

SANDRA COSTA DRUMMOND

***SCHISTOSOMA MANSONI*: PLAQUETOPENIA COMO MARCADOR DE
ESQUISTOSSOMOSE HEPATOSPLÊNICA EM ÁREA ENDÊMICA DO
NORDESTE DE MINAS GERAIS, BRASIL**

BELO HORIZONTE- MINAS GERAIS
2014

SANDRA COSTA DRUMMOND

***SCHISTOSOMA MANSONI*: AVALIAR SE A PLAQUETOPENIA PODE SER
MARCADORA DE ESQUISTOSSOMOSE HEPATOESPLÊNICA EM ÁREA
ENDÊMICA DO NORDESTE DE MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao curso de
Pós-graduação da Faculdade de Medicina
da Universidade Federal de Minas Gerais
para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Ciências da Saúde:
Infectologia e Medicina Tropical

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Lambertucci

Co-orientador: Carlos Maurício F. Antunes

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG
2014

Agradecimentos

Às pessoas que contribuíram para a realização deste estudo:

- Professor José Roberto Lambertucci, meu orientador e amigo. Agradeço os desafios, a confiança, a presença e o entusiasmo sempre.
- Professor Carlos Maurício Figueiredo Antunes, pelas críticas valiosas e contribuições.
- Ana Paula Calima , coordenadora de Epidemiologia da Secretaria Municipal de Teófilo Otoni, pela parceria e colaboração.
- Professora Mery Nataly Silva Abreu, pelas orientações e análise estatística.
- Amigos pós-graduandos, pelo apoio nas discussões das reuniões científicas: Guilherme Vaz Teixeira, Ana Iris Duré, Júlia Capporali.
- Aos acadêmicos Juliana Papatella e Pedro Henrique Diniz Cunha, pela ajuda na digitação dos dados.
- Hélio Yamada pelas sugestões e formatação da dissertação.
- Silvana Romano, pelo auxílio no laboratório e atividades administrativas.
- Minha família, pelo apoio e incentivo de sempre.

**Há escolas que são gaiolas e há
escolas que são asas.**

Escolas que são gaiolas existem para que os pássaros desaprendam a arte do voo.

Pássaros engaiolados são pássaros sob controle. Engaiolados, o seu dono pode levá-los para onde quiser.

Pássaros engaiolados sempre têm um dono. Deixaram de ser pássaros. Porque a essência dos pássaros é o voo.

Escolas que são asas não amam pássaros engaiolados. O que elas amam são pássaros em voo. Existem para dar aos pássaros coragem para voar. Ensinar o voo, isso elas não podem fazer, porque o voo já nasce dentro dos pássaros. O voo não pode ser ensinado. Só pode ser encorajado.

Rubem Alves

SUMÁRIO

LISTAS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
RESUMO.....	9
INTRODUÇÃO.....	10
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 – Esquistossomose mansoni.....	15
2.2 - Esquistossomose hepatoesplênica.....	18
2.3 - Plaquetas.....	19
2.4 – Plaquetopenia.....	21
2.5 – Pseudotrombocitopenia.....	22
3- OBJETIVOS.....	24
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	25
5- RESULTADOS.....	31
6- DISCUSSÃO.....	38
7- CONCLUSÃO.....	42
8- PROPOSIÇÕES.....	43
SUMMARY.....	44
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
10- ANEXOS.....	56
10.1 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	56
10.2 - Ficha clínica.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AH	ÁCIDO HIALURÔNICO
APRI	RELAÇÃO ASPARTATO-AMINO-TRANSFERASE/ PLAQUETAS
AST	ASPARTATO AMINO TRANSFERASE
AUC	ÁREA ABAIXO DA CURVA (SIGLA EM INGLÊS)
EDA	ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA
EDTA	ETILENEDINITRILOTETRAACETADO
EHE	ESQUISTOSSOMOSE HEPATOESPLÊNICA
EPF	EXAME PARASITOLÓGICO DE FEZES
IBGE	INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE
RM	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
ROC	RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC (CARACTERÍSTICAS DE OPERAÇÃO DO RECEPTOR)
SISNEP	SISTEMA NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA
SIDA	SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA
TC	TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA
UFMG	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
US	ULTRASSOM

LISTA DE FIGURAS

1- MEGACARIÓCITOS NA MEDULA ÓSSEA.....	20
2- DISTRIBUIÇÃO DE PLAQUETAS ENTRE A CIRCULAÇÃO E O BAÇO EM INDIVÍDUOS NORMAIS E PACIENTES COM ESPLENOMEGALIA MODERADA E MACIÇA	21
3- ESFREGAÇO SANGUÍNEO COM GRUMOS DE PLAQUETAS.....	22
4- FLUXOGRAMA DA AMOSTRAGEM DE PACIENTES	27
5- FLUXOGRAMA DE RESULTADOS	33
6- CURVA ROC PARA O GRUPO 1	34
7- CURVA ROC PARA O GRUPO 2	35
8- CURVA ROC PARA O GRUPO 3	36
9- CURVA ROC PARA O GRUPO 4	37

LISTA DE TABELAS

- 1- CAUSAS DE PLAQUETOPENIA 23

- 2- DADOS DEMOGRÁFICOS E DE EXAME FÍSICO DE 384 INDIVÍDUOS
MORADORES NO DISTRITO DE TOPÁZIO, TEÓFILO OTONI, MINAS
GERAIS, EXAMINADOS EM JULHO DE 2012. 31

- 3- RESULTADOS DA CURVA ROC CONSIDERANDO DIFERENTES DEFINIÇÕES
DA FORMA HEPATOSPLÊNICA.. 37

***SCHISTOSOMA MANSONI*: AVALIAR SE A PLAQUETOPENIA PODE SER MARCADORA DA FORMA HEPATOESPLÊNICA EM ÁREA ENDÊMICA DE ESQUISTOSSOMOSE, NORDESTE DE MINAS GERAIS, BRASIL**

Resumo

Estudos realizados em hospitais brasileiros mostraram que a trombocitopenia poderia ser usada como marcador da forma hepatoesplênica da esquistossomose. O objetivo do presente estudo é o de avaliar se a plaquetopenia poderia identificar os pacientes com a forma hepatoesplênica da esquistossomose em área endêmica do nordeste de Minas Gerais. A população do distrito de Topázio em Teófilo Otoni (MG), composta de 1.543 indivíduos, com prevalência da esquistossomose de 23% foi selecionada para o estudo. Todos tiveram um exame parasitológico de fezes examinado pelo método de Kato-Katz. Quatrocentos indivíduos foram admitidos ao estudo. Assim, 384 responderam o questionário padronizado. Na última semana de julho de 2012, 384 voluntários foram examinados; 13 (3,3%) não completaram os exames e foram excluídos do estudo. Eles responderam a questionário padronizado e submeteram-se a exame clínico e ultrassonográfico do abdômen (US). Coletou-se sangue para a contagem de plaquetas. Os dados foram analisados no pacote estatístico SPSS, 18.0. A esquistossomose hepatoesplênica foi classificada em quatro grupos: (Grupo 1) baço >13cm e fibrose periportal ao US; (Grupo 2) baço palpável e >13cm ao US; (Grupo 3) baço >13cm ao US; e (Grupo 4) baço palpável. Vinte um pacientes tinham a forma hepatoesplênica da esquistossomose por todas as definições (5,5%). Havia 8 pacientes no Grupo 1 (2,1%), 21 no Grupo 2 (5,5%), oito no Grupo 3 (2,1%) e 18 no Grupo 4 (4,7%). Houve diferença significativa entre a média do número de plaquetas entre os hepatoesplênicos e os controles ($152.952/\text{mm}^3$ versus $237.275/\text{mm}^3$; $p < 0,01$). Utilizando-se a curva ROC para plaquetas $< 143.000/\text{mm}^3$ a sensibilidade e a especificidade foram de 92,3% e 75,0% para o Grupo 1; 93,4% e 47,6% para o Grupo 2; 92,4% e 75,0% para o Grupo 3; 93,0% e 44,4% para o Grupo 4, respectivamente. Considerando os nossos achados, concluiu-se que em área endêmica para esquistossomose com prevalência da doença de 23%, as plaquetas no sangue $< 143.000/\text{mm}^3$ identificam, com boa sensibilidade e especificidade regular, os pacientes com esquistossomose hepatoesplênica. Nos casos de triagem, naturalmente, a escolha deverá valorizar a sensibilidade.

1 - INTRODUÇÃO

A esquistossomose mansônica é causada pelo *Schistosoma mansoni*, trematódeo digenético que habita preferencialmente o sistema mesentérico humano. A sua fase crônica pode se manifestar pela forma hepatoesplênica, onde se observa hipertensão portal, cujas complicações constituem a principal causa de morbimortalidade da doença. Apesar das medidas de controle, observa-se ainda a persistência de áreas endêmicas de alta prevalência, nas quais a forma hepatoesplênica se desenvolve em cerca de 5% a 10% dos infectados.

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que quase 30% da população mundial estão expostos ao *S. mansoni*. No Brasil, a transmissão ocorre em 19 estados, numa faixa contínua ao longo do litoral, desde o Rio Grande do Norte até a Bahia, alcançando o interior de Minas Gerais e Espírito Santo. Minas Gerais é o estado com a maior área endêmica no país, onde a doença ocorre em 523 (61,0%) dos 853 municípios. O índice de positividade em 2007 foi de 4,4% de 475.236 pessoas examinadas.

As medidas de controle da parasitose estão orientadas pelo Ministério da Saúde através do Programa de Controle da Esquistossomose, cuja principal meta é diminuir a morbidade da doença, sobretudo pela redução da forma hepatoesplênica e óbitos secundários às complicações da hipertensão portal.

Acredita-se que a hipertensão portal na esquistossomose resulte da deposição de ovos do *S. mansoni* em ramos intra-hepáticos da veia porta, que desencadeiam resposta inflamatória granulomatosa, substituída ao longo do tempo por tecido fibroso. Como consequência da hipertensão portal pré-sinusoidal, surgem esplenomegalia e circulação colateral, como varizes esofágicas e hemorroidárias que podem levar a hemorragia digestiva e eventual disfunção hepática (LAMBERTUCCI e BARRAVIERA, 1994; PRATA, 2002).

Nos últimos anos, a definição clássica da forma hepatoesplênica da doença tem sido frequentemente questionada. Tradicionalmente, consideravam-se portadores da forma hepatoesplênica pacientes com exame parasitológico de fezes positivo para ovos de *S.*

mansoni e baço palpável (KLOETZEL, 1962). Logo em 1963, PRATA e colaboradores mostraram a ocorrência de intenso espessamento periportal e fibrose de Symmers em pacientes sem esplenomegalia submetidos à autópsia. Situação inversa foi demonstrada por LAMBERTUCCI e colaboradores (2001), que observaram esplenomegalia e fígados normais à US do abdome em moradores de área endêmica. A acurácia do exame físico na identificação da forma hepatoesplênica também foi questionada em estudo de MARINHO e colaboradores (2006). Ao compararem a palpação abdominal com o exame ultrassonográfico em 411 pacientes de área endêmica, os autores verificaram concordância moderada para o diagnóstico de esplenomegalia e ruim para o aumento do lobo direito do fígado.

Mais recentemente, SILVA e colaboradores (2007) compararam a US e a ressonância magnética (RM) do abdome na avaliação da morbidade da esquistossomose mansônica. Verificou-se concordância entre os dois métodos apenas moderada na identificação de “fibrose “ periportal, fraca na gradação subjetiva da intensidade da fibrose e insignificante na classificação das imagens de acordo com os padrões propostos pela OMS para a US do abdome. Em alguns casos estudados, o espessamento da parede da vesícula à US, considerado pela OMS critério importante para a presença de fibrose avançada, correspondia a tecido adiposo ao exame de RM.

Em 2008, VOIETA e colaboradores em estudo que comparou os métodos de imagem (US e RM do abdome) ao exame anátomo-patológico do fígado em portadores de formas graves da doença, também verificaram baixa concordância entre os métodos na gradação da intensidade da fibrose. De forma interessante, esse estudo mostrou paciente com grave hipertensão portal, volumosa esplenomegalia e hemorragia digestiva prévia, que apresentava leve fibrose de Symmers ao exame histopatológico.

Percebe-se, portanto, grande dificuldade na classificação correta da forma hepatoesplênica da esquistossomose, mesmo com o uso de métodos diagnósticos complexos e invasivos. Por outro lado, a identificação de indivíduos com a forma hepatoesplênica e, sobretudo daqueles com hipertensão portal, sujeitos a eventos hemorrágicos potencialmente fatais, permite a intervenção preventiva com minimização dos riscos e redução da morbimortalidade.

Recentemente, diversos estudos em esquistossomose ou em outras hepatopatias, têm buscado métodos menos invasivos, tanto para a avaliação da intensidade da fibrose hepática quanto na avaliação da hipertensão portal.

