

Universidade Federal de Minas Gerais

Escola de Enfermagem

Doutorado em Enfermagem

**ESTUDO LONGITUDINAL DOS FATORES RELACIONADOS
À INFECÇÃO E REINFECÇÃO PELO *SCHISTOSOMA*
MANSONI EM ÁREA ENDÊMICA,
MINAS GERAIS**

Leonardo Ferreira Matoso

Belo Horizonte

2012

Leonardo Ferreira Matoso

**ESTUDO LONGITUDINAL DOS FATORES RELACIONADOS
À INFECÇÃO E REINFECÇÃO PELO *SCHISTOSOMA*
MANSONI EM ÁREA ENDÊMICA,
MINAS GERAIS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Enfermagem da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Enfermagem.

Área de concentração: Saúde e Enfermagem

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Gazzinelli

Belo Horizonte

2012

M433e Matoso, Leonardo Ferreira.
Estudo longitudinal dos fatores relacionados à infecção e reinfecção pelo Schistosoma mansoni em área endêmica, Minas Gerais [manuscrito]./
Leonardo Ferreira Matoso. -- Belo Horizonte: 2012.
133f.
Orientadora: Andréa Gazzinelli.
Área de concentração: Saúde e Enfermagem.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Esquistossomose. 2. Fatores Socioeconômicos. 3. População Rural.
4. Imunoglobulinas. 5. Epidemiologia. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Gazzinelli, Andréa. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. III. Título.

NLM: WC 810



Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Enfermagem
Programa de Pós-Graduação

Tese intitulada “**Estudo longitudinal dos fatores relacionados à infecção e reinfeção pelo *Schistosoma mansoni* em área endêmica, Minas Gerais**”, de autoria do doutorando Leonardo Ferreira Matoso, aprovado pela banca examinadora constituída pelos seguintes doutores:

Profa. Dra. Andréa Gazzinelli Corrêa de Oliveira
Escola de Enfermagem - UFMG
Orientadora

Dr. Martin Johannes Enk
Universidade Vale do Rio Doce - UNIVALE
Examinador

Dra. Mariangela Carneiro
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG
Examinadora

Dr. Ricardo Toshio Fujiwara
Instituto de Ciências Biológicas – UFMG
Examinador

Dra. Lúcia Alves de Oliveira Fraga
Universidade Vale do Rio Doce - UNIVALE
Examinadora

Prof. Dr. Francisco Carlos Félix Lana
Coordenador, em exercício, do Programa de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem / UFMG

Belo Horizonte, 11 de abril de 2012.

Apoio financeiro:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico-CNPq;
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES;
Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Doenças Tropicais -INCT-DT;
Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG; Centro de
Pesquisa René Rachou - FIOCRUZ; National Institute of Health (NIH- ICIDR
Grant A145451 e Grant 1R03AI071057-01)

Este trabalho é vinculado ao Núcleo de Pesquisa e Estudos em Saúde Coletiva (NUPESC) da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais.

Dedicatória

Aos meus pais, Amaury e Maria José,
exemplos de união e superação.

Aos meus irmãos Letícia e Alexandre e aos
meus cunhados Juliana e Marcelo pelo
estímulo constante, suporte e aconselhamento.

À minha querida Flávia pelo carinho, amor,
apoio e compreensão em todos os
momentos desta trajetória.

Agradecimentos

Ao escrever esta tese ficou evidente o grande número de pessoas que contribuiu e ainda contribui, direta ou indiretamente, para o alcance de mais uma etapa em minha carreira profissional. Antes que eu possa me esquecer de alguém, agradeço a todos que conviveram comigo nestes oitos anos divididos entre bolsista de aperfeiçoamento, mestrado e doutorado. Em especial, agradeço:

A Deus, por te me dado vida, capacidade e sabedoria para a realização deste trabalho, por me amparar nos momentos difíceis e por colocar pessoas importantes na minha trajetória que me abriram muitas oportunidades.

À Profa. Dra. Andréa Gazzinelli, minha orientadora, pesquisadora incansável e fortemente determinada em sua busca por novas descobertas, manifesto minha profunda e eterna gratidão. Sua inteligência e persistência em ampliar o saber me impulsionaram a abrir mais caminhos para o conhecimento, permitindo-me chegar até aqui e ainda movido pelo desejo de contínua evolução. Durante os nossos oito anos de convivência, na UFMG, tive a oportunidade de conhecer, admirar e respeitar uma profissional que luta, sem limites, para o propósito dessa instituição, carinhosamente denominada por ela, há muitos anos, de “minha UFMG”. A solidariedade, demonstrada junto às comunidades do Vale do Jequitinhonha, fazem do seu abraço à causa uma missão ainda mais nobre, que toca a todos de maneira especial e comovente. Nossa amizade ficará registrada pelas importantes experiências de crescimento, amadurecimento e aprendizado, acrescidas, sem dúvida, por momentos de descontração nos trabalhos de campo em que atuamos juntos, no querido Vale.

Ao Dr. Rodrigo Corrêa Oliveira, meu co-orientador, por ter me indicado a integrar o grupo de pesquisa da professora Andréa atuando, primeiramente, como bolsista de apoio técnico aos trabalhos de campo - o que, posteriormente, abriu as portas para a pós-graduação. Pela inestimável ajuda na parte imunológica deste trabalho. Suas indispensáveis orientações foram fundamentais para o desenvolvimento da minha tese.

À Profa. Dra. Mery Natali Silva Abreu, por sua determinação e admirável disponibilidade em colaborar com as análises estatísticas. Nossas inúmeras reuniões para discutir dados, análises

e resultados ampliaram meus horizontes e contribuíram consideravelmente para a qualidade deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujiwara, por seu fundamental apoio na parte imunológica, abertura e colaboração para o avanço dos estudos.

Ao Prof. Dr. Jorge Gustavo Velásquez Melendez, pelas discussões e orientações estatísticas.

Ao Prof. Dr. Dener Carlos dos Reis pela paciência, disponibilidade em ajudar, discussões científicas e importantes conselhos.

Ao Prof. Dr. Adriano Marçal Pimenta pelas discussões estatísticas e epidemiológicas.

À minha querida família, pais, irmãos e cunhados, alicerce e apoio incondicional à minha trajetória.

À Flávia, meu amor e minha companheira, pelo estímulo constante, paciência e compreensão nos momentos de ausência e ansiedade. Meu profundo agradecimento por acreditar e apoiar o meu caminho de crescimento científico. Estar com você me permitiu chegar até aqui. À família Valadares de Salvo pela carinhosa acolhida de votos de incentivo.

Aos amigos do grupo de pesquisa, Kellen, pela amizade, companheirismo, apoio e discussões científicas durante a elaboração desta tese, lado a lado; Ed Wilson, pela serenidade compartilhada; Izabela, Luciana, Márcia e Thania pelo apoio e incentivo; Túlio, pelo companheirismo. Em especial agradeço ao amigo Humberto, conselheiro, incentivador, fiel companheiro tanto nos trabalhos de campo quanto nas atividades do dia-a-dia e nos momentos de descontração.

A todos os bolsistas de iniciação científica com os quais tive a oportunidade de conviver nesses últimos quatro anos. Agradeço pela presteza em colaborar com o desenvolvimento do trabalho.

Aos motoristas Luis Carlos e André Simões, pelo cuidado, condução segura, zelo com os veículos institucionais e pelos momentos de descontração proporcionados ao longo das freqüentes viagens de trabalho de campo.

A todos os amigos do LICM e CPQRR/FIOCRUZ, em especial, à Luciana Lisboa e Lorena pela realização dos ensaios laboratoriais. À Clari Gandra, o meu muito obrigado por sempre se empenhar para facilitar o desenvolvimento da pesquisa em campo. Ao Dr. Cristiano Massara, pela amizade, bons conselhos e pelo bom humor sempre bem vindo. À Roberta Prado pelo apoio e ajuda nas discussões e construções científicas.

A todos os professores do Departamento Materno Infantil e em especial às professoras Ieda, Anézia e Cláudia Penna pelo incentivo e apoio.

Ao Prof. Francisco Lana, conselheiro nos momentos de dificuldade e pressão.

Às Profa. Marília Alves e Flávia Gazzinelli pelo incentivo, carinho e amizade.

Às técnicas do Laboratório da Universidade do Vale do Rio Doce (UNIVALE), Ivanete, Lilia e em especial a Fátima e Marlucy pela competência nos trabalhos desenvolvidos nas atividades laboratoriais e de campo.

À comunidade de Virgem das Graças por ter nos recebido sempre de braços abertos e pela colaboração e generosidade essenciais para a execução deste trabalho.

Aos amigos do curso de doutorado, Larissa e Evaldo, pela amizade, apoio, sempre compartilhando as alegrias e as dificuldades da vida acadêmica.

Ao Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Enfermagem da UFMG, em especial a Grazielle e Lucilene pela prontidão para nos auxiliar.

À Escola de Enfermagem da UFMG, por ter me acolhido inicialmente como bolsista de apoio técnico, aperfeiçoamento e hoje aluno de pós-graduação. Aos funcionários e amigos que fiz ao longo de todos estes anos em que estive presente.

“A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem”

João Guimarães Rosa

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a relação entre a infecção e a reinfecção pelo *Schistosoma mansoni* e os fatores demográficos, socioeconômicos, imunológicos e de contato com água, em 127 indivíduos residentes em Virgem das Graças, área rural endêmica do município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais. Foram coletados dados socioeconômicos, demográficos e de contato com água além de fezes e sangue para análises parasitológicas e sorológicas de todos os indivíduos participantes do estudo no período entre 2001 e 2009. O soro foi utilizado para avaliação da reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 específicos contra antígenos do ovo (SEA) e do verme adulto (SWAP). A prevalência da endemia no início do estudo (2001) foi 59% (IC 95%= 50,38- 67,72) e a média geométrica de ovos por grama de fezes (OPG) de 61,05 (IC95%= 58,70 – 63,40). Um ano após o tratamento de todos os indivíduos (2002), a prevalência e a carga parasitária reduziram significativamente para 16,5% (IC 95%= 9,98 – 23,08) e 40,6 opg (IC 95%= 37,80 – 43,42), respectivamente. Em 2005, a prevalência aumentou para 27,6% (IC 95%= 19,68 – 35,43), mas a carga parasitária manteve-se semelhante à de 2002 sendo de 39,81 opg (IC95%= 37,27 – 42,35). No último ano avaliado (2009) a prevalência permaneceu em 26,8% (IC 95%= 18,96 – 34,57), mas a carga parasitária reduziu significativamente para 8,78 opg (IC 95%= 6,45 – 11,11) quando comparada aos anos anteriores. A análise multivariada mostrou que a idade, o contato com água e as características imunológicas foram associadas à infecção pelo *S. mansoni*. Um maior risco de infecção foi observado nos indivíduos mais jovens (6-14 e 15-29 anos) e naqueles que realizavam atividades de pescar e atravessar o córrego. Foi evidenciado também que o aumento na reatividade de IgG4 anti-SEA e SWAP e da razão entre IgG4/IgE contra esses antígenos relacionaram-se ao risco de infecção pelo parasito, deixando os indivíduos mais susceptíveis. A análise da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP mostrou um aumento ao longo do tempo tanto para os indivíduos infectados quanto para os não infectados e quando estratificados por idade, foi mais expressivo a partir de 2005. Em relação ao anticorpo IgG4, foram observadas reatividades significativamente mais elevadas deste anticorpo contra o antígeno SEA nos indivíduos infectados em todos os períodos investigados. A reatividade dos anticorpos IgG4 anti-SEA por idade mostrou uma redução progressiva e significativa ao longo do tempo, exceto para os indivíduos mais jovens (6-14 anos). Na reinfecção, houve um aumento progressivo e significativos da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP ao longo do tempo tanto no grupo do indivíduos que reinfectaram quanto naqueles que não reinfectaram sendo a distribuição da reatividade similar entre os grupos. A análise da área da curva ROC mostrou que os anticorpos IgG4 anti-SEA tiveram um poder significativo de predizer a infecção pelo *S. mansoni* em todos os anos investigados. Os anticorpos IgG4 anti-SEA e razão entre IgG4/IgE anti-SEA apresentaram uma baixa capacidade de predizer a reinfecção, com a área da curva em torno de 66%. Conclui-se que o fator imunológico não é o único que explica o fato do indivíduo estar ou não infectado pelo *S. mansoni* e que somente a reatividade de anticorpos IgG4 anti-SEA podem ser utilizados como biomarcadores imunológicos de monitoramento para predizer a presença da infecção pelo *S. mansoni* em áreas endêmicas.

Palavras-chave: Esquistossomose. Fatores socioeconômicos. População rural. Imunoglobulina. Epidemiologia.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the relationship between *S. mansoni* infection and reinfection using demographic, socioeconomic, immunological and water contact factors, in 127 individuals in Virgem das Graças, an endemic area in municipality of Ponto dos Volantes, Minas Gerais. Demographic, socioeconomic and water contact behavioral data were collected, as well as feces and blood for parasitological and serological analysis, of all individuals participating in the study between 2001 and 2009. Serum was used to evaluate specific IgE and IgG4 antibody reactivity against soluble egg (SEA) and adult worm (SWAP) antigens. The prevalence for *S. mansoni* infection before treatment (2001) was 59% (CI 95%= 50.38-67.72) with the geometric mean egg count (epg) of 61.05 (CI95%= 58.70 – 63.40). One year after treatment (2002), prevalence and intensity of infection reduced significantly to 16.5% (CI 95%= 9.98 – 23.08) and 40.6 epg (CI 95%= 37.80 – 43.42), respectively. In 2005, the prevalence increased to 27.6% (CI 95% = 19.68 to 35.43), but the intensity of infection remained similar to that of 2002 with 39.81 epg (CI 95% = 37.27 - 42.35). In the last year of evaluation (2009), the prevalence remained at 26.8% (CI 95% = 18.96 to 34.57) but the intensity of infection reduced significantly to 8.78 epg (CI 95% = 6.45 to 11.11) when compared to previous years. Multivariate analysis showed that age, water contact and immunological characteristics were associated with *S. mansoni* infection. A higher risk of infection was observed in younger individuals (6-14 and 15-29 years) as well as in those who performed activities of fishing and crossing stream. It was shown that the increase in IgG4 anti-SEA and SWAP reactivity and the IgG4/IgE ratio against these antigens were related to risk of infection, with individuals being more susceptible to infection. Analysis of IgE anti-SEA and SWAP reactivity showed an increase over time for both infected and uninfected individuals and when stratified by age, being more significant in 2005. In regard to IgG4 anti-SEA antibodies, there was a significantly higher level of antibody reactivity in the infected individuals in all investigated years. The reactivity of IgG4 anti-SEA antibodies by age, showed a significant progressive reduction over time, except for the younger individuals (6-14 years). In relation to reinfection, we also observed a significant progressive increase in IgE anti-SEA and anti-SWAP levels over time in the group of individuals who were reinfected when compared with those who did not reinfect, and the distribution of these antibody reactivities very similar between groups. The ROC analysis showed that the IgG4 anti-SEA antibody had significant power to predict infection by *S. mansoni* in every study points. IgG4 anti-SEA antibodies and IgG4/IgE anti-SEA ratio showed a low ability to predict reinfection, with a curve area around 66%. Our results showed that the prevalence of *S. mansoni* infection can not be attributed only to immunological factors. We conclude that the IgG4 anti-SEA antibody can be used as immunological monitoring biomarker to predict *S. mansoni* infection in endemic areas.

Key-words: Schistosomiasis. Socioeconomic factors. Rural population. Immunoglobulin. Epidemiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Desenho do Estudo	42
Figura 2 Mapa ilustrativo, de Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, MG, Brasil.....	44
Figura 3 Fluxograma de perdas	46
Figura 4 Curva <i>Receiver-Operating Characteristic</i> (ROC) da reatividade de IgG4 anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.....	83
Figura 5 Logaritmo natural da razão IgG4/IgE anti-SEA e carga parasitária dos indivíduos infectados e não infectados pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	85
Figura 6 Curva <i>Receiver-Operating Characteristic</i> (ROC) da reatividade da razão IgG4/IgE anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à infecção pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.....	86
Figura 7 Curva <i>Receiver-Operating Characteristic</i> (ROC) da reatividade de IgG4 anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à reinfecção pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	87
Figura 8 Logaritmo natural da razão IgG4/IgE anti-SEA e carga parasitária do grupo de indivíduos reinfecados e não reinfecados pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais	88
Figura 9 Curva <i>Receiver-Operating Characteristic</i> (ROC) da reatividade da razão IgG4/IgE anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à reinfecção pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais	89

Figura 10	Mediana da reatividade de IgE e IgG4 anti-SEA e carga parasitária do grupo de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais	90
Gráfico 1	Prevalência e média geométrica de ovos de <i>S. mansoni</i> durante os anos de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).....	57
Gráfico 2	Prevalência de ancilostomídeos e <i>Ascaris lumbricoides</i> durante os anos de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).....	58
Gráfico 3	Mediana da reatividade de IgE anti-SEA (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).....	72
Gráfico 4	Mediana da reatividade de IgE anti-SWAP (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).	72
Gráfico 5	Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).....	73
Gráfico 6	Mediana da reatividade de IgG4 anti-SWAP (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).	74
Gráfico 7	Mediana da reatividade de IgE anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	77

Gráfico 8	Mediana da reatividade de IgE anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	77
Gráfico 9	Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	78
Gráfico 10	Mediana da reatividade de IgG4 anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	79
Gráfico 11	Mediana da reatividade de IgE anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	80
Gráfico 12	Mediana da reatividade de IgE anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	80
Gráfico 13	Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	81
Gráfico 14	Mediana da reatividade de IgG4 anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	81
Gráfico 15	Média geométrica de ovos de <i>S. mansoni</i> e área abaixo da curva ROC segundo anos de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n= 127)	84

LISTA DE TABELAS

1	Comparação entre as variáveis demográficas da população do estudo e perdas em Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	47
2	Prevalência de <i>S. mansoni</i> ao longo dos anos de pesquisa segundo variáveis demográficas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).....	59
3	Média geométrica de ovos de <i>S. mansoni</i> ao longo dos anos de pesquisa segundo variáveis demográficas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).	59
4	Infecção pelo <i>S. mansoni</i> em 2001 e 2009 segundo variáveis socioeconômicas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais, n=127.....	61
5	Mediana das atividades de contato com água de acordo com a infecção pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais, n=127.	62
6	Análise univariada da infecção pelo <i>S. mansoni</i> segundo variáveis demográficas e socioeconômicas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	63
7	Análise univariada da infecção pelo <i>S. mansoni</i> segundo as atividades de contato com água, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	64
8	Análise univariada da infecção pelo <i>S. mansoni</i> segundo variáveis imunológicas (IgE e IgG4 anti-SEA/SWAP), Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	64

9	Modelo final da análise multivariada (modelo logístico binário utilizando método de estimação GEE) incluindo as características imunológicas ligadas ao antígeno do ovo (SEA) tendo à infecção pelo <i>S. mansoni</i> como variável dependente, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	67
10	Modelo final da análise multivariada (modelo logístico binário utilizando método de estimação GEE) incluindo as características imunológicas ligadas ao antígeno do verme adulto (SWAP) tendo à infecção pelo <i>S. mansoni</i> como variável dependente, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais... ..	68
11	Mediana da reatividade de IgE anti-SEA ou SWAP (OD 492 nm) de acordo com a infecção pelo <i>S. mansoni</i> por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).	70
12	Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA ou SWAP (OD 492 nm) de acordo com a infecção pelo <i>S. mansoni</i> por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).	71
13	Coefficiente de correlação entre a carga parasitária dos indivíduos infectados e IgE anti-SEA e SWAP para cada ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	75
14	Coefficiente de correlação entre intensidade de infecção dos indivíduos infectados e IgG4 anti-SEA e SWAP para cada ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	75
15	Área abaixo da curva ROC do anticorpo IgG4 anti-SEA em relação a infecção pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais. ...	83
16	Área abaixo da curva ROC da razão IgG4/IgE anti-SEA em relação a infecção pelo <i>S. mansoni</i> , Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.	86

- 17 Área abaixo da curva ROC do anticorpo IgG4 anti-SEA em relação a reinfecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais. 88
- 18 Área abaixo da curva ROC da razão IgG4/IgE anti-SEA em relação a reinfecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais. 90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDC	Center for Disease Control and Prevention
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CONEP	Comitê Nacional de Ética em Pesquisa
CPqRR	Centro de Pesquisa René Rachou
DALYs	Disability Adjusted Life Years.
ELISA	Enzime Linked Immunosorbent Assay
EPF	Exame parasitológico de fezes
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
GEE	<i>Generalized Equation Estimation</i>
GNNTDC	<i>Global Network for Neglected Tropical Disease Control</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de Confiança
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IgE	Imunoglobulina E
IgG4	Subclasse da imunoglobulina G
MML	Máxima Verossimilhança Marginal
OD	Densidade óptica
ODM	Objetivos do Milenium
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPG	Ovos por grama de fezes
PBS	Tampão fosfato salínico (phosphate buffer saline)
PBST	Tampão fosfato salínico com Tween

PCE	Programa de Controle da Esquistossomose
PDA	<i>Personal Digital Assistant</i>
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
PPC	<i>Partners in Parasite Control</i>
PH	Potencial hidrogeniônico
RR	Risco relativo
SCI	<i>Schistosomiasis Control Initiative</i>
SEA	Antígenos solúvel de ovo
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>
STATA	<i>Statistical Software for Professionals</i>
SWAP	Antígenos de verme adulto
TBM	Total Body minutes ou Tempo total de exposição
TDR	<i>Programme for Research and Training in Tropical Diseases</i>
TRI	Teoria de Resposta ao Item
UNDP	<i>United Nations Development Programme</i>
UNICEF	<i>United Nations International Children's Emergency Fund</i>
USA	Estados Unidos da América
VDG	Virgem das Graças
WHA	<i>World Health Assembly</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
1.1 A esquistossomose: epidemiologia e controle.....	24
1.2 A esquistossomose: doença multifatorial.....	30
2 HIPÓTESES DO ESTUDO	37
3 OBJETIVOS	39
3.1 Geral.....	39
3.2 Específicos.....	39
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	41
4.1 Desenho do estudo.....	41
4.2 Local do estudo.....	43
4.3 População do estudo.....	45
4.4 Coleta de Dados.....	47
4.4.1 Exame Parasitológico de Fezes.....	48
4.4.2 Coleta de sangue.....	48
4.4.3 Tratamento.....	49
4.4.4 Reatividade de IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP.....	49
4.4.5 Determinação do contato com água.....	50
4.4.6 Questionário demográfico e socioeconômico.....	50
4.5 Variáveis do estudo.....	51
4.5.1 Variáveis dependentes.....	51
4.5.2 Variáveis independente.....	51
4.5.2.1 Variáveis socioeconômicas e de contato com água.....	51
4.5.2.2 Variáveis demográficas, imunológicas e carga parasitária.....	53
4.6 Análise dos dados.....	53
4.7 Aspectos éticos.....	55
5 RESULTADOS	57
5.1 Estudo dos fatores de risco associados à infecção pelo <i>S. mansoni</i>	57
5.1.1 Análise descritiva.....	57
5.1.1.1 Características da população em estudo no período de 2001 a 2009.....	57
5.1.1.2 Variáveis socioeconômicas e infecção pelo <i>S. mansoni</i> em 2001 e 2009.....	60
5.1.1.3 Atividades de contato com água e infecção pelo <i>S. mansoni</i> em 2001 e 2009.....	62
5.1.2 Análise longitudinal dos fatores de risco associados à infecção pelo <i>S. mansoni</i>	63
5.1.2.1 Análise univariada.....	63

5.1.2.2 Análise multivariada.....	65
5.2 Análise da reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP	70
5.2.1 Avaliação longitudinal da reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP em indivíduos infectados e não infectados	70
5.2.2 Avaliação da reatividade de IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP por faixa etária.....	71
5.2.3 Correlação entre a carga parasitária dos indivíduos infectados pelo S. mansoni e os anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP, por ano investigado	74
5.2.4 Avaliação da reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP em grupos de indivíduos reinfectedados e não reinfectedados	76
5.2.4.1 Análise comparativa longitudinal da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP dos grupos de indivíduos não reinfectedados e reinfectedados.....	76
5.2.4.2 Comparações entre os grupos, dentro do mesmo ano	79
5.3 Análises de desempenho: avaliação da utilização da resposta de IgE ou IgG4 contra antígenos do parasita como biomarcadores imunológicos de infecção e reinfecção.....	82
6 DISCUSSÃO	92
7 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	103
REFERÊNCIAS.....	105
ANEXOS E APÊNDICES.....	121

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 A esquistossomose: epidemiologia e controle

A esquistossomose é considerada um grave problema de saúde pública e se destaca como uma das infecções que mais afetam as populações humanas, principalmente as que vivem em regiões mais pobres, com baixas condições socioeconômicas, sem saneamento básico e água tratada. Estima-se que 200 milhões de pessoas no mundo, principalmente na África, Ásia e Américas, estejam infectadas pelo *Schistosoma* e 800 milhões em risco de adquirir a infecção (STEINMANN *et al.*, 2006). A morbidade associada a esta infecção acarreta um forte impacto na qualidade de vida dos indivíduos e favorece a manutenção do ciclo vicioso de infecção, pobreza, baixa produtividade e desenvolvimento socioeconômico inadequado. A infecção pelo *Schistosoma* pode impactar, também, em outras infecções como malária e HIV/AIDS e na habilidade do indivíduo em responder efetivamente a várias vacinas para outras doenças infecciosas.

