMANN G. M, LEWIS F. A. *Schistosoma mansoni*: influence of *Biomphalaria glabrata* size on susceptibility to infection and resultant cercarial productions. *Exp Parasitol* 70: 286-292. 1990
- OLIVIER, L. & SCHNEIDERMAN, M.. A method for estimating the density of aquatic snail populations. *Experimental Parasitology*, 5: 109-117. 1956.
- OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends in parasitology*, v. 29, n. 7, p. 339–45, jul. 2013.
- PALASIO, Raquel Gardini Sanches; XAVIER, Iara Giordano; CHIARAVALOTTI-NETO, Francisco and TUAN, Roseli. Diversity of *Biomphalaria* spp. freshwater snails

and associated mollusks in areas with schistosomiasis risk, using molecular and spatial analysis tools. *Biota Neotrop.* [online]. 2019, vol.19, n.4

PARAENSE W. L. 2001. The Schistosome vectors in the Americas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 96: 7-16. 2001

PARAENSE, W. L. *Physa marmorata* Guilding, 1828 (Pulmonata: Physidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 81(4):459-469. 1986

PARAENSE W. L. 1986. Distribuição dos caramujos no Brasil: modernos conhecimentos sobre a esquistossomose mansônica. *Bib Acad Min de Medic* p.117-128. 1986

PARAENSE W. L., Correa LR. Differential susceptibility of *Biomphalaria tenagophila* populations to infection with a strain of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology.*:64(5):822-826. 1978

PARAENSE, W. L. 1976. *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca: Lymnaeidae). *Revista Brasileira de Biologia* 36:419-428. 1976

PARAENSE W. L. Estado atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. *Arq. Mus. Nac. Rio de Janeiro* 55:105-128. 1975

PARAENSE, W. L., Corrêa, L.R.,. Susceptibility of *Biomphalaria peregrina* from Brazil and Ecuador to two strains of *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 15, 127–130. 1973

PARAENSE, W. L. 1972 'Fauna planorbídica do Brasil'. Em C. S. Lacaz, R. G. Baruzzi e W. Siqueira Jr. (orgs.), *Introdução à geografia médica do Brasil*, São Paulo, Edgard Blücher/Edusp, pp. 213-39. 1972

PARAENSE W. L. 1970. Planorbídeos hospedeiros intermediários de *S. mansoni*. In: Cunha AS. *Esquistossomose mansoni*. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo p. 13-30. 1970

PARAENSE W. L., Corrêa LR 1963. Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 5: 15-22. 1963

PARAENSE, W. L. 'Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*'. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 53(2, 3, 4):277-84. 1955

PAREDES H., et al. Spatial pattern, water use and risk levels associated with the transmission of schistosomiasis on the north coast of Pernambuco, Brazil. *Caderno de Saúde Pública* 26: 1013-1023, 2010.

PELLEGRINI FILHO, A. et al. Propostas de modelos de saúde. *Saúde em Debate*, São Paulo, n.7-8, p. 14-17, abr./jun. 1978.

- PELLEGRINO J, KATZ N. Experimental chemotherapy of Schistosomiasis mansoni. *Adv Parasitol.*;6:233-290.1968
- PFFEITER, N. T. S.; PITONI, V. L. L. Análise qualitativa estacional da fauna de moluscos límnicos no delta do Jacuí, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biociências* 11(2):145- 158. 2003
- PESSOA E MARTINS *Parasitologia Médica*. 11ª edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p 872, 1998.
- PRADO JUNIOR C. *História Econômica do Brasil*. Ed Brasiliense.São Paulo. 1986.
- PINTO, H. A.; MELO, A. L. A checklist of cercariae (Trematoda: Digenea) in molluscs from Brazil. *ZOOTAXA (ONLINE)*, v. 3666, p. 449-475, 2013.
- PINAUD, S., et al.. A Shift from Cellular to Humoral Responses Contributes to Innate Immune Memory in the Vector Snail *Biomphalaria glabrata*. *PLOS Pathogens*. 2016
- PONCE-TERASHIMA R. et al. Sources and distribution of surface water fecal contamination and prevalence of schistosomiasis in a Brazilian village. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014
- POULIN R *Evolutionary Ecology of Parasites*, Princeton University Press, New Jersey, 332 pp. 2007
- POULIN R, MORAND S. *Parasite Biodiversity*, Smithsonian Institution Press, Washington DC, 216 pp. 2004
- PORTO, M. F. S. Uma ecologia política dos riscos: Princípios para integrarmos o local e o global na promoção da saúde e da justiça social. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 270p. 2012
- RICHARDS CS, SHADE PC. The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology*, 73(6):1146–1151. 1987
- RICHARDS C. S. *Schistosoma mansoni* - susceptibility reversal with age in snail host *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*. ;42(1):165-8. 1977
- RICHARDS, C. S. Susceptibility of adult *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infection. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 22:748-56, 1973.
- RICHARDS CS. Genetics of a molluscan vector of schistosomiasis. *Nature*.; 227(5260):806-810. 1970
- ROLLINSON D. et al. Time to set the agenda for schistosomiasis elimination. *Acta Trop*. May 10. 2012
- SAH, R.; KHADKA, S.; HAMAL, R. POUDYAL, S. Human echinostomiasis: a case report. *BMC Research Notes*. v. 11, n.17. 2018.