Na avaliação da fibrose hepática, a biópsia do fígado com o estudo anátomo-patológico é o exame considerado padrão-ouro. Entretanto, trata-se de método invasivo, passível de complicações hemorrágicas e com limitações técnicas (risco de obtenção de amostras pouco representativas, exame observador-dependente, colorações inadequadas, entre outras). Marcadores séricos não invasivos de fibrose têm mostrado boa correlação com o grau de fibrose verificado tanto em métodos de imagem, quanto em estudos anátomo-patológicos (FONTANA e LOK, 2002). Estas substâncias podem ser marcadores diretos do processo fibrogênico ou da fibrinólise, ou indiretos, que refletem de alguma forma o comprometimento hepático pela fibrose (AFDHAL e NUNES, 2004). Dentre os marcadores diretos estão os colágenos (peptídeo pró-colágeno III, pró-colágeno IV, peptídeo N-terminal do colágeno III, ácido hialurônico e a glicoproteína YKL-40). Estes marcadores foram estudados na esquistossomose, (ZWINGENBERGER *et al*, 1998; EBOUMBOU *et al*, 2005; KARDOFF *et al*, 1997; KAMAL *et al*, 2006) e na hepatite C; GUECHOT *et al*, 1996; SAITOU *et al*, 2005; HALFON *et al*, 2005) onde em geral são associados aos achados histopatológicos da biópsia hepática. Como marcador não invasivo indireto, tem-se destacado o índice APRI (relação aspartato-amino-transferase-AST/ plaquetas que tem mostrado boa relação, sobretudo com a presença de cirrose hepática em pacientes com hepatite C (REEDY *et al*, 1998; IMPERIALE *et al*, 2000, WAI *et al* , 2003; PATEL *et al*, 2004).

Na esquistossomose mansônica, o APRI foi avaliado em estudo preliminar feito por LAMBERTUCCI e colaboradores (2007). O índice mostrou boa correlação com a presença e a intensidade do espessamento peri-portal verificado à US de abdome. Entretanto, a contagem de plaquetas parece ter sido o fator principal associado ao grau de fibrose. A associação do índice APRI pode ter sido verificada apenas com a contagem de plaquetas e não com os níveis de AST, necessariamente. Os autores buscaram ampliar a amostra estudada, também em estudo ainda preliminar (dados não publicados), com a avaliação de 82 pacientes com esquistossomose mansônica, divididos em grupos com e sem imagem sugestiva de fibrose de Symmers à US do abdome. Houve diferença estatisticamente significativa entre os dois

grupos em relação à contagem de plaquetas. O nível de plaquetas abaixo de $140.000/\text{mm}^3$ apresentou sensibilidade e especificidade de 100% para a detecção de “fibrose” à US. Um aspecto importante deste estudo foi a presença de hipertensão portal em todos os pacientes que apresentavam fibrose, independente da intensidade da mesma. Desta forma, sugere-se que a diminuição das plaquetas poderia estar associada à presença de hipertensão portal e, não necessariamente à intensidade da fibrose de Symmers (SOUZA e BORGES, 2000).

Na avaliação da hipertensão portal, o método padrão-ouro constitui a medida direta da pressão da veia porta por meio de cateterização da mesma. Entretanto, também, constitui exame invasivo, oneroso, dependente de alta capacitação técnica, o que impossibilita sua utilização na prática clínica (DITTRICH *et al*, 2005). De forma indireta, a hipertensão portal pode ser medida através do gradiente de pressão venosa hepática e ultra-sonografia com Doppler. A endoscopia digestiva alta (EDA) pode viabilizar a medida da pressão intravariceal e estimar o risco de sangramento pelas varizes de esôfago.

Mais recentemente, a contagem sérica de plaquetas tem sido apontada como marcador não-invasivo da presença de hipertensão portal na cirrose por hepatites virais. Nestes casos, a redução das plaquetas poderia ser justificada pelo seqüestro esplênico, destruição auto-imune das plaquetas e diminuição da trombopoetina. Na esquistossomose, o hiperesplenismo parece ser a causa da plaquetopenia. Em estudo de PETROIANU e colaboradores, 2005, verificou-se a normalização dos níveis das plaquetas após o tratamento cirúrgico da hipertensão portal mesmo nos casos em que o baço havia sido preservado. Os autores sugerem que a plaquetopenia na esquistossomose não deve ser decorrente de hiperesplenismo, mas do represamento sanguíneo no baço e sistema porta. Outros autores sugerem que na esquistossomose ocorre consumo crônico de plaquetas para compensar a coagulação intravascular disseminada. O papel da trombopoetina, que encontra-se reduzida na hepatite C (KAWASAKI *et al*, 2000) não parece ter relevância na esquistossomose (SOUZA *et al*, 2002).

Estudos anteriores já tinham estabelecido a diminuição da contagem de plaquetas com a presença de hipertensão portal na esquistossomose, (SOUZA *et al* 2000). Entretanto, ainda não foram realizados estudos de campo em áreas endêmicas para avaliar se a contagem de

plaquetas realmente pode ser utilizada como método de triagem para a identificação de pacientes com esquistossomose hepatoesplênica.

O objetivo do presente estudo é avaliar a importância de marcadores não-invasivos de fibrose em pacientes que tenham esquistossomose hepatoesplênica em área endêmica de esquistossomose. Se estes achados forem confirmados abre-se um novo capítulo na avaliação da morbidade da doença no campo (forma hepatoesplênica). Nos estudos de campo, os marcadores de fibrose/hipertensão porta (plaquetas) poderiam ajudar a selecionar (triagem) os indivíduos que deveriam então ser examinados pelo médico seguido de exames de imagem para terem o seu diagnóstico confirmado. As etapas assinaladas, a seguir, exemplificam o processo: 1) área endêmica de esquistossomose (há formas graves?); 2) marcadores de fibrose/hipertensão porta (positivos em 10% dos casos); 3) exame clínico e ultrassonográfico dos indivíduos identificados pelos marcadores (confirmam ou não os casos). 4) exclusão de outras doenças.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

O *S. mansoni*, trematódeo digenético, se instala preferencialmente no sistema venoso mesentérico do homem. Quando o ovo deste verme atinge os segmentos intra-hepáticos da veia porta, desencadeia reação inflamatória granulomatosa. Posteriormente, o infiltrado inflamatório é substituído por tecido fibroso e se estabelece fibrose periportal, característica da forma hepatoesplênica da esquistossomose.

Hipertensão portal pré-sinusoidal pode se desenvolver e, como conseqüência, podem surgir esplenomegalia e circulação colateral, como varizes esofagianas e hemorroidárias, culminando com hemorragia digestiva e eventual disfunção hepática (LAMBERTUCCI e BARRAVIERA, 1994; PRATA,2002).

O diagnóstico da infecção esquistossomótica consiste na demonstração da presença de ovos do *S.mansoni* em fezes ou tecidos. Para tanto, se utilizam o exame parasitológico de fezes (EPF) ou a biópsia retal. Eventualmente pode se lançar mão da biópsia hepática ou de outro órgão acometido. Entretanto, por se restringir ao espaço periportal e não acometer difusamente o fígado, os granulomas periovulares podem não estar presentes no material biopsiado (CHEEVER,1968; MAHARAJ *et al* ,1986). Entre os exames indiretos para diagnóstico da doença, a sorologia mostra-se capaz de identificar exposição ao verme, sem significar doença ativa. A ultrassonografia (US) abdominal representa método indireto de diagnóstico, mas também auxilia na classificação da forma clínica da doença (FATAAR *et al*, 1984; PINTO-SILVA *et al*, 1994; RICHTER *et al*,2001).

Até aproximadamente 20 anos atrás, os estudos de campo distinguiam os indivíduos hepatoesplênicos daqueles com outras formas de esquistossomose crônica basicamente através da presença de esplenomegalia na palpação abdominal (KLOETZEL, 1962). Nas últimas duas décadas, alguns estudos comparando a palpação do baço com métodos mais eficazes para o diagnóstico de esplenomegalia (cintilografia e US) têm mostrado limitações na palpação abdominal (BARKUN *et al*,1991) inclusive em áreas endêmicas de esquistossomose

(LAMBERTUCCI *et al*, 1996; GERSPACHER-LARA *et al*,1998;MARINHO *et al*, 2006). Em um amplo estudo com 741 indivíduos portadores de esquistossomose em área endêmica em Minas Gerais, publicado por LAMBERTUCCI e colaboradores (2001), a US identificou 15 pessoas (2%) com espessamento periportal intenso e sem baço palpável, mostrando que a fibrose hepática intensa pode ocorrer sem hepatoesplenomegalia, e que indivíduos com esquistossomose grave não foram incluídos em estudos prévios de morbidade. Fibrose de *Symmers* em paciente sem esplenomegalia já havia sido descrita em estudos anátomo-patológicos (PRATA e ANDRADE, 1963; ANDRADE e BINA, 1983). Ainda no estudo de LAMBERTUCCI e colaboradores, entre outras 71 pessoas com baço palpável, 30 tinham fígado normal ao US. Portanto, a definição de esquistossomose hepatoesplênica em estudos de campo baseada no achado de ovos de *S.mansoni* nas fezes em indivíduo com hepatoesplenomegalia diagnosticada pelo exame físico, não é mais aceitável.

Estes são exemplos de que o advento de novas técnicas, cada vez mais sensíveis e específicas, permite vislumbrar nova perspectiva na abordagem e na compreensão da morbidade da esquistossomose. A ressonância magnética (RM) tem se revelado como método de imagem muito sensível em diversas doenças e, diferentemente da US, não se constitui em exame dinâmico e pode estar menos sujeito à variabilidade intra e inter-examinador. Encontram-se relatos da utilização da RM na forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni (PATEL *et al*, 1993; WILLEMSSEN *et al*, 1995; LAMBERTUCCI *et al*, 2002; LAMBERTUCCI *et al*, 2004;SILVA *et al*,2006), e em estudos com 28 portadores da forma grave da doença (BEZERRA *et al*, 2004; BEZERRA *et al*, 2007). Os dois primeiros estudos utilizaram US, tomografia computadorizada (TC) e RM do abdome na avaliação de paciente com esquistossomose hepatoesplênica. Ambos encontraram resultados concordantes entre os diferentes métodos. Descreveram-se hiperecogenicidade periportal na US, sugestiva de fibrose, e hipodensidade na TC, com intensa acentuação após administração de contraste. A RM revelou hiperintensidade do sinal periportal nas imagens ponderadas em T2, e isointensidade em relação ao parênquima hepático normal nas imagens ponderadas em T1, com acentuação do sinal após a administração de gadolínio. A hiperintensidade do sinal periportal nas imagens ponderadas em T2 sugere alteração inflamatória, com edema. Nas fases tardias da doença, quando fibrose e circulação colateral predominam, a hiperintensidade do sinal nas imagens ponderadas em T2 se reduz. Desta forma, as imagens por RM,

especialmente aquelas ponderadas em T2, podem auxiliar na investigação de atividade inflamatória periportal, diferenciando-a da fibrose. LAMBERTUCCI e colaboradores (2002 e 2004) também encontraram resultados concordantes entre US e a RM, porém enfatizam a maior sensibilidade e objetividade do segundo método. BEZERRA e colaboradores (2004 e 2007) avaliaram as alterações morfológicas hepáticas e esplênicas e os achados angiográficos na RM em 28 portadores de esquistossomose mansoni hepatoesplênica grave. Os autores não compararam este método à US, mas encontraram boa concordância intra-observador e entre dois examinadores independentes, concluindo que a RM apresenta elevada reprodutibilidade na avaliação de pacientes com esquistossomose mansoni hepatoesplênica grave. Os autores descreveram aumento do lobo hepático esquerdo e caudado, associado a alargamento de fissuras, irregularidade de contornos hepáticos, presença de vasos na periferia do fígado, fibrose periportal, esplenomegalia e nódulos sideróticos no baço. A angiografia destes pacientes revelou circulação colateral secundária à hipertensão portal em 75% dos casos.

Por ser mais sensível, menos sujeita à influência do observador e talvez mais específica, a RM poderia auxiliar na definição dos casos identificados pela US como sugestivos de fibrose periportal leve ou moderada. Questionamos também se este método não poderia nos surpreender detectando alterações compatíveis com fibrose periportal em pacientes com US normal, o que já foi detectado pela Dra. Luciene Mota Andrade (comunicação pessoal). Além disso, representa método mais eficiente para identificar colaterais naturais da circulação portal, que poderiam explicar os quadros de fibrose periportal intensa sem esplenomegalia. Finalmente, devemos lembrar que o aspecto ultrassonográfico e tomográfico não é específico da esquistossomose hepática; imagens semelhantes foram descritas no sarcoma de Kaposi hepático na SIDA, na sarcoidose e em pacientes pós-quimioterapia (LUBURICH *et al*, 1990; HAMMERMANN *et al*, 1991; MERGO & ROS, 1998). Portanto, a RM pode ser método mais sensível (e, eventualmente, mais específico) na identificação de estágio, progressão da doença e resposta terapêutica na esquistossomose.