A esquistossomose é endêmica em 76 países e territórios, nas regiões dos trópicos e subtropicais e o *Schistosoma mansoni* em 54 países distribuídos na América do Sul, Caribe, África e Ásia, sendo que 85% do número estimado de pessoas infectadas estão no continente africano, principalmente na região subsaariana (VAN DER WERF *et al.*, 2003; WHO, 2002). O impacto da doença avaliado pelo número de anos de vida produtivos perdidos em decorrência do agravo, expressado pelo indicador *Disability Adjusted Life Years* - DALYs, foi subestimado em 1,7 milhões (CHITSULO *et al.*, 2000; KING; DICKMAN; TISCH, 2005; STEINMANN *et al.*, 2006). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) esse número pode atingir 4,5 milhões (WHO, 2002).

A esquistossomose causa de 15.000 a 280.000 mortes anuais somente na região África subsaariana e várias incapacidades em aproximadamente 20 milhões de pessoas (VAN DER WERF *et al.*, 2003), principalmente hepatoesplenomegalia e câncer de bexiga. A morbidade pelo *Schistosoma* é difícil de ser avaliada, sobretudo nos casos de infecção pelo *S. mansoni*, pelo fato dos sintomas serem inaparentes ou inespecíficos estando associados, frequentemente com outras infecções helmínticas e malária que, na maioria das vezes coexistem com a esquistossomose.

As taxas de mortalidade no Brasil reduziram em 62,9% no período de 1980 a 2003 (0,70/ 100.000 em 1980 para 0,26/ 100.000 em 2003). A redução mais expressiva ocorreu depois de 1986 com o uso de medicamento em larga escala, parte da nova estratégia de

controle da esquistossomose no Brasil (FERREIRA & SILVA, 2007). Entretanto, enfatiza-se que devido à implementação do tratamento com praziquantel, droga de dose única e administrada por via oral, produzida e distribuída nacionalmente pelo Ministério da Saúde, houve diminuição da prevalência, da morbidade e principalmente da mortalidade por essa helmintose, mas essa não está controlada (KATZ; ALMEIDA, 2003; SILVA, 2003). Ressalta-se, contudo que, apesar da evidente redução da morbimortalidade por esquistossomose, principalmente pela distribuição do praziquantel e oximiniquine, essa medida por si só não foi suficiente para controlar a transmissão da doença em nosso país (COURA; AMARAL, 2004).

Haja visto que, no Brasil existem, aproximadamente, seis milhões de indivíduos infectados e 25 milhões em risco de contrair a doença (KATZ & PEIXOTO, 2000). As áreas endêmicas abrangem grande parte dos estados da região nordeste (Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia) e, na região sudeste os estados do Espírito Santo e Minas Gerais. Em alguns estados como o Pará, Maranhão, Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul a distribuição é focal. Os índices de prevalência mais elevados ocorrem em municípios dos estados de Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais (BRASIL, 2009; COURA; AMARAL, 2004).

Em Minas Gerais, a esquistossomose ocorre em 523 dos 853 municípios, com uma distribuição irregular, intercalando áreas de maior prevalência com outras de prevalência baixa ou ausente. Os municípios das regiões norte, nordeste, leste e os limítrofes com o Espírito Santo são os mais atingidos (BRASIL, 2007). Em 1997, foi realizado um levantamento coproscópico em Minas Gerais em aproximadamente 16 milhões de indivíduos, que identificou uma prevalência de 7,8% (KATZ; PEIXOTO, 2000). Atualmente está sendo realizado o Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e geo-helmintos, financiado e coordenado pelo Ministério da Saúde que certamente mostrará, de forma mais fidedigna e atualizada as áreas de infecção no país. Este inquérito iniciou-se em 2011 e esta sendo realizado em amostras de crianças com idade entre 7 e 14 anos, residentes em áreas específicas do território nacional, representativas da população e identificará as áreas de prevalências tanto de esquistossomose quanto de geohelmintos. Desta forma, será possível classificar, com mais eficiência, as áreas de risco de transmissão que são pré-requisitos para o estabelecimento de objetivos, prioridades e a adequada implementação das ações de vigilância e controle.

As infecções intestinais por helmintos são reconhecidas pelo enorme impacto que causam no homem há mais de 60 anos e, desde então, esforços têm sido realizados para melhor compreender e controlar a doença. Este reconhecimento, particularmente nos últimos

35 anos do século XX levou à implantação de programas de controle em larga escala. Em 1974, a Assembléia Mundial de Saúde por meio da Resolução WHA 27.52 determinou que a Organização Mundial de Saúde (OMS) incentivasse e intensificasse as pesquisas sobre as doenças parasitárias de maior impacto nas populações, entre elas a esquistossomose (WHO, 2006a). Essa determinação levou à criação, no ano de 1975, do Programa para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais - TDR / Fundo das Nações Unidas para a Infância - UNICEF / Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento - UNDP / Banco Mundial. Em 2001, a Assembléia Mundial de Saúde aprovou a Resolução WHA 54.19 com o objetivo global de realizar o tratamento de, no mínimo, 75% das crianças em idade escolar em risco de morbidade por esquistossomose e helmintoses transmitidas pelo solo até o ano de 2010 (WHO, 2001). Esta resolução levou ao estabelecimento da iniciativa (Consórcio para o Controle de Parasitos - PPC) pela OMS (WHO, 2001, 2002). Mais recentemente, foram estabelecidos os *Objetivos do Milênio* (ODM) além de outras iniciativas como a (Iniciativa para o Controle da Esquistossomose - SCI) em 2002 (FENWICK *et al.*, 2009) e a (Rede Global para o Controle das Doenças Tropicais Negligenciadas - GNNTDC) em 2006 (WHO, 2010a).

As recomendações atuais da OMS preconizam que o controle da esquistossomose deve ser realizado de forma que haja uma integração de diferentes ações: tratamento dos infectados, promoção da educação em saúde, implementação de saneamento básico e fornecimento de água tratada (WHO, 2008).

O panorama mundial mostra que a esquistossomose foi eliminada do Japão e da Tunísia e está próxima da eliminação no Marrocos e em algumas ilhas do Caribe. Progressos substanciais foram realizados para o controle da infecção no Brasil, China e Egito (UTZINGER *et al.*, 2009). Por outro lado, a esquistossomose tem sido identificada em áreas não endêmicas, o que aumenta a preocupação de que a migração descontrolada, o turismo rural, o desenvolvimento de novas represas e sistemas de irrigação, o desmatamento e o aquecimento global possam acelerar a transmissão (ENK *et al.*, 2010a; FENWICK, 2006; STEINMANN *et al.*, 2006; ZHOU *et al.*, 2008;).

O aumento da transmissão, além do reconhecimento da esquistossomose como um problema de saúde pública mundial resultou na implantação de programas nacionais de controle em vários países. De acordo com a OMS, até 1976 apenas o Brasil, China, República Dominicana, Egito, Irã, Iraque, Marrocos, Filipinas, Porto Rico, Santa Lúcia, Tunísia e Venezuela possuíam seus respectivos programas nacionais de controle da esquistossomose (WHO, 1998). Entretanto, ao longo dos anos foram realizados progressos no controle da

doença que incentivaram outros países endêmicos a criarem seus próprios programas. Porém, em vários deles, principalmente na África, existe, ainda, a necessidade de identificação de métodos mais eficientes para o controle da transmissão e para o tratamento, bem como o controle dos moluscos, fornecimento de água potável e instalações sanitárias adequadas (WHO, 2008). Contudo, apesar desses programas e recomendações, o controle da esquistossomose em âmbito mundial, nos países endêmicos, não alcançou patamares que permitam visualizar sua eliminação em um futuro próximo.

No Brasil, o Ministério da Saúde criou, em 1980, o Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) que passou por duas fases de reestruturação, sendo uma a descentralização das atividades para as Secretarias Estaduais de Saúde com restrições ao tratamento em massa; e outra, a organização do programa por áreas classificadas de acordo com a prevalência e a transmissão da doença. A partir de 1999, as Secretarias Municipais de Saúde passaram a assumir gradativamente o controle dessa endemia em seus territórios e o PCE foi inserido no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2004a; COURA; AMARAL, 2004).

Atualmente, no que se refere aos objetivos de vigilância e de controle em área endêmica para esquistossomose no Brasil, as medidas recomendadas pelo Ministério da Saúde estão focadas na prevenção de formas graves, consequentemente na redução dos óbitos e na diminuição da prevalência. Essas medidas são alcançadas por meio do tratamento dos portadores, através de ações de saneamento ambiental e de educação em saúde e do uso restrito de moluscidas, (BRASIL, 2008).

Para monitorar essas medidas, são preconizados inquéritos coproscópicos bienais com populações inteiras de cada localidade endêmica por meio de busca ativa. Nestes inquéritos a meta é diagnosticar a infecção e tratar, no mínimo, 80% dos indivíduos positivos (BRASIL, 2008). O exame parasitológico de fezes é realizado, preferencialmente, pelo método Kato-Katz (KATZ *et al.*, 1972), pois permite, além da visualização, a contagem dos ovos por grama de fezes para avaliação da intensidade da infecção. O Ministério da Saúde preconiza inquéritos coproscópicos com apenas uma amostra de fezes e uma lâmina por indivíduo (BRASIL, 2008). Entretanto, o método Kato-Katz possui a limitação de subestimar a infecção nos casos de carga parasitária baixa, que pode ser melhorada com o aumento do número de amostras de fezes e de lâminas por amostra, mas por aumentar os custos com recursos materiais e humanos não é rotina nos serviços de saúde (ENK *et al.*, 2008). Além dos exames parasitológicos de fezes, o Ministério da Saúde recomenda, ainda, melhoria das condições de saneamento básico e de abastecimento de água tratada e educação em saúde e o controle do hospedeiro intermediário por meio de moluscidas com certas restrições. Vale ressaltar que

nenhum destes métodos pode ser considerado capaz de proporcionar o controle da esquistossomose separadamente, exceto em áreas muito restritas (COURA; CONCEIÇÃO, 2010).

Estudos sobre a avaliação do impacto do Programa de Controle da Esquistossomose no Brasil evidenciaram que o programa foi bem sucedido no que se refere à morbidade e mortalidade da doença, mas não interrompeu a transmissão nem reduziu a taxa de prevalência a índices considerados baixos, inferiores a 5% e tampouco evitou a ocorrência de novos focos (AMARAL *et al*, 2006; COURA & AMARAL, 2004). As ações de controle no país focam principalmente na quimioterapia, o que por si só, reduz a prevalência da infecção e da morbidade da doença, mas não controla a sua transmissão. Sabe-se que o controle da transmissão só é possível através de medidas integradas a curto, médio e longo prazo, porém, estas nunca foram colocadas em prática contínua em nosso país (COURA; CONCEIÇÃO, 2010). O controle da esquistossomose em um país como o Brasil, com larga difusão do hospedeiro intermediário, além da migração frequente da população, é considerado um processo difícil, que requer intensificação, adaptação e continuidade dos programas (KLOOS *et al.*, 2010).

As atuais estratégias de controle da esquistossomose recomendadas pela OMS e pelo Ministério da Saúde são semelhantes em vários aspectos, principalmente no que diz respeito às medidas de prevenção, mas divergem quanto ao foco das estratégias para o diagnóstico e o tratamento. A OMS propõe, como meta principal, o tratamento sem diagnóstico prévio dirigido aos grupos mais vulneráveis, como crianças em idade escolar e adultos com ocupações que exigem contatos frequentes com focos de transmissão (WHO, 2002). O Ministério da Saúde, por sua vez, recomenda a identificação dos indivíduos infectados por meio de inquéritos coproscópicos realizados pela rede municipal de saúde em comunidades inteiras que vivem em áreas endêmicas, além do tratamento dos indivíduos infectados (BRASIL, 2008).

Atualmente, no Brasil, o tratamento é realizado com o Praziquantel devido a sua segurança, eficácia e baixo custo, além de apresentar efeitos colaterais leves (BRASIL, 2009). Este é apresentado em comprimidos e administrado por via oral, em dose única de 50 mg/kg de peso para adultos e 60 mg/kg de peso para crianças entre 2 e 15 anos. Este tratamento é baseado nas taxas de prevalência de cada região, sendo que em localidades onde a prevalência é menor que 25%, o tratamento é realizado somente em indivíduos positivos; onde a prevalência situa-se entre 25 e 50%, são tratados os indivíduos positivos e conviventes e, finalmente, onde a prevalência é maior que 50%, o tratamento é direcionado a toda a

população da localidade (BRASIL, 1998, 2007, 2008). Embora os programas reconheçam a importância de estratégias auxiliares, tais como, melhoria ambiental, saneamento básico e um desenvolvimento socioeconômico sustentável, o tratamento, seja ele específico ou em massa, continua sendo o principal foco.

A eficácia dos programas que utilizam a estratégia de tratamentos em massa sem diagnóstico prévio, como em alguns países da África, ou daqueles que diagnosticam e tratam toda a população, como no Brasil, parece ser menor do que inicialmente previsto. Normalmente, o que se observa, é um rápido declínio na intensidade de infecção seguido de redução na prevalência nos primeiros anos, após o início do tratamento, quando os ganhos proporcionais são maiores (SMITS, 2009). No entanto, após esses ganhos iniciais, verifica-se uma redução da morbidade mas não a eliminação da infecção. Diante disso, pode ser necessário ampliar a duração desses programas por mais tempo, podendo levar a um declínio da cobertura do tratamento, pois acarreta um desgaste com a comunidade. A baixa adesão pode ser um fator que influencia na infecção, pois epidemiologicamente, as infecções por helmintos em seres humanos são caracterizadas por serem persistentes, insidiosas e de rápida reinfeção (ANDERSON & MAY, 1992).

Na maioria das vezes, as drogas antiparasitárias exigem do indivíduo um sistema imunológico competente para ser totalmente eficaz. A resposta heterogênea do hospedeiro e a diversidade dos parasitos também podem contribuir para a persistência da infecção em alguns programas de controle, além da possibilidade de resistência à droga (CHURCHER *et al.*, 2009). No caso da esquistossomose, o praziquantel, utilizado no controle deste agravo apresenta uma limitação no que diz respeito a sua eficácia contra as formas imaturas do parasito (RASO *et al.*, 2004). Adiciona-se a isso o fato de já ter sido detectado resistência à droga em áreas endêmicas no Egito (ISMAIL, *et al.*, 1996). Portanto, é preciso rever os processos que regulam a infecção e reinfeção, investigar o impacto, a longo prazo, das mudanças na resposta imune do hospedeiro, explorar os efeitos prolongados dos anti-helmínticos sobre a biologia do parasito e melhorar a compreensão da relação entre a infecção e a doença, para melhor embasar os programas de controle (CASTILHO-CHAVEZ; FENG; XU, 2008).

Até o momento, a maioria dos programas de controle da esquistossomose, tanto na África ub-Saariana quanto no Brasil, têm direcionado suas ações para a redução da morbidade ao invés da eliminação da infecção, utilizando o tratamento com o praziquantel como a principal ferramenta de estratégia de controle. O uso apenas do tratamento pode implicar na probabilidade das infecções persistirem em um nível baixo (<50-100 ovos por grama de

fezes) difíceis de serem detectadas por método coproscópico quantitativo. Ressalta-se que esse monitoramento da eficácia do tratamento fundamentado apenas no método de avaliação da excreção de ovos após o tratamento, apresenta baixa sensibilidade (DOENHOFF, 1998). Conseqüentemente, as taxas de cura do tratamento podem ser superestimadas quando este método é aplicado de forma rotineira (FERRARI *et al.*, 2003).

Neste contexto, torna-se necessário o uso de teste de diagnóstico mais sensível e de identificação de biomarcadores que possam ser utilizados em programas de controle e no monitoramento da eficácia do tratamento. De fato, a OMS aponta que a identificação de biomarcadores são considerados uma prioridade de pesquisa, pois o seu uso permite monitorar o tratamento de forma rápida e mais sensível (DRG4/TDR/WHO, 2012 prelo).

1.2 A esquistossomose: doença multifatorial

Como dito anteriormente, a esquistossomose é uma doença da pobreza. Afeta, principalmente, aqueles que vivem em áreas rurais mais isoladas e em condições precárias de moradia. Essas populações, em geral, habitam locais onde não há saneamento básico e nem água tratada. Esses ambientes propiciam um maior risco dos indivíduos adquirirem à infecção pelo *S. mansoni* e relacionam com o argumento da perpetuação do ciclo vicioso entre pobreza e doença.

No Brasil, o papel dos fatores socioeconômicos na transmissão da esquistossomose, tem sido demonstrado em vários estudos (BETHONY *et al.*, 2001; COURA-FILHO *et al.*; GAZZINELLI *et al.*, 2006; LIMA E COSTA, 1991; 1994; SILVA *et al.*, 1997;). Segundo Bethony *et al.* (2004) os fatores socioeconômicos e demográficos foram responsáveis por 15% da variação na contagem de ovos dos indivíduos residentes em Melquiades, área endêmica para *S. mansoni* no nordeste de Minas Gerais. Resultados encontrados por Lima e Costa (1983) em estudo realizado também no nordeste de Minas Gerais, em Comercinho, apontaram que a infecção pelo *S. mansoni* era mais freqüente nas famílias onde os chefes das casas eram trabalhadores braçais, a qualidade das casas era inferior e entre os que não possuíam água encanada no domicílio.

Por outro lado, estudo realizado por Gazzinelli *et al.* (2006) mostrou que a pobreza generalizada, o fato de todos viverem em região rural com pequena diferenciação socioeconômica entre os moradores propiciam um freqüente contato com águas contaminadas o que, aparentemente, minimizou o efeito protetor do suprimento de água encanada da

localidade e a relação entre a infecção e os parâmetros socioeconômicos normalmente encontrados em outros estudos.

Considerando-se que a transmissão da esquistossomose ocorre pelo contato direto com águas contaminadas por cercárias, as atividades nelas realizadas constituem fatores de risco maiores ou menores em decorrência da exposição. No entanto, apenas este fator comportamental não explica, por exemplo, as variações de infecção e reinfecção que ocorrem com a idade, sugerindo, que o fator imunológico possa contribuir para essas variações (NAUS *et al.*, 2003, DE MOIRA *et al.*, 2010). Sabe-se que o sistema imune do hospedeiro ao ser exposto a uma série de antígenos derivados do parasito e do ovo desencadeia uma resposta celular e humoral. Os antígenos secretados pelo ovo maduro atravessam a parede de sua casca e disseminam ao seu redor, estimulando a resposta imune principalmente celular e produzindo uma reação granulomatosa, significativa (CHEEVER; HOFFMANN, 2000).

A resposta imune celular pode ser diferenciada em fases razoavelmente distintas. A primeira é predominantemente tipo 1 (Th1) ocorre logo após a infecção, durante a exposição do hospedeiro às cercarias e esquistossômulos. À medida que os parasitos se desenvolvem e a fêmea inicia a postura de ovos, a resposta imune celular se altera drasticamente para tipo 2 (Th2) induzida por antígenos dos ovos de *S. mansoni*. Posteriormente, a resposta Th2 é modulada e a inflamação ao redor dos ovos diminui (CHEEVER; HOFFMANN, 2000).

Tanto a resposta celular como a humoral tem sido relacionada com proteção na esquistossomose experimental e humana. O papel dos anticorpos na resposta imune contra o *S. mansoni* pode ser regulatória ou efetora dependendo do isotipo de anticorpo produzido. Em humanos, IgG1, IgG3 e IgE são isotipos capazes de mediar a destruição de esquistossômulos *in vitro* na presença de eosinófilos, macrófagos e plaquetas por um mecanismo de citotoxicidade mediada por anticorpo-ADCC e fixação de complemento (CAPRON *et al.*, 1975, JOSEPH *et al.*, 1983, KHALIFE *et al.*, 1986), enquanto IgM, IgG2 e IgG4 não são capazes de mediar a destruição do parasito *in vitro* (BUTTERWORTH *et al.*, 1987; KHALIFE *et al.*, 1986). A resposta de anticorpos contra a esquistossomose humana varia, também, de acordo com a fase clínica da doença. Pacientes na fase aguda produzem altos níveis de anticorpos das subclasses IgG1, IgG2 e IgG3 e baixos níveis de anticorpos IgM e IgG4 contra antígenos do esquistossômulo, enquanto que indivíduos, na fase crônica exibem uma baixa resposta de IgG1, IgG2 e IgG3 e alta produção de IgG4 em resposta a antígenos do esquistossômulo e do verme adulto (JASSIM *et al.*, 1987).

Estudos têm encontrado uma correlação entre a produção de diferentes tipos de anticorpos e susceptibilidade ou resistência à infecção e reinfecção pelo *S. mansoni*. Adultos e

crianças exibem diferenças de susceptibilidade à esquistossomose, sendo as crianças mais susceptíveis à infecção pelo parasito do que os indivíduos adultos (BLACK, *et al.*, 2010a; BUTTERWORTH *et al.*, 1992; VEREECKEN *et al.*, 2007; WALTER *et al.*, 2006). A cinética de produção de diferentes isotipos de anticorpos específicos contra o *S. mansoni* também varia de acordo com a idade e pode estar em parte, relacionada à susceptibilidade observada em crianças, pois estas produzem, contra os antígenos do parasito, preferencialmente anticorpos específicos dos isotipos IgM, IgG2 e IgG4 que são menos eficientes em mediar a destruição do parasito. Além disso, competem pela ligação ao antígeno com anticorpos de outros isotipos como IgE, IgG1 e IgG3, capazes de mediar a destruição do parasito por ADCC ou pela ativação do complemento (BUTTERWORTH *et al.*, 1987, 1992). Uma correlação positiva entre os níveis de IgE (DUNNE *et al.*, 1992; RIHET *et al.*, 1991; VIANA *et al.*, 1995), eosinofilia (HAGAN *et al.*, 1985) e a resistência à infecção e reinfecção têm sido observada *in vivo* e sugere que os eosinófilos podem estar envolvidos na eliminação do parasito por citotoxicidade dependente de IgE.

O papel da IgE e dos eosinófilos na esquistossomose foi avaliado em estudos transversais e longitudinais, bem como em populações de imigrantes após o tratamento (BUTTERWORTH *et al.*, 1988, 1992; CORRÊA-OLIVEIRA *et al.*, 2000; DE MOIRA, *et al.*, 2010; DESSEIN *et al.*, 1992; DUNNE *et al.*, 1992; GANLEY-LEAL *et al.*, 2006; HAGAN *et al.*, 1985; VIANA *et al.*, 1995). Pesquisadores têm demonstrado que pacientes com altos níveis de eosinófilos estão menos susceptíveis a adquirir nova infecção por *S. haematobium*, sob condições contínuas de exposição (HAGAN *et al.*, 1987; KIMANI *et al.*, 1991; STURROCK *et al.*, 1983). Em relação a IgE, Hagan *et al.* (1991) demonstraram que, aqueles pacientes com altos níveis de IgE circulantes anti-antígenos solúveis de vermes adultos (SWAP) são resistentes a reinfecção pelo *S. haematobium* após o tratamento e que os níveis aumentam progressivamente com a idade.

Analisando a resposta imune de indivíduos resistentes e susceptíveis em áreas endêmicas, nota-se que a resistência à infecção está associada aos altos níveis de IgE contra SWAP e que a reinfecção ocorre quando há produção de altos níveis de anticorpos da sub-classe IgG4 que competem com IgE (BUTTERWORTH *et al.* 1985; CORRÊA-OLIVEIRA *et al.* 2000; DUNNE *et al.* 1992; HAGAN *et al.* 1987; 1991; SILVEIRA *et al.* 2002). Do mesmo modo, Caldas *et al.* (2000) encontraram aumento nos níveis de IgE contra SWAP e redução de IgG4 para antígenos solúveis do ovo no grupo de indivíduos resistentes a reinfecção após o tratamento, sugerindo que a resistência à reinfecção depende, em parte, do balanço entre os níveis de IgE e IgG4.