- SAIKI R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle-cell anemia. *Science*. 230(4732):1350-4. 1985.
- SAMUELSON, J.C. et al. Hatching, chemokinesis and transformation of miracidia of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.* 70: 321–331. 1984
- SANTOS M. B. L, FREITAS JR, CORRÊA M. C. R, COELHO P. M. Z. Suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni* de híbridos de *Biomphalaria tenagophila* do Taim, RGS, Cabo Frio, RJ, e Belo Horizonte. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 21: 281-286. 1979
- SANTOS, W L. P. Educação científica na perspectiva de letramento como prática social: funções, princípios e desafios. **Rev. Bras. Educ.**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 36, p. 474-492. 2007
- SANTOS S.M.; SOUZA W. V. (Orgs.). Introdução à Estatística Espacial para a Saúde Pública. Brasília, Ministério da Saúde, 2007
- SCHALL, V. T. et al. Educação em saúde para alunos de primeiro grau. Avaliação de material para ensino e profilaxia da esquistossomose. *Rev. Saúde Pública* vol.21 no.5 São Paulo. 1987.
- 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.
- SCHOLTE, R. G. C. et al. Spatial distribution of *Biomphalaria* spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. *Geospatial Health*, v. 6, n. 3, p. 95-101, 2012.
- SILVA, R. E. Estudos malacológicas da bacia hidrográfica do Lago Soledade (Ouro Branco, Minas Gerais): testes de suscetibilidade com os transmissores de *Schistosoma mansoni*. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos DISSERTAÇÃO (Programa de Pós-Graduação em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais). 1992.
- SILVA, R. E.; MELO, A. L.; PEREIRA, L. H.; FREDERICO, L. F. Malacological survey of the Soledade lake hydrographic basin, in Ouro Branco (Minas Gerais, Brazil). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 36: 437-444p. 1994a
- SILVA, R. E.; MELO, A. L.; PEREIRA, L. H. Suscetibilidade de *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria glabrata* de uma mesma região a duas cepas de *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, vol.36, n.5, pp.409-415. 1994b
- SILVA, P., BARBOSA, C., PIERI, O., TRAVASSOS, O., FLORENCIO, L. Aspectos físico-químicos e biológicos relacionados à ocorrência de *Biomphalaria glabrata* em focos litorâneos da esquistossomose em Pernambuco. *Quim Nova* 29(5), 901-906. 2006
- SIMÕES, R. I. Comunidade de moluscos bentônicos na área de abrangência da usina hidrelétrica de Dona Francisca, Rio Jacuí, Rio Grande do Sul, Brasil: Fase de pré e pós-

enchimento do Reservatório. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 219 p. 2002

SIMONE L. R. L. Land and Freshwater Molluscs of Brazil. EGB, Fapesp. São Paulo, Brazil. 390 pp. 2006

SOUZA C. P., et al. Geographical Distribution of *Biomphalaria* Snails in the State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 96:293-302. 2001.

SOUZA, C. P.; et al. Moluscos límnicos da microrregião de Belo Horizonte, MG, com ênfase nos vetores de parasitoses. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 31: 449-456p. 1998

SOUZA, C. P.; JANNOTTI-PASSOS, L. K. & FREITAS, J. R. Degree of host-parasite compatibility between *Schistosoma mansoni* and their intermediate molluscan hosts in Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 90: 5 -10, 1995.

SOUZA, C. P. Estudo de moluscos do gênero *Biomphalaria* de Minas Gerais, com relação a adaptação parasito hospedeiro e importância na epidemiologia da esquistossomose. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo. 1986, vol.28, n.5, pp.287-292. 1986

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, Porto Alegre, 102(1):11-18. 2012

SOUZA, M. A. A. et al. Aspectos ecológicos e levantamento malacológico para identificação de áreas de risco para transmissão da esquistossomose mansoni no litoral norte de Pernambuco, Brasil. Iheringia, Sér. Zool. [online]. 2010, vol.100, n.1, pp.19-24. 2010

SOUZA, M. A. A.; BARBOSA, V. S.; WANDERLEI, T. N. G. & BARBOSA, C. S. Criadouros de *Biomphalaria*, temporários e permanentes, em Jabotão dos Guararapes, PE. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(3):252-256. 2008

SOUZA, M. A. A.; SOUZA, L. A.; MELO, A. L. Levantamento malacológico e mapeamento das áreas de risco para transmissão da esquistossomose mansoni no Município de Mariana, Minas Gerais, Brasil. Revista de Ciências Médicas e Biológicas, Salvador. Aceito, v. 5, p. 132-139, 2006.