2.2- ESQUISTOSSOMOSE HEPATOESPLÊNICA (Quadro 1)

Esquistossomose hepatoesplênica é a forma crônica da doença e geralmente resulta da infecção por *Schistosoma mansoni*. Os fatores genéticos provavelmente predispõem certos indivíduos a desenvolver a esquistossomose hepatoesplênica. O aumento do fígado e do baço na infecção por *S. mansoni* é um processo patológico em evolução. O alargamento hepático é clinicamente reconhecido em 2 ou 3 décadas. A fibrose de Symmers nunca foi relatada em crianças menores de 6 anos. Na maioria dos indivíduos com esquistossomose hepatoesplênica o baço está aumentado de tamanho. Esplenomegalia é resultado da congestão passiva crônica e hiperplasia do sistema reticuloendotelial. Não é difícil definir o diagnóstico da EHE avançada em pacientes internados em hospital.

Quadro 1 – Classificação da Esquistossomose mansoni

Fase inicial

Dermatite cercariana

Aguda (aparente, inaparente)

Fase crônica

Hepatointestinal

Hepática

Hepatoesplênica

Complicações

Vasculopulmonar

Envolvimento renal (glomerulonefrite)

Neurológica (mielite transversa e tumoral)

Associação com bactérias (salmonelas, estafilococos)

Associação com as hepatites virais (B e C)

Esquistossomose no hospedeiro imunocomprometido

Ectópicas

Fonte: COURA, 2005

Pode ser difícil, no entanto, a identificação de indivíduos com esquistossomose hepatoesplênica em estudos de campo. Estes indivíduos podem ser distinguidos dos outros com esquistossomose hepatointestinal basicamente pela presença de esplenomegalia e isso tem sido tentado por palpação abdominal (GERSPACHER LARA *et al*). A presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes e baço palpável em paciente residente em área endêmica não é suficiente para identificação de pessoas com esquistossomose hepatoesplênica.

Hoje em dia a disponibilidade geral de ultrassom portátil melhora a precisão clínica. Na área endêmica descrita acima, pelo menos, quatro grupos de indivíduos foram identificados usando os dados obtidos por palpação abdominal e ultrassom. 1- baço palpável e espessamento periportal 2- baço aumentado ao ultrassom e palpável 3- baço aumentado ao ultrassom 4 – baço palpável com fígado normal ao ultrassom.

2.3-PLAQUETAS

Os **trombócitos**, também chamados de plaquetas são corpúsculos anucleados que estão presentes na corrente sanguínea, produzidos a partir da megacariocitopoiese que ocorre na medula óssea. Elas possuem formato discoidal, com diâmetro que varia de 2-4 μ m e são provenientes da fragmentação citoplasmática de megacariócitos, sendo que cada uma destas células pode originar de 2 a 80 mil plaquetas em um período de 3 a 12 dias. O estímulo para a produção dos trombócitos se dá através de um hormônio produzido no fígado, a trombopoetina.

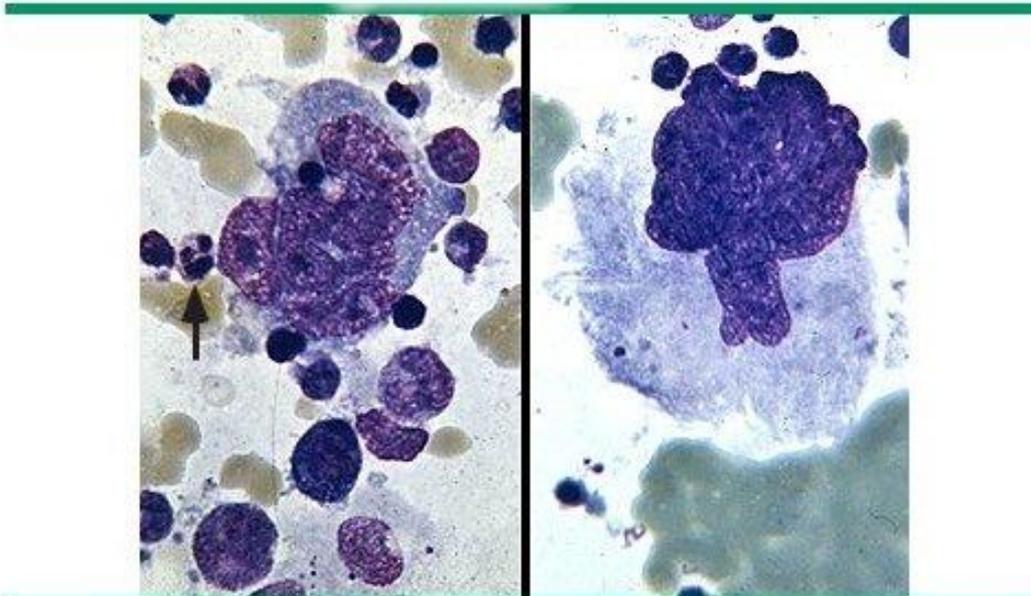


Figura 1- Megacariócitos na medula óssea

Fonte: UptoDate (ver http://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=HEME%2F55409&topicKey=HEME%2F6680&rank=1%7E150&source=see_link&search=trombocitopenia&utdPopup=true).

Plaquetas formam-se pela fragmentação das extremidades das extensões do citoplasma do megacariócito. O valor de referência para a contagem de plaquetas é de 250.000/mm³ (limites de 150.000 a 400.000/mm³) e a sobrevivência plaquetária média é de 7 a 10 dias. Até um terço das plaquetas produzidas pela medula podem ser retidas no baço normal, mas pode chegar a 90% em casos de esplenomegalia maciça (Figura 2).

A principal função das plaquetas é a formação do tampão mecânico durante a resposta hemostática normal à lesão vascular. Na ausência de plaquetas pode ocorrer vazamento espontâneo de sangue de pequenos vasos. A imobilização das plaquetas nos sítios de lesão vascular requer interações específicas plaqueta-parede vascular (adesão) e plaqueta-plaqueta (agregação). As condições de fluxo sanguíneo determinam as interações entre os ligantes e receptores específicos.

Agregação plaquetária – Caracteriza-se por ligação cruzada das plaquetas por meio de receptores ativos de glicoproteína IIb/IIIa com pontes de fibrinogênio. Uma plaqueta em repouso tem cerca de 50.000 a 80.000 receptores de GPIIb/IIIa que não ligam fibrinogênio, fator Von Willebrand nem outros ligantes.

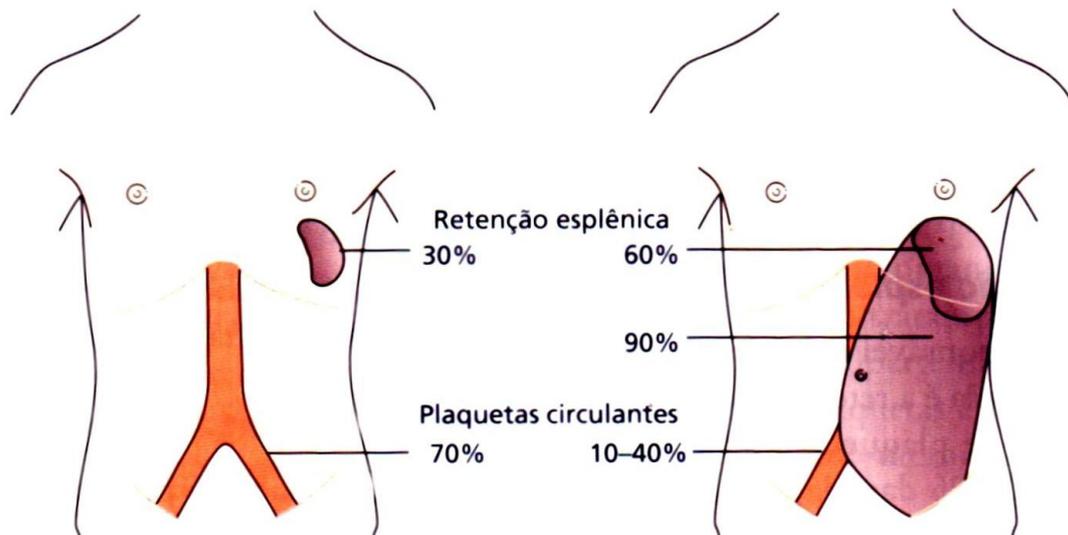


Figura 2 - Distribuição de plaquetas entre a circulação e o baço em indivíduos normais (esquerda) e pacientes com esplenomegalia moderada e márcia **Fonte:** HOFFBRAND,2013

2.4-PLAQUETOPENIA

Plaquetopenias são decorrentes da diminuição de produção pela medula óssea, do aumento de destruição e de outras causas, como seqüestro esplênico. Usualmente, recorre-se ao mielograma para classificar as plaquetopenias. O aumento do número de megacariócitos indica destruição ou consumo, e a sua diminuição indica menor produção. Geralmente, contagens plaquetárias superiores a 50.000/dL não são acompanhadas de sangramentos, que são apenas esperados com contagens inferiores a 20.000/mm³. As transfusões de concentrados plaquetários não devem ser baseadas apenas nos exames.

O sangramento anormal associado a trombocitopenia ou função anormal das plaquetas é caracterizado por púrpura cutânea espontânea, hemorragia das mucosas e sangramento

prolongado após traumatismo. As principais causas de trombocitopenia estão relacionadas nas tabelas 1 e 2.

Pseudotrombocitopenia

Pseudotrombocitopenia consiste na contagem baixa de plaquetas em amostras de sangue colhidas em etilenedinitrilotetraacetato (EDTA). Essa diminuição é conseqüente à aglutinação das plaquetas ou, mais raramente, à formação de rosetas de plaquetas em torno dos neutrófilos, um fenômeno referido como *satelitismo plaquetário*. A natureza fisiopatológica da pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA é, ainda, incerta. No entanto, tem sido proposto que auto-anticorpos presentes no plasma, na presença de EDTA, reconhecem e se ligam a um epitopo da glicoproteína IIb (GPIIb), integrante do complexo GPIIb/IIIa da superfície plaquetária, promovendo a aglutinação das plaquetas. Na Figura 3 as setas mostram os grupos de plaquetas em esfregaço sanguíneo.

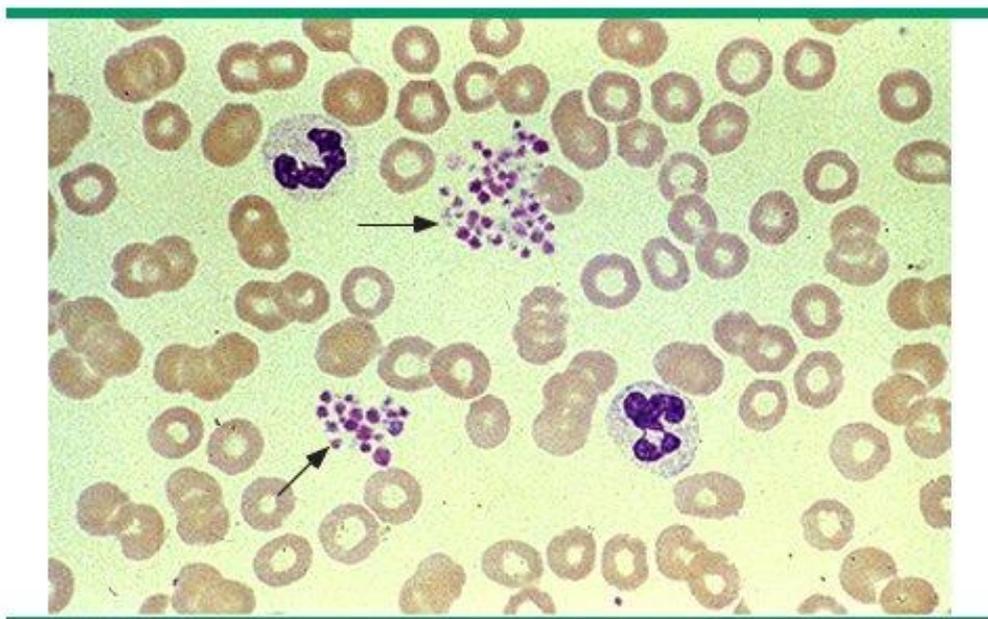


Figura 3 – Esfregaço sanguíneo com grupos de plaquetas.

Tabela 1 -Causas de plaquetopenia*

Insuficiência de produção de plaquetas	
Depressão seletiva de megacariócitos	raros defeitos congênitos fármacos agentes químicos infecções virais
Parte de insuficiência global da medula óssea	fármacos citotóxicos radioterapia leucemia síndromes mielodisplásicas mielofibrose infiltração da medula óssea mieloma múltiplo anemia megaloblástica infecção por HIV
Imunológico	autoimune idiopática associada a lúpus eritematoso sistêmico infecções: <i>H. pylori</i> , HIV, HCV, outros vírus, malária induzida por fármaco:heparina púrpura pós-transfusional trombocitopenia aloimune materno fetal
Coagulação intravascular disseminada Púrpura trombocitopênica trombótica	
Distribuição anormal de plaquetas	
Esplenomegalia (doença hepática)	
Perda dilucional	
Transusão maciça de sangue	

*modificado de HOFFBRAND 2013.

Como vimos a plaquetopenia identifica pacientes com esquistossomose hepatoesplênica em clínica especializada em formas graves. Este estudo se propõe a testar o melhor valor da plaquetopenia como marcador de fibrose hepatoesplênica no campo.