Vários trabalhos realizados na África (BUTTERWORTH *et al.* 1985; DUNNE *et al.* 1992; HAGAN *et al.* 1987; 1991; MUTAPI; MDULUZA; NDHLOVU, 2002) e no Brasil (CALDAS *et al.*, 2000; CORRÊA-OLIVEIRA *et al.* 2000; SILVEIRA *et al.* 2002) têm mostrado a importância da resposta imune como determinante da infecção e reinfeção pelo *S. mansoni*. Vale ressaltar, também, a importância da resposta imune como biomarcador na epidemiologia da esquistossomose. Estudos sobre a resposta imune e o seu papel no desenvolvimento da doença e na resistência a reinfeção vem sendo desenvolvidos há várias décadas sem que, no momento, exista um biomarcador imunológico de infecção que possa ser aplicado em áreas endêmicas. O entendimento da resposta imune protetora tanto contra a infecção como a reinfeção é fundamental para o teste de novas drogas e para análise epidemiológica relacionada ao controle desta endemia. No entanto, alguns investigadores questionam o papel somente da resposta imune como fator central na redução da infecção ou reinfeção, sugerindo a possibilidade da contribuição de outros fatores, tais como genéticos, fisiológicos e comportamentais (ABEL *et al.*, 1991; 1997; CORRÊA-OLIVEIRA *et al.*, 2000; GRYSEELS, 1996; MARQUET *et al.*, 1996).

Assim, frente ao grande número de pacientes infectados no Brasil e no mundo, bem como a avaliação de cada fator de maneira isolada pela maioria dos trabalhos, torna-se clara a necessidade de estudos que visem compreender a associação entre os fatores socioeconômicos, demográficos, comportamentais (contato com água) e imunológicos na infecção e reinfeção pelo *S. mansoni*. Estudos longitudinais que avaliam a influência de determinantes multifatoriais na susceptibilidade do indivíduo às infecções e reinfeções são essenciais para os programas de controle e quimioterapia assim como o desenvolvimento de vacinas e testes de diagnósticos mais eficazes.

No que se refere à quimioterapia, o seu impacto nas comunidades, a médio e longo prazo, decorrente de tratamentos sucessivos constitui o problema fundamental no estudo dessa endemia (BLACK *et al.*, 2009). Estudos relacionados ao efeito do tratamento realizado pelo nosso e outros grupos em diferentes áreas endêmicas (DUNNE *et al.*, 1998; FULFORD *et al.*, 1998; MATOSO, 2008; WALTER *et al.*, 2006) mostraram que a reinfeção após a quimioterapia é maior entre crianças e adolescentes e menor em adultos. Além disso, deve-se considerar, também, a força de reinfeção que varia significativamente dependendo do local de moradia. Esta força de reinfeção ocorre tipicamente em pequenos focos o que exige o uso de fatores múltiplos e integrados (imunológicos, comportamentais, socioeconômicos, ambientais, etc) para compreender o risco de infecção e de reinfeção e elucidar os mecanismos envolvidos na dinâmica desta infecção.

Sabe-se que o efeito quimioterápico é dependente da resposta imune do hospedeiro. Os mecanismos envolvidos neste processo são, ainda, pouco conhecidos não só na eliminação do parasito, mas também, em relação ao seu papel na morbidade da doença. Estudos sobre a resposta imune humana contra a infecção pelo *S. mansoni* em indivíduos infectados indicam que os anticorpos parasita-específicos têm papel importante tanto na susceptibilidade como na resistência à infecção e reinfeção (HAGAN *et al.*, 1991; BONNARD *et al.*, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2002; VIANA *et al.*, 1995; WALTER *et al.*, 2006). Estes trabalhos demonstram que há uma relação estreita entre o balanço dos níveis de IgE e IgG4 na infecção pelo *S. mansoni* e sugerem que níveis elevados de IgE estão relacionados a resistência ao parasito, enquanto IgG4 está relacionada a susceptibilidade.

No Brasil, observou-se, ainda, que em áreas endêmicas existe um grupo de indivíduos que não se infectam, apesar do contato freqüente com águas contaminadas (CORRÊA-OLIVEIRA; CALDAS; GAZZINELLI, 2000). Este grupo de indivíduos denominados “normais endêmicos” (NE) a) não apresentam ovos nas fezes em exames sucessivos, b) têm contato freqüente com água e c) apresentam resposta imune tanto celular quando humoral (anticorpos) contra antígenos do *S. mansoni*. Análise dos níveis de IgE contra antígenos do verme adulto e purificados como a paramiosina, mostraram que esses indivíduos apresentam níveis significativamente elevados destes anticorpos assim como os pacientes tratados e não reinfectados. Neste estudo observou-se que a resposta de IgE contra o tegumento do *S. mansoni* foi significativamente maior nos indivíduos NE do que nos infectados. Esses dados reforçam o papel dos anticorpos da classe IgE como fator relacionado a eliminação do parasito. Vale ressaltar que nesse mesmo grupo de indivíduos, a análise da resposta de anticorpos da subclasse IgG4 apresentou níveis mais baixos do que os dos indivíduos portadores de infecção ou tratados e não reinfectados. Esses resultados reforçam, mais uma vez, a hipótese de que a relação IgG4/IgE é um fator fundamental na determinação da resistência/susceptibilidade a infecção.

Em estudo realizado pelo nosso grupo em área endêmica para esquistossomose foi observado que a avaliação apenas do IgE total um ano após o tratamento não serve como biomarcador de eficácia de tratamento (MATOSO, 2008), tornando importante a avaliação da resposta IgE específica. Ao mesmo tempo é fundamental a análise dos níveis IgG4 contra antígenos do parasito tendo em vista que vários estudos têm demonstrado que o balanço entre esses dois fatores é importante para a eliminação da infecção (BONNARD, *et al.*, 2004; HAGAN, *et al.*, 1991; SILVEIRA, *et al.*, 2002; VIANA, *et al.*, 1995).

Estudos têm sugerido que, em áreas endêmicas, a alta concentração do hospedeiro invertebrado associado a vários dos fatores mencionados anteriormente favorecem a ocorrência de prevalências elevadas de esquistossomose (GUIMARÃES *et al.*, 2006; MELO & COELHO, 2002; XIMENES *et al.*, 2003). Isto sugere a importância destes fatores na determinação da cadeia de transmissão. Portanto, uma avaliação longitudinal dos fatores comportamentais, imunológicos, socioeconômicos na infecção e reinfecção do indivíduo nos permite demonstrar a inter-relação entre eles que pode ser fundamental para o desenvolvimento e avaliação de programas de controle da esquistossomose. Além disso, este estudo abrange uma análise detalhada da relação IgG4/IgE como um dos componentes relacionados a eliminação do parasito. Isto nos permite, ainda, avaliar se esses anticorpos poderiam ser utilizados em estudos epidemiológicos como biomarcadores imunológicos de susceptibilidade ou resistência à infecção e reinfecção pelo *S. mansoni*.

Baseado no exposto, este estudo teve como objetivo identificar e analisar, em conjunto, todos esses fatores preditores da esquistossomose antes e após tratamentos sucessivos; determinar se há relação entre a resposta de IgG4 e IgE contra antígenos brutos do parasito e se esta resposta pode ser utilizada como biomarcador imunológico de infecção e reinfecção pelo *S. mansoni*.

Hipóteses do estudo

2 HIPÓTESES DO ESTUDO

Hipótese 1: A infecção e reinfecção pelo *S. mansoni* está associada aos fatores demográficos, socioeconômicos e de contato com água.

Hipótese 2: As respostas de IgE e IgG4 específicas contra o *S. mansoni* e a razão entre elas (IgG4/IgE) estão associadas à infecção e reinfecção.

Hipótese 3: As respostas de IgE e IgG4 específicas contra o *S. mansoni* determinam a resistência ou a susceptibilidade à infecção ou reinfecção.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a associação entre os fatores demográficos, socioeconômicos, imunológicos e de contato com água na infecção e reinfecção pelo *Schistosoma mansoni*.

3.2 Específicos

1- Determinar a prevalência e a carga parasitária do *Schistosoma mansoni* em 2001, 2002, 2005 e 2009.

2- Relacionar os fatores demográficos, socioeconômicos, imunológicos e de contato com água com a infecção pelo *S. mansoni* nestes períodos.

3- Relacionar a carga parasitária à resposta de IgE e IgG4 anti antígenos solúveis do ovo (SEA) e do verme adulto (SWAP).

4- Avaliar a relação entre a reatividade de IgE e IgG4 anti antígenos solúveis do ovo (SEA) ou do verme adulto (SWAP) à infecção e a reinfecção pelo *S. mansoni*.

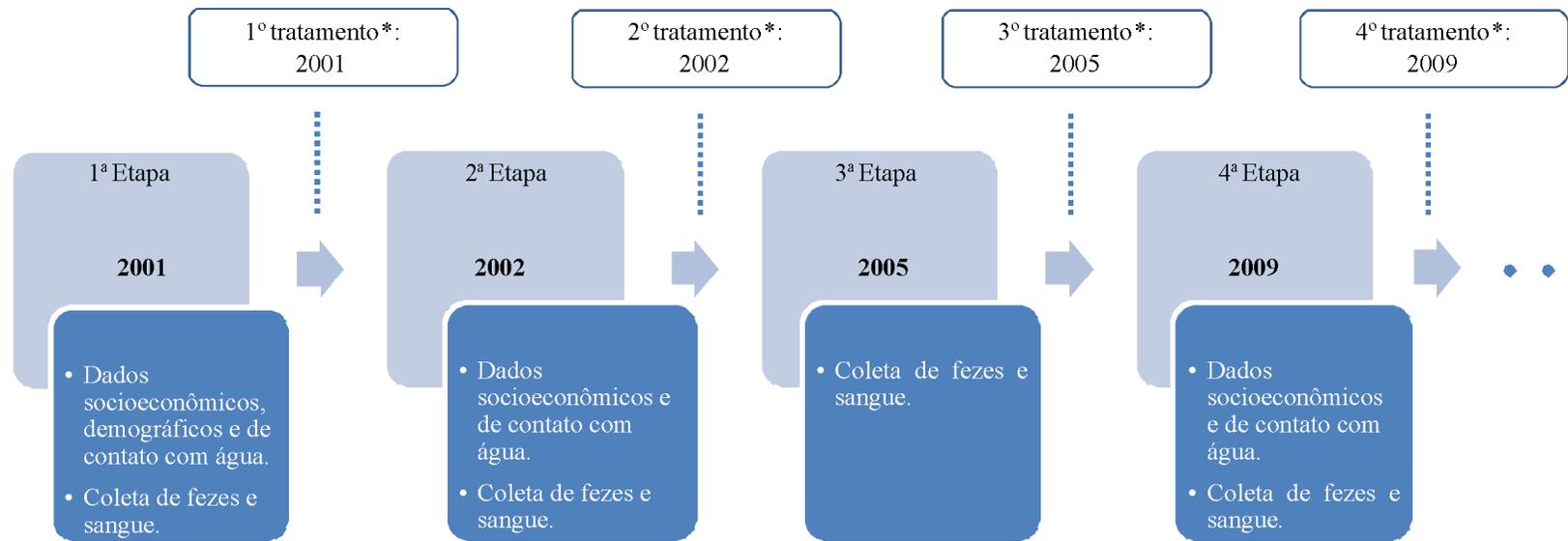
5- Avaliar se os anticorpos de IgE e IgG4 anti-SEA ou anti-SWAP podem ser utilizados como biomarcadores capazes de auxiliar no monitoramento da infecção e reinfecção pelo *S. mansoni*.

Casuística e métodos

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico, de delineamento longitudinal e base populacional com intervenção comunitária (nesse caso tratamento antiparasitário). A figura 1 descreve as etapas desenvolvidas nessa investigação.



* Praziquantel e Albendazol

Figura 1- Desenho do Estudo

4.2 Local do estudo

O estudo foi realizado na comunidade rural de Virgem das Graças (VDG), município de Ponto dos Volantes a aproximadamente 650 km de Belo Horizonte. Ponto dos Volantes está localizado no Vale do Jequitinhonha, região nordeste de Minas Gerais, conhecida como uma das mais pobres do país. Possui uma população de 11.345 habitantes (IBGE, 2010), um Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de 0,595, considerado um dos menores do estado de Minas Gerais (Programa das Nações Unidas para o desenvolvimento/PNUD,2007). Possui também uma taxa de analfabetismo de 33,7%.

Virgem das Graças fica a 18 km da sede do município de Ponto dos Volantes, sendo o único acesso por estrada não pavimentada, o que torna o trajeto difícil durante a época das chuvas. Não existe água tratada nem rede de esgoto na região. As fontes de água utilizadas são córregos, nascentes, cacimbas e cisternas. É importante destacar que até o início deste estudo, em 2001, a comunidade nunca havia recebido tratamento em massa para esquistossomose e helmintos transmitidos pelo solo, pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).

Esta comunidade possui uma vila central denominada Taboca e quatro aglomerados de casas ao longo dos Córregos Cardoso e Suçuarana, denominados Cardoso 1, Cardoso 2, Cardoso 3 e Suçuarana que compõem a área rural (FIG. 2). Em estudo malacológico realizado nesta área, verificou-se que o *Biomphalaria glabrata* é a espécie predominante (KLOSS *et al.* 2004).

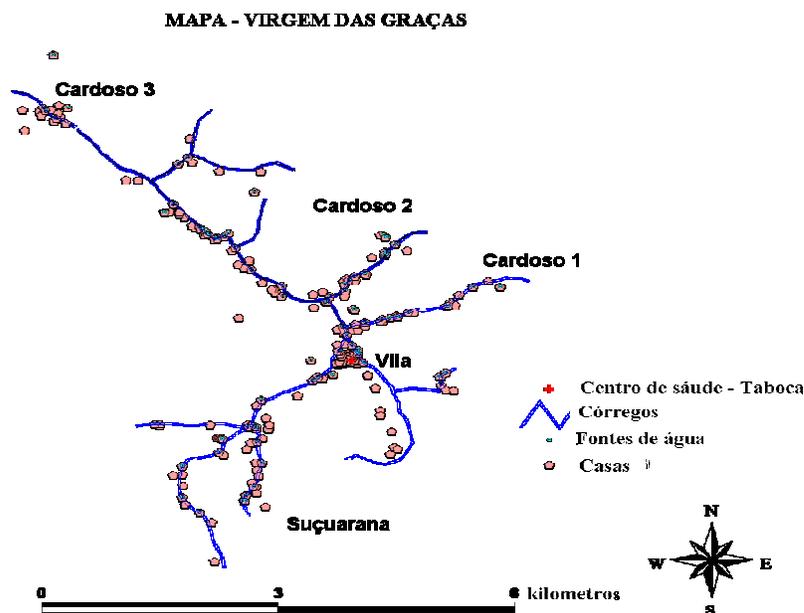


Figura 2 – Mapa ilustrativo, Virgem das Graças, MG.

As casas são, em geral, construções simples feitas de adobe e telhas. Apenas a Taboca e parte do Cardoso 3 possuíam luz elétrica no início do estudo em 2001. Através do programa Luz para Todos, a partir de 2005, 98% das residências passaram a ter luz elétrica. As famílias da Taboca e algumas do aglomerado Cardoso 1 utilizam água encanada de nascente comunitária protegida, mas várias ainda utilizam a água dos córregos para executar atividades que requerem maior consumo, tais como, lavar roupa e vasilha, uma vez que a água encanada é oferecida em pequena quantidade. As famílias de Suçuarana, Cardoso 2 e 3 utilizam água do córrego, de cacimba aberta e encanada de nascente.

A fonte de renda da maioria das famílias é proveniente da agricultura de subsistência caracterizada pela plantação e cultivo de mandioca, milho, feijão e a criação de gado. Além disso, há remessas de trabalhadores migrantes. O garimpo e a mineração também são atividades realizadas por algumas pessoas da região, enquanto outros moradores têm um pequeno comércio local (GAZZINELLI *et al.*, 2006).

4.3 População do estudo

A população estudada constituiu-se de indivíduos de ambos os sexos, com idade maior ou igual a 6 anos que realizaram exame parasitológico de fezes, coleta de sangue e responderam ao questionário socioeconômico, demográfico e de contato com água em todas as etapas da coleta de dados, ou seja, 2001, 2002, 2005 e 2009. Mulheres grávidas ou amamentando foram excluídas por não receberem o tratamento. O cadastro dos moradores mostrou que, em 2001, residiam na VDG 146 famílias, em um total de 658 indivíduos. Foram excluídos 104 menores de 6 anos e 40 mulheres grávidas ou amamentando ao longo dos períodos estudados. Assim, restaram 514 indivíduos elegíveis para a pesquisa. Desse total, houve uma perda ao longo dos segmentos de 387 indivíduos. Os motivos das perdas estão apresentados no fluxograma abaixo (FIG.3). Portanto, a amostra final para este estudo constituiu-se de 127 pessoas.

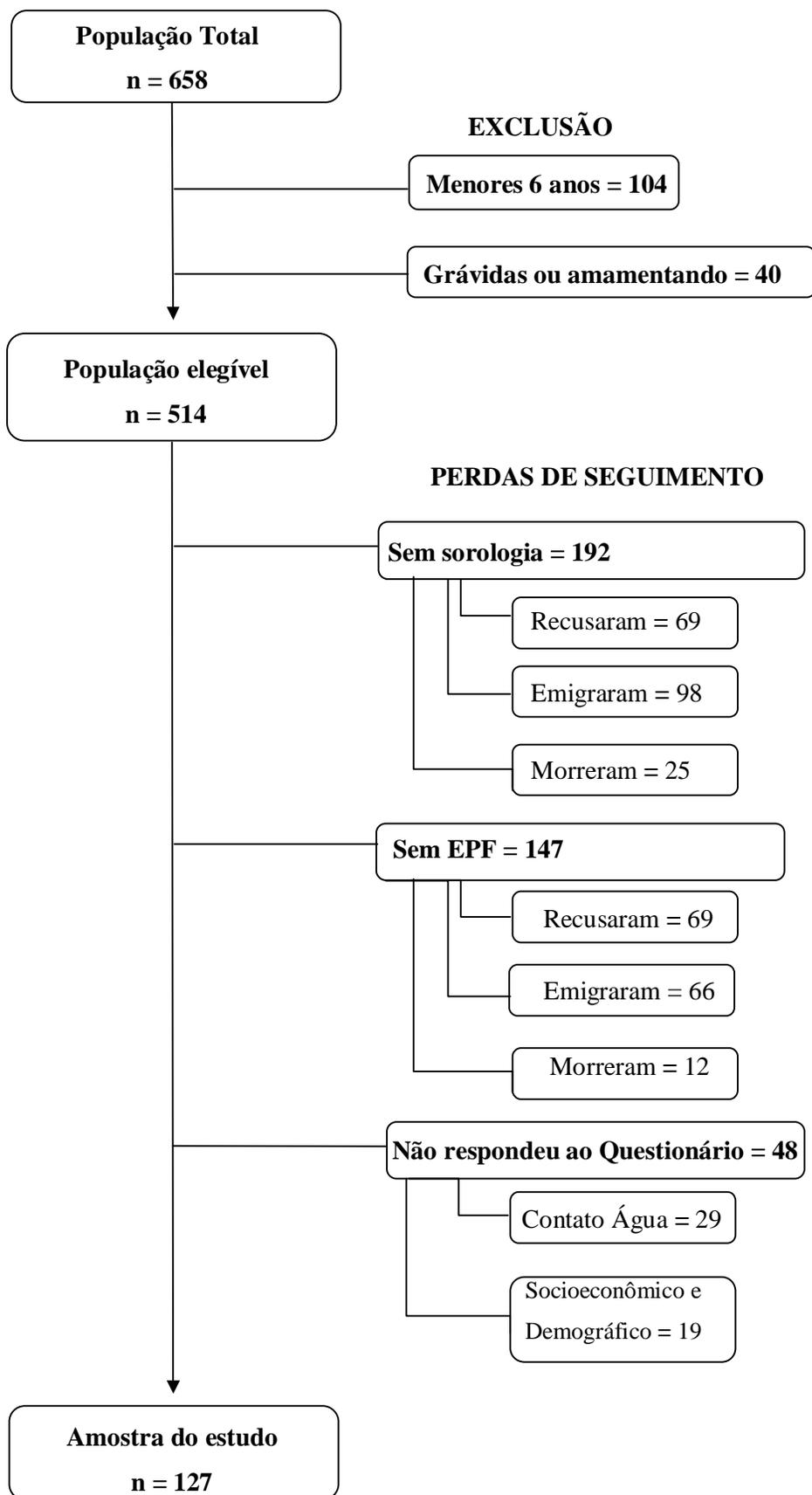


Figura 3- Fluxograma de perdas

Os dados apresentados na TABELA 1 mostram as perdas do estudo. A partir do Teste Qui-quadrado de Pearson, foi possível realizar comparações entre as variáveis demográficas da população estudada e as perdas ocorridas. Esta análise permite verificar se estas perdas foram sistemáticas, ou seja, se ocorreu em um determinado grupo, local ou sexo afetando a prevalência de *S. mansoni* na população restante. Observou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre a população elegível e as perdas ocorridas durante o estudo em relação ao local de residência, sexo e faixa etária.

TABELA 1

Comparação entre as variáveis demográficas da população do estudo e perdas em Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Variáveis^a	Pop. Elegível		Perdas		Pop. Estudada		Valor p
	n	%	n	%	n	%	
Local da residência							0,164
Taboca	242	47,1	189	48,8	53	41,7	
Área Rural	272	52,9	198	51,2	74	58,3	
Sexo							0,471
Masculino	249	48,4	191	49,4	58	45,7	
Feminino	265	51,6	196	50,6	69	54,3	
Faixa etária (2001)							0,052
06 – 14	132	25,7	98	25,3	34	26,8	
15 – 29	135	26,3	113	29,1	22	17,3	
30 – 49	101	19,6	70	18,2	31	24,4	
50 +	146	28,4	106	27,4	40	31,5	
Total	514	100	387	75,3	127	24,7	

Nota: ^a Teste Qui-Quadrado de Person

4.4 Coleta de Dados

Foram realizados exames parasitológicos de fezes e coleta de sangue em cada ano do estudo (2001, 2002, 2005 e 2009), de acordo com o mesmo protocolo. Os dados socioeconômicos e de contato com água foram coletados em 2001, 2002 e 2009.

4.4.1 Exame Parasitológico de Fezes

O exame parasitológico de fezes foi realizado em todas as 4 etapas do estudo utilizando-se o método Kato-Katz (KATZ *et al.*, 1972). Foram coletadas 3 amostras de fezes de cada um dos participantes do estudo, em 3 momentos diferentes. Os vasilhames foram identificados com o nome, número de identificação pessoal do participante e número designado para o domicílio. Cada vasilhame foi entregue separadamente, em local determinado após o retorno da amostra. As lâminas foram preparadas e analisadas por pessoal técnico qualificado. Foram preparadas 2 lâminas para cada amostra de fezes em um total de 6 lâminas por indivíduo. A carga parasitária foi calculada pela média do número de ovos por grama de fezes (opg) e a média aritmética de opg calculada para as 6 lâminas ($OPG = \text{Soma do nº de ovos} \times 24 / \text{nº lâminas analisadas}$) determinando, assim, a intensidade de infecção de *S. mansoni*. Neste exame verificou-se, também, que a população possuía outras infecções como ancilostomídeos e *Ascaris lumbricoides*, mas esses resultados não foram utilizados nesse estudo.

Quarenta dias após o tratamento, foram novamente coletadas 3 amostras de fezes dos pacientes que tiveram resultado positivo para qualquer helmintose na primeira coleta, com o objetivo de determinar a efetividade do tratamento. Os pacientes que ainda permaneceram positivos foram novamente tratados e avaliados até que não fosse mais encontrado nenhum ovo nas fezes.

4.4.2 Coleta de sangue

Foram coletados antes do tratamento 10 mL de sangue sem anticoagulante para realização da sorologia dos pacientes com idade maior ou igual a 6 anos, em todas as 4 etapas. O sangue coletado foi armazenado em geladeira a uma temperatura de 4°C, posteriormente embalado em caixa de isopor com gelo químico e transportado para o Laboratório de Imunologia Celular e Molecular do Centro de Pesquisa René Rachou (FIOCRUZ) em Belo Horizonte. O sangue foi centrifugado e o soro coletado e armazenado em freezer -70°C. Os ensaios imunológicos ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) indireta foram realizados no próprio laboratório.