STRONG E. E. et al. Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. Hydrobiologia 595: 149–166. 2008

TELES, H. M. S.; CARVALHO, O. S. Cap14: Implicações da biologia de *Biomphalaria* no controle da esquistossomose – Livro: *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008.

TELES H. M. S, PEREIRA P. A. C., RICHINITTI L. M. Z. Distribuição de *Biomphalaria* (Gastropoda, Planorbidae) nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. Revista de Saúde Pública 25: 350-352. 1991

TIBIRIÇÁ S. H. C., et al. Malacológica survey of *Biomphalaria* snails in municipalities along the Estrada Real in the southeast of the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, Vol. 44, No. 2, pp. 163-167, 0037-8682. 2011.

TEODORO T.M., et al., Occurrence of *Biomphalaria cousini* (Mollusca: Gastropoda) in Brazil and its susceptibility to *Schistosoma mansoni* (Platyhelminths: Trematoda). *Mol Phylogenet Evol* 57: 144-151.2010

THERON, A.; COUSTAU, C. Are *Biomphalaria* snails resistant to *Schistosoma mansoni*? *J. Helminthol*, v. 79, n. 3, p. 187-91. Set. 2005.

THIENGO, S.C.; et al. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: IV – Sul Fluminense Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99:275-280. 76. 2004a

THIENGO, S.C.; et al. Freshwater Snails and Schistosomiasis Mansonii in the State of Rio de Janeiro, Brazil: V - Norte Fluminense Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99: 99-103. 2004b

THIENGO, S. C.; et al. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: II – Centro Fluminense Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97: 621- 626. 2002a

THIENGO, S. C.; et al. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: III – Baixadas Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97 (Suppl. I): 43-46. 2002b

THIENGO, S. C.; et al. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: I – Metropolitan Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96 (Suppl.): 177 184. 2001

TOLEDO, R.; MUÑOZ-ANTOLI, C.; ESTEBAN, J.G. Intestinal trematode infections. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2014;766:201–40.

UETA, M. T. Alguns aspectos da biologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 (Gastropoda, pulmonata). *Revista de Saúde Pública São Paulo*. 10:355-366. 1976

VALADARES, T. E.; COELHO, P. M.; PELLEGRINO, J.; SAMPAIO, I. B. *Schistosoma mansoni*: Aspects of the oviposition of the LE' strain in mice infected with a couple of worms. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. V. 23, p. 6-11, 1981.

VIDIGAL, T. H. D. A.; MARQUES, M. G. S. M.; LIMA, H. P.; BARBOSA, A. R. Gastrópodes e bivalves límnicos do trecho médio da bacia do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. *Lundiana* 6(supplement):67-76. 2005

VIDIGAL T., CALDEIRA R. L., SIMPSON A. J. G., CARVALHO O. S. Further studies on the molecular systematics of *Biomphalaria* snails from Brazil. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*. 95(1):57-66. 2000.

ZANOTTI-MAGALHÃES E. M., MAGALHÃES L. A., CARVALHO J.F. Relationship between the pathogenicity of *Schistosoma mansoni* in mice and the susceptibility of the vector mollusc. I. cercariae infectivity and worm burden. Rev. Saúde públ. São Paulo.;25(5): 359 - 366. 1976

WARD RD, LEWIS FA, YOSHINO TP, DUNN TS. *Schistosoma mansoni*: relationship between cercarial production levels and snail host susceptibility. *Exp Parasitol.*;66(1):78–85. 1988

WORLD HEALTH ASSEMBLY (WHA), 65.Sixty-fifth World Health Assembly, Geneva, 21-26 May 2012: summary records of committees; reports of committees; list of participants. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260312>. 2012

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: numbers of people treated in 2017. Weekly Epidemiological Record, v. 93, n. 50, p. 681-692, 2018

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). WHO data show unprecedented treatment coverage for bilharzia and intestinal worms. https://www.who.int/neglected_diseases/news/unprecedented-treatment-coverage-bilharzia-intestinal-worms/en/. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Investing to overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases. Geneva: Who; 191 p. 2015

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Schistosomiasis (Fact Sheet 115), World Health Organization. 2015

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) and PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Schistosomiasis Regional Meeting: Defining a road map toward verification of elimination of schistosomiasis transmission in Latin America and the Caribbean by 2020. 2014

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Accelerating Work to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases: a Roadmap for Implementation. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Report of the WHO informal consultation on schistosomiasis in low transmission areas: control strategies and criteria for elimination. London: WHO, p. 51. 2001