3- OBJETIVOS

Objetivo geral:

- Avaliar se a plaquetopenia pode ser marcadora da esquistossomose hepatoesplênica em área endêmica do nordeste de Minas Gerais, Brasil.

Objetivos específicos:

- Avaliar se há associação entre plaquetopenia e forma hepatoesplênica da esquistossomose.
- Avaliar a associação entre a plaquetopenia e as definições de esquistossomose hepatoesplênica.
- Definir, nos pacientes com esquistossomose hepatoesplênica, qual o número de plaquetas abaixo do valor normal que apresenta maior sensibilidade e especificidade na identificação desta forma clínica da doença.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 HISTÓRICO

4.1.1 **ÁREA DE ESTUDO.** Foi selecionada área endêmica na macrorregião nordeste: Topázio (Teófilo Otoni). Topázio é distrito de Teófilo Otoni (nordeste do Estado de Minas Gerais), localizado a 30 km da sede, com população de 1.543 pessoas. Esta área nunca fora submetida a tratamento em massa e fornecia infra-estrutura (posto de saúde, transporte, agentes de saúde, realização de exames complementares e atendimento dos pacientes em Teófilo Otoni quando necessário) adequada para o estudo.

4.1.2 **CARACTERIZAÇÃO DA ENDEMIA.** A caracterização da doença na população incluiu o diagnóstico parasitológico realizado pela Secretaria de Estado de Saúde.

Diagnóstico parasitológico. Utilizou-se o método de Kato-Katz, com uma amostra de fezes com duas lâminas de todos os moradores de Topázio (1.543 pessoas). A leitura das lâminas foi efetuada por técnico de laboratório integrante do Programa de Controle da Esquistossomose da Superintendência Regional de Saúde de Teófilo Otoni, da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais.

Diagnóstico clínico. O exame clínico identificou as seguintes formas clínicas da doença:

- a) hepatointestinal: fígado não palpável ou palpável e sem alterações significativas.
- b) hepática: fígado palpável com fibrose ao US e de consistência aumentada.
- c) hepatoesplênica: fígado e baço palpáveis.
- d) hepatoesplênica pós-cirúrgica: esplenectomizados (cicatriz abdominal) com história de esquistossomose hepatoesplênica.
- e) Hepatoesplênica: baço palpável.

Diagnóstico ultrassonográfico: espessamento periportal característico da fibrose hepática encontrada na esquistossomose; seguindo o padrão proposto pela OMS ("patterns"). A maioria da população não tinha fibrose hepática.

4.2 PACIENTES

4.2.1 CENSO POPULACIONAL. A população estimada de Teófilo Otoni é de 123.000 habitantes (IBGE, 2007) e a de Topázio, de 1543, segundo dados da Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

4.2.2. AMOSTRA. Trata-se de estudo transversal realizado em julho de 2012. Na ocasião, 400 habitantes do Distrito de Topázio foram selecionados. Eles tinham idade acima de 16 anos, exame parasitológico de fezes positivo ou negativo para *Schistosoma mansoni*. Fez-se divulgação do estudo para a população através dos agentes comunitários de saúde de Topázio.

O cálculo amostral para a realização das contagem de plaquetas foi realizado estimando-se um erro α de 0,05, poder de 0,90 e razão de alocação de 1:1 (BROWNER *et al.*, 2006). De acordo com essas premissas, para a diferenciação dos grupos com fibrose hepática. Deveriam ser examinados 320 indivíduos. Definimos como grupo caso os pacientes com baço palpável e/ou baço >13cm com ou sem fibrose agrupada ao ultrassom (diâmetro longitudinal) e grupo controle os indivíduos sem baço palpável e/ou baço <13 cm ao ultrassom (diâmetro longitudinal).

No presente estudo classificamos a esquistossomose hepatoesplênica em quatro grupos: (1) baço palpável e fibrose periportal; (2) baço palpável e >13cm ao US; (3) baço >13cm ao US (4) baço palpável.

A classificação quanto à presença e grau de fibrose seguiu padronização adotada pela Organização Mundial de Saúde - OMS (CAIRO WORKING GROUP, 1992).

No fluxograma a seguir é possível acompanhar o desenvolvimento do trabalho realizado na área endêmica.

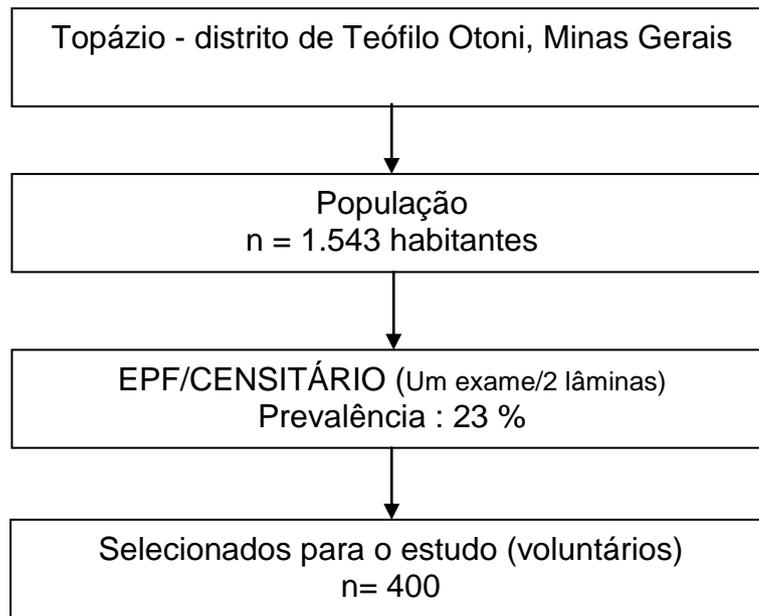


Figura 4 - Fluxograma da amostragem dos pacientes

4.3 MÉTODOS

4.3.1 EXAME CLÍNICO

Anamnese. A anamnese foi realizada através de questionário padronizado, aplicado por alunos de iniciação científica treinados e supervisionado pelos médicos responsáveis pelo exame físico (ver questionário no anexo 1). Os dados coletados incluíram características clínico-epidemiológicas relacionadas à morbidade por esquistossomose e outras doenças hepáticas. Os pacientes foram questionados sobre tratamento prévio para esquistossomose, sangramento digestivo, hemotransusão, injeções, tratamento odontológico prévio e ingestão de bebidas alcoólicas.

Exame físico. O exame físico foi realizado por um único médico. Registraram-se os dados de ectoscopia, peso, altura e tensão arterial, frequência cardíaca e respiratória e ausculta cardíaca e pulmonar. No exame do abdome, foi verificada a presença de ascite, circulação colateral e outros estigmas de doença hepática. A palpação do lobo direito do fígado se fez na linha hemiclavicular direita abaixo do rebordo costal e do lobo esquerdo do fígado abaixo do apêndice xifóide, ambos em decúbito dorsal. A palpação do baço fez-se abaixo do rebordo

costal esquerdo, em decúbito dorsal ou em posição de Schuster (SOUZA, 2004). Nos casos em que o órgão ultrapassou a referência óssea, a porção do órgão palpável abaixo desta marca foi medida em centímetros. Nos casos em que fígado ou baço foram palpados, a avaliação de sua consistência foi registrada como normal ou endurecida. Nos casos de fígado palpável, além da consistência, a avaliação de sua superfície, se lisa ou nodular foi anotada.

4.3.2 ULTRASSOM

A ultrassonografia foi realizada por profissional treinado na aplicação do protocolo de Niamey-Belo Horizonte (NIAMEY WORKING GROUP, 2000). Utilizou-se aparelho portátil GE Logic Book, com transdutor convexo polifrequencial de 2,5 a 5 MHz, que permite o armazenamento dos exames em formato Dicom em dados brutos (protocolo específico para imagens médicas, sem perda de qualidade) para uma possível reavaliação.

Os dados quantitativos registrados incluem a medida do diâmetro longitudinal dos lobos direito e esquerdo do fígado e do baço, a espessura da vesícula biliar, o calibre das veias porta, esplênica e mesentérica superior, a espessura da parede portal no hilo hepático e em sua bifurcação e a espessura da parede do ramo portal de segunda ordem. Os dados qualitativos registrados são a presença de linfonodos, o aspecto do contorno hepático, a presença e distribuição da fibrose periportal, a presença e o tipo de circulação colateral.

O quadro 2 será utilizado, caso necessário, para correção dos valores do tamanho do baço.

Quadro 2 - Valores normais para mensuração esplênica em crianças.

Comprimento do baço (cm)				
Idade	Percentil 10	Média	Percentil 90	Limite máximo
0 – 3 meses	3,3	4,5	5,8	6,0
3 – 6 meses	4,9	5,3	6,4	6,5
6 – 12 meses	5,2	6,2	6,8	7,0
1 – 2 anos	5,4	6,9	7,5	8,0
2 – 4 anos	6,4	7,4	8,6	9,0
4 – 6 anos	6,9	7,8	8,8	9,5
6 – 8 anos	7,0	8,2	9,6	10,0
8 – 10 anos	7,9	9,2	10,5	11,0
10 – 12 anos	8,6	9,9	10,9	11,5
12 – 15 anos	8,7	10,1	11,4	12,0
15 – 20 anos				
Feminino	9,0	10,0	11,7	12,0
Masculino	10,1	11,2	12,6	13

Fonte: Rosenberg,1991

4.3.3 HEMOGRAMA

Foram colhidos 10 ml de sangue de cada paciente por punção venosa. O soro separado por centrifugação após coagulação, foi dividido em três alíquotas e estocado a -20°C . As amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo para o transporte até Belo Horizonte e, após a chegada, novamente armazenadas a -80°C .

Hemograma: Foi realizado hemograma completo, com contagem de plaquetas de forma automatizada, em equipamento ABX- Pentra 60 C+ no laboratório do Hospital São Vicente de Paula em parceria com a Secretaria Municipal de Saúde de Teófilo Otoni.

4.3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Criou-se banco de dados com o programa Epiinfo versão 3.5.4 (Atlanta), com entrada dupla para avaliar a consistência do banco de dados. As análises iniciais foram conduzidas no EPIINFO e depois no programa SPSS-versão 18.

A análise descritiva das variáveis incluiu a distribuição de frequências. As diferenças de proporções entre os grupos com esquistossomose hepatoesplênica (Grupo 1) e hepatointestinal (Grupo 2) foram verificadas pelo teste do qui^2 com correção de Yates ou teste exato de Fisher. As variáveis contínuas foram analisadas pelas medidas de tendência central e de variabilidade. As diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de Mann-Whitney nos casos de medidas com grande variabilidade.

Curvas ROC. A metodologia da curva ROC foi utilizada para a definição da acurácia diagnóstica e do melhor valor de corte para a contagem de plaquetas na previsão da forma hepatoesplênica considerando todas as definições. Essa curva é uma representação gráfica da sensibilidade *versus* um menos a especificidade de todos os valores medidos e permite a escolha do valor mais apropriado para definir um teste positivo. A área sob a curva (AUC-sigla em inglês) significa a acurácia do índice para diagnosticar um caso positivo e varia de zero a um. Uma AUC de 0,5 é igual a uma linha diagonal partindo do ponto 0,0, indica que o índice não tem poder de predição. Uma AUC igual a um indica um perfeito poder de predição (ZHOU; OBUCHOWSKI; McCLISH, 2002).

Análise univariada A análise univariada foi realizada utilizando-se o teste *t* de *Student* para as variáveis contínuas e o teste do X^2 para as variáveis categóricas. Foi realizada análise de correlação através do coeficiente de Pearson para as variáveis paramétricas e de Spearman para os dados não paramétricos. Adotou-se o nível de 5% para todas as análises.

4.3.5- LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

O levantamento bibliográfico foi feito primariamente através de consulta às bases eletrônicas de dados MEDLINE e Scielo utilizando o cruzamento de palavras-chaves: “liver fibrosis”, “schistosomiasis”, “fibrosis markers”, “hyaluronic acid”, “platelets and schistosomiasis”. A revisão cobriu o período de 1977 a 2013.

4.3.6- CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto “*Schistosoma mansoni*: marcadores de fibrose no sangue de pacientes de área endêmica de Minas Gerais, Brasil” foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais e pela Secretaria Municipal de Teófilo Otoni. O estudo foi registrado no Sistema Nacional de Ética em Pesquisa (SISNEP).

Todos os participantes foram informados e forneceram consentimento por escrito para a inclusão na pesquisa (Anexo).

Todos os procedimentos (exame clínico, ultrassom e coleta e processamento das amostras de sangue) foram realizados em posto de saúde do município sede, com a concordância da autoridade de saúde local.

5 -RESULTADOS

As características demográficas da população encontram-se resumidas na Tabela 2. Havia mais mulheres do que homens (mulheres=63%). Seguindo a definição de forma hepatoesplênica encontramos no Grupo 1, 21 pacientes (5,46%). O grupo 2 é constituído de 363 indivíduos sem a forma hepatoesplênica da esquistossomose (ver tabela 2). Treze indivíduos (3,2%) foram excluídos porque não completaram os exames necessários.