4.4.3 Tratamento

Foi realizado tratamento com Praziquantel na dose única de 60 mg/kg/peso para indivíduos com até 15 anos de idade e 50 mg/Kg/peso para os maiores de 15 anos e/ ou Albendazol 400 mg dose única segundo recomendações da Fundação Nacional de Saúde-FUNASA (FUNASA, 2003). Na etapa inicial (2001) o tratamento foi realizado em todos os indivíduos conforme preconizado pela FUNASA, uma vez que a prevalência da infecção pelo *S. mansoni* foi superior a 50%. Nas demais etapas do estudo, apenas os indivíduos positivos foram tratados. O medicamento foi administrado por pessoal qualificado, treinado e acompanhado por enfermeiro pesquisador do projeto, no Centro de Saúde ou na casa do participante quando residente em localidade distante.

4.4.4 Reatividade de IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP

Antígenos parasitários e preparação de antígeno: todo ciclo de vida do *S. mansoni* é mantido no Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ (CPqRR), Belo Horizonte e os antígenos solúveis de vermes adultos (SWAP) e de ovos (SEA) são preparados utilizando-se os métodos já previamente padronizados (CARTER; COLLEY, 1979).

Análise da resposta de anticorpos: a reatividade de anticorpos específicos contra SWAP ou SEA foram determinados no soro através de ensaios de ELISA. Foram utilizadas placas de poliestireno de fundo chato de 96 poços (Maxisorp; Nunc, Roskild, Denmark), sendo adicionados, a cada poço, 100 µL de antígenos solúveis de *S. mansoni* SWAP ou SEA na concentração de 5µg/mL, diluídos em tampão carbonato-bicarbonato 0,05M, pH 9,6. As placas foram vedadas e incubadas em geladeira durante a noite a 4°C. No dia seguinte, as placas foram lavadas cinco vezes com tampão fosfato salino 0,15M (PBS, pH 7,2) contendo 0,05% de Tween 20 [Sigma, St Louis, MO, (PBS-T)], utilizando-se lavador automático e protocolo estabelecido. Em seguida, foram adicionados a cada poço 200 µL da solução de bloqueio (3% de albumina bovina diluído em PBS-T). As placas foram incubadas durante uma hora a 37°C, lavadas como anteriormente e adicionados 100µL de soro diluídos 1:50 para a dosagem dos anticorpos IgE e 1:100 para dosagem de IgG4. Todos os ensaios foram realizados em duplicata. As determinações das diluições dos soros foram obtidas a partir de uma curva com diferentes concentrações de um pool de soros utilizados como padrão. Após a adição dos soros, as placas foram vedadas e incubadas por 1 hora a 37°C e então lavadas por

5 vezes com tampão PBS-T em lavador automático e adicionados 100 μ L por poço do anticorpo anti-imunoglobulina humana IgG4 ou IgE conjugados com biotina (Zymed, San Francisco, CA) diluídos 1:1000. As placas foram incubadas por 1 hora a 37°C e lavadas com tampão PBS-T. Cem microlitros de 1:1000 de estreptavidina conjugada com peroxidase (Amersham, Piscataway, NJ) foram então adicionadas a cada poço e as placas incubadas por 90 minutos a temperatura ambiente, novamente lavadas e 100 μ L de o-phenylenediamine (OPD) (Sigma, St Louis, MO) contendo 0,03% de hidrogênio peroxidase foram adicionados a cada poço para revelação da reação. Durante esta etapa as placas foram mantidas ao abrigo da luz. A reação foi interrompida após uma hora com adição de 50 μ L de ácido sulfúrico a 12,5% em cada poço. A densidade óptica (OD) foi medida em leitor automático (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) utilizando-se filtro de 492 nm. As reações foram realizadas após a coleta de todas as amostras sempre utilizando o mesmo lote de reagentes, anticorpos e aparelho para a leitura dessas reações.

4.4.5 Determinação do contato com água

O contato com água foi avaliado por questionário (APÊNDICE A) aplicado a todos os moradores com o objetivo de identificar a frequência semanal das diferentes atividades relacionadas com água realizadas pelos indivíduos dentro e fora do domicílio, bem como a fonte de água utilizada. Este questionário foi respondido individualmente e, no caso das crianças menores de 10 anos, pela mãe, pai ou responsável. A exposição à água foi calculada utilizando o “índice” Total Body Minutes (TBM) descrito por Kloos *et al.* (2006). O cálculo do “índice” de exposição do corpo (TBM) foi determinado multiplicando-se o número de contatos relacionados a cada atividade obtida através do questionário por uma constante específica para cada uma das atividades (APÊNDICE B).

4.4.6 Questionário demográfico e socioeconômico

O questionário demográfico e socioeconômico assim como o de contato com água foi aplicado por estudantes de graduação e pós-graduação, previamente treinados e portando o equipamento de *Personal Digital Assistant* - PDA (Modelo *Dell-Axim X50*) que permitiu, ainda na área de estudo, a transferência imediata dos dados coletados para um banco de conferência. Assim, pôde ser feita uma avaliação preliminar dos dados e identificação de erros

ou informações em branco, possibilitando o retorno imediato aos domicílios para correção ou verificação das incoerências. Para os dados coletados em 2001 e 2002, utilizou-se o questionário em papel.

O questionário demográfico incluiu nome, sexo, data e local de nascimento, ocupação e escolaridade dos indivíduos. O questionário socioeconômico continha informações sobre renda, ocupação e escolaridade do chefe da família, posse de bens, condições de moradia, número de cômodos e de pessoas na casa, suprimento de água, condições sanitárias (APÊNDICE C). Este questionário já foi utilizado anteriormente em estudos realizados por GAZZINELLI *et al.* (2001, 2006) e BETHONY *et al.* (2001, 2004) sendo que algumas questões tais como as relacionadas com a economia do local, tipos de trabalho, locais e atividades de contato com água foram adaptadas de acordo com as características específicas da localidade. As perguntas foram respondidas, geralmente pelo chefe da família.

4.5 Variáveis do estudo

4.5.1 Variáveis dependentes

As variáveis dependentes do estudo foram à infecção e reinfecção pelo *S. mansoni* (SIM/NÃO). Para avaliação da infecção e reinfecção da população estudada foram considerados tanto os indivíduos infectados apenas pelo *S. mansoni* quanto os co-infectados por outros helmintos.

4.5.2 Variáveis independente

4.5.2.1 Variáveis socioeconômicas e de contato com água

Com o intuito de construir um modelo multivariado longitudinal considerando os quatro anos de estudo e ajustado por variáveis socioeconômicas e de contato com água foi adaptada a metodologia utilizada por MENEZES *et al.* (2008). Isto se deve ao fato de não terem sido coletadas estas informações em 2005. Além disso, pelo fato dessas variáveis não serem consideradas tempo dependentes, entraram no modelo como uma variável única, de forma a contemplar as mudanças ocorridas entre dois períodos. Optou-se por utilizar os dados coletados em 2001 e 2009, uma vez que as informações socioeconômicas coletadas em 2002 não apresentaram diferença significativa em relação ao ano anterior.

Diante deste contexto, o primeiro passo foi a definição das variáveis socioeconômicas que seriam estudadas: renda familiar e qualidade de moradia que inclui: tipo de piso, presença de torneira, chuveiro, caixa d' água, tanque, banheiro em casa e posse de carro e/ou motocicleta no domicílio. O critério para essa escolha baseou-se em um estudo realizado nessa mesma área por Gazzinelli *et al.* (2006).

Inicialmente a renda mensal total (soma de todas as fontes de renda da família, incluindo auxílio do governo, venda de produtos agrícolas e doações de parentes) foi estabelecida de acordo com o salário mínimo vigente (2001 = R\$ 180,00 e em 2009 = R\$ 465,00). Em seguida, foi calculada a renda per capita em salários mínimos para o ano de 2001 e 2009. Para efeito de análise essa nova variável foi dividida em duas categorias: pobre e não pobre. Foram definidos como pobres os indivíduos incluídos na parte inferior da mediana da renda per capita e os não pobres aqueles incluídos na parte superior. A partir deste ponto foi criada uma nova variável denominada "mudança de renda entre 2001 e 2009", categorizada em 4 grupos: Sempre pobre; Pobre → não pobre; Não pobre → pobre; Nunca pobre.

Considerando que a qualidade de moradia é uma variável latente, ou seja, não é possível ser mensurada de forma direta, optou-se por aplicar a análise de Modelos de Variáveis Latentes para definir um escore deste construto. A escala de valores segundo a qual esse construto foi avaliado, foi produzida a partir dos itens (aqui chamados de marcadores de qualidade de moradia) que se associam diretamente ao construto de interesse (qualidade de moradia). A técnica utilizada para obter a medida do construto qualidade de moradia foi a Teoria de Resposta ao Item (TRI).

Para modelagem da variável latente foi utilizado software R versão 2.8.1 e o pacote Ltm que permite o ajuste dos modelos usando método de máxima verossimilhança marginal (MML). O escore da qualidade de moradia foi gerado a partir do *Latent Trait Model* que considera um valor de discriminação específico para cada item (RIZOPOULOS, 2006) (APÊNDICE D).

A partir da construção do escore, a qualidade de moradia foi agrupada em duas categorias baseada na mediana do escore: boa ou ruim. Com base na qualidade da casa em 2001 e 2009, foi definido o agrupamento da qualidade de moradia em quatro classes: Sempre ruim; Ruim → boa; Boa → ruim; Sempre boa.

Em relação ao contato com água optou-se por trabalhar como variável contínua. Sendo assim, foi utilizada a média dos valores do TBM de cada atividade de contato com água coletados em 2001, 2002 e 2009. Importante destacar que as medidas dos três pontos não tiveram uma tendência ascendente ou descendente.

4.5.2.2 Variáveis demográficas, imunológicas e carga parasitária

(1) Demográficas: Local da residência – Taboca e área rural; sexo (M/F); idade (06-14, 15-29, 30-49 e ≥ 50 anos); (2) Imunológicas: reatividade das imunoglobulinas E e G4 contra antígenos brutos do verme adulto (SWAP) e dos ovos (SEA) e a razão entre IgG4 e IgE (Log IgG4/IgE). Foi utilizado o logaritmo natural para normalizar a distribuição da razão IgG4/IgE. Devido à importância da variável imunológica para o estudo, em alguns momentos da análise, ela foi avaliada como variável dependente; (3) Carga parasitária (média de ovos por grama de fezes).

4.6 Análise dos dados

Os dados foram analisados, utilizando-se o programa “Statistical Package for Social Science” – SPSS versão 15.0 e o pacote estatístico Statistical Software for Professional (STATA) versão 10.0. Inicialmente, foi feita uma comparação entre características da população estudada e da amostra perdida, a fim de verificar as potenciais diferenças que poderiam influenciar nos resultados do estudo. Neste ponto, a diferença entre a população do estudo e as perdas foi avaliada aplicando-se os testes de Qui-quadrado de *Pearson*, com uma significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

Com o intuito de caracterizar a população estudada, foi apresentada a distribuição das frequências relativa e absoluta, média geométrica de ovos, mediana e intervalos de confiança (95%) por sexo, localidade, anos de estudo e faixa etária. A faixa etária utilizada neste estudo foi baseada na idade dos indivíduos no “baseline”, ou seja, no ano de 2001. Desta forma garantimos a avaliação dos mesmos indivíduos dentro de cada faixa etária.

Também foram calculadas as frequências absolutas e relativas das variáveis demográficas e socioeconômicas, bem como, a mediana e o intervalo interquartil (P25 e P75) do contato com água, segundo a infecção pelo *S. mansoni* para os anos de 2001 e 2009. As diferenças entre dois grupos independentes foram avaliadas usando o teste de Qui-quadrado de *Pearson* ou exato de Fisher para comparação de frequência e o teste Mann Whitney para comparação de mediana, com um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). O teste de McNemar (para variáveis nominais) e o teste Marginal Homogeneity (para variáveis ordinais) foram usados para avaliar as diferenças entre as frequências de cada ano, comparados dois a dois. Para comparações entre a carga parasitária ao longo do tempo, utilizamos o teste t-Student pareado.

Para análise da reatividade das imunoglobulinas E e G4 e tendo em vista o fato de não apresentarem uma distribuição normal, foram utilizados testes não paramétricos para avaliar a diferença entre suas medianas: teste de Friedman (para comparação de grupos pareados, isto é, entre os anos), Wilcoxon (para comparações múltiplas ao longo dos anos) e Mann Whitney (para comparação de dois grupos independentes). O nível de significância estatística adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$). Em todas as comparações múltiplas, foi utilizada correção de Bonferroni e utilizamos as letras “a, b, c e d” para representar as diferenças significativas entre os anos pesquisados. Sendo assim, a letra "a" refere-se ao ano de 2001, "b" ao ano de 2002, "c" ao ano de 2005 e "d" ao ano de 2009. Com o objetivo de avaliar a influência da intensidade de infecção pelo *S. mansoni* nos anticorpos testados, em cada ano pesquisado, foi realizada uma correlação de Spearman.

Para análise da capacidade preditiva da reatividade de IgG4 anti-SEA em relação à esquistossomose foi construída uma curva ROC (*Receiver-Operating Characteristic*) e utilizada a área abaixo dessa curva, com o intuito de avaliar o poder de predição do biomarcador imunológico a fim de identificar indivíduos infectados pelo *S. mansoni*.

Para testar o efeito dos fatores de risco na infecção pelo *S. mansoni* foi usado o modelo de regressão de Poisson com variâncias robustas com o método “*Generalized Estimating Equations*”(GEE) ou Estimação de Equação Generalizada com componente longitudinal. Este método permitiu a inclusão da variável tempo para melhor compreensão das mudanças ocorridas ao longo dos quatro anos investigados. O uso da GEE é justificado neste estudo pelo fato de haver dados aglomerados e hierárquicos. Hierarquia refere-se à estruturação da informação coletada em dois níveis, o familiar e o individual. O GEE permite avaliar como os fatores medidos nesses dois níveis de estrutura afetam as variáveis dependentes deste estudo avaliando a estrutura de correlação das características da família, bem como ajustado pelo componente longitudinal. Foram inseridas, no modelo multivariado, as variáveis com valor de $p \leq 0,20$ na análise univariada. Foi usada a estratégia passo-a-passo, com a inclusão de todas as variáveis selecionadas durante a análise univariada em ordem decrescente de significância estatística. Permaneceram no modelo multivariado final as variáveis com valor de $p \leq 0,05$. Foram testadas as interações de primeiro grau entre as variáveis consideradas importantes do ponto de vista biológico. Foi estimado o risco relativo com intervalo de confiança de 95%.

4.7 Aspectos éticos

Este estudo faz parte de um projeto maior denominado “Aglomeración espacial da esquistossomose e de geohelmintos antes e após tratamento” desenvolvido na Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais em colaboração com pesquisadores do Instituto René Rachou-FIOCRUZ, da Universidade da Califórnia São Francisco-USA e do Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC), Atlanta, USA. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP) com o parecer nº 194/06 (ANEXO 1) e pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), parecer nº 612/2007 (ANEXO 2)

O Termo de Consentimento Livre e Informado foi assinado por todos os participantes, e, no caso de menores, pelo pai, mãe ou responsável (APÊNDICE E). Todos foram esclarecidos quanto ao objetivo do estudo e a garantia ao anonimato, sendo respeitado o direito da não participação no trabalho sem que isto interferisse no tratamento realizado.

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Estudo dos fatores de risco associados à infecção pelo *S. mansoni*

5.1.1 Análise descritiva

5.1.1.1 Características da população em estudo no período de 2001 a 2009

A prevalência de infecção pelo *S. mansoni* no início do estudo (2001) foi de 59% (IC 95% = 50,38 - 67,72) e a média geométrica de 61,05 (IC 95% = 58,70 - 63,40) ovos por grama de fezes (opg). Um ano após o tratamento de todos os indivíduos (2002), tanto a prevalência quanto a carga parasitária reduziram significativamente para 16,5% (IC 95% = 9,98 - 23,08) e 40,6 opg (IC 95% = 37,80 - 43,42), respectivamente. Em 2005, observou-se um aumento da prevalência para 27,6% (IC 95% = 19,68 - 35,43), mas a carga parasitária manteve-se semelhante à de 2002 sendo de 39,81 opg (IC 95% = 37,27 - 42,35). Em 2009 a prevalência permaneceu estável em 26,8% (IC 95% = 18,96 - 34,57), no entanto, a carga parasitária reduziu consideravelmente para 8,78 (IC 95% = 6,45 - 11,11) e esta redução foi estatisticamente significativa quando comparada aos anos anteriores (GRÁFICO 1).

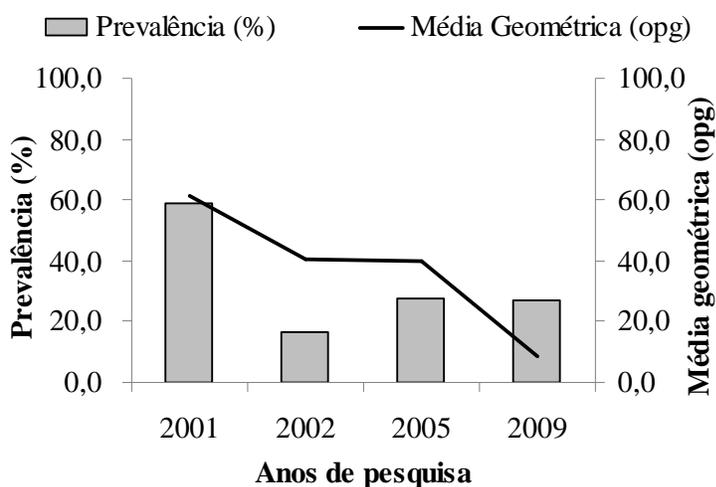


GRÁFICO 1 - Prevalência e média geométrica de ovos de *S. mansoni* durante os anos de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Importante destacar que em Virgem das Graças foi verificada a presença de infecções por outros helmintos como ancilostomídeos e *Ascaris lumbricoides*, mas, esses resultados não foram utilizados nesse estudo. O GRÁFICO 2 apresenta as prevalências desses helmintos.

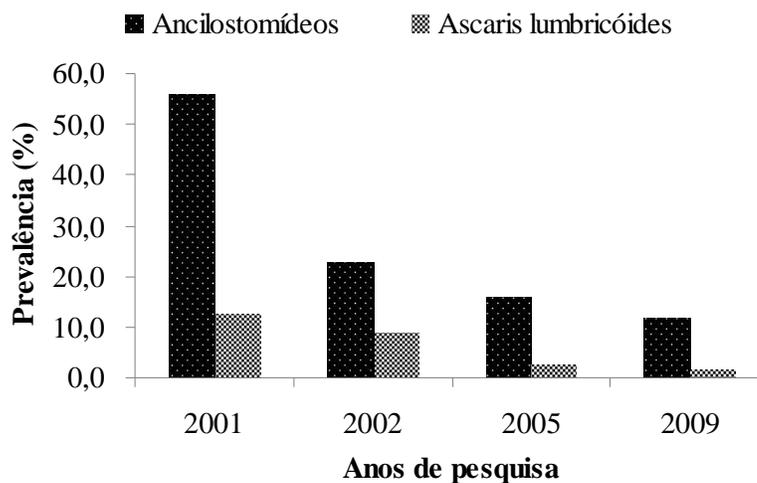


GRÁFICO 2 - Prevalência de ancilostomídeos e *Ascaris lumbricoides* durante os anos de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Nesta localidade, os moradores da área rural apresentaram uma maior prevalência e uma maior carga parasitária para esquistossomose que os da Taboca (TAB. 2 e TAB. 3). Em relação à idade, as maiores prevalências foram encontradas no grupo de 6 a 14 e de 15 a 29 anos, exceto em 2001 e 2009 quando os indivíduos de 30 a 49 e de 50 anos ou mais, respectivamente, apresentaram taxas mais elevadas (TAB. 2). No que se refere a carga parasitária, foi observada uma redução, em todas as faixas etárias, quando foi avaliado o período inicial em relação ao período final do estudo, mantendo sempre as maiores médias geométrica de ovos na faixa etária de 15 a 29 anos (TAB. 3). A prevalência e a carga parasitária de *S. mansoni* não apresentaram diferenças significativas entre homens e mulheres (TAB. 2 e TAB. 3).

TABELA 2

Prevalência de *S. mansoni* ao longo dos anos de pesquisa segundo variáveis demográficas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Variáveis	Prevalência 2001		Prevalência 2002		Prevalência 2005		Prevalência 2009	
	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%
Faixa etária (baseline)								
6 – 14	58,8	(41,39 - 76,25)	23,5	(8,50 - 38,55)	52,9	(35,26 - 70,61)	32,4	(15,48 - 48,92)
15 – 29	68,2	(47,04 - 89,31)	31,8	(10,68 - 52,95)	27,3	(17,80 - 36,82)	22,7	(3,70 - 41,74)
30 – 49	64,5	(46,67 - 82,35)	9,7	(0,00 - 20,70)	22,6	(6,90 - 38,17)	19,4	(4,62 - 34,08)
50 +	50,0	(33,80 - 66,19)	5,0	(1,75 - 11,75)	7,5	(0,00 - 16,03)	30,0	(15,15 - 44,84)
Local de moradia								
Taboca	49,05	(35,14 - 62,96)	13,20	(3,78 - 22,62)	18,2	(6,53 - 27,42)	21,8	(10,99 - 34,28)
Área rural	66,21	(55,18 - 77,24)	18,91	(9,78 - 28,05)	34,7	(23,99 - 46,27)	30,6	(19,06 - 40,39)
Sexo								
Masculino	58,6	(45,5 - 71,68)	20,7	(9,90 - 31,43)	37,9	(25,06 - 50,80)	20,7	(9,94 - 31,43)
Feminino	59,4	(47,53 - 71,30)	13,0	(4,89 - 21,19)	18,8	(9,37 - 28,30)	31,9	(20,60 - 43,16)
Total	59,1	(50,38 - 67,72)	16,5	(9,98 - 23,08)	27,6	(19,68 - 35,43)	26,8	(18,96 - 34,57)

Nota: IC95% - Intervalo de confiança de 95%.

TABELA 3

Média geométrica de ovos de *S. mansoni* ao longo dos anos de pesquisa segundo variáveis demográficas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Variáveis	Média 2001		Média 2002		Média 2005		Média 2009	
	X	IC 95%	X	IC 95%	X	IC 95%	X	IC 95%
Faixa etária (2001)								
6 - 14	109,06	(106,24 - 111,88)	49,95	(46,23 - 53,67)	42,98	(40,39 - 45,57)	10,29	(7,79 - 12,79)
15 - 29	147,73	(144,87 - 150,59)	56,82	(53,24 - 60,40)	113,95	(111,56 - 116,34)	23,93	(19,19 - 28,67)
30 - 49	44,01	(41,29 - 46,73)	47,32	(41,04 - 53,60)	20,81	(17,00 - 24,62)	5,39	(3,07 - 7,71)
50 +	24,43	(21,81 - 27,05)	9,16	(6,03 - 12,59)	4,00	(2,04 - 5,96)	6,38	(4,02 - 8,74)
Local de moradia								
Taboca	45,40	(42,84 - 47,96)	22,85	(19,18 - 26,52)	35,51	(32,21 - 38,81)	7,73	(5,15 - 10,31)
Área rural	71,43	(68,93 - 73,93)	54,12	(51,09 - 57,17)	41,67	(39,03 - 44,33)	9,41	(6,95 - 11,87)
Sexo								
Masculino	73,03	(70,49 - 75,57)	23,24	(20,32 - 26,16)	31,54	(28,98 - 34,10)	10,54	(7,89 - 13,19)
Feminino	52,61	(50,07 - 55,15)	85,45	(81,89 - 89,01)	59,07	(55,75 - 62,39)	7,95	(5,51 - 10,39)

Nota: X - Média geométrica de ovos; IC95% - Intervalo de confiança de 95%.

5.1.1.2 Variáveis socioeconômicas e infecção pelo *S. mansoni* em 2001 e 2009

Dentre os fatores que contribuem para a infecção por helmintos a pobreza é considerada preponderante. As condições socioeconômicas das famílias foram avaliadas pela renda familiar, ocupação e educação do chefe da família e pelas condições de moradia. Quando se avalia o nível de instrução dos membros das famílias na área estudada verificou-se que, em 2001, 55,9 % dos chefes de família eram analfabetos e 61,4 % deles, trabalhavam na agricultura, principalmente de subsistência. As atividades de agricultura podem levar a um maior contato com água e conseqüentemente o aumento da chance de adquirir a esquistossomose.

A associação entre as variáveis socioeconômicas e a infecção pelo *S. mansoni* em 2001 e 2009, avaliadas separadamente, mostrou que apenas a educação do chefe da família associou-se significativamente com a prevalência em 2001 (TAB. 4). A prevalência de *S. mansoni*, no ano de 2001, em indivíduos que residem em casas mais simples, ou seja, que não possuem caixa d'água, não tem tanque para lavar roupa e não possuem torneira, foi maior quando comparada àquelas que as possuem. Entretanto, em 2009, nenhuma diferença significativa foi observada.