10. APÊNDICE

10.1 Coordenadas geográficas dos pontos

Coordenadas geográficas dos pontos amostrados (coletas em outubro 2019 a setembro de 2019)

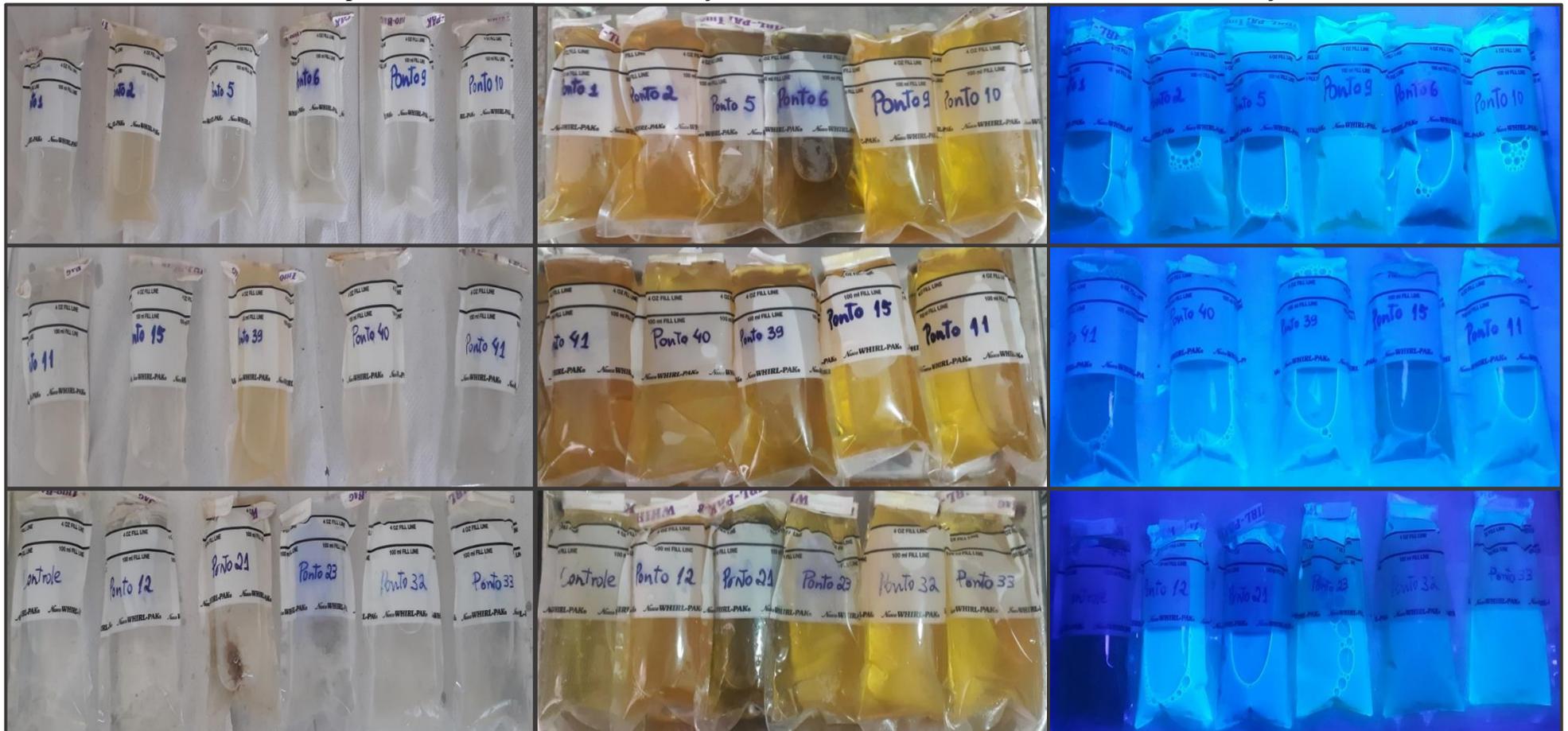
Pontos	Y	X
1	-18,775347	-43,255115
2	-18,773126	-43,269246
3	-18,769079	-43,274478
4	-18,775162	-43,285402
5	-18,77955	-43,285942
6	-18,792883	-43,289729
7	-18,782394	-43,304917
8	-18,767941	-43,310669
9	-18,760984	-43,342033
10	-18,759874	-43,347945
11	-18,734675	-43,361932
12	-18,737719	-43,363778
13	-18,72919	-43,35961
14	-18,726603	-43,366976
15	-18,730363	-43,365636
16	-18,739273	-43,376002
17	-18,738765	-43,399084
18	-18,763129	-43,413238
19	-18,772121	-43,416606
20	-18,775455	-43,411393
21	-18,7717	-43,382915
22	-18,786255	-43,414093
23	-18,786737	-43,43758
24	-18,779173	-43,433332
25	-18,78412	-43,377884
26	-18,810227	-43,405844
27	-18,824348	-43,410041
28	-18,861554	-43,37286
29	-18,861616	-43,36834
30	-18,871856	-43,324716
31	-18,860062	-43,338068
32	-18,858279	-43,338465
33	-18,856991	-43,339102
34	-18,851628	-43,342895
35	-18,845515	-43,342152
36	-18,691075	-43,320853
37	-18,697598	-43,332415
38	-18,698119	-43,331233
39	-18,707207	-43,336425
40	-18,721655	-43,33313
41	-18,72545	-43,32192
42	-18,84855	-43,40276
43	-18,85699	-43,35052
44	-18,85517	-43,35067
45	-18,86981	-43,33417
46	-18,87037	-43,32331