Tabela 2- Dados demográficos e de exame físico de 384 moradores do Distrito de Topázio em Teófilo Otoni, Minas Gerais, examinados em julho de 2012

Dados demográficos e dados vitais dos indivíduos estudados	Pacientes com esquistossomose hepatoesplênica n= 21		Pacientes sem esquistossomose hepatoesplênica n= 363		p
	Nº (%)	Mediana Valor min/max	Nº (%)	Mediana Valor min/max	
Sexo - masculino	8 (38)		136 (37)		0,924
Idade - anos		51 (16 - 79)		37 (16 - 97)	0,004
Peso - Kg		59 (31 - 83)		58 (29 - 103)	0,994
Altura - cm		157 (134 - 169)		158 (135 - 193)	0,097
Frequência cardíaca - bpm		80 (52 - 124)		80 (40 - 160)	0,668
Pressão arterial diastólica-mmHg		88 (60 - 120)		80 (50 - 140)	0,273
Pressão arterial sistólica - mmHg		140 (100 - 200)		130 (85 - 250)	0,491

A média da contagem de plaquetas nos grupos com esquistossomose hepatoesplênica e no grupo sem esta forma da doença foram, respectivamente, $152.952/\text{mm}^3$ (DP $66\ 341/\text{mm}^3$) e $237.275/\text{mm}^3$ (DP $84\ 345/\text{mm}^3$) ($p<0,01$).

Neste estudo a EHE foi classificada em quatro grupos: (1) baço palpável, fibrose periportal ($n=8$); (2) baço palpável e $>13\text{cm}$ ao US ($n=21$); (3) baço $>13\text{cm}$ ao US ($n=8$); 4) baço palpável (18).

Após a definição de esquistossomose hepatoesplênica feita acima procuramos, usando a curva ROC, o ponto de corte do número de plaquetas que indicasse maior sensibilidade e especificidade para cada definição.

Na Figura 5 apresentamos o fluxograma dos resultados.

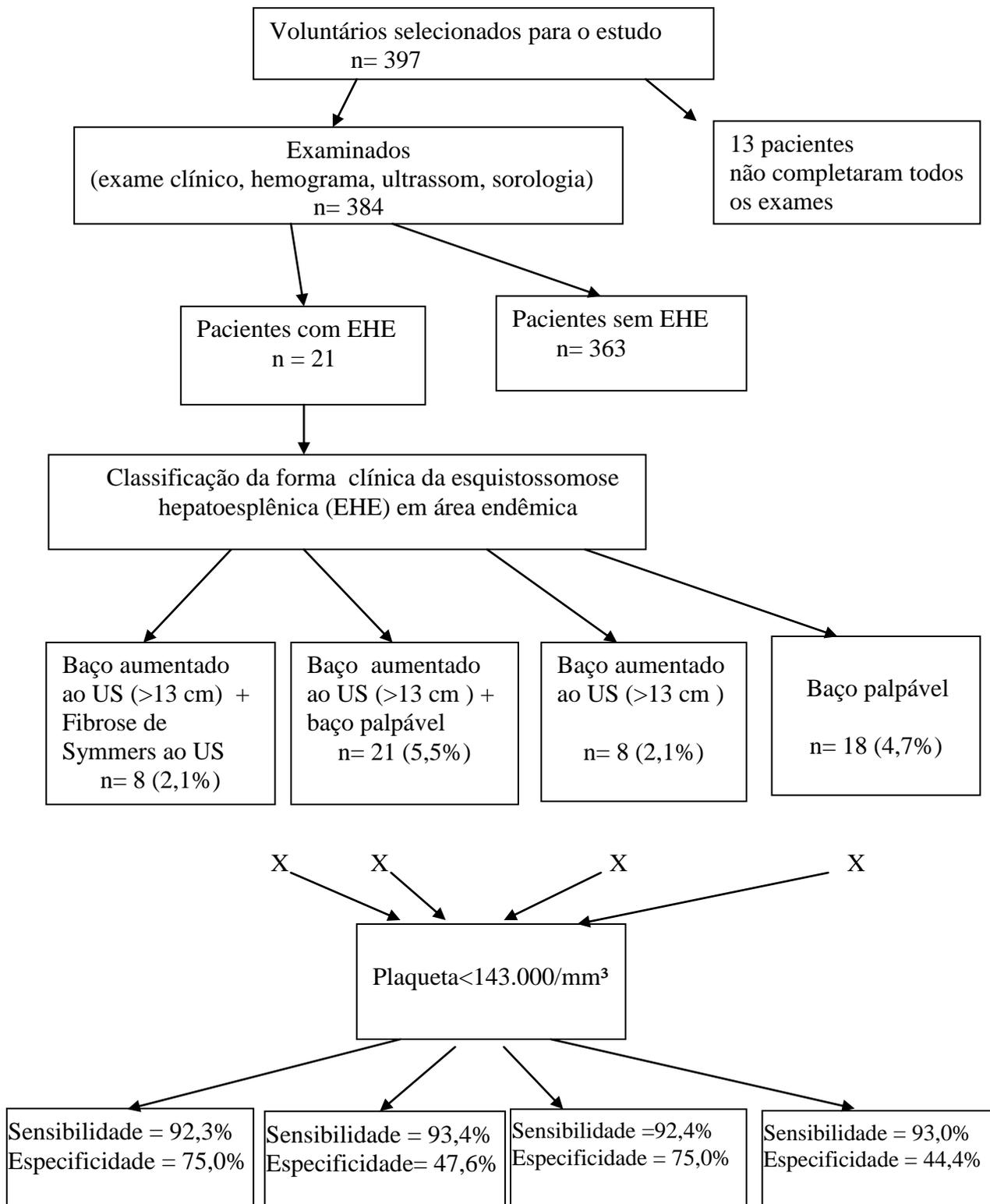


Figura 5 – Fluxograma dos resultados

EHE- esquistossomose hepatoesplênica, US - ultrassom

Usando a definição 1 (definição clássica), oito pacientes tinham fibrose hepática com o baço aumentado ao US. Estes, são oito entre 21 hepatoesplênicos (38%) ou oito de 384 indivíduos da população geral examinada (2,1%). Houve diferença estatisticamente significativa entre hepatoesplênicos e o grupo sem a doença ($p < 0,001$). A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $< 143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 1 foi de 92,3% e 75%, respectivamente (Figura 6). Isto significa que em área endêmica com prevalência da doença de 23% com um exame parasitológico de fezes (com duas lâminas) espera-se encontrar 2,1% de indivíduos com a forma hepatoesplênica clássica.

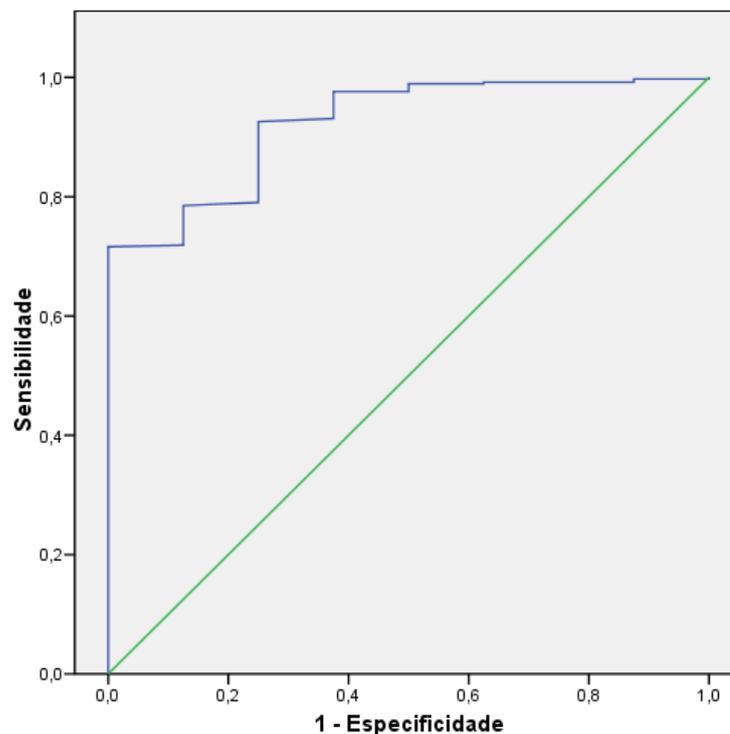


Figura 6. A área sob a curva foi de 92,3% para o grupo 1 (baço $> 13\text{cm}$ ao US associado à fibrose - $p < 0,001$). IC (85 a 99,5)

Usando a definição 2, 21 tinham o baço palpável e ele era $> 13\text{cm}$ ao US. Estes, são 21 entre 21 hepatoesplênicos (100%) ou 21 de 384 indivíduos da população geral examinada (5,5%). A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $< 143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 2 foram de 93,4% e 47,5%, respectivamente (Figura 7).

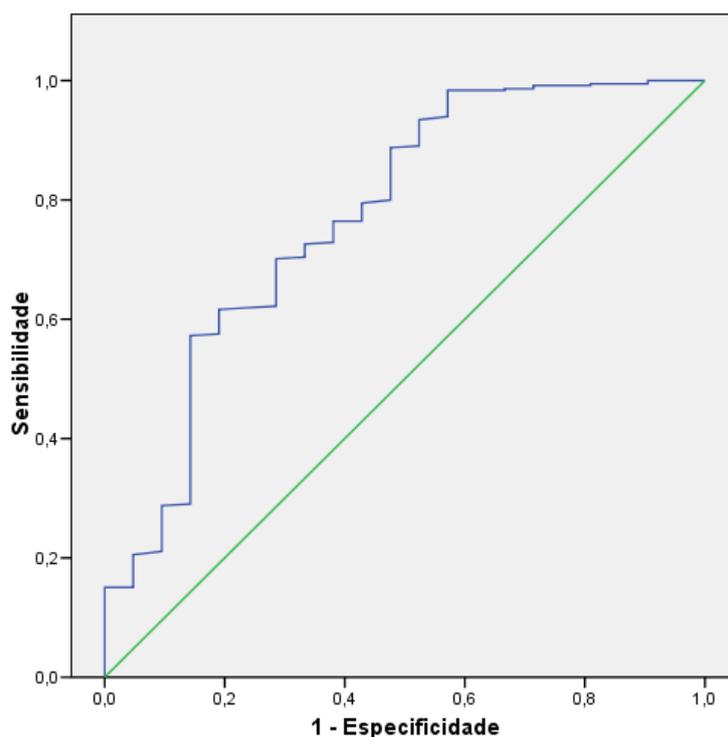


Figura 7. A área sob a curva foi de 77,2% para o grupo 2 (baço >13cm ao US + baço palpável - $p < 0,001$).
 IC (65,5 a 88,8)

Usando a definição 3, oito tinham o baço >13cm ao US. Estes, são oito entre 21 hepatoesplênicos (38%) ou oito de 384 indivíduos da população geral examinada (2,1%). A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $< 143.000\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 3 foram de 92,4% e 75%, respectivamente (Figura 8).

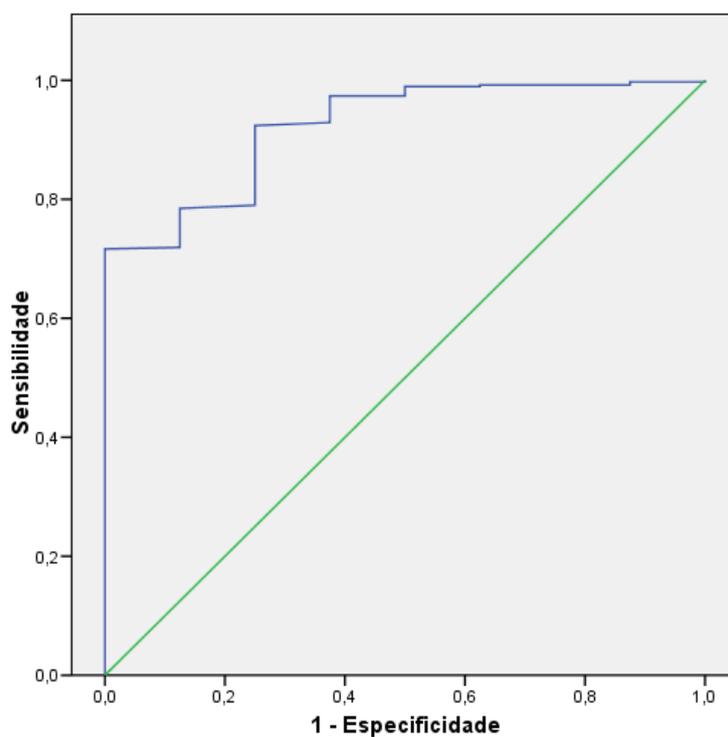


Figura 8. A área sob a curva foi de 92,2% para o grupo 3 (baço >13cm ao US - $p < 0,001$). IC (85 a 99,4)

Usando a definição 4, 18 tiveram o baço palpado. Estes, são 18 de 21 hepatoesplênicos (85,7%) ou 18 de 384 indivíduos da população geral examinada (4,7%). A sensibilidade e a especificidade deste número de plaquetas $< 143.000 \text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 4 foi de 93% e 44,4%, respectivamente (Figura 9).