Comparando-se as condições de moradia e a renda entre os anos de 2001 e 2009, os resultados apontaram para uma melhoria significativa na qualidade da casa, neste caso, avaliada pela melhoria na infraestrutura do domicílio tais como: construção de banheiro e piso, aquisição de caixa d'água, chuveiro, tanque para lavar roupa e torneira. Isto pode estar diretamente relacionado com o aumento da renda, evidenciada pela redução no número de indivíduos que, em 2009, recebiam 1 salário mínimo (TAB. 4).

TABELA 4

Infecção pelo *S. mansoni* em 2001 e 2009 segundo variáveis socioeconômicas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais, n=127.

Variáveis	Infecção <i>S. mansoni</i> (2001)			Infecção <i>S. mansoni</i> (2009)			Teste Comparativo
	n total	prevalência		n total	prevalência		valor p ^{a,b}
		%	valor p*		%	valor p*	
Educação do chefe			0,027			0,689	
Analfabeto	71	67,6		71	28,2		
Alguma escolaridade	56	48,2		56	25,0		
Ocupação do chefe			0,726			0,683	
Agricultura	78	56,4		78	29,5		
Outras ocupações	18	61,1		18	22,2		
Aposentado	31	64,5		31	22,6		
Renda (Salário mínimo)^b			0,740			0,746	0,000
Até 1,0	66	57,6		31	29,0		
1,1 - 2,0	40	57,5		48	22,9		
Acima 2,0	21	66,7		48	29,2		
Possui terras^a			0,452			0,707	0,000
Não	44	54,5		75	28,0		
Sim	83	61,4		52	25,0		
Banheiro^a			0,193			0,611	0,000
Não	24	70,8		3	33,3		
Sim	103	56,3		124	26,6		
Tipo de piso^a			0,109			0,604	0,000
Terra	23	73,9		7	28,6		
Cimento	104	55,8		120	26,7		
Caixa d'água^a			0,001			0,635	0,000
Não	61	73,8		8	25,0		
Sim	66	45,5		119	26,9		
Torneira^a			0,001			0,489	0,000
Não	44	79,5		6	16,7		
Sim	83	48,2		121	27,3		
Chuveiro^a			0,303			0,457	0,000
Não	80	62,5		21	33,3		
Sim	47	53,2		106	25,5		
Água encanada^a			0,134			0,420	0,074
Não	36	69,4		24	33,3		
Sim	91	54,9		103	25,2		
Tanque para lavar roupa^a			0,036			0,289	0,000
Não	75	66,7		39	20,5		
Sim	52	48,1		88	20,5		

Nota: * Teste Qui-quadrado usado para associação entre as variáveis socioeconômicas e a infecção pelo *S. mansoni*; ^a Teste McNemar e ^b Teste Marginal homogeneity usado para comparar as diferenças socioeconômicas entre os anos de 2001 e 2009.

5.1.1.3 Atividades de contato com água e infecção pelo *S. mansoni* em 2001 e 2009

Analisando a mediana do “índice” de exposição denominado *Total Body Minutes* (TBM) para cada atividade específica de contato com água e a infecção pelo *S.mansoni* em 2001 e 2009 encontramos que, em 2009, o TBM total que é a soma de todas as atividades, foi significativamente maior nos indivíduos infectados em relação aos negativos. Em 2001, não foi verificada diferença significativa entre o TBM total dos negativos e positivos, apenas para algumas atividades que têm contato direto com o córrego tais como: pegar água, limpar o córrego e irrigar terras para agricultura além de atravessar o córrego verificou-se diferenças significativas nos valores das medianas (TAB. 5).

TABELA 5
Mediana das atividades de contato com água de acordo com a infecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais, n=127.

Atividades (TBM)	Infecção <i>S. mansoni</i> (2001)					Infecção <i>S. mansoni</i> (2009)				
	Negativo		positivo		valor p*	negativo		positivo		valor p*
	mediana (P25 - P75)		mediana (P25 - P75)			mediana (P25 - P75)		mediana (P25 - P75)		
Lavar roupa	0,0	(0,0-10,9)	3,6	(0,0-21,9)	0,272	3,6	(0,0-20,1)	10,9	(0,0-18,3)	0,316
Pegar água do córrego	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-1,9)	0,012	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,0)	0,755
Lavar partes do corpo	10,8	(7,2-20,7)	14,4	(7,2-25,2)	0,138	21,6	(14,4-28,8)	21,6	(12,6-31,5)	0,437
Tomar banho	76,3	(76,3-141,8)	76,3	(76,3-76,3)	0,459	76,3	(76,3-152,7)	87,2	(76,3-152,7)	0,113
Molhar planta	0,0	(0,0-13,0)	0,0	(0,0-14,0)	0,923	2,0	(0,0-14,0)	5,0	(0,0-14,0)	0,411
Lavar vasilhas	4,6	(0,0-18,7)	9,3	(0,0-18,7)	0,322	9,3	(0,0-18,7)	10,1	(4,0-18,7)	0,115
Limpar córrego + agricultura	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-2,3)	0,049	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,0)	0,153
Nadar e brincar no córrego	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,0)	0,835	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,0)	0,204
Atravessar córrego	0,0	(0,0-0,16)	0,3	(0,0-1,2)	0,000	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,1)	0,294
Pescar	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,0)	0,241	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,0)	0,979
Outras	0,0	(0,0-6,4)	0,9	(0,0-6,4)	0,078	0,0	(0,0-0,0)	0,0	(0,0-0,0)	0,945
TBM Total	128,1	(90,8-166,9)	126,8	(106,6-167,2)	0,424	145,3	(116,6-187,0)	166,9	(142,3-214,8)	0,040

Nota: * Teste Mann-Whitney; P=percentile

5.1.2 Análise longitudinal dos fatores de risco associados à infecção pelo *S. mansoni*

5.1.2.1 Análise univariada

Neste estudo, um maior risco de infecção pelo *S. mansoni* foi observado nos indivíduos mais jovens [(6-14 e 15-29 anos) (RR=2,110 e RR=1,993, respectivamente)], nas mulheres (RR=1,001), naqueles que residem em área rural (RR=1,002), sempre em casas de pior qualidade (RR=1,485) e que possuíam baixa renda, ou seja, que se mantiveram pobres ou que se tornaram pobres durante todo o período investigado (RR=1,734 e RR=1,642, respectivamente) (TAB. 6).

TABELA 6

Análise univariada da infecção pelo *S. mansoni* segundo variáveis demográficas e socioeconômicas, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Variáveis	RR	IC 95%	Valor p
Faixa etária			
6-14	2,110	(1,424 - 3,125)	< 0,001
15-29	1,993	(1,364-2,913)	< 0,001
30-49	1,335	(0,898-1,984)	0,153
50 +	Ref.	-	-
Sexo			< 0,001
Masculino	Ref.	-	-
Feminino	1,001	(1,001- 1,002)	
Local de moradia			< 0,001
Taboca	Ref.	-	-
Área rural	1,002	(1,001- 1,002)	
Mudança de renda (2001→2009)			
Sempre pobre	1,734	(1,226 - 2,452)	0,002
Pobre → não pobre	1,497	(0,963 - 2,326)	0,072
Não pobre → pobre	1,642	(1,106 - 2,438)	0,014
Nunca pobre	Ref.	-	-
Mudança da qualidade da casa (2001→2009)			
Sempre ruim	1,485	(1,076 - 2,051)	0,016
Ruim → boa	1,138	(0,801 - 1,616)	0,469
Boa → ruim	1,062	(0,376 - 3,002)	0,909
Sempre boa	Ref.	-	-

Nota: RR- Risco Relativo; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%.

Observamos também, que o risco de infecção foi maior nos indivíduos que tinham contato com o córrego para pescar (RR=1,137), nadar e brincar (RR=1,019) e atravessar o córrego (RR= 1,994) (TAB. 7).

TABELA 7

Análise univariada da infecção pelo *S. mansoni* segundo as atividades de contato com água, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Atividades (TBM)	RR	IC 95%	Valor p
Lavar roupa	1,000	(0,984 - 1,015)	0,990
Pegar água	1,027	(0,999 - 1,056)	0,057
Lavar partes do corpo	0,990	(0,975 - 1,006)	0,245
Tomar banho	0,996	(0,992 - 1,001)	0,155
Molhar planta	0,989	(0,970 - 1,007)	0,254
Lavar vasilhas	0,988	(0,974 - 1,001)	0,091
Limpar córrego + agricultura	1,032	(0,877 - 1,213)	0,702
Nadar e brincar no córrego	1,019	(1,004 - 1,035)	0,013
Atravessar córrego	1,994	(1,541 - 2,581)	< 0,001
Pescar	1,137	(1,100 - 1,175)	< 0,001
Outras	0,964	(0,922 - 1,008)	0,108
TBM Total	0,998	(0,995 - 1,001)	0,343

Nota: RR - Risco relativo; IC95% - Intervalo de confiança de 95%.

No que se refere às variáveis imunológicas (IgE e IgG4 anti-SEA/SWAP) os resultados mostraram que apenas a reatividade de IgG4 anti-SEA foram significativamente associados com a infecção pelo *S. mansoni* indicando que o aumento da reatividade de IgG4 anti-SEA aumentam o risco de infecção por este parasito (RR= 1,75) (TAB. 8). Diante deste resultado, é possível evidenciar a relação susceptibilidade que existe entre o anticorpo IgG4 anti-SEA com a infecção pelo *S. mansoni*.

TABELA 8

Análise univariada da infecção pelo *S. mansoni* segundo variáveis imunológicas (IgE e IgG4 anti-SEA/SWAP), Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Variáveis	RR	IC 95%	Valor p
Imunoglobulinas			
IgE anti-SEA	0,990	(0,816 - 1,202)	0,926
IgE anti-SWAP	0,782	(0,602 - 1,016)	0,067
IgG4 anti-SEA	1,754	(1,521 - 2,023)	< 0,001
IgG4 anti-SWAP	1,092	(0,981 - 1,216)	0,105

Nota: RR - Risco relativo; IC95% - Intervalo de confiança de 95%.

5.1.2.2 Análise multivariada

Para avaliação de todos os fatores mencionados anteriormente dentro de um único contexto, construímos um modelo final em que foi incluída a variável tempo para identificar as mudanças ocorridas ao longo dos anos investigados. As tabelas 9 e 10 apresentam seis modelos multivariados de regressão logística binária de Poisson com variâncias robustas, em que foi utilizado o método “*Generalized Estimating Equations*” (GEE) com componente longitudinal que utiliza a infecção pelo *S. mansoni* (SIM/NÃO) como variável dependente.

A opção de apresentarmos os seis modelos com diferentes variáveis imunológicas foi devido à presença de multicolinearidade observada entre elas. As imunoglobulinas E e G4 foram altamente correlacionadas. Provavelmente essas variáveis associam-se ao desfecho da mesma forma. Mas, pelo fato de serem variáveis de interesse, para identificarmos qual delas pode ser considerada um possível biomarcador imunológico de infecção ou reinfeção, optamos por apresentar um modelo com cada anticorpo associado a um antígeno específico separadamente. Dentre os seis modelos apresentados, dois deles referem-se à razão entre IgG4 e IgE contra SEA e SWAP. O uso da razão se justifica pela alta correlação encontrada entre esses anticorpos.

Para a construção dos modelos multivariados levou-se em consideração as variáveis independentes que tiveram o valor de $p \leq 0,20$ na análise univariada (TAB. 6, TAB.7 e TAB. 8). A presença de interação entre algumas variáveis independentes foi testada e nenhuma diferença significativa foi encontrada.

Os resultados da análise multivariada de Poisson com variâncias robustas, após serem controlados pelas variáveis socioeconômicas, demográficas, imunológicas e de contato com água, mostraram que um maior risco de infecção pelo *S. mansoni* foi associado aos indivíduos mais jovens (6-14 e 15-29 anos) e àqueles que realizavam atividades de pescar e atravessar o córrego (TAB. 9 e TAB.10).

Em relação às características imunológicas (TAB. 9 e TAB. 10), constatou-se que os anticorpos IgE anti-SEA e SWAP, não associaram-se à infecção pelo *S. mansoni*. Por outro lado, houve uma associação significativa entre os anticorpos IgG4 anti-SEA e SWAP e a infecção pelo *S. mansoni*. Da mesma forma, a razão entre esses anticorpos contra os dois antígenos (SEA e SWAP) foram significativamente associadas a este agravo. Em ambos os casos, o aumento da reatividade de IgG4 anti-SEA e SWAP e da razão entre esses anticorpos contra esses antígenos relacionam-se ao aumento do risco de infecção pelo parasito, deixando os indivíduos mais susceptíveis. Destacamos que o IgG4 anti-SEA (modelo 2) teve uma

magnitude de efeito maior quando comparado aos demais biomarcadores imunológicos (RR = 1,75; IC 95% 1,53- 2,00 e teste z = 8,28).

TABELA 9

Modelo final da análise multivariada (modelo logístico binário utilizando método de estimação GEE) incluindo as características imunológicas ligadas ao antígeno do ovo (SEA) tendo à infecção pelo *S. mansoni* como variável dependente, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Variáveis	Modelo 1			Modelo 2			Modelo 3			
	RR [IC 95%]	Teste z	Valor p	RR [IC 95%]	Teste z	Valor p	RR [IC 95%]	Teste z	Valor p	
Faixa etária										
Características	6 - 14	1,93 [1,35; 2,76]	3,63	<0,001	2,53 [1,85; 3,45]	5,84	<0,001	1,94 [1,41; 2,66]	4,11	<0,001
Demográficas	15 - 29	1,88 [1,34; 2,64]	3,67	<0,001	1,59 [1,18; 2,14]	3,03	0,002	1,89 [1,38; 2,57]	4,02	<0,001
	30 - 49	1,35 [0,95; 1,92]	1,66	0,096	1,22 [0,89; 1,67]	1,25	0,213	1,35 [0,98; 1,87]	1,85	0,065
	50+	1,00	-	-	1,00	-	-	1,00	-	-
Contato com água										
	Atravessar córrego	2,13 [1,69; 2,67]	6,49	<0,001	1,84 [1,50; 2,25]	5,89	<0,001	2,10 [1,72; 2,58]	7,16	<0,001
	Pescar	1,13 [1,08; 1,18]	5,51	<0,001	1,05 [1,02; 1,09]	3,13	0,002	1,11 [1,08; 1,15]	6,38	<0,001
Características	IgE anti-SEA	0,96 [0,81; 1,14]	-0,44	0,662						
Imunológicas	IgG4 anti-SEA				1,75 [1,53; 2,00]	8,28	<0,001			
	Log razão IgG4/IgE anti-SEA							1,12 [1,08; 1,16]	6,25	<0,001
n total = 508										
Nº indivíduos = 127										
Anos de estudo = 4										
ci = -0,039				ci = -0,066				ci = -0,066		
Wald Chi= 97,28				Wald Chi= 194,22				Wald Chi= 165,48		

Nota: RR=risco relativo; IC 95%=Intervalo de Confiança de 95%; Log = logaritmo natural da razão entre IgG4/IgE anti-SEA; Teste z = teste para avaliar a significância de cada variável incluída no modelo; ci = correlação intra-classe.

TABELA 10

Modelo final da análise multivariada (modelo logístico binário utilizando método de estimação GEE) incluindo as características imunológicas ligadas ao antígeno do verme adulto (SWAP) tendo à infecção pelo *S. mansoni* como variável dependente, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Variáveis	Modelo 4			Modelo 5			Modelo 6			
	RR [IC 95%]	Teste z	Valor p	RR [IC 95%]	Teste z	Valor p	RR [IC 95%]	Teste z	Valor p	
Faixa etária										
Características Demográficas	6 - 14	1,82 [1,26; 2,63]	3,21	<0,001	2,18 [1,52; 3,17]	4,10	<0,001	1,28 [0,92; 1,80]	3,71	<0,001
	15 - 29	1,81 [1,29; 2,54]	3,43	<0,001	1,95 [1,39; 2,72]	3,90	<0,001	1,84 [1,32; 2,56]	3,63	<0,001
	30 - 49	1,34 [0,94; 1,92]	1,64	0,102	1,34 [0,95; 1,89]	1,66	0,096	1,35 [0,98; 1,87]	1,46	0,145
	50+	1,00	-	-	1,00	-	-	1,00	-	-
Contato com água										
	Atravessar córrego	2,21 [1,77; 2,75]	7,05	<0,001	2,01 [1,61; 2,53]	6,07	<0,001	2,15 [1,73; 2,67]	6,90	<0,001
	Pescar	1,14 [1,09; 1,19]	5,79	<0,001	1,12 [1,07; 1,16]	5,10	<0,001	1,14 [1,01; 1,18]	6,87	<0,001
Características Imunológicas	IgE anti-SWAP	0,81 [0,63; 1,03]	-1,69	0,091						
	IgG4 anti-SWAP				1,15 [1,04; 1,28]	2,66	0,008			
	Log razão IgG4/IgE anti-SWAP							1,13 [1,08; 1,18]	5,36	<0,001
	n total = 508									
	Nº indivíduos = 127									
	Anos de estudo = 4									
		ci = -0,038			ci = -0,047			ci = -0,050		
		Wald Chi= 108,79			Wald Chi= 99,40			Wald Chi= 132,34		

Nota: RR=*risco relativo*; IC 95%=Intervalo de Confiança de 95%; Log = logaritmo natural da razão entre IgG4/IgE anti-SEA; Teste z = teste para avaliar a significância de cada variável incluída no modelo; ci = correlação intra-classe.

Os modelos finais apresentados nas tabelas 9 e 10 nos mostram de forma clara os vários fatores envolvidos na aquisição da doença. No entanto, tendo em vista a importância dos fatores imunológicos na infecção e reinfecção pelo *S. mansoni*, focalizaremos nestes fatores no próximo tópico (5.2). Assim, contemplaremos os demais objetivos propostos neste estudo que foi o de investigar o perfil desses anticorpos ao longo do tempo a fim de compreender o papel dessas imunoglobulinas como possíveis biomarcadores imunológicos de infecção ou reinfecção pelo *S. mansoni*.

5.2 Análise da reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP

5.2.1 Avaliação longitudinal da reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP em indivíduos infectados e não infectados

A análise da mediana da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP em cada ano de estudo, segundo a infecção pelo *S. mansoni*, não apresentou muitas diferenças entre os indivíduos infectados e não infectados. As diferenças significativas foram observadas apenas em 2001 para o IgE anti-SWAP e em 2005 para o IgE anti-SEA quando identificamos valores mais elevados da reatividade desses anticorpos pelos indivíduos positivos (TAB. 11).

A análise longitudinal da reatividade desse anticorpo contra os antígenos SEA e SWAP mostrou um aumento, sendo mais expressivo a partir de 2005. Esse aumento foi significativo tanto para os indivíduos positivos quanto para os negativos (TAB. 11). Vale ressaltar que em 2005, a prevalência de esquistossomose na população estudada voltou a aumentar. Além disso, toda a população foi tratada em 2001 tendo em vista que a prevalência foi superior a 50%. Esses aspectos talvez tenham influenciado o aumento da reatividade de IgE entre os indivíduos positivos e negativos, ao longo do tempo.

TABELA 11

Mediana da reatividade de IgE anti-SEA ou SWAP (OD 492 nm) de acordo com a infecção pelo *S. mansoni* por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Ano	IgE anti-SEA			IgE anti-SWAP		
	mediana (P25 - P75)		valor p*	mediana (P25 - P75)		valor p*
negativo	positivo	negativo		positivo		
2001	0,004 (0,00-0,04)	0,013 (0,00-0,04)	0,527	0,007 (0,00-0,03)	0,025 (0,00-0,09)	0,019
2002	0,024 (0,00-0,05)	0,019 (0,00-0,05)	0,597	0,024 (0,00-0,10)	0,039 (0,01-0,12)	0,230
2005	0,461 (0,25-0,64)	1,010 (0,57-1,21)	0,000	0,127 (0,01-0,34)	0,129 (0,00-0,41)	0,885
2009	1,156 (0,68-1,64)	1,314 (0,86-2,12)	0,382	0,479 (0,23-1,03)	0,485 (0,28-0,81)	0,926

Nota: * Teste Mann-Whitney; P= percentil

Na análise da reatividade de IgG4 (TAB. 12), observamos que a mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA foi maior nos indivíduos infectados quando comparada aos não infectados em cada ano investigado. Esta diferença foi significativa em todos os anos, sugerindo uma possível utilização desse anticorpo como biomarcador de susceptibilidade à infecção. Em relação ao IgG4 anti-SWAP, essa diferença significativa ocorreu apenas em

2001 e 2005, mostrando uma variabilidade importante dos resultados dependente do tempo avaliado. A avaliação da reatividade desse anticorpo contra os antígenos SEA e SWAP não mostrou nenhuma associação significativa, seja de aumento ou de redução da reatividade, ao longo do tempo (TAB 12).

TABELA 12

Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA ou SWAP (OD 492 nm) de acordo com a infecção pelo *S. mansoni* por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Ano	IgG4 anti-SEA			IgG4 anti-SWAP		
	mediana (P25 - P75)		valor p*	mediana (P25 - P75)		valor p*
negativo	positivo	negativo		positivo		
2001	1,196 (0,24 - 2,15)	2,320 (2,28 - 2,35)	0,000	0,055 (0,00 - 0,19)	0,349 (0,06 - 1,50)	0,000
2002	1,429 (0,32 - 2,25)	2,298 (1,99 - 2,31)	0,000	0,076 (0,01 - 0,33)	0,134 (0,04 - 0,75)	0,137
2005	0,835 (0,17 - 2,07)	2,238 (1,50 - 2,31)	0,000	0,025 (0,00 - 0,19)	0,072 (0,01 - 0,56)	0,017
2009	1,209 (0,38 - 2,05)	2,000 (1,03 - 3,27)	0,007	1,004 (0,08 - 2,86)	0,909 (0,22 - 3,06)	0,540

Nota: * Teste Mann-Whitney; P= percentil

5.2.2 Avaliação da reatividade de IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP por faixa etária

Os resultados apresentados anteriormente mostraram o perfil das imunoglobulinas ao longo do tempo, no entanto, sabe-se que outros fatores, como por exemplo a idade, podem influenciar no perfil desses anticorpos. A análise da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP por idade indicaram um aumento progressivo e significativo ao longo tempo, em todas as faixas etárias ($p < 0,001$) (GRAF. 3 e GRAF. 4).

Uma vez detectadas as diferenças entre a reatividade de IgE ao longo do tempo, foi realizada uma análise comparativa para avaliar o período em que essa diferença ocorreu dentro de cada faixa etária. As comparações feitas entre os anos dentro de cada faixa etária mostraram que a diferença entre os valores da reatividade de IgE no início (2001) e no final (2009) do estudo tanto para o IgE anti-SEA quanto para o IgE anti-SWAP foram significativas (GRAF. 3 e GRAF. 4).

Analisando as medianas da reatividade de IgE anti-SEA e anti-SWAP observamos um crescimento significativo a partir de 2005, em todas as faixas etárias (GRAF. 3 e GRAF. 4). Essas análises mostraram que a idade é um fator importante no aumento da resposta de IgE e este aumento é detectado com um maior tempo de acompanhamento da população.

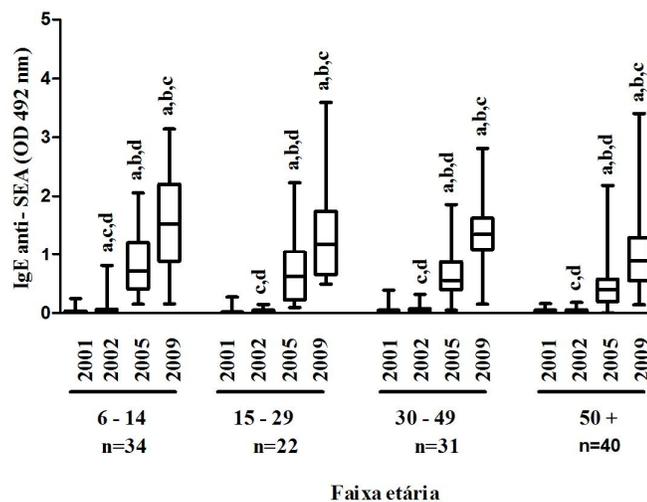


GRÁFICO 3 - Mediana da reatividade de IgE anti-SEA (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Nota: teste de Friedman e teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p < 0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

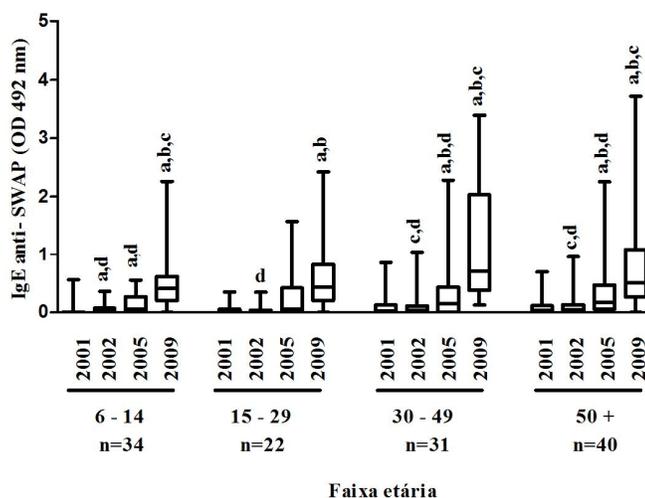


GRÁFICO 4 - Mediana da reatividade de IgE anti-SWAP (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Nota: teste de Friedman e teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p < 0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

Ao avaliarmos os anticorpos IgG4 anti-SEA por faixa etária, observamos uma redução significativa da sua reatividade ao longo dos anos de estudo para as faixas etárias de 15-29

anos ($p= 0,010$); 30-49 anos ($p= 0,001$); 50 anos ou mais ($p<0,001$) (GRAF. 5). Avaliando a reatividade de IgG4 anti-SWAP por faixa etária, verificou-se que existe diferença significativa ao longo do tempo, porém não se percebe uma tendência de aumento ou redução ao longo dos períodos avaliados (GRAF. 6).