10.2 Teste de detecção de coliformes totais e *E.coli*

Amostras do campo

Deteção de coliformes totais

Deteção de *E. coli*



10.3 Mapas de Alvorada de Minas – Análise espacial

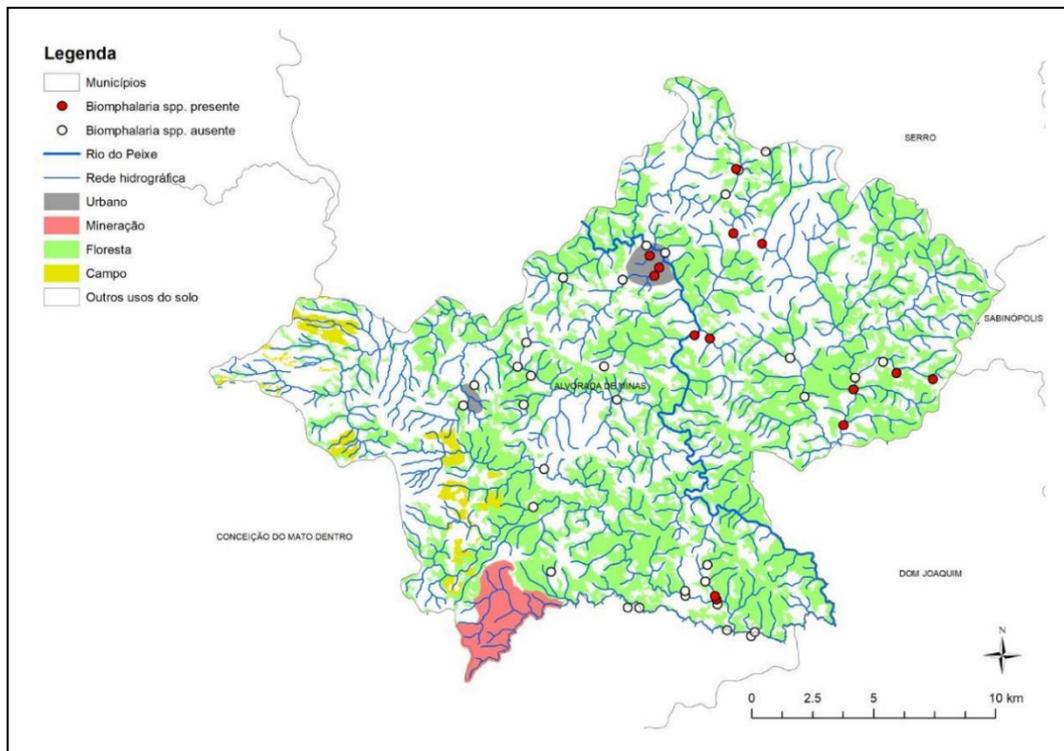


Figura 10.3A - Mapa de utilização do solo.