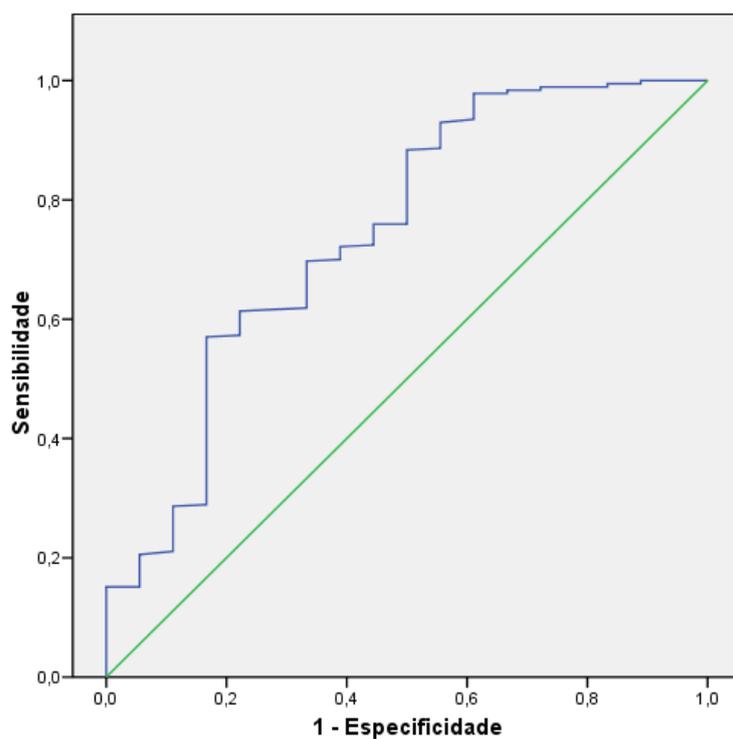


Figura 9. A área sob a curva foi de 74,4% para o grupo 4 (baço palpável - $p < 0,001$).
IC (48,5 a 80,4)

Tabela 3 – Resultados da curva ROC considerando diferentes definições da forma hepatoesplênica.

Definição	Área curva IC	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
1	92,3 (85,0 – 99,5)	52,3	75,0
2	77,2 (65,5 – 88,8)	93,4	47,6
3	92,2 (85,0 – 99,4)	92,4	75,0
4	74,4 (48,5 – 80,4)	93,0	44,4

6-DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo de campo que mostra o valor da contagem de plaquetas como marcador de EHE em área endêmica. Estudos anteriores realizados em hospitais (SOUZA,BORGES,2000), Ribeirão Preto mostrou que o número de plaquetas era menor em indivíduos com esquistossomose e hipertensão porta e sugere o uso das plaquetas como marcador de hipertensão porta na esquistossomose. LAMBERTUCCI *et al*, 2007, estudando 60 pacientes com EHE que freqüentam o Serviço de Referência da formas graves da doença na FM-UFMG também mostraram alta sensibilidade e especificidade do número de plaquetas abaixo de $140.000/\text{mm}^3$ para diagnosticar a forma hepatoesplênica da esquistossomose e que a plaquetopenia também marcava a intensidade da fibrose hepática.

Neste estudo, com um corte de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$ foi possível identificar todos os 21 pacientes (100%) com forma hepatoesplênica de um grupo de 384 voluntários. A prevalência da esquistossomose (exames de fezes) nesta comunidade (distrito de Topázio) foi de 23% e a freqüência da esquistossomose hepatoesplênica variou conforme a classificação usada para defini-la.

Usando a definição 1 (baço aumentado ao US ($>13\text{cm}$) + fibrose periportal ao US característica da esquistossomose, 8 de 384 (2,1%) foram considerados hepatoesplênicos (definição clássica da OMS). A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 1 foram de 92,3% e 75%, respectivamente. Esta definição nos parece mais confiável porque identifica a fibrose típica da esquistossomose hepatoesplênica.

Usando a definição 2 (baço palpável ou/e $>13\text{cm}$ ao ultrassom), 21 de 384 (5,5%) foram considerados hepatoesplênicos. A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 2 foram de 93,4% e 47,5%, respectivamente. Este achado revela a alta sensibilidade na identificação do indivíduo com hepatoesplenomegalia na área. A baixa especificidade neste caso deve ser valorizada, pois, o exame mais usado atualmente para confirmar o diagnóstico é o ultrassom que neste grupo não revelou fibrose do fígado. O que significa que outras doenças na área, que não a

esquistossomose, podem aumentar o baço dos indivíduos. Nossos resultados também devem repercutir sobre a análise dos estudos anteriores baseados apenas no exame clínico. Na verdade, em estudos anteriores, a prevalência de forma hepatoesplênica era superestimada (5,5% versus 2,1%).

Usando a definição 3, oito tinham o baço >13cm ao US. Estes, são oito entre 21 hepatoesplênicos (38%) ou oito de 384 indivíduos da população geral examinada (2,1%). A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas <143.000mm³ na identificação dos pacientes do grupo 3 foram de 92,4% e 75%, respectivamente. Com esta definição o número de pacientes identificados aumentou, mas, à semelhança da definição 2, 13 pacientes provavelmente não tinham fibrose hepática esquistossomótica.

Usando a definição 4, 18 tiveram o baço palpado. Estes, são 18 de 21 hepatoesplênicos (85,7%) ou 18 de 384 indivíduos da população geral examinada (4,7%). A sensibilidade e a especificidade deste número de plaquetas <143.000mm³ na identificação dos pacientes do grupo 4 foi de 93% e 44,4%, respectivamente. Apesar de apresentar alta sensibilidade o achado não garante que os indivíduos tenham fibrose hepática esquistossomótica.

Os achados acima apontam para a definição 1 como a melhor escolha para identificar a esquistossomose hepatoesplênica clássica no campo. É possível, particularmente em crianças e adolescentes que a fibrose ainda venha a se instalar dependendo do tempo de infecção e o baço está aumentado devido à esquistossomose mas por outros mecanismos que não a hipertensão porta (liberação de antígenos do verme/ovo que são depurados pelos macrófagos esplênicos).

O ultrassom é método dependente do examinador e depende também, em certa medida, do indivíduo examinado (falta de cooperação do paciente ou o seu tipo físico; obesidade, por exemplo). Em alguns casos de fibrose hepática esquistossomótica, limitações do examinador ou a qualidade do aparelho podem interferir no resultado.

Encontrou-se um grupo com fibrose hepática sem aumento do baço. A ausência de baço na presença de fibrose hepática já foi relatada anteriormente (PRATA e ANDRADE, 1972;

LAMBERTUCCI *et al* 1990). Aqui nós estudamos estes casos que não são hepatoesplênicos e as plaquetas não identificaram este grupo. O que mostra a importância do baço na diminuição destas células. Esta forma é chamada de "hepática" nas classificações atuais e seria interessante saber se os indivíduos têm ou não varizes do esôfago, o que seria possível com o uso da endoscopia digestiva alta, uma vez que o ultrassom nem sempre identifica as colaterais que vão para o esôfago. Se alguns tiverem varizes do esôfago seria necessário redefinir as formas clínicas da doença (forma hepática com varizes e forma hepática sem varizes) e fazer estudos prospectivos para saber se os hepáticos com varizes apresentam sangramento ou se comportam como hepatointestinais.

Vinte e dois indivíduos identificados com plaquetopenia foram trazidos à Belo Horizonte para realização de outros exames complementares. A cada semana dois eram admitidos no Hospital das Clínicas da UFMG, por cinco dias. Depois de duas semanas o hospital não permitiu que eles permanecessem por tanto tempo internados e a partir daí eles ficaram no Pronto Atendimento por apenas dois dias. Entre os que ficaram cinco dias encontramos um indivíduo com plaquetopenia sem baço palpável e sem fibrose ao ultrassom. Como realizamos a contagem de plaquetas diariamente notamos que as plaquetas variaram de 35.000/mm³, 27.000/mm³, 93.000/mm³, 37.000/mm³ e zero e, por fim, houve relato de grumos de plaqueta no esfregaço do sangue periférico. Este caso foi diagnosticado como tendo pseudotrombocitopenia. Este achado é de grande importância uma vez que em serviços de hematologia que atendem pacientes com plaquetopenia a incidência de pseudotrombocitopenia chega a 17% dos casos (COHEN *et al*, 2000). Nos próximos estudos tomaremos o cuidado de excluir pseudotrombocitopenia na identificação de pacientes com a forma hepatoesplênica. Ou seja, é possível que a sensibilidade da contagem de plaquetas para o diagnóstico da esquistossomose aumente.

Cumpramos lembrar que vários fatores influenciam o número de plaquetas, como por exemplo, medicamentos (diuréticos, pirazolonas, anti-inflamatórios não esteróides e outros, hidantoína, anti-blásticos, hipotensores), e outras doenças (calazar, hepatites virais, leucemias e outras que cursam com esplenomegalia) que diminuem as plaquetas. Outros eventos provocam aumento e o exemplo mais comum é a hemorragia digestiva (que leva a contração do baço e liberação de plaquetas e hemácias na circulação - processo conhecido com auto-endo-

transfusão). Os autores acima não revelam se os pacientes internados tinham sangrado recentemente.

Considerando os achados e argumentos acima, concluímos que em área endêmica para esquistossomose com prevalência da doença de 23% (um exame de fezes com duas lâminas) as plaquetas no sangue $<143.000/\text{mm}^3$ identificam, com boa sensibilidade e regular especificidade, os pacientes com esquistossomose hepatoesplênica. Recomendamos especialmente a definição 1 porque ela identifica os indivíduos com fibrose hepática.

7- CONCLUSÃO

1. Houve diferença significativa entre a média do número de plaquetas entre os grupos com e sem esquistossomose hepatoesplênica ($p < 0,01$);

2. Conforme a escolha da definição da forma hepatoesplênica os resultados variaram muito:

2a. Quando o baço estava aumentado ao US ($>13\text{cm}$) e havia fibrose periportal, oito de 384 (2,1%) foram considerados hepatoesplênicos. A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes foram de 92,3% e 75%, respectivamente;

2b. Quando o baço era palpável ou $>13\text{cm}$ ao ultrassom, 21 de 384 (5,5%) foram considerados hepatoesplênicos. A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 2 foram de 93,4% e 47,5%, respectivamente. Este achado revela a alta sensibilidade na identificação do indivíduo com hepatoesplenomegalia na área.

2c. Quando o baço era $>13\text{cm}$ ao ultrassom, oito de 384 indivíduos (2,1%) foram considerados hepatoesplênicos. A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 3 foram de 92,4% e 75%, respectivamente.

2d. Quando o baço era aumentado à palpação, 18 de 384 indivíduos foram considerados hepatoesplênicos (4,7%). A sensibilidade e a especificidade do número de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$ na identificação dos pacientes do grupo 4 foi de 93% e 44,4%, respectivamente.

3. Usando o ponto de corte de plaquetas $<143.000/\text{mm}^3$, a prevalência de forma hepatoesplênica varia conforme a definição. A escolha da definição, portanto, depende do propósito do investigador. Se for alta sensibilidade (estudo de triagem) ele deve escolher a definição 2b.

8- PROPOSIÇÕES

8.1. Determinar em diferentes áreas endêmicas a prevalência parasitológica da esquistossomose. Procurar estabelecer relação entre a prevalência da doença e a frequência de trombocitopenia. Por exemplo: 1) na área do presente estudo, com prevalência de 23%, 5,5% tinham plaquetas $< 143.000/\text{mm}^3$ e o mesmo número de hepatoesplênicos. 2) em outras áreas com prevalências variadas (10%, 40%, 60%, 80%) é possível que a relação entre plaquetas e hepatoesplênicos varie de forma proporcional a encontrada em nosso estudo. Se isso for confirmado, ao determinar o número de pacientes com trombocitopenia em cada área seria possível estimar a prevalência de forma hepatoesplênica e, talvez, da prevalência parasitológica na área.

8.2. Estudar em área endêmica para esquistossomose (em número maior de indivíduos) a prevalência de trombocitopenia. Separado este grupo, identificar os pacientes com esquistossomose hepatoesplênica. Abordagem inversa do estudo atual.

8.3. Verificar a prevalência de pseudotrombocitopenia em pacientes com esquistossomose hepatoesplênica em área endêmica.

8.2. Verificar nos pacientes com fibrose hepática sem esplenomegalia a ocorrência de varizes de esôfago. Esta forma da doença seria chamada de fibrose hepática com varizes e sem varizes. E seria de interesse conhecer a evolução das duas formas.