Na análise comparativa entre os anos de estudo, por faixa etária, pode-se destacar que, entre os indivíduos mais velhos (50 anos ou mais), a reatividade de IgG4 anti-SEA em 2001 foi maior quando comparada aos demais períodos, e esta diferença foi significativa (GRAF. 5). No que se refere ao anticorpo IgG4 anti-SWAP, observou-se que a reatividade em 2009 foi mais elevada quando comparada aos outros anos de estudo e esta diferença foi significativa para as faixas etárias de 15-29, 30-49 e 50 anos ou mais (GRAF. 6).

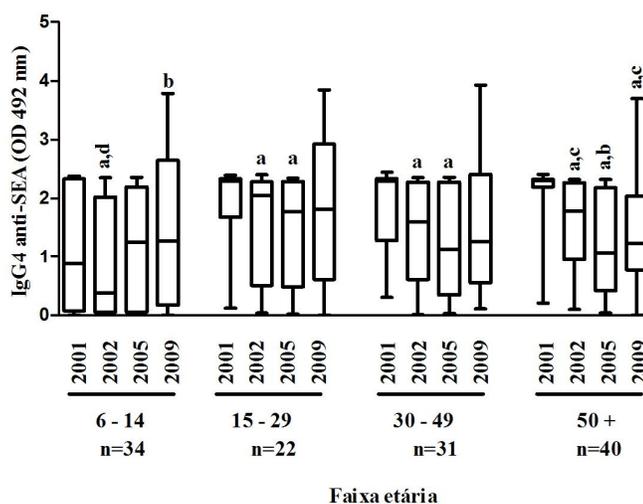


GRÁFICO 5 - Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Nota: teste de Friedman e teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p<0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

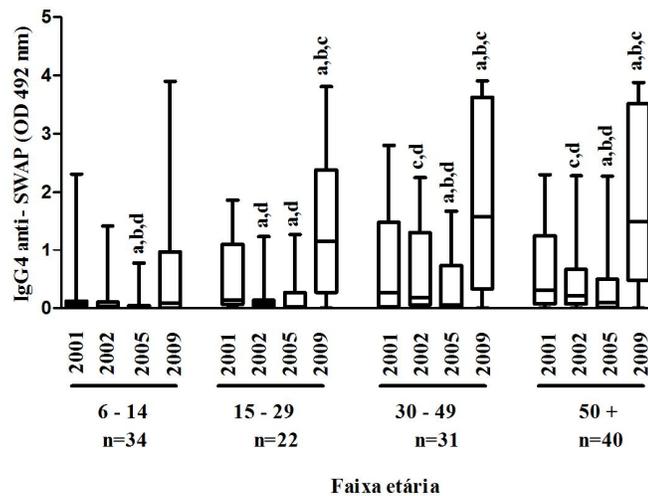


GRÁFICO 6 - Mediana da reatividade de IgG4 anti-SWAP (OD 492 nm) dos anos de pesquisa por faixa etária, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n=127).

Nota: teste de Friedman e teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p < 0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

5.2.3 Correlação entre a carga parasitária dos indivíduos infectados pelo *S. mansoni* e os anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP, por ano investigado

Além da idade, acreditamos que a carga parasitária, avaliada pelo número de ovos de *Schistosoma mansoni* por grama de fezes pode, também, ser um fator que influencia o perfil das imunoglobulinas. Sendo assim, foram realizadas análises de correlação entre a carga parasitária e resposta de IgE e IgG4 a antígenos do parasito.

Os resultados apontam uma correlação inversa e significativa entre a carga parasitária e IgE anti-SEA para o ano de 2001, mostrando que o aumento da reatividade de IgE anti-SEA está correlacionada com a redução da carga parasitária. Quando se avalia o IgE anti-SWAP não foi encontrada nenhuma correlação significativa com o número de ovos por grama de fezes dos pacientes estudados (TAB. 13).

TABELA 13

Coeficiente de correlação entre a carga parasitária dos indivíduos infectados e IgE anti-SEA e SWAP para cada ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Ano	n	Carga parasitária (opg)	IgE anti-SEA		IgE anti-SWAP	
		media*(variação)	coef. correlação ^a	valor p	coef. correlação ^a	valor p
2001	75	246 (4 - 4312)	-0,233	0,040	-0,018	0,875
2002	21	139 (4 - 1052)	0,240	0,294	0,106	0,647
2005	35	137 (4 - 1692)	0,290	0,021	0,004	0,983
2009	34	25 (4 - 444)	0,233	0,184	0,170	0,337

opg= ovos por grama de fezes

* Média aritmética

a= Coeficiente de Correlação de Sperman's

No que se refere ao anticorpo IgG4, foi observada uma correlação direta e significativa entre a carga parasitária e a reatividade de IgG4 anti-SEA para ano de 2001. O mesmo ocorreu em 2002, um ano após o primeiro tratamento, porém em relação ao IgG4 anti-SWAP (TAB. 14). Apesar de não encontrarmos uma correlação significativa em todos os períodos investigados, os nossos resultados sugerem que a carga parasitária seja um fator que influencia diretamente na reatividade de IgG4 anti-SEA e SWAP, ou seja, o aumento da carga parasitária também aumenta a reatividade desses anticorpos.

TABELA 14

Coeficiente de correlação entre intensidade de infecção dos indivíduos infectados e IgG4 anti-SEA e SWAP para cada ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Ano	N	Carga parasitária (opg)	IgG4 anti-SEA		IgG4 anti-SWAP	
		media*(variação)	coef. correlação ^a	valor p	coef. correlação ^a	valor p
2001	75	246 (4 - 4312)	0,282	0,014	0,161	0,167
2002	21	139 (4 - 1052)	0,396	0,075	0,506	0,019
2005	35	137 (4 - 1692)	0,229	0,185	0,217	0,211
2009	34	25 (4 - 444)	0,119	0,503	-0,177	0,317

opg= ovos por grama de fezes

* Média aritmética

a= Coeficiente de Correlação de Sperman's

5.2.4 Avaliação da reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP em grupos de indivíduos reinfectados e não reinfectados

Os resultados apresentados anteriormente mostraram a relação entre a infecção e a reatividade das imunoglobulinas E e G4 em cada ano pesquisado. Estes resultados trazem uma série de questionamentos como, por exemplo, se o fato do indivíduo ser tratado várias vezes interferiria no perfil das imunoglobulinas; se o tratamento aumentaria a reatividade de IgE e os manteriam elevados nos indivíduos que não se reinfectam, ou, ainda, se haveria uma variação na reatividade de IgE e IgG4 em indivíduos que sempre se reinfectam. Para responder a essas perguntas, dividimos a população em 2 grupos. O primeiro grupo, denominado de não reinfectado, foi composto por indivíduos positivos para *S. mansoni* em 2001, tratados e não reinfectados em nenhum outro momento do estudo. O segundo grupo, denominado de reinfectado foi formado por indivíduos infectados para *S. mansoni* em 2001, tratados e reinfectados em pelo menos dois outros períodos estudados. A opção por este critério foi devido ao tamanho da amostra, pois não haveria indivíduos suficientes para formar um grupo composto pelos que se reinfectaram em todos os períodos do estudo.

5.2.4.1 Análise comparativa longitudinal da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP dos grupos de indivíduos não reinfectados e reinfectados

A análise da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP mostrou um aumento progressivo da reatividade desses anticorpos contra esses antígenos ao longo do tempo para os reinfectados e não reinfectados. Ao serem feitas comparações entre os anos pesquisados dentro de cada grupo observamos que houve diferença significativa entre eles, exceto quando comparados os anos de 2001 com 2002 (GRAF. 7 e GRAF. 8).

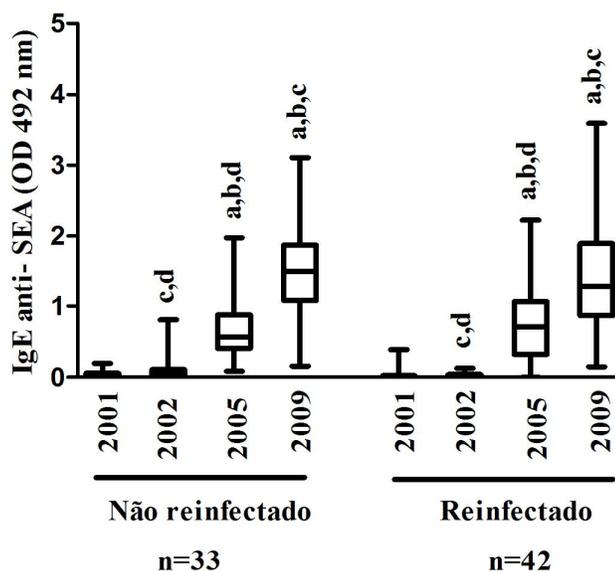


GRÁFICO 7 - Mediana da reatividade de IgE anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfetados e não reinfetados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: Teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p < 0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

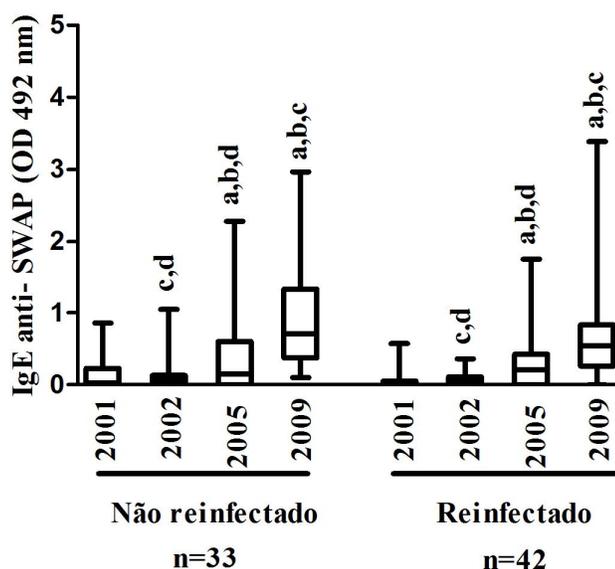


GRÁFICO 8 - Mediana da reatividade de IgE anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfetados e não reinfetados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: Teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p < 0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

Em relação ao IgG4 anti-SEA observamos que os maiores valores da mediana foram encontrados em 2001, com variações pouco expressivas ao longo do tempo para cada grupo. Observamos diferenças significativas para os dois grupos (não reinfestado e reinfestado) apenas quando comparamos o ano de 2001 aos anos de 2002 e 2005 (GRAF. 9).

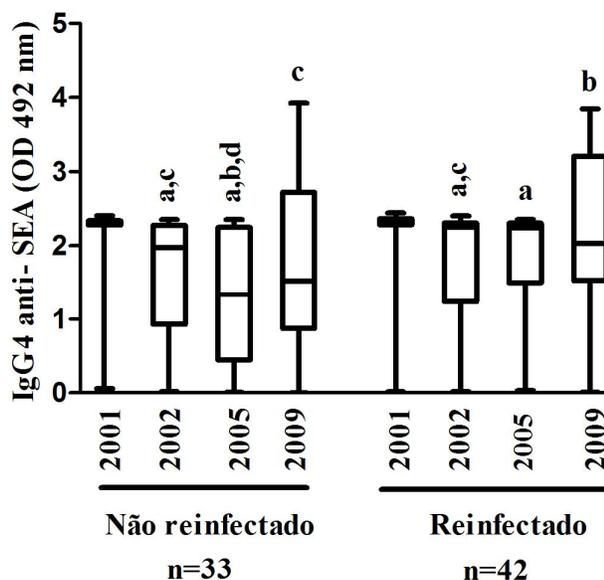


GRÁFICO 9 - Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfestados e não reinfestados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: Teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p < 0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

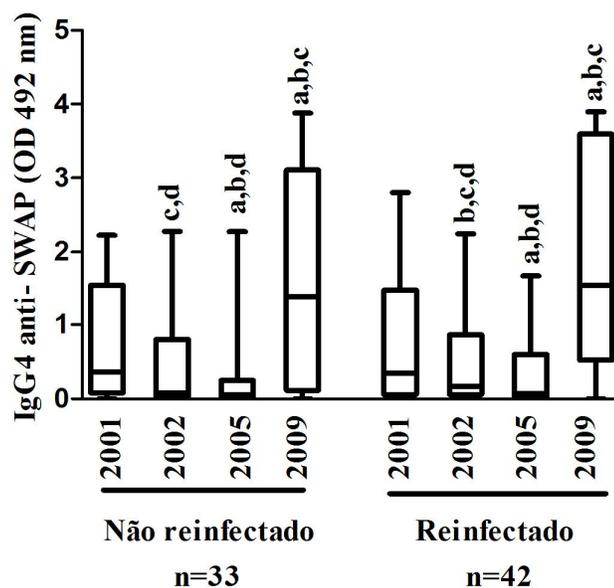


GRÁFICO 10 - Mediana da reatividade de IgG4 anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfetados e não reinfetados durante os períodos estudados, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: Teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni ($p < 0,02$); as letras a, b, c e d referem-se às diferenças significativas das medianas em relação aos anos de 2001, 2002, 2005 e 2009, respectivamente.

Quando avaliamos a reatividade de IgG4 anti-SWAP não foi observada uma tendência de aumento ou redução progressiva ao longo do tempo. Entretanto, percebe-se que os maiores valores da mediana estão presentes em 2009 quando comparada aos demais anos de estudo e essa diferença foi estatisticamente significativa em ambos os grupos (GRAF. 10).

Os nossos resultados mostram que apenas a resposta imune humoral, neste caso, avaliada pelos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP, não é capaz de explicar as reinfecções pelo *S. mansoni* ocorridas em Virgem das Graças. Sugerimos que outros fatores possam contribuir ou até mesmo elucidar as diferenças entre os indivíduos que se reinfetam daqueles que não se reinfetam.

5.2.4.2 Comparações entre os grupos, dentro do mesmo ano

As comparações feitas entre os grupos mostraram que as medianas da reatividade de IgE anti-SEA e SWAP apresentaram uma distribuição bastante similar, ou seja, pequena variação entre os grupos (GRAF. 11 e GRAF. 12). Ressalta-se, no entanto, valores um pouco

mais elevados da reatividade desses anticorpos no grupo 1 (não reinfestado) quando comparados aos do grupo 2 (reinfestado). Esta diferença foi significativa apenas para o IgE anti-SEA nos anos de 2001 e 2002 (GRAF. 11).

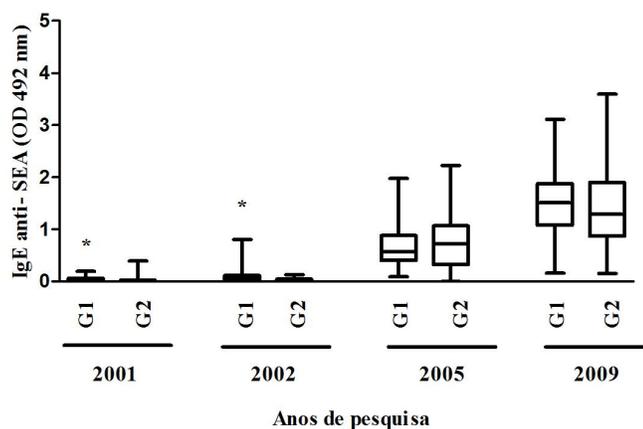


GRÁFICO 11 - Mediana da reatividade de IgE anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfestados e não reinfestados por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: G1= grupo não reinfestado e G2= grupo reinfestado; Teste de Mann-Whitney; * refere-se à diferença significativa da mediana do G1 em relação ao grupo G2, por ano de pesquisa.

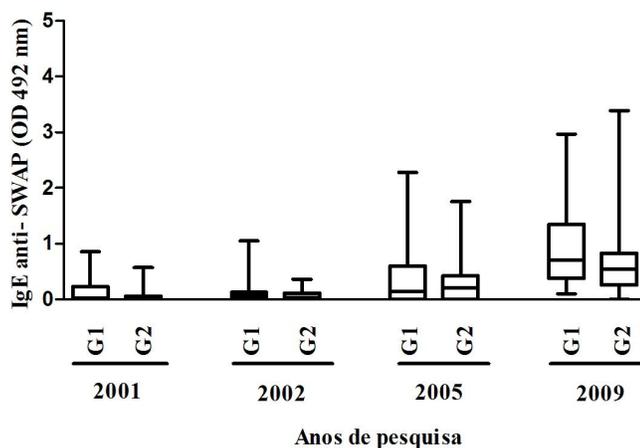


GRÁFICO 12 - Mediana da reatividade de IgE anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfestados e não reinfestados por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: G1= grupo não reinfestado e G2= grupo reinfestado; Teste de Mann-Whitney.

Os resultados da análise da reatividade de IgG4 anti-SEA e SWAP entre os grupos mostraram que, ao contrário do que observamos para o anticorpo IgE, as maiores medianas estão no grupo dos indivíduos reinfestados (GRAF. 13 e GRAF.14). Apenas para o IgG4 anti-

SEA, verificou-se uma diferença significativa entre o grupo G2 (reinfectedos) e o grupo G1 (não reinfectedos), em relação ao ano de 2005 (GRAF. 13).

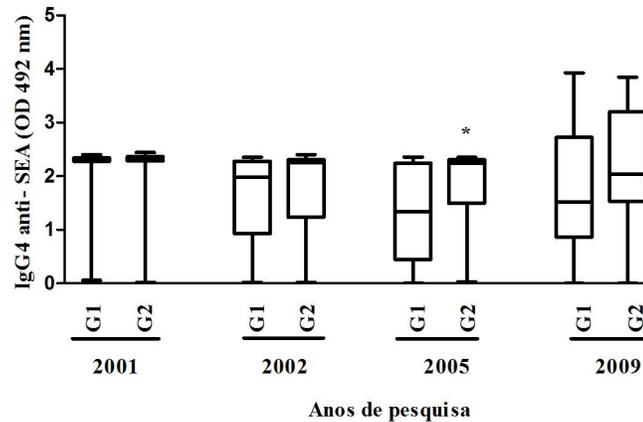


GRÁFICO 13 - Mediana da reatividade de IgG4 anti-SEA (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedos e não reinfectedos por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: G1= grupo não reinfectedo e G2= grupo reinfectedo; Teste de Mann-Whitney; * refere-se à diferença significativa da mediana do G1 em relação ao grupo G2, por ano de pesquisa.

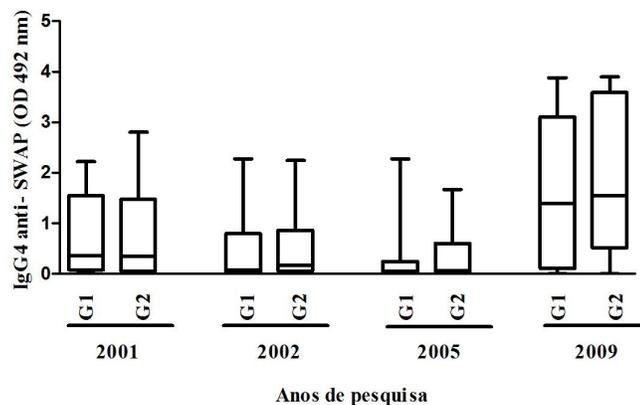


GRÁFICO 14 - Mediana da reatividade de IgG4 anti-SWAP (OD 492 nm) nos grupos de indivíduos reinfectedos e não reinfectedos por ano de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Nota: G1= grupo não reinfectedo e G2= grupo reinfectedo; Teste de Mann-Whitney.

Após avaliação da infecção e da reinfecção observamos que a reatividade de IgE se assemelham, ou seja, há um aumento ao longo do tempo tanto para os indivíduos negativos e positivos quanto para o grupo de indivíduos que reinfectam e não reinfectam. Diante disso,

tona-se inviável a utilização do IgE como um possível biomarcador de resistência a infecção e/ou reinfecção.

Por outro lado, os nossos resultados mostraram que a reatividade de IgG4 é mais elevada nos indivíduos que se infectam ou naqueles que reinfectam, o que sugere uma possível utilização dessa imunoglobulina como um biomarcador de susceptibilidade a infecção e/ou reinfecção. Este estudo mostrou, também, que a reatividade do anticorpo IgG4 contra os antígenos do ovo (SEA) apresentou resultados mais significativos quando comparado aos antígenos do verme adulto (SWAP). Diante desse contexto, o próximo objetivo foi fazer uma análise de desempenho para verificar se a reatividade de IgG4 anti-SEA tem o poder de predizer a infecção e/ou reinfecção pelo *S. mansoni*.

5.3 Análises de desempenho: avaliação da utilização da resposta de IgE ou IgG4 contra antígenos do parasita como biomarcadores imunológicos de infecção e reinfecção.

A curva ROC (*Receiver-Operating Characteristic*) foi construída com o intuito de avaliar a capacidade preditiva dos anticorpos IgG4 contra o antígeno do ovo (SEA) em relação a infecção e reinfecção pelo *S. mansoni*. A escolha do anticorpo IgG4 anti-SEA se deve ao fato de que os seus resultados foram melhores quando comparados ao outro anticorpo (IgE). Apesar disso, foi realizada uma análise da capacidade preditiva dos outros anticorpos (IgG4 anti-SWAP, IgE anti-SEA e SWAP), através da curva ROC, não tendo sido encontrados resultados satisfatórios.

A FIG. 4 mostra a área da curva ROC da reatividade de IgG4 anti-SEA em relação a infecção pelo *S. mansoni* em cada ano pesquisado. Observamos que este anticorpo teve um poder significativo de predizer a infecção pelo *S. mansoni* em todos os anos investigados. No entanto, ao longo do tempo, verificamos uma redução no poder de predição desse biomarcador imunológico, neste caso, avaliada pela diminuição da área da curva, passando de 84% no início do estudo (2001) para 66% em 2009 (TAB. 15).