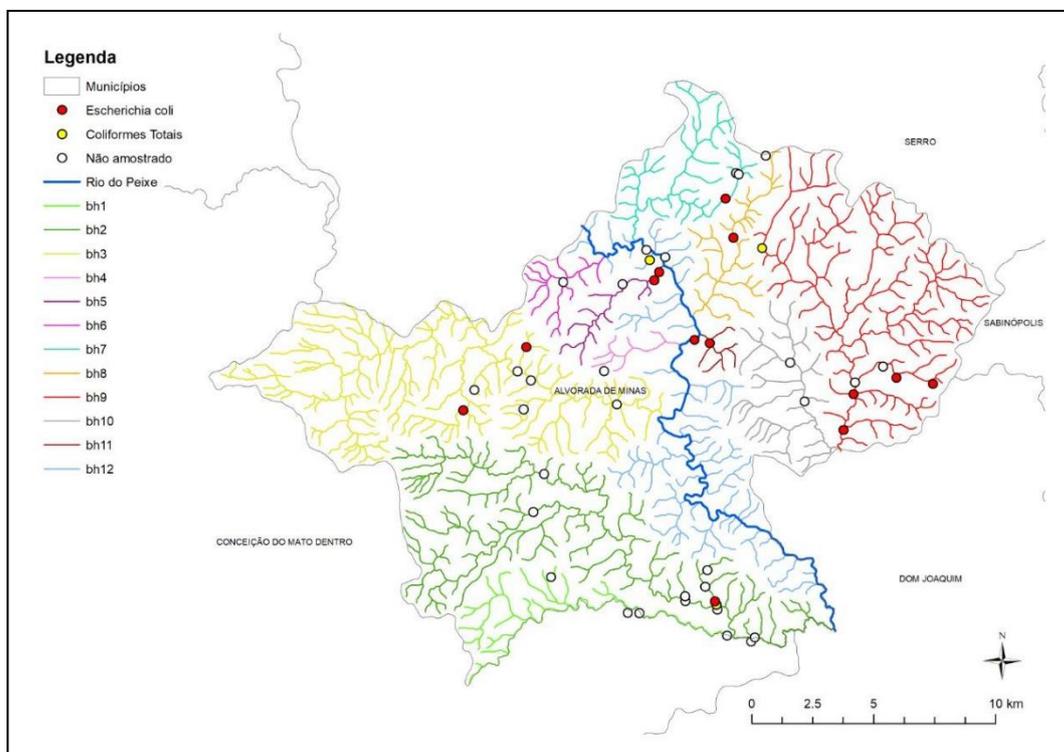


Figura 10.3B - Mapa de distribuição das áreas com presença de coliformes totais e *E. coli*. (Outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019)

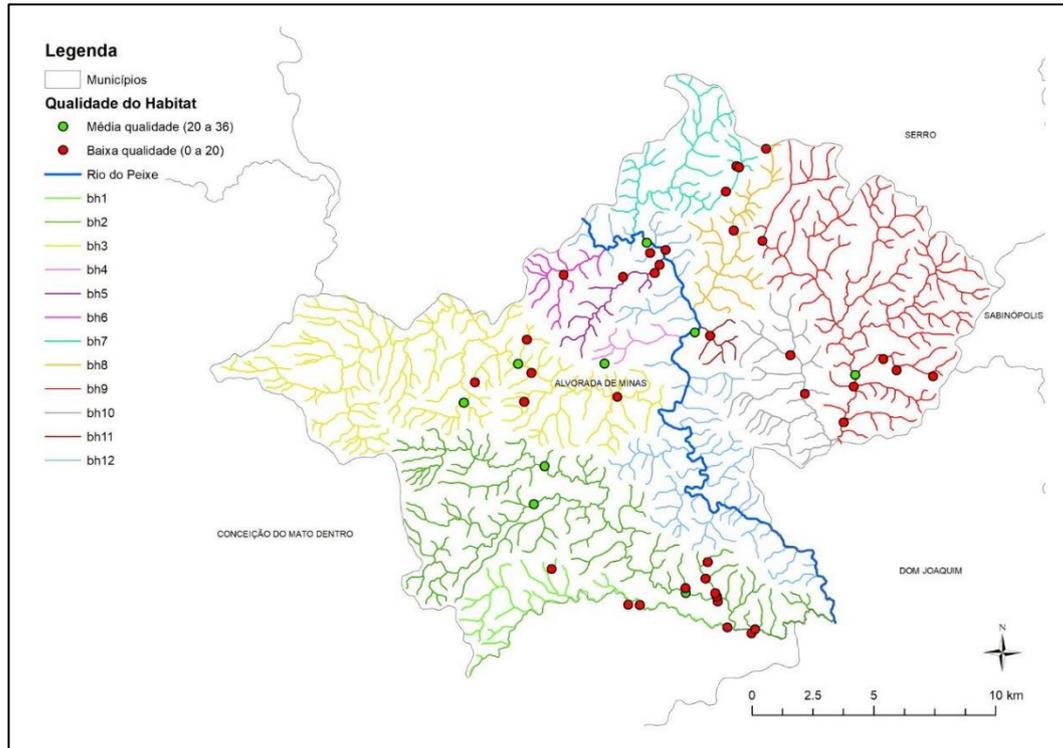


Figura 10.3C - Mapa da análise de qualidade do habitat pelo protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats (Outubro 2018, fevereiro, março, junho e setembro de 2019).