THROMBOCYTOPENIA AS A SURROGATE MARKER OF HEPATOSPLENIC SCHISTOSOMIASIS IN ENDEMIC AREAS FOR SCHISTOSOMIASIS

SUMMARY

Thrombocytopenia has been shown to be a good marker of hepatosplenic schistosomiasis in patients admitted to Brazilian hospitals. This study aims at evaluating if low platelet counts are good surrogate markers of hepatosplenic schistosomiasis in endemic areas for schistosomiasis. Topázio, a small district of Teófilo Otoni (MG) in Brazil, with a population of 1,543 individuals and prevalence of schistosomiasis of 23% was selected for this investigation. All individuals had one stool sample examined by the Kato-Katz technique. Four hundred volunteers were enrolled in the study. During one week of July 2012, 384 volunteers were examined; 13 (3.3%) were excluded because they did not complete the examinations. They were asked to answer a standardized protocol. This was followed by clinical and ultrasound examinations (US). A blood sample was collected for platelet counts. All data were analyzed using the SPSS 18.0. Hepatosplenic schistosomiasis was classified into four groups: Group 1 comprised those with a spleen >13cm and liver periportal fibrosis confirmed by US; Group 2, a palpable spleen and spleen >13cm measured by US; Group 3, a spleen >13cm using US; and Group 4, a palpable spleen. Admitting all four definitions, 21 patients had hepatosplenic schistosomiasis (5.5%). We had 8 patients in Group 1 (2.1%), 21 in Group 2 (5.5%), 8 in Group 3 (2.1%) and 18 in Group 4 (4.7%). There was a significant difference between mean platelet counts in patients with hepatosplenic schistosomiasis and controls ($p < 0.01$). Using the ROC curve with a platelet count $< 143,000/\text{mm}^3$, sensitivity and specificity for Group 1 patients were 92.3% and 75.0%; for Group 2, 93.4% and 47.6%; for Group 3, 92.4% and 75.0%; and, for Group 4, 93.0% and 44.4%, respectively. We concluded that in endemic areas for schistosomiasis mansoni, platelet counts $< 143,000/\text{mm}^3$ identifies, with good sensitivity and regular specificity, patients with hepatosplenic schistosomiasis. In the first selection of patients, the highest sensitivity should be preferred.

Key words: Thrombocytopenia, Platelets, Hepatosplenic schistosomiasis, Schistosomiasis mansoni.

REFERÊNCIAS

AFDHAL N.H.; NUNES,D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. Am. J. Gastroenterol., Malden, 2004:v. 99, n. 6, p. 1160-74, Jun.

AFDHAL, N.H. Biopsy or biomarkers: is there a fold standard for diagnosis of liver fibrosis? Clin. Chem., Baltimore, 2004 : v. 50, n. 8, p. 1299-1300,

AL-MOFARREH M. ; AL-MOAGEL-ALFARAG M.; ASHOOR T.; SHADOOCHY, F. Duodenal varices. Report of 13 cases. Z Gastroenterol 1986 :24 (11) ; 673-680.

ANDRADE, Z .A. Schistosomal hepatopathy. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004 ; 99 (supl 1) :51-57.

BARKUN, N.A.; CAMUS, M. ; GREEN, L. ; MEAGHER, T. ; COUPAL, L. DE STEMPEL, J.GROVER,A.S. The bedside assessment of splenic enlargement. Am J Trop Med, v.91,p.512-518,1991.

BEZERRA,A.S.A. ; D'IPPOLITO,G. ; CALDANA, R.P. ;CECIN,A.O. ; SZEJNFELD, J. Avaliação hepática e esplênica por ressonância magnética em pacientes portadores de esquistossomose mansônica crônica. Raiol Bras, v.37, p.313-321,2004.

BEZERRA, A.S.A ; D'IPPOLITO G. ; CALDANA, R.P. ;CECIN, A.O. ; AHMED, M. ; SZEJNFELD, J. Chronic hepatosplenic schistosomiasis mansoni : magnetic resonance imaging and magnetic resonance angiography findings. Acta Radiol 2007 ; 48 : 125- 134.

BOMMANA, V. ; SHAH, P. ; KOMETA, M. ; NARWAL, R. ; SHARMA, P. A case of isolated duodenal varices secondary to chronic pancreatitis with review of literature. Gastroenterol Res. 2010 ;3(6) :281-286.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010. Situação epidemiológica da esquistossomose no Brasil. Grupo Técnico,

SubHA/CGDT/DEVEP/SVS/MS.

Brasília.

Available

at :http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/situacao_esquistossomose_brasil_abril2011.pdf. June, 2013.

BROWNER, W. S. *et al.* Preparando-se para estimar o tamanho de amostra: hipóteses e princípios básicos. In: HULLEY, S. B. *et al.* Delineando a pesquisa clínica: Uma abordagem epidemiológica. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed. 2006. Capítulo 5, p. 69-82. Capítulo 6, p. 83-110.

CAIRO WORKING GROUP 1992. The use of diagnostic ultra-sound in schistosomiasis – attempts at standardization of methodology. *Acta Trop.*, Basel, 1992: v. 51, p. 45-63.

CHEEVER, A. W. a QUANTITATIVE POS MORTEM STUDY OF SCHISTOSOMIASIS MANSONI IN MAM. *Am J Trop Med Hyg*, v.17, p.38-64,1968.

CHIA, J.; HSIA, C.C. Pseudothrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(16):4168.

COHEN, A.M.; CYCOWITZ, Z.; MITTELMAN M.; LEWINSKI, U.H.; GARDYN, J. The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers. *Haematologia (Budap)*. 2000;30(2):117-21.

COTA, G.F. *et al.* Ultrasound and clinical investigation of hepatosplenic schistosomiasis: evaluation of splenomegaly and liver fibrosis four years after mass chemotherapy with oxamniquine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Baltimore, 2006: v. 74, n. 1, p. 103-107.

DITTRICH, S.; de MATTOS, A.A.; CHEINQUER, H.; de ARAÚJO, F.B. Correlation between platelet blood levels and the hepatic venous pressure gradient among patients with cirrhosis]. *Arq Gastroenterol*. 2005 Jan-Mar;42(1):35-40. Epub 2005 Jun 22. Portuguese.

DRUMMOND, S.C.; PEREIRA, S.R.; SILVA, L.C.; ANTUNES, C.M.; LAMBERTUCCI, J.R. Schistosomiasis control program in the state of Minas Gerais in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz.2010; 105(4):519-23.

DUSSE, L.M.S. ; VIEIRA ,L.M. ; CARVALHO ,M.G. Pseudotrombocitopenia. JBPML, 2004 :v.40,n.5 :p.321-324.

EBOUMBOU, C. *et al.* Circulating markers of oxidative stress and liver fibrosis in Sudanese subjects at risk of schistosomiasis and hepatitis. Acta Trop., Basel, 2005: v. 94, p. 99-106.

FATAAR, S.; BASSIONY, H.; SATYANATH, S.; VASSILEVA, J.; HANNA, R. M. Characteristic sonographic features of schistosomal periportal fibrosis. AJR Am J Roentgenol. 1984 Jul;143(1):69-71.

FRASER, J. R. E. *et al.* Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. J. Int. Med., Oxford, 1997: v. 242, p. 27-33.

GERSPACHER-LARA,R.;PINTO-SILVA, R.A.; SERUFO, J.C.;DRUMMOND, S.C.; LAMBERTUCCI, J.R. .Splenic palpation for the evolution of morbidity due to schistosomiasis mansoni. Mem Inst Oswaldo Cruz.1998;93(Suppl 1):245-8.

GUÉCHOT, J. *et al.* Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. Clin. Chem., Baltimore, 1996: v. 42, n. 4, p. 456-463.

HALFON, P. *et al.* Les marqueurs sanguins non invasifs de fibrose hépatique au cours de l'infection chronique par le virus de l'hepatite C. Rev. Med. Interne, Paris, 2006 : v. 27, p. 751-761.

HATZ, C.F. The use of ultrasound in schistosomiasis. Adv Parasitol 2001 ;48 :225-84.

HAMMERMANN, A.M. ; KOTNER, L.M. ; DOYLE, T.B. Periportal contrast enhancement on CT scans of the liver. *AJR*, v.156, p.313-315, 1991

HOFFBRAND, A.V. ; MOSS, P.A.H. *Fundamentos de hematologia*, 2013.

HOMEIDA, M. ; ABDEL-GADIR, A.F. ; CHEEVER, A.W. ; BENNETT, J.L. ; ARBAB, B.M. ; IBRAHIM, S.Z. ; ABDELSALAM, I.M. ; DAFALLA, A.A. ; NASH, T.E. Diagnosis of pathologically confirmed Symmers' periportal fibrosis by ultrasonography : a prospective blinded study. *Am J Trop Med Hyg.* 1988;38(1) :86-91.

HOMEIDA, M. ; AHMED, S. ; DAFALLA, A. ; SULIMAN, S. ; ELTOM, I. ; NASH, T. ; BENNETT, J.L. Morbidity associated with *Schistosoma mansoni* infection as determined by ultrasound : a study in Gezira, Sudan. *Am J Trop Med Hyg.* 1988 ;39(2) :196-201.

IMPERIALE, T.F. ; SAID, A.T. ; CUMMINGS, O.W. ; BORN, L.J. Need for validation of clinical decision aids: use of the AST/ALT ratio in predicting cirrhosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2000 Sep;95(9):2328-32.

KAMAL, S.M. ; TURNER, B. ; HE, Q. ; RASENACK, J. ; BIANCHI, L. ; AL TAWIL, A. ; NOOMAN, A. ; MASSOUD, M. ; KOZIEL, M.J. ; AFDHAL, N.H. Progression of fibrosis in hepatitis C with and without schistosomiasis: correlation with serum markers of fibrosis. *Hepatology.* 2006 Apr;43(4):771-9.

KARDORFF, R. *et al.* Diagnostic value of connective tissue metabolites in *Schistosoma mansoni* related liver disease. *Acta Trop.*, Basel, 1999 : v. 73, p. 156-164.

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

KAWASAKI, T.; TAKESHITA, A.; SOUDA, K.; KOBAYASHI, Y.; KIKUYAMA, M.; SUZUKI, F.; KAGEYAMA, F.; SASADA, Y.; SHIMIZU, E.; MUROHISA, G.; KOIDE, S.;

YOSHIM,I T.; NAKAMURA, H.; OHNO, R. Serum thrombopoietin levels in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis. Am J Gastroenterol. 1999 Jul;94(7):1918-22.

KLOETZEL, K. Splenomegaly in schistosomiasis mansoni. Am J Trop Med,1962: v.11:p.472-476.

LAMBERTUCCI, J.R.; DUANI, H.; PRATA,P.H.; VOIETA,.I. Pseudothrombocytopenia in scistosomiasis mansoni. Rev Soc Bras Med Trop.2011;44:792.

LAMBERTUCCI ,J.R.; ROCHA ,R.S.; CARVALHO S.; KATZ, N. .Schistosomiasis mansoni in Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 1987;20(1):47-52.

LAMBERTUCCI ,J.R.; SILVA, R.A.; Gerspacher-Lara, R.; BARATA, C.H. Acute Manson's schistosomiasis: sonographic features. Trans R Soc Trop Med Hyg.1994;88(1):76-7.

LAMBERTUCCI, J. R. *et al.* Hepatosplenic schistosomiasis in field-based studies: a combined clinical and sonographic definition. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001:v. 96, p. 147-150. Suplemento 1. a

LAMBERTUCCI, J. R. *et al.* Magnetic resonance imaging and ultrasound in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Rio de Janeiro,2004: v. 37, n. 4, p. 333-7, Aug.

LAMBERTUCCI, J. R. *et al.* Piogenic abscesses and parasitic diseases. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo,2001.b: v. 43, n. 2, p. 67-74.

LAMBERTUCCI, J.R.; BARRAVIERA, B. Esquistossomose mansônica. Estudo clínico . JBM J Bras Med, 1994:v.67:p.59-100.

LAMBERTUCCI, J.R.; SERUFO, J.C.; LARA, R.G.; RAYES, A.A.M.; TEIXEIRA, R.; NOBRE, V.; ANTUNES, C.M. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. Acta Tropica 2000;77(1):101-109.

LAMBERTUCCI J.R, SILVA L.C, ANTUNES C.M. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index and blood platelet count are good markers for fibrosis evaluation in schistosomiasis mansoni. Rev Soc Bras Med Trop 2007: 40(5):599.

LAMBERTUCCI, J.R. ; ANDRADE, L.M. ; PINTO-SILVA, R.A. Magnetic resonance imaging of the liver in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. Rev Soc Bras Med Trop, v.35,p.679-680,2002.

LAMBERTUCCI, J.R. ; SANTOS, L.C.S. ; ANDRADE, L.M. ; QUEIROZ, L.C. ; PINTO-SILVA, R.A. Magnetic resonance imaging and ultrasound in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. Rev Soc Bras Med Trop.2004 ;37(4):333-7.

LAMBERTUCCI, J.R. ; SANTOS, L.C.S. ; ANDRADE, L.M. ; QUEIROZ, L.C. ; CARVALHO, V.T. ; VOIETA ,I. ; ANTUNES ,C.M. Imaging techniques in the evaluation of morbidity in schistosomiasis mansoni. Acta Trop.2008 ;108(2-3):209-17.

LAMBERTUCCI, J.R. ; VOIETA, I. ; RESENDE, V.M. Moderate and intense Symmers's fibrosis in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. Rev Soc Bras Med Trop.2009 ;42 :611-2.