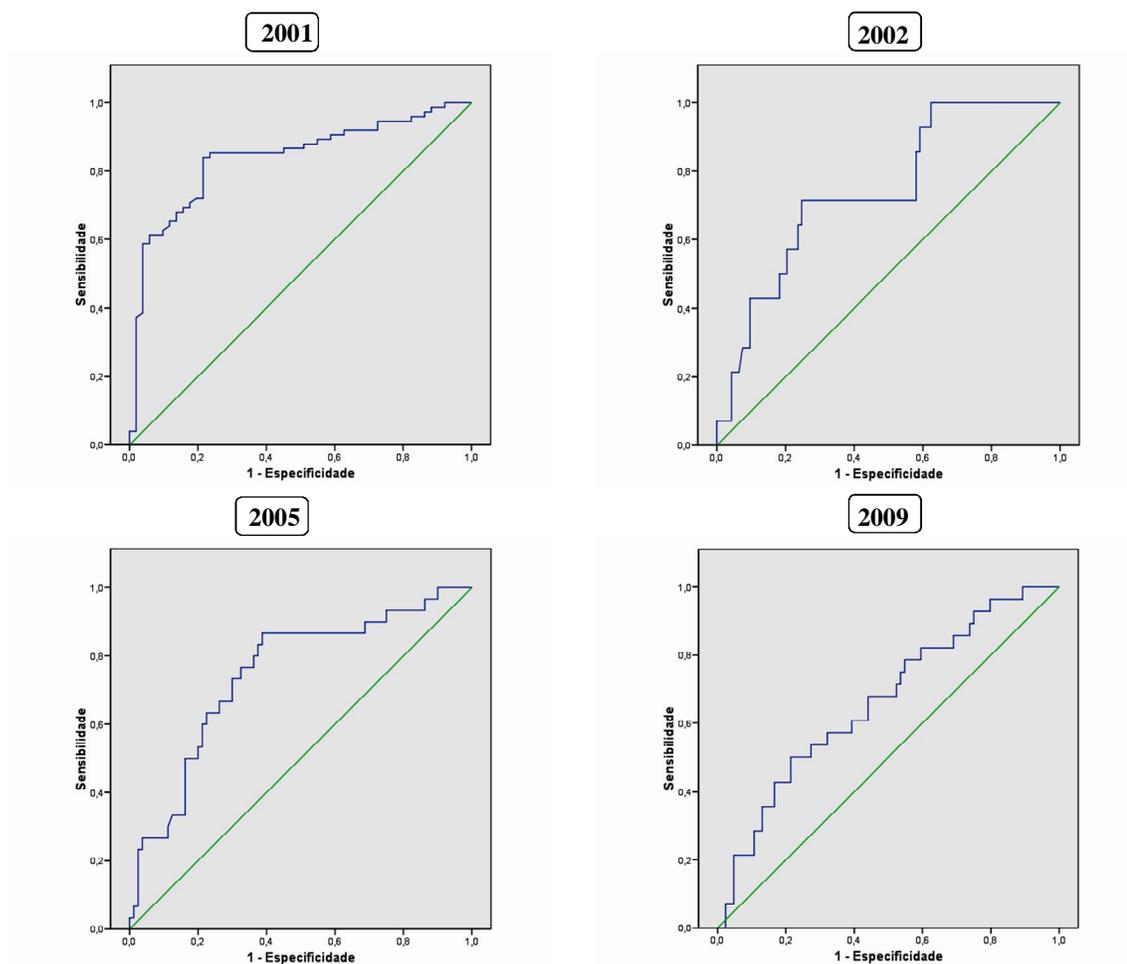


FIGURA 4 – Curva ROC da reatividade de IgG4 anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à infecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

TABELA 15

Área abaixo da curva ROC do anticorpo IgG4 anti-SEA em relação a infecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Anos	IgG4 anti-SEA		
	Área da curva (%)	IC 95%	valor p
2001	84	(0,766 - 0,909)	0,000
2002	74	(0,613 - 0,813)	0,003
2005	74	(0,643 - 0,851)	0,000
2009	66	(0,548 - 0,779)	0,010

Nota: IC 95% - Intervalo de confiança de 95%.

Diante desse achado, o próximo passo foi compreender o significado da redução, ao longo do tempo, da capacidade do anticorpo IgG4 anti-SEA em prever a infecção pelo *S. mansoni*. Uma das nossas hipóteses era que a redução da carga parasitária com o passar do tempo, decorrente de tratamentos sucessivos, influenciaria diretamente o poder de predição do biomarcador imunológico. De fato, pode-se observar que a área da curva acompanha a redução da carga parasitária o que confirmaria a nossa hipótese (GRAF. 15).

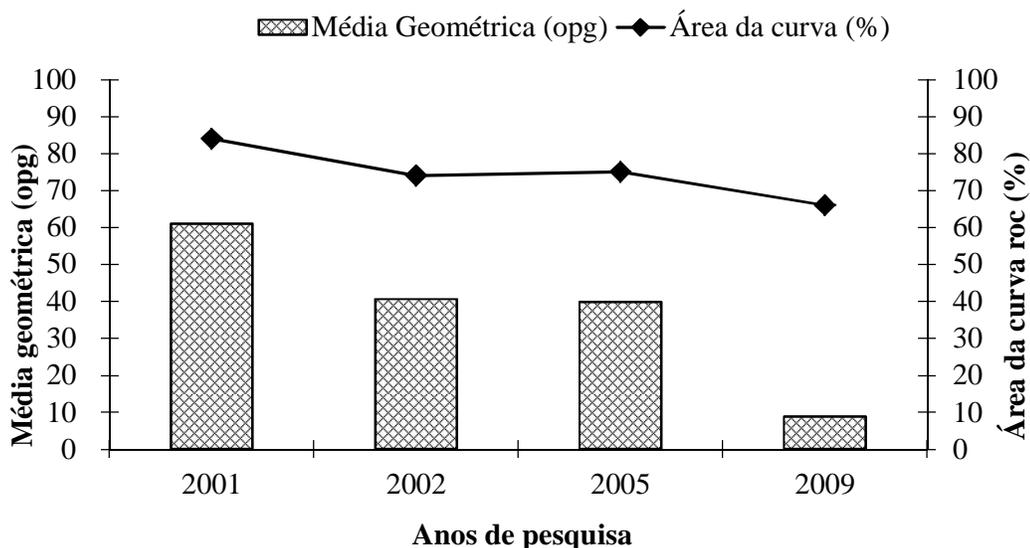


GRÁFICO 15 - Média geométrica de ovos de *S. mansoni* e área abaixo da curva ROC segundo anos de pesquisa, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais (n= 127)

Por outro lado, observamos que a reatividade de IgE anti-SEA aumentou ao longo do tempo o que poderia influenciar a reatividade do anticorpo IgG4 anti-SEA, reduzindo o seu poder de predição. Além disso, observamos uma correlação entre esses anticorpos ao longo da construção do modelo multivariado. Analisando esses resultados, podemos perceber que a hipótese anterior não poderia ser totalmente aceita, principalmente por haver um consenso na literatura de que existe uma relação competitiva entre os anticorpos IgG4 e IgE. Nesse sentido, fizemos uma transformação logarítmica e avaliamos a razão entre os anticorpos IgG4 e IgE anti-SEA com o objetivo de verificar se esta razão tem um melhor poder de predição da infecção pelo *S. mansoni* quando comparado ao IgG4 anti-SEA avaliado separadamente.

Os resultados mostraram que nos dois primeiros anos de pesquisa (2001 e 2002) houve diferença significativa da razão de IgG4/IgE anti-SEA entre os indivíduos infectados quando comparados aos não infectados mas, nos outros períodos essa diferença não ocorreu (FIG. 5).

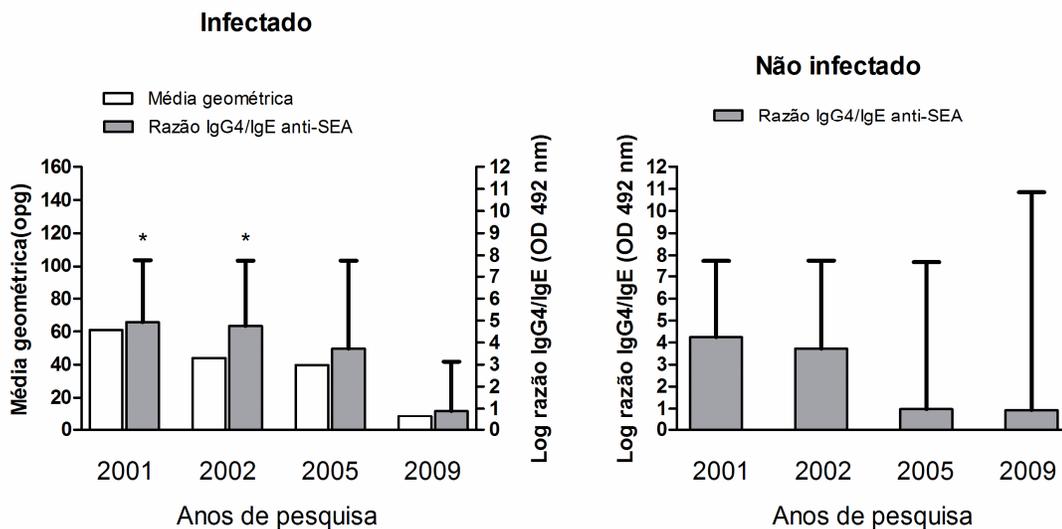


FIGURA 5 – Logaritmo natural da razão IgG4/IgE anti-SEA e carga parasitária dos indivíduos infectados e não infectados pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais. Nota: Teste de Mann-Whitney; * refere-se à diferença significativa ($p < 0,05$) da razão IgG4/IgE anti-SEA dos indivíduos infectados em relação aos não infectados, por ano de pesquisa.

Quando foi testado o poder de predição da infecção pelo *S. mansoni* através da área da curva ROC observamos, no entanto, que a análise da razão IgG4/IgE anti-SEA não melhorou o poder de predição quando comparado ao IgG4 anti-SEA (FIG. 6 e TAB. 16).

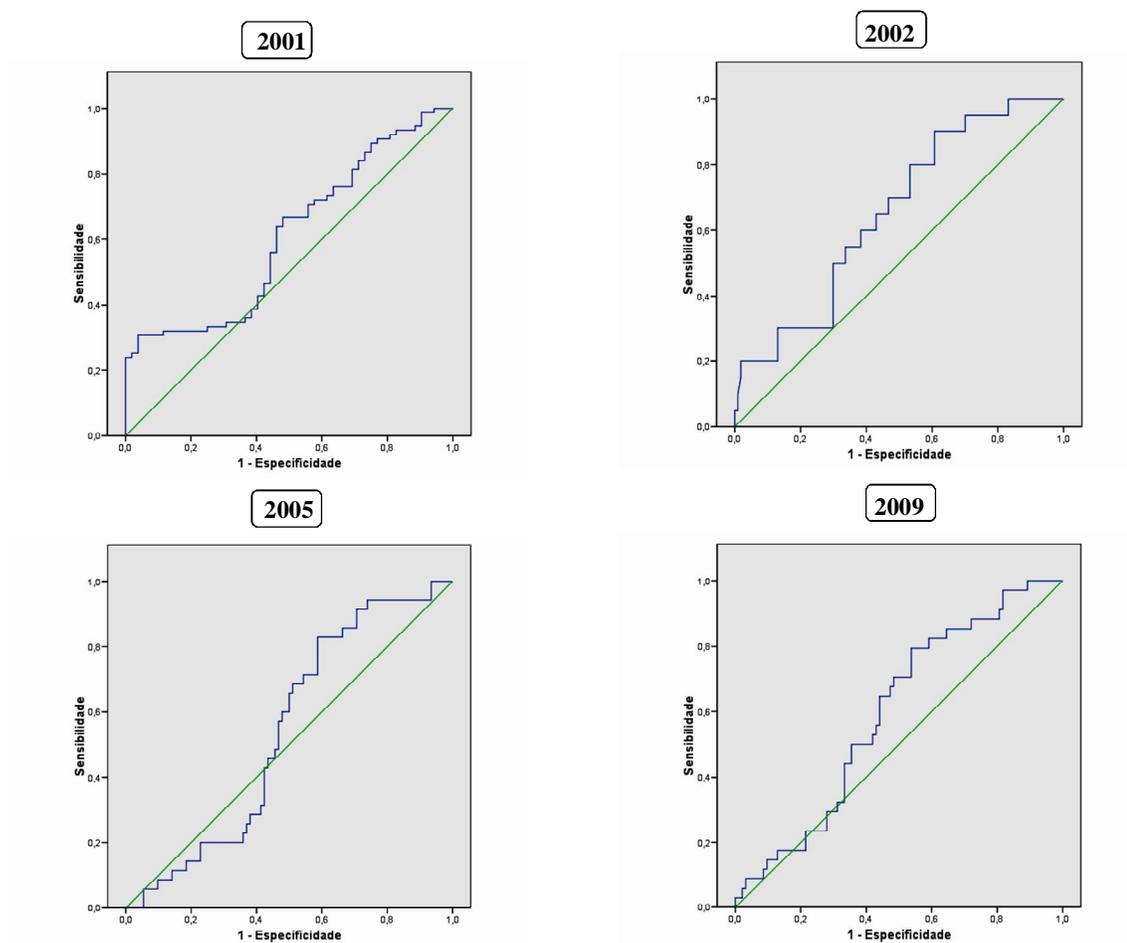


FIGURA 6 – Curva ROC da reatividade da razão IgG4/IgE anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à infecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

TABELA 16

Área abaixo da curva ROC da razão IgG4/IgE anti-SEA em relação a infecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Anos	Razão IgG4/IgE anti-SEA ^a		
	Área da curva (%)	IC 95%	valor p
2001	60	(0,507 - 0,706)	0,042
2002	65	(0,534 - 0,773)	0,030
2005	54	(0,439 - 0,643)	0,476
2009	59	(0,492 - 0,700)	0,099

Nota: a= Logaritmo natural da razão; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%.

Após avaliar a infecção pelo *S. mansoni*, o objetivo seguinte foi compreender a capacidade preditiva desses biomarcadores imunológicos em relação à reinfecção, com a finalidade de determinar qual o melhor biomarcador imunológico de reinfecção. Para isso, a população foi novamente separada em dois grupos de indivíduos (reinfectados e não reinfectados) para a realização das análises, como anteriormente apresentado.

Primeiramente, testamos o poder de predição da reatividade de IgG4 anti-SEA. Observamos através da análise da área da curva ROC, que este anticorpo não teve um poder significativo para prever a reinfecção nos anos investigados, com exceção do ano de 2005 (FIG. 7 e TAB. 17).

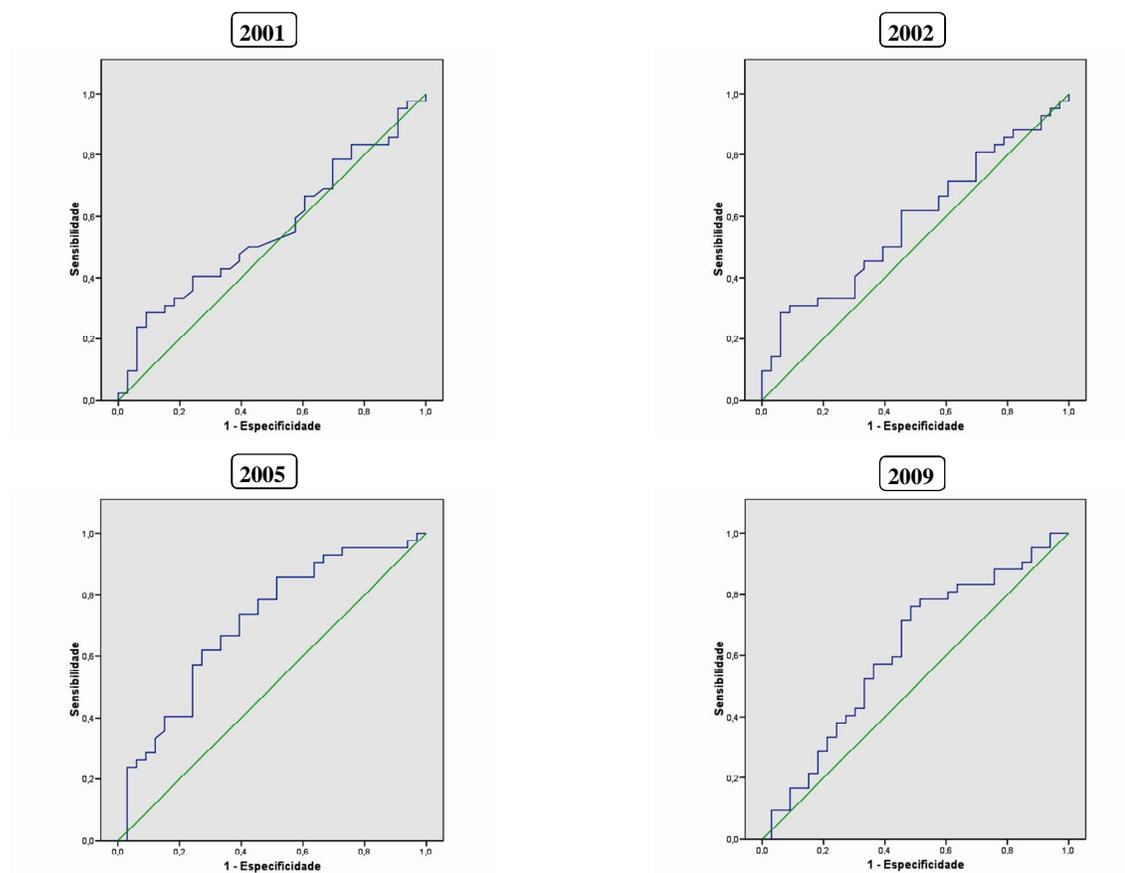


FIGURA 7 – Curva ROC da reatividade de IgG4 anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à reinfecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

TABELA 17
Área abaixo da curva ROC do anticorpo IgG4 anti-SEA em relação a reinfeção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Anos	IgG4 anti-SEA		
	Área da curva (%)	IC 95%	valor p
2001	56	(0,427 - 0,688)	0,396
2002	58	(0,453 - 0,711)	0,226
2005	71	(0,589 - 0,827)	0,002
2009	61	(0,483 - 0,745)	0,092

Nota: IC 95% - Intervalo de confiança de 95%.

Diante desse resultado, a outra tentativa foi avaliar a razão entre IgG4/IgE anti-SEA e verificar se a mesma poderia melhorar o poder de predição da reinfeção pelo *S. mansoni*. De fato, os resultados mostraram que a razão entre esses anticorpos foi maior no grupo reinfectado quando comparado aos não reinfectados e esta diferença foi significativa para os anos de 2001, 2002 e 2005. Isto sugere que a análise da razão IgG4/IgE anti-SEA pode ser um possível biomarcador de reinfeção (FIG. 8).

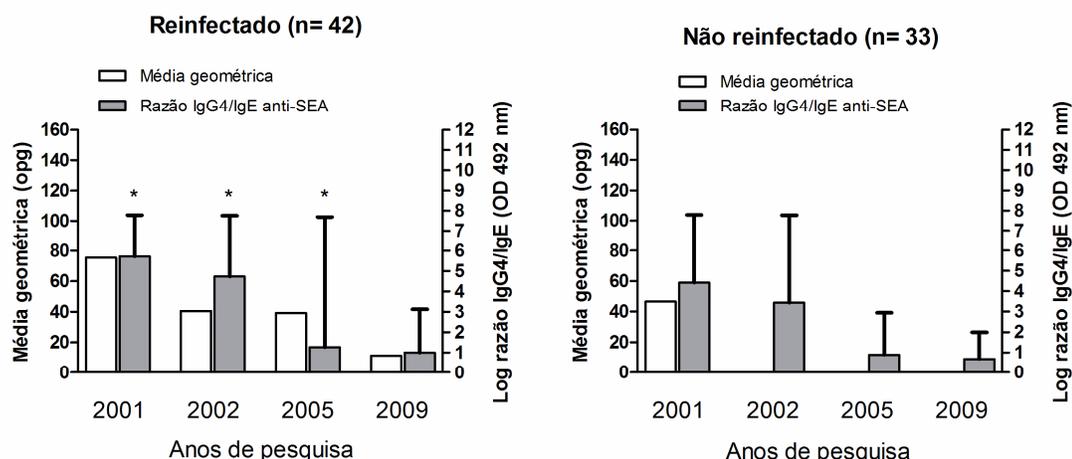


FIGURA 8 – Logaritmo natural da razão IgG4/IgE anti-SEA e carga parasitária do grupo de indivíduos reinfectados e não reinfectados pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais. Nota: Teste de Mann-Whitney; * refere-se à diferença significativa da razão entre IgG4/IgE anti-SEA do grupo reinfectado em relação ao não reinfectado, por ano de pesquisa.

Ao analisar a curva ROC, observamos que a razão entre IgG4/IgE anti-SEA foi o melhor biomarcador imunológico para prever a reinfecção pelo *S. mansoni* se comparado ao biomarcador IgG4 anti-SEA avaliado isoladamente (FIG. 9). No entanto, o valor preditivo desse biomarcador foi baixo, ou seja, uma área da curva ROC em torno de 66% sendo significativo para os anos de 2001, 2002 e 2005. O último ano avaliado (2009) apresentou a menor área (60%) e não foi significativo (TAB. 18).

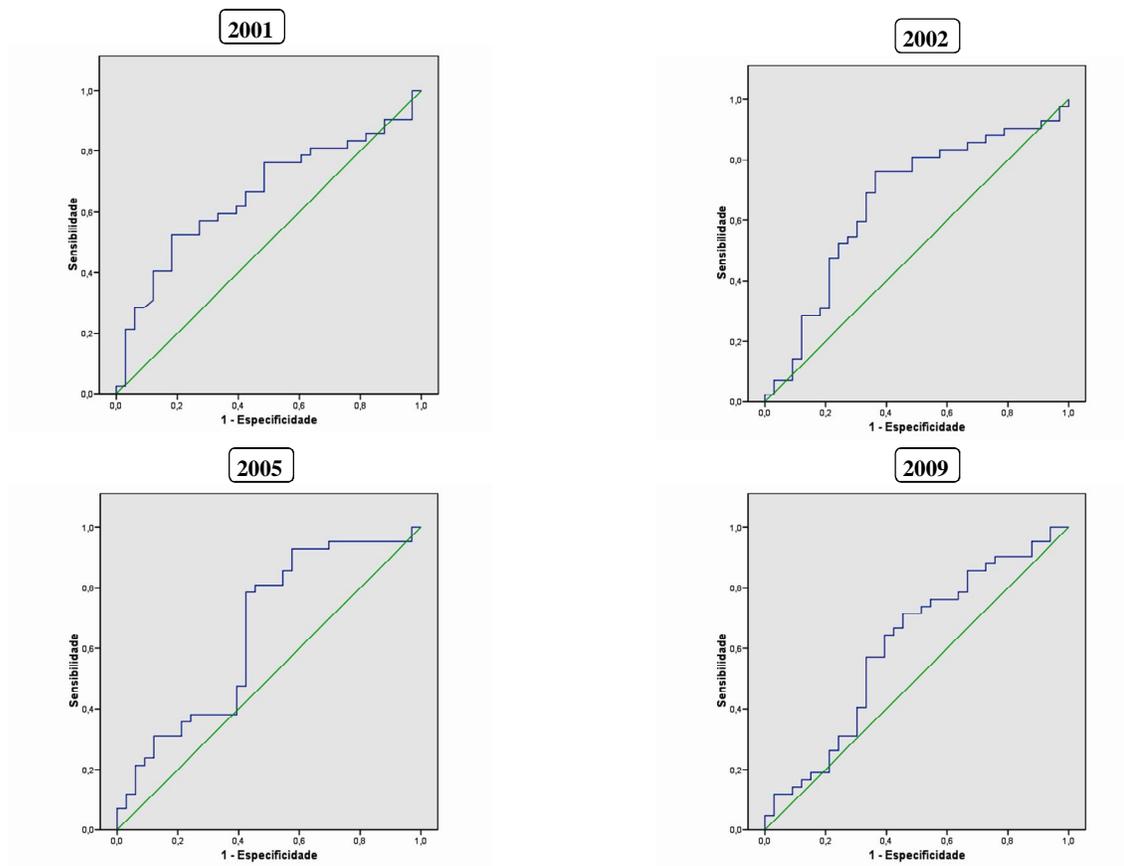


FIGURA 9 – Curva ROC da reatividade da razão IgG4/IgE anti-SEA em cada ano de pesquisa em relação à reinfecção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

TABELA 18
Área abaixo da curva ROC da razão IgG4/IgE anti-SEA em relação a reinfeção pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Anos	Razão IgG4/IgE anti-SEA ^a		
	Área da curva (%)	IC 95%	valor p
2001	66	(0,532 - 0,781)	0,021
2002	66	(0,537 - 0,792)	0,015
2005	66	(0,527 - 0,786)	0,021
2009	61	(0,477 - 0,740)	0,109

Nota: a= Logarítmo natural da razão; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%.

O resultado anterior levou-nos a refletir sobre o motivo do baixo valor preditivo da razão entre IgG4/IgE anti-SEA em relação à reinfeção. Como mostra a figura 10, uma possível explicação pode ser o fato de não se observar um balanço entre esses dois anticorpos. A reatividade de IgG4 anti-SEA no grupo dos indivíduos reinfectados manteve-se sempre elevada em todos os anos avaliados. Já a reatividade dos anticorpos IgE anti-SEA aumentaram com o passar do tempo.

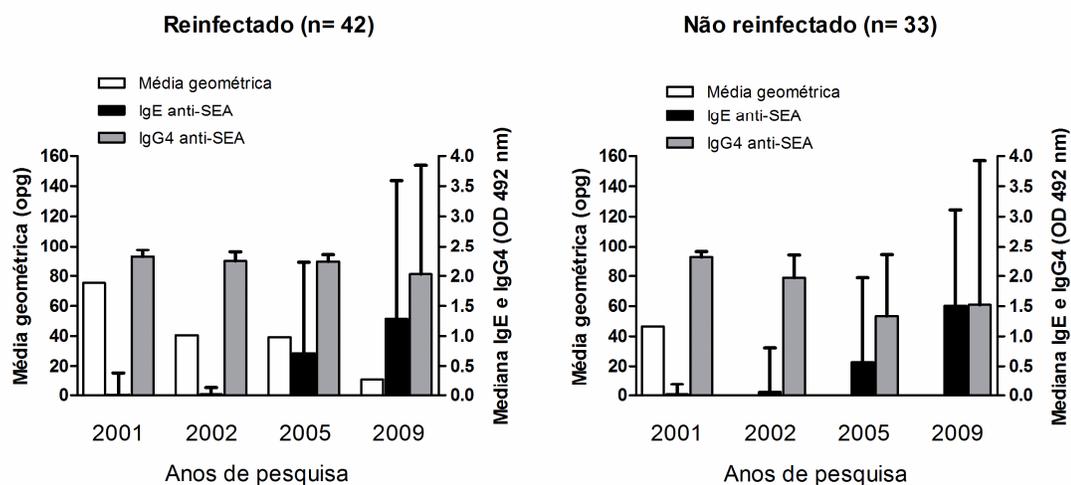


FIGURA 10 – Mediana da reatividade IgE e IgG4 anti-SEA e carga parasitária do grupo de indivíduos reinfectados e não reinfectados pelo *S. mansoni*, Virgem das Graças, município de Ponto dos Volantes, Minas Gerais.