10.4 Produções científicas

10.4.1 Trabalhos apresentados

1. **COELHO, P. R. S.**; NEGRAO-CORREA, D. A. ; PINTO, H. A. ; KER, F. ; ARAUJO, A. ; CALDEIRA, R. L. ; GEIGER, S. M. Estudo dos gastrópodes límnicos de Alvorada de Minas, Minas Gerais, Brasil: com ênfase ao gênero *Biomphalaria* Preston, 1910 (Pulmonata: Planorbidae) para o controle da esquistossomose mansoni. In: XXVI Encontro Brasileiro de Malacologia. Juiz de Fora/MG, 2019.
2. **COELHO, P. R. S.**; NEGRAO-CORREA, D. A. ; PINTO, H. A. ; CALDEIRA, R. L. ; GEIGER, S. M. . Moluscos límnicos e helmintos associados no município de Alvorada de Minas, Mesorregião Metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. In: 55º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical XXVI Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia. Belo Horizonte/MG, 2019.
3. **COELHO, P. R. S.**; NEGRAO-CORREA, D. A. ; PINTO, H. A. ; KER, F. ; ARAUJO, A. ; CALDEIRA, R. L. ; GEIGER, S. M.. O que nos dizem os moluscos límnicos de Alvorada de Minas? Estudo malacológico, epidemiológico e laboratorial para a vigilância da esquistossomose mansoni. In: X Encontro de Pesquisa em Parasitologia Resiliência e Pesquisa: um olhar para as origens, caminhos para o futuro. Belo Horizonte/MG, 2019.
4. **COELHO, P. R. S.**. O esconderijo do caramujo e o verme da xistose. In: Mostra do ICB - UFMG. Concurso Science Slam do Núcleo de Apoio à Pós-graduação (NAPG), Apresentação oral. Belo Horizonte/MG, 2019.

11. ANEXOS

11.1 Termo de Anuência



PREFEITURA MUNICIPAL DE ALVORADA DE MINAS
ESTADO DE MINAS GERAIS
CNPJ: 18. 303.164/0001 – 53
SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE

Alvorada de Minas, 17 de abril de 2019

DECLARAÇÃO DE INTERESSE E ANUÊNCIA

Prezado Prof. Stefan Geiger,

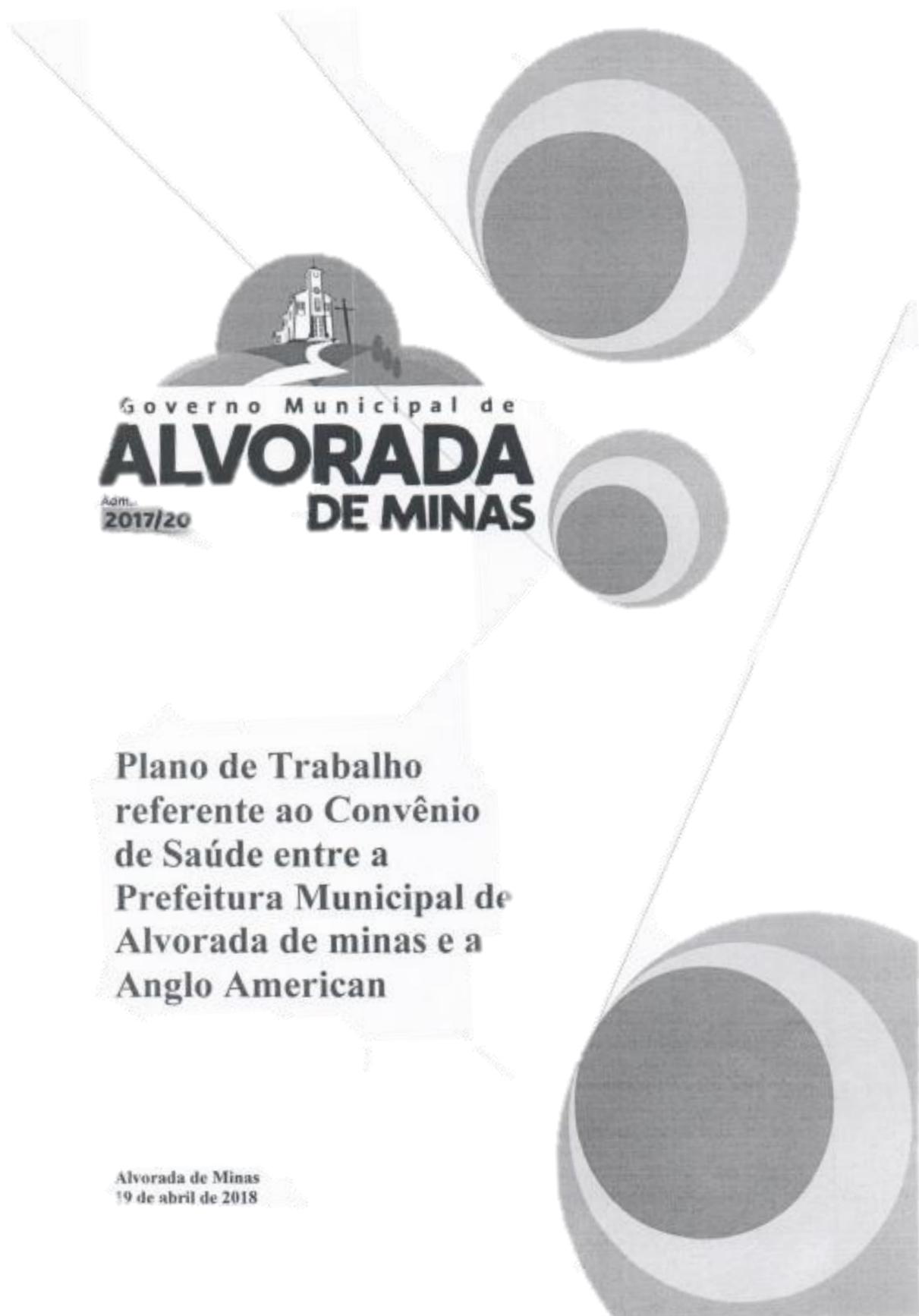
Em resposta à solicitação de parceria para o projeto de pesquisa intitulado **“MONITORAMENTO E CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA DE BAIXA ENDEMICIDADE EM MINAS GERAIS, BRASIL”**, conforme convite recebido em abril de 2019, informo que estamos à disposição para realizarmos o referido estudo. Colocamos nossa equipe do Departamento de Endemias e Vigilância Ambiental à disposição em apoio à equipe referida da UFMG e sob coordenação do Prof. Stefan Michael Geiger.