LAMBERTUCCI, J.R. ; GERSPACHER-LARA, R. ; PINTO-SILVA, R.A. ; BARBOSA, M.M. ; TEIXEIRA, R. ; BARBOSA, H.F. ; SERUFO, J.C. ; REZENDE, D.F. ; DRUMMOND, S.C. ; RAYES, A.M. The Queixadinha project :morbidity and control of schistosomiasis in an endemic area of the northeast os Minas Gerais, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop.1996 ;29 :127-135.

LAMBERTUCCI, J.R. *Schistosoma mansoni* : pathological and clinical aspects. In : Jordan P,Webb,G. editors.Human Schistosomiasis.3^d ed. Wallingford : Cab International ;1993.p.195-235.

LAMBERTUCCI, J.R. Acute schistosomiasis mansoni : revisited and reconsidered. Mem Inst Oswaldo Cruz.2010 ;105(4):422-35.

LIPPI, G. ; PLEBANI, M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia : further insights and recommendations for prevention of a clinically threatening artifact. Clin Chem Lab Med. 2012 ;50(8):1281-5.

LUBURICH,P. ; BRU, C. ; AYUSO, M.C. ; AZON,A. ; CONDOM, E. Hepatic Kaposi sarcoma in AIDS : US and CT findings. Radiology,v.175,p.172-174,1990.

MAHARAJ, B. ; MAHARAJ, R.J. ; LEARY, W.P. ; COOPAN, R.M. ; NARAN, A.D. ; PIRIE, D. ; PUDIFIN, D.J. Sampling variability and its influence on the diagnostic yield of percutaneous needle biopsy of the liver. Lancet. 1986 Mar 8;1(8480):523-5.

MARINHO C. C. *et al.* Clinical versus ultrasound examination in the evaluation of hepatosplenic schistosomiasis. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Sep.2006: v.101, p. 317-321, Suplemento 1.

MERGO, P.J.; ROS, P.R. Imaging of diffuse liver disease. Radiol Cin N Am, v.36,p.365-475,1998.

NIAMEY WORKING GROUP. Ultrasound in schistosomiasis. A practical guide to standardized use of ultrasonography for the assessment of schistosomiasis-related morbidity. Second International Workshop October.2000: 22-26, 1996, Niamey, Niger. Geneva, Switzerland: World Health Organization, TDR/STR/SCH/00.1.

PATEL, K. *et al.* Clinical use of hyaluronic acid as a predictor of fibrosis change in hepatitis C. J. Gastroenterol. Hepatol., Melbourne,2003: v. 18, n. 3, p. 253-257. 1:

PETROIANU, A.; OLIVEIRA, A.E.; ALBERTI, L.R. Hipersplenism in schistosomal portal hypertension. Arch Med Res. 2005 Sep-Oct;36(5):496-501.

PETROIANU, A[Surgical treatment of portal hypertension in schistosomiasis mansoni]. Rev Soc Bras Med Trop. 2003 Mar-Apr;36(2):253-65. Epub 2003 Jun 10. Review. Portuguese. PubMed PMID: 12806463.

PINTO-SILVA, R.A. *et al.* Sonographic features of portal hypertension in schistosomiasis mansoni. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, São Paulo,1994: v. 36, n. 4, p. 355-361.

PRATA, A. Esquistossomose mansoni. In: VERONESI R & FOCACCIA R (ED). Tratado de Infectologia. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2002. V.2,cap.107, p.1374-1392.

PRATA, A.; RUIZ-GUEVARA, R.; ANTUNES, C.M.; MARINHO, C.C.; QUEIROZ, L.C.; VOIETA, I.; LAMBERTUCCI, J.R. Comparison between clinical and ultrasonographic findings in cases of periportal fibrosis in na endemic área for schistosomiasis mansoni in Brazil. Ver Soc Bras Med Trop.2010;43(2)129-34.

PRATA, A. The role of the scientific research in the control of schistosomiasis in endemic areas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,2004:v. 99, p. 5-11. Suplemento 1.

PRATA, A. Influence of the host related factors in the development of the hepatosplenic formo f schistosomiasis mansoni. Mem Inst Oswaldo Cruz.1992;87(Suppl 4):39-44.

PRATA, A.; ANDRADE, Z. Fibrose hepática de Symmers sem esplenomegalia. O Hospital, Rio de Janeiro,1963: v.63, n.3, p.617-623.

QUEIROZ,L.C. ;DRUMMOND,S.C.; MATOS, M.L.; PAIVA, M.B.; BATISTA,T.S.; KANSAON,A.Z.; ANTUNES,C.M.; LAMBERTUCCI,J.R. Comparative randomised Trial of high and conventional doses of praziquantel in the treatment of schistosomiasis mansoni. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010;105(4):445-8.

REEDY, D.W.; LOO, A.T.; LEVINE, R.A. AST/ALT ratio > or = 1 is not diagnostic of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. Dig Dis Sci. 1998 Sep;43(9):2156-9.

RICHTER,J.; DOMINGUES,A.L.; BARATA,C.H.; PRATA,A.R.;
LAMBERTUCCI,J.R.Report of the second satellite symposium on ultrasound in
schistosomiasis. Mem Inst Oswaldo Cruz.2001;96(Suppl):151-6.

ROSENBERG,H.K.; MARKOWITZ,R.I. ; KOLBERG,H.; PARK,C.; HUBBARD,A. ;
BELLAH,R.D.Jully 1991,AJR :157 :119-121.

SAKUGAWA, H. et al. Clinical usefulness of biochemical markers of liver fibrosis in
patients with nonalcoholic fatty liver disease. World J. Gastroenterol., Beijing,2005: v. 11, n.
2, p. 255-259.

SILVA, L. C. S. Comparação entre a ultra-sonografia e a ressonância magnética do abdome
na avaliação da morbidade na esquistossomose mansônica. 2007. 95f. Tese (Doutorado em
Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical) - Programa de Pós-Graduação da
Faculdade de medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SINHA, S.K.; MANDAL,P.K.; MALLICK,J. Pseudothrombocytopenia – a caveat. J Indian
Med Assoc. 2011;109(7):476-8.

SOUZA MR, TOLEDO CF, BORGES DR. Thrombocytemia as a predictor of portal
hypertension in schistosomiasis. Dig Dis Sci.2000;45(10):1964-70.

SOUZA,M.R.; AGUIAR,L.A.; GOTO,J.M.; CARVENTE,C.T.; TOLEDO,C.F.;
BORGES,D.R. Thrombopoietin serum levels do not correlate with thrombocytopenia in
hepatic schistosomiasis. Liver.2002;22:127-9.

SOUZA, C. Exame do abdome. In: LÓPEZ, M.; LAURENTIS-MEDEIROS, J. Semiologia
Médica: As bases do diagnóstico clínico. 5ª edição. Rio de Janeiro: Revinter. 2004. Capítulo
47, p.722-735.

SUZUKI, A. et al. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.*, Oxford,2005: v. 25, p. 779-786.

VOIETA,I.; QUEIROZ,L.C.; ANDRADE,L.M.; SILVA,L.C.; FONTES,V.F.; BARBOSA,A.Jr.; RESENDE,V.; PETROIANU A.; ANDRADE,Z.; ANTUNES, C.M.; LAMBERTUCCI,J.R. Imaging techniques and hystology in the evaluation of liver fibrosis in hepatosplenic schistosomiasis mansoni in Brazil: a comparative study. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*2010;105:414-21.

VOIETA, I. Comparação entre a fibrose periportal diagnosticada pelo ultra-som e pela ressonância magnética e a histologia hepática na hipertensão porta esquistossomótica. 2007. 94F. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical) - Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

WAI, C.T.; GREENSON, J.K.; FONTANA, R.J.; KALBFLEISCH, J.D.; MARRERO, J.A.; CONJEEVARAM, H.S.; LOK, A.S. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003 Aug;38(2):518-26.

WILLEMSSEN, U.F.; PFLUGER, T.H.;ZOLLER, W.G.; KUEFFER, G.; HAHN,K. MRI of hepatic schistosomiasis mansoni. *J Comput Assit Tomogr*, v.19,p.811-813,1995.

ZHOU, X. H.; OBUCHOWSKI, N. A., McCLISH, D.K. Measures of diagnostic accuracy. In: ZHOU, X. H.; OBUCHOWSKI, N. A., McCLISH, D.K. *Statistical methods in diagnostic medicine.* Nova York: Wiley. 2002. Capítulo 2, p. 15-56

ZWINGENBERGER, K. et al. Liver involvement in human schistosomiasis mansoni. Assessment by immunological and biochemical markers. *Parasitol. Res.* , Berlin,1988a:v. 74, p. 448-455.

ZWINGENBERGER, K. et al. Liver involvement in human schistosomiasis mansoni. Regression of immunological and biochemical disease markers after specific treatment. Acta Trop., Basel, Sep. 1988b: v. 45, n. 3, p. 263-275.

Anexo 1

Esclarecimento e autorização para inclusão em protocolo de pesquisa

Introdução: Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa denominada: “*Schistosoma mansoni*: marcadores de fibrose no sangue de pacientes de área endêmica de Minas Gerais, Brasil”. Nosso objetivo é verificar a existência de exames que possam ser realizados no sangue que sejam capazes de identificar a presença e o estágio em que se encontram possíveis lesões do fígado causadas pela esquistossomose.

Esclarecimentos: Nosso grupo realizará, além do exame físico e ultra-som abdominal de cada participante, coleta de pequena amostra de sangue para a realização em laboratório dos exames investigados nesta pesquisa.

O exame de ultra-som não oferece riscos ao paciente e pode beneficiá-lo com o conhecimento do estágio evolutivo de sua doença. A técnica para coleta do sangue é idêntica à técnica utilizada para exames de sangue comuns, sendo desprezíveis os riscos para o paciente. Todos os dados obtidos serão utilizados exclusivamente com a finalidade de pesquisa. Os dados que identificam o paciente serão mantidos em sigilo. Nenhum paciente deixará de receber cuidados ou tratamento por ter se recusado a participar da pesquisa.

Termo de consentimento: Eu, _____ declaro que fui bem informado a respeito da pesquisa “*Schistosoma mansoni*: marcadores de fibrose no sangue...” e estou ciente de que não corro quaisquer riscos decorrentes da realização do ultra-som, de que os riscos decorrentes da coleta de sangue são muito pequenos e de que as informações obtidas são sigilosas e somente serão utilizadas para fins de pesquisa.

Teófilo Otoni, de _____ de _____.

Paciente ou responsável legal

Testemunha

Pesquisadores:

Prof. José Roberto Lambertucci – tel. (31) 34099820

Sandra Costa Drummond– tel. (31) 3222-1554

Comitê de Ética em Pesquisa – UFMG – tel. (31) 3409-4592

Anexo 2

ESQUISTOSSOMOSE MANSONI - PROJETO TOPÁZIO - MUNICÍPIO DE TEÓFILO OTONI

IDENTIFICAÇÃO:

Id _____

Nome: _____
Data de Nascimento ___/___/___ Idade _____ Sexo: masculino () feminino ()
Naturalidade: _____
Endereço: _____ Bairro: _____
Município: _____
Telefone: ___/___/___ Celular: ___/___/___
Profissão: _____

DADOS GERAIS

Peso (Kg) _____ Altura (cm) _____ Pressão Arterial (mmHg) ___/___
Frequência cardíaca (bpm) _____

Observações: _____

ENTREVISTA

Exame parasitológico de fezes _____ ovos/grama de fezes
Data do exame: ___/___/___

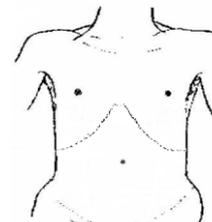
Já teve evidências de outras causas de hepatopatia fibrosante?

Uso de drogas	sim()	não()	Ignorado ()	recusa ()
Abuso de álcool	sim()	não()	ignorado ()	recusa ()
Doença crônica	sim()	não()	ignorado ()	recusa ()
Medicamento de uso crônico	sim()	não()	ignorado ()	recusa ()
Hepatite viral	sim()	não()	ignorado ()	recusa ()
Hemorragia digestiva	sim()	não()	ignorado ()	recusa ()
Edema	sim()	não()	ignorado ()	recusa ()
Hipertensão pulmonar	sim()	não()	ignorado ()	recusa ()

Observações: _____

EXAME FÍSICO

Fígado não palpável () palpável () cm do AX _____
Baço não palpável () palpável () cm RCE LHC ___ maior eixo ___ cm



Observações: _____

EXAMES COMPLEMENTARES

Plaquetas _____ Hemoglobina _____ Linfócitos _____
Ácido hialurônico YKL 40 _____ GGT _____ AST _____

Observações: _____

ULTRA-SONOGRAFIA

Data: ___/___/___

Hepática

Dimensão longitudinal LD _____
Dimensão longitudinal LE _____
Contornos liso () lobulado () serrilhado ()
Fibrose periportal ausente () leve () moderada () intensa ()
Padrão de fibrose
A () B () C () D () Dc () E () Ec () F ()

SCD/2010