Informamos que estamos de acordo com a realização da pesquisa no município, mantendo a perspectiva de que o mesmo não arcará com nenhum custo, seja material, diárias e/ou equipamento, assim como os demais custos de exames necessários para a realização do projeto.

Atenciosamente,

Danilo Clássio Ferreira
Secretário de Saúde
Prefeitura de Alvorada de Minas, Minas Gerais

11.2 Convênio para a construção da fossa séptica



11.2 Convênio para a construção da fossa séptica



PREFEITURA MUNICIPAL DE ALVORADA DE MINAS
ESTADO DE MINAS GERAIS
CNPJ: 18 303164/0001 - 53

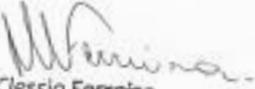
OFICIO Nº108/19
SOLICITAÇÃO/FAZ
SERVIÇO: SECRETARIA DE SAÚDE

Alvorada de Minas 20 de setembro 2019

Prezado Sr

Cumprimentando o cordialmente venho através deste solicitar que seja realizado um aditivo no Convênio da saúde com a empresa Anglo American para alteração da ficha do código orçamentário, que era 455 e 454, passou para 475, e também solicitar a mudança no plano de trabalho, no Item Investimento, alterar ambulância Tipo B, para Ambulância Tipo D, sem aumento no valor do recurso destinado a aquisição deste veículo.

Sendo o que apresento para o momento e certo da solicitação supra, renovo votos de estima e apreço.


Danilo Clessio Ferreira
Secretário Munic. de Saúde

Danilo Clessio Ferreira
Secretário Municipal de Alvorada de Minas

Ilmo Sr

João Evaldo Massahud

Coordenador Médico da Anglo American

11.2 Convênio para a construção da fossa séptica



PREFEITURA MUNICIPAL DE ALVORADA DE MINAS

CEP: 39140-000 – ESTADO DE MINAS GERAIS

Secretaria Municipal de Saúde de Alvorada de Minas

Plano de Trabalho

Justificativa:

O presente documento trata se de uma parceria entre a Prefeitura Municipal de Alvorada de Minas, através da Secretaria Municipal de Saúde, com a Empresa privada Anglo Americam, com intuito de viabilizar recursos financeiros para serem investidos especificamente na saúde do município e, conseqüentemente, dos seus munícipes. O convênio acordado está estipulado em 2 milhões, sendo 1.542.000,00 que será repassado para o município conforme o plano de trabalho e o município terá um valor de 458.000,00 utilizar em serviços prestados pelo o Consórcio(CISAME)

Objetivo Geral

- Promover o fortalecimento da saúde no município na Atenção Primária à Saúde e na Média Complexidade

Objetivos específicos

- Garantir a população acesso a procedimentos de médio e alto custos;
- Ampliar o laboratório municipal garantindo uma maior e melhor condição de realização dos exames laboratoriais;
- Realizar aquisição de veículos para conduzir os usuários nos tratamentos fora do domicílio e para serviços de urgência e emergência
- Garantir a população atendimento médico de urgência e emergência na Unidade Básica de saúde, 40 h semanais com plantão presencial e semipresencial em feriados e finais de semanas durante 36 meses.
- Garantir atendimento especializado nas áreas de pediatria e ginecologia e obstetrícia durante 36 meses, com carga horária de 4h semanais
- Garantir 86 famílias vulneráveis as condições de saneamento básico, nas comunidades rurais, fossas sépticas, melhorando as condições de saneamento dessas pessoas.