Discussão

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, as taxas de prevalência entre os indivíduos mais jovens, foram maiores, sobretudo entre aqueles que se encontravam na segunda década de vida e menor entre os indivíduos mais velhos, acima de 50 anos. O mesmo pode ser observado em relação à carga parasitária. Estes resultados estão de acordo com os encontrados em outras áreas endêmicas para esquistossomose onde as maiores prevalências ocorreram entre adolescentes e adultos jovens (BETHONY *et al.*, 2001; ENK *et al.*, 2010b; HANDZEL *et al.*, 2003; KABATEREINE *et al.*, 2004; MASSARA *et al.*, 2004; TEIXEIRA; HELLER, 2004). A literatura aponta que as crianças e os adolescentes apresentam um sistema imunológico imaturo, incapaz ainda, de reagir contra o parasito, tornando-os mais vulneráveis à infecção e reinfecção (BONNARD *et al.*, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2002; WALTER *et al.*, 2006).

Ao avaliar, longitudinalmente, a prevalência de infecção pelo *S. mansoni* em cada faixa etária, destacamos um aumento da prevalência nos indivíduos mais velhos, passando de 7,5% em 2005 para 30% no último ano investigado. Em relação à carga parasitária, também observamos um leve aumento entre esses dois períodos. Em geral, os estudos apontam para um aumento da prevalência e da carga parasitária durante as primeiras duas décadas de vida e um subsequente declínio a partir da idade adulta (BETHONY *et al.*, 2001; BUTTERWORTH *et al.*, 1987; ENK *et al.*, 2010b; GRYSEELS *et al.*, 1994; HANDZEL *et al.*, 2003; KABATEREINE *et al.*, 2004; MASSARA *et al.*, 2004; NAUS *et al.*, 1999; TEIXEIRA; HELLER, 2004). No entanto, existem estudos que mostraram que o aumento na carga parasitária pode ocorrer em indivíduos com mais de 60 anos pois, com o aumento da idade há alteração da resposta imune que pode facilitar a infecção (COMIN *et al.*, 2008; DAYNES *et al.*, 1993; FULFORD *et al.*, 1998; MILLER *et al.*, 1996). Sendo assim, o envelhecimento está associado com a redução da capacidade do sistema imune do indivíduo em modular uma resposta efetiva contra antígenos estranhos (HODES, 1995; PAWELEC *et al.*, 1998).

A avaliação longitudinal das condições socioeconômicas da população do estudo no modelo univariado, mostrou que ter sido pobre e residir em casa com piores condições de moradia durante todo o período investigado foram fator de risco importante para a infecção pelo *S. mansoni*. No entanto, quando as características socioeconômicas foram avaliadas em conjunto com outros fatores, no modelo multivariado, não observamos nenhuma associação significativa com a infecção pelo *S. mansoni*. O fato de não encontrarmos associação significativa, no modelo multivariado, entre as variáveis socioeconômicas e infecção, pode ser explicado pela pobreza generalizada em Virgem das Graças o que aparentemente minimiza a

relação com a infecção pelo *S. mansoni* (GAZZINELLI *et al.*, 2006). Os indivíduos, em geral, possuem baixa renda familiar e vivem em condições de moradia similares, sem água tratada e esgoto. Fato parecido a este foi relatado por Moza *et al.* (1998) em estudo realizado em área rural no nordeste do Brasil. No entanto, outros estudos realizados em áreas rurais avaliando a infecção pelo *S. mansoni* encontraram associações significativas com os indicadores socioeconômicos (BETHONY *et al.*, 2004; LIMA E COSTA *et al.*, 1991).

Sabe-se que os fatores socioeconômicos e de condições de moradia têm grande importância na manutenção da infecção. Indivíduos com baixa renda, com precárias condições socioeconômicas, baixo nível de escolaridade e que residem em locais sem água tratada e saneamento básico são mais vulneráveis à infecção (BETHONY *et al.*, 2004; HUANG; MANDERSON, 2005; KING, 2010; KLOOS *et al.*, 2008; MUHUMUZA *et al.*, 2009; XIMENES *et al.*, 2003). Dentre os fatores que contribuem para a infecção, a pobreza é um fator preponderante quando se trata de um agravo negligenciado como é a esquistossomose. A pobreza dificulta o acesso à água tratada e possibilita o contato com água contaminada, o que aumenta o risco de infecção. Concomitantemente, a presença da doença tem um impacto negativo na saúde dos indivíduos, que leva à incapacidade e queda na produtividade, ocasionando redução da renda e consequente manutenção do estado de pobreza (KING, 2010).

No nosso estudo, o contato com água permaneceu significativamente associado à infecção pelo *S. mansoni*, após a análise multivariada. Aqueles indivíduos que realizavam atividades de pescar e, principalmente, atravessar o córrego tiveram um maior risco de infecção. Muitos estudos têm avaliado a relação entre o contato com água e a infecção pelo *S. mansoni*. No Brasil, mais especificamente no município de Jaboticatubas Minas Gerais, Massara *et al.* (2004) mostraram que as atividades de tomar banho, trabalhar na agricultura, irrigar plantações, extrair areia do córrego e atravessar o córrego estão relacionadas à infecção pelo *S. mansoni*, corroborando parte dos nossos achados.

Interessante destacar que a atividade de atravessar o córrego tem tido uma relação significativa com a infecção. Em estudo anterior, realizado por Matoso (2008) foi avaliada a influência do contato com água com a reinfecção pelo *S. mansoni*. Apenas a atividade de atravessar o córrego teve uma relação significativa com a reinfecção. A média dos valores de TBM relativa a esta atividade foi maior entre os indivíduos que se reinfecaram quando comparados aos que não se reinfecaram. Ainda neste estudo, foi avaliada, a influência do contato com água e os níveis séricos de IgE total após o tratamento. Mais uma vez, apenas a atividade de atravessar o córrego relacionou-se de maneira direta com os níveis de IgE total.

Uma possível explicação para este aumento nos níveis de IgE total proporcionado pela atividade de atravessar o córrego, consiste no fato de que os indivíduos que realizam esta atividade estão mais expostos a água potencialmente contaminada por cercárias podendo levar a reinfeção pelo *S. mansoni* e aumentando, assim, os níveis de IgE total após o tratamento. Esta observação nos levou a sugerir que o aumento nos níveis de IgE total após o tratamento é, potencialmente, um indicador de reinfeção e que a IgE induzida por este processo não é protetora, ou que a IgE aumentada seria a IgE específica, que pode agir protegendo os indivíduos de infecções futuras e não a presente. Este é, certamente, um ponto que merece maior investigação, pois vários estudos têm demonstrado que a resposta imunológica específica contra antígenos brutos do verme adulto (SWAP) e do ovo (SEA) tem influência tanto na resistência quanto na susceptibilidade a infecção/reinfeção pelo *S. mansoni* (BLACK *et al.*, 2010b; BUTTERWORTH *et al.* 1987, 1988; CALDAS *et al.*, 2000; CORRÊA-OLIVEIRA *et al.*, 2000; DEMEURE *et al.*, 1993; DUNNE *et al.*, 1992; FULFORD *et al.*, 1992; KABATERINE *et al.*, 1999; NAUS *et al.*, 1999, 2003; OUMA *et al.*, 1998; RIHET *et al.*, 1991, 1992; SATTI *et al.*, 1996; SILVEIRA *et al.*, 2002; WALTER *et al.*, 2006). Existem, ainda, trabalhos demonstrando que há uma relação entre o balanço dos níveis de IgG4 e IgE na infecção pelo *S. mansoni* sugerindo que os níveis elevados de IgE estão relacionados a resistência ao parasito, enquanto o IgG4 a susceptibilidade (BONNARD *et al.*, 2004; HAGAN *et al.*, 1991; SILVEIRA *et al.*, 2002; VIANA *et al.*, 1995).

Diante desse contexto, este estudo avaliou longitudinalmente a relação entre a resposta imunológica específica dos anticorpos IgE e IgG4 contra os antígenos SEA e SWAP e a infecção pelo *S. mansoni*. Na análise multivariada, observamos que as reatividades de IgG4 anti-SEA e SWAP e a razão entre IgG4/IgE contra estes mesmos antígenos, em presença de variáveis explicativas como contato com água e idade, foram significativamente associadas a infecção pelo *S. mansoni*. Estes resultados corroboram com a hipótese 2 e 3 do estudo. O estudo realizado por Demeure *et al.*(1993) mostrou, através de um modelo multivariado ajustado pelo contato com água, idade e sexo, que a elevada produção de IgG4 está fortemente associada com o aumento da susceptibilidade a reinfeção, em contrapartida, a baixa produção deste isotipo foi encontrada em pacientes resistentes a infecção (CORRÊA-OLIVEIRA; CALDAS; GAZZINELLI, 2000) e a reinfeção (HAGAN *et al.*, 1991). O efeito oposto de IgE e IgG4 foi indissociável na análise, sugerindo que esses isotipos, provavelmente, têm funções antagônicas (DEMEURE *et al.*, 1993).

Em relação aos anticorpos IgE anti-SEA e SWAP não foi observada, na análise multivariada, nenhuma associação significativa com a esquistossomose, o que refuta a

hipótese 2 e 3 desse estudo. Uma possível explicação pode ser devido aos níveis mais elevados do anticorpo IgG4 que podem exercer um efeito bloqueador impedindo o efeito protetor do IgE (DEMEURE *et al.*, 1993). Segundo Silveira *et al.* (2002), as atividades dos dois anticorpos podem estar relacionadas, sendo que o anticorpo IgG4 estaria envolvido no bloqueio da resposta anafilática mediada pela IgE ou competindo com os mesmos epitopos bloqueando, assim, a resposta do tipo citotóxica dependente de anticorpos (ADCC). Outro aspecto a ser considerado é a elevação da reatividade de IgE nos indivíduos negativos ao longo do tempo. Isto pode contribuir para ausência da associação entre o anticorpo IgE e a infecção pelo *S. mansoni*.

O nosso estudo avaliou a reatividade dos anticorpos IgE e IgG4 anti-SEA e SWAP ao longo do tempo, tendo sido observado que as reatividades dos anticorpos IgE específicos contra SEA e SWAP aumentaram e foram mais expressivos a partir de 2005. Este aumento foi evidenciado tanto para os indivíduos infectados quanto para os não infectados. Webster *et al.* (1998) relataram que os níveis séricos mais elevados de IgE nos indivíduos residentes em áreas endêmicas se devem, provavelmente, a uma maior exposição ao antígeno. No entanto, a pergunta que se faz é como explicar o aumento da reatividade de IgE nos indivíduos negativos. A resposta pode estar no fato de que esses indivíduos, embora negativos parasitologicamente, residem na mesma área endêmica, tem contato com água semelhante aos indivíduos infectados e apresentam resposta imune tanto celular quanto humoral (anticorpos) significativa contra antígenos do *S. mansoni* (SILVEIRA *et al.*, 2002).

Sendo assim, a reatividade mais elevada de IgE nos indivíduos negativos podem ser explicada pela possível existência de antígenos comuns presentes em ovos e esquistossômulos (HARN *et al.*, 1984). Estudos em modelos murinos também sugeriram a presença de antígenos comuns associados à superfície de cercárias, de esquistossômulos e de miracídeos (THORS & LINDER, 2003). Dessa forma, nos possíveis contatos destes indivíduos negativos com águas infestadas por cercárias, os antígenos dos esquistossômulos comuns aos ovos poderiam estar induzindo uma elevada produção de IgE (CAPRON *et al.*, 1982).

No que se refere ao anticorpo IgG4 específico contra SEA e SWAP, não foi observada nenhuma tendência significativa de aumento ou redução da sua reatividade ao longo do tempo. Avaliando cada ano separadamente, o nosso estudo mostrou que quando existe a presença da infecção pelo *S. mansoni*, as reatividades do anticorpo IgG4 anti-SEA foram significativamente mais elevadas em relação aos indivíduos negativos. Já em relação ao IgG4 anti-SWAP, essa diferença ocorreu em menor intensidade, sendo significativa apenas em 2 pontos no tempo, 2001 e 2005. Grogan *et al.* (1997) também não observaram diferenças

significativas entre este isotipo específico contra SEA e SWAP ao longo de 2 anos após o tratamento, mas observaram que os indivíduos não infectados apresentaram níveis menores de IgG4 anti-SEA, corroborando com os nossos achados.

A presença da infecção e o aumento da reatividade do anticorpo IgG4 sugerem que a carga parasitária é um fator que interfere no perfil deste anticorpo. De fato, foi verificada em nosso estudo, uma correlação direta e significativa entre a carga parasitária (opg) e a reatividade de IgG4 anti-SEA no pré-tratamento (TAB. 18). Da mesma forma, Viana *et al.* (1995) mostraram, que os níveis de IgG4 anti-SEA estavam elevados em pacientes infectados com o *S. mansoni* e eram dependentes da intensidade de infecção. Outro estudo realizado também em Virgem das Graças (LIMA, 2005) encontrou níveis plasmáticos dos anticorpos IgG4 específicos contra SEA significativamente maiores em indivíduos infectados em relação aos negativos. Ainda neste estudo, foi observada uma correlação positiva e significativa entre os níveis de IgG4 anti-SEA e o número de ovos por grama de fezes dos pacientes estudados. Grogan e colaboradores (1997), em estudo realizado na África com *Schistosoma haematobium*, concluíram que a produção do anticorpo IgG4 anti-SEA está claramente associada a presença de ovo e diretamente correlacionada com a carga parasitária. Estes resultados corroboram com os nossos achados e reforçam a hipótese de que a carga parasitária influencia a reatividade de IgG4 anti-SEA.

É importante ressaltarmos que em 2001, tendo em vista que a prevalência foi de 59%, todos os indivíduos, independente de ter ou não a infecção pelo *S. mansoni*, foram tratados conforme preconizado pelo Ministério da Saúde. Isto nos levou a pensar se o tratamento poderia contribuir para o aumento, por exemplo, do anticorpo IgE ao longo do tempo conforme mencionado anteriormente. A pergunta que fica é se o aumento da reatividade de IgE deixaria os indivíduos resistentes a reinfeção, visto que, vários estudos têm demonstrado que a resposta imune de alguns indivíduos de área endêmica é alterada após a quimioterapia, e essa mudança pode ser correlacionada com o desenvolvimento de resistência a reinfeção (BLACK *et al.*, 2010; DUNNE *et al.*, 1992; FITZSIMMONS *et al.*, 2004; GROGAN *et al.*, 1996; HAGAN *et al.*, 1991; MEDHAT *et al.*, 1998; MUTAPI *et al.*, 2003; VEREECKEN *et al.*, 2007; WEBSTER *et al.*, 1997).

Nesse sentido, o nosso estudo avaliou se o fato de tratar várias vezes o indivíduo interferiria no perfil das imunoglobulinas, aumentando a reatividade de IgE e mantendo elevada naqueles indivíduos que não se reinfectam ou, ainda, se haveria variação nas reatividades de IgE e IgG4 nos indivíduos que sempre se reinfectam. Os nossos resultados mostraram que, em relação ao IgE anti-SEA e SWAP, houve um aumento das suas

reatividades ao longo do tempo, sendo mais expressiva a partir de 2005 porém, em ambos os grupos. Apenas no pré-tratamento e um ano após, verificamos diferenças significativas entre as reatividades mais elevadas do anticorpo IgE anti-SEA em indivíduos que não se reinfectaram em relação à reatividade mais baixa daqueles que se reinfectaram. Nos outros períodos avaliados, não observamos diferenças significativas. De uma forma geral, os resultados deste estudo indicam que o tratamento pode interferir no aumento da reatividade de IgE. Portanto, observamos que este aumento não foi suficiente para deixar os indivíduos resistentes a reinfeção.

Estudo anterior realizado em área endêmica para esquistossomose avaliou também o efeito da resposta imunológica, bem como as taxas de reinfeção em indivíduos que receberam vários tratamentos. As respostas desenvolvidas por estes indivíduos foram comparadas a de pacientes de uma área endêmica adjacente. Neste estudo, os pesquisadores observaram que três tratamentos consecutivos com 45 dias de intervalo não tiveram nenhum efeito significativo nas taxas de reinfeção da população estudada (SILVEIRA *et al.*, 1998). Vale lembrar que da mesma forma, em nosso estudo não foi possível observar mudanças significativas nas respostas imunológicas dos indivíduos em relação à reinfeção. Isto reforça a hipótese 1 do estudo de que a reinfeção está associada, não apenas à resposta imunológica, mas também a outros fatores como os demográficos, socioeconômicos e de contato com água. No entanto, há pontos importantes e limitações a serem consideradas no presente estudo. O tamanho amostral dos grupos reinfectados e não reinfectados talvez não tenha sido suficiente para fornecer poder estatístico para detectar as características identificáveis dentro da população associadas ao risco de reinfeção pelo *S. mansoni*. Além disso, esta limitação não possibilitou avaliar a associação entre os fatores mencionados acima e à reinfeção.

O anticorpo IgG4 e a sua relação com a reinfeção também foi avaliado em nosso estudo. No pré-tratamento, as reatividades de IgG4 anti-SEA foram mais elevadas em relação aos demais períodos avaliados. Esta diferença foi observada tanto no grupo dos indivíduos reinfectados quanto no grupo não reinfectado. Com o passar do tempo houve uma redução das reatividades desse anticorpo, sendo mais acentuada no grupo não reinfectado. O anticorpo IgG4 específico contra o antígeno SWAP não mostrou nenhuma relação importante com a reinfeção. A nossa próxima etapa foi saber se existia diferença entre esses grupos. De fato foram verificadas reatividades mais elevadas dos anticorpos IgG4 anti-SEA e anti-SWAP no grupo dos indivíduos reinfectados quando comparados aos não reinfectados. Embora esta diferença tenha sido observada, ela foi significativa apenas em 2005 e em relação ao IgG4 anti-SEA. Nos estudos de Hagan *et al* (1991) e Dunne *et al* (1992), foram encontradas

associações significativas dos anticorpos IgG4 com a susceptibilidade a reinfeccção. Por outro lado, Grogan *et al.* (1997) não encontraram nenhuma relação significativa entre os anticorpos IgG4 anti-SEA e SWAP com a reinfeccção avaliada 2 anos após o tratamento. As diferenças encontradas entre os estudos apontam a existência de outros fatores como, por exemplo, a genética, o comportamento, o tratamento e a idade, que podem influenciar no sistema imunológico do hospedeiro.

Estudos soropidemiológicos na esquistossomose têm demonstrado claramente a relação da idade com a infecção e a reinfeccção. As crianças são geralmente mais susceptíveis à infecção em relação aos adultos, e isto se deve, provavelmente, ao equilíbrio dos anticorpos IgE e IgG4 os quais parecem ser expressos diferencialmente com a idade (BLACK, *et al.*, 2010; BUTTERWORTH *et al.*, 1985, 1992; CORRÊA-OLIVEIRA *et al.*, 2000; DUNNE *et al.*, 1992; GROGAN *et al.*, 1997; HAGAN *et al.* 1987; 1991; SILVEIRA *et al.*, 2002; VEREECKEN *et al.*, 2007; WALTER *et al.*, 2006). Ao avaliarmos os anticorpos IgE e IgG4 contra os antígenos SEA e SWAP por faixa etária observamos um aumento progressivo e significativo das reatividades de IgE anti-SEA e SWAP ao longo do tempo, em cada faixa etária, principalmente, quando comparamos os dados do início do estudo “baseline” com os do último ano investigado. Este aumento foi mais expressivo a partir de 2005, ou seja, 4 anos após o tratamento de toda a população. Em relação ao IgG4 observamos redução das reatividades destes anticorpos contra antígenos do ovo (SEA) por faixa etária, ao longo do tempo, exceto para os indivíduos mais jovens. As reatividades mais baixas dos anticorpos IgE e mais elevadas dos anticorpos IgG4 nos indivíduos mais jovens podem explicar as maiores prevalências observadas neste grupo.

Além da idade e do tratamento, a exposição ao antígeno, neste caso avaliada pela prevalência de infecção, também pode interferir na resposta imunológica. É importante mencionar que em 2005 foi observado um aumento na prevalência de infecção pelo *S. mansoni* na população estudada, passando de 16,5% em 2002 para 27,6% em 2005. Estudos anteriores demonstram que a exposição contínua aos antígenos do *S. mansoni* tem efeito no desenvolvimento da resposta imune protetora (WOOLHOUSE, 1992). Tem sido proposto que esta exposição, em um nível determinado de antígeno, é necessária antes que a resposta protetora seja estimulada (MUTAPI *et al.*, 2008; WOOLHOUSE; HAGAN, 1991). Estes estudos corroboram com os nossos achados uma vez que encontramos uma resposta expressiva de IgE mais tardia, ou seja, a partir de 2005. Apesar disso, essa resposta não teve um efeito protetor importante contra a reinfeccção, como mencionado anteriormente.

Estudos epidemiológicos envolvendo o tratamento de indivíduos infectados e o monitoramento de possíveis reinfecções tem identificado uma série de respostas imunológicas importantes relacionadas à resistência na esquistossomose. Elevados níveis de IgE contra antígenos do verme adulto, por exemplo, tem sido associados com a resistência a reinfecção (DUNNE *et al.*, 1992; GROGAN *et al.*, 1996; HAGAN *et al.*, 1991; NAUS *et al.*, 1998; SATTI *et al.*, 1996) ao passo que níveis elevados de IgG4 anti-SEA e SWAP tem sido associados à susceptibilidade a reinfecção (JIZ *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2001). Evidências sugerem que o equilíbrio entre esses isotípos pode determinar a resistência ou a susceptibilidade a infecção (DEMEURE *et al.*, 1993; HAGAN *et al.*, 1991; LI *et al.*, 2001) e que a IgG4 pode atenuar o efeito do IgE.

O perfil da infecção em relação à idade encontrada neste estudo é típico de áreas endêmicas para esquistossomose, em que a infecção é maior em crianças e menor entre os adultos. Quando se avalia a reinfecção em áreas endêmicas, estudos tem demonstrado que as crianças e os adolescentes se reinfectam mais que os adultos (DUNNE *et al.*, 1998; FULFORD *et al.*, 1998; MATOSO, 2008; WALTER *et al.*, 2006).

O presente estudo não avaliou a relação entre idade e reinfecção devido ao tamanho amostral. Os grupos reinfectados e não reinfectados separados por idade ficaram com um número de indivíduos muito reduzido, com baixo poder estatístico. Isto foi de fato, uma limitação deste trabalho já mencionado anteriormente. No entanto, em estudo anterior realizado nessa mesma comunidade avaliando-se apenas a reinfecção, foi observado que as crianças se reinfectaram mais quando comparado aos adultos e esta diferença foi significativa. Este estudo mostrou, ainda, que menores níveis de IgE total foram encontradas justamente nas faixas etárias mais acometidas pela reinfecção pelo *S. mansoni* o que pode ter acarretado em uma maior susceptibilidade a infecção (MATOSO, 2008). Por outro lado, Grogan *et al* (1997) avaliando os anticorpos específicos IgE e IgG4 contra os antígenos SEA e SWAP não encontraram uma relação significativa entre IgE e a idade. Isto mais uma vez reforça que as classes e subclasses de anticorpos anti-*Schistosoma* variam não só com a idade, mas também com os outros fatores já mencionados anteriormente, além da intensidade de infecção, exposição ao antígeno e a duração da infecção. Sabendo que o fator imunológico tem um papel importante na infecção e reinfecção, vale destacar que este aspecto certamente não é o único que está influenciando as altas taxas de infecção encontradas principalmente nos indivíduos mais jovens. O modelo final da análise multivariada mostrou que outros fatores também contribuem para isto, como o contato com água e a idade. Apesar de não encontrarmos associações significativas no modelo final, no que se refere às condições

socioeconômicas devemos levar em conta que estes fatores podem contribuir para a aquisição da infecção. Vale ressaltar que condições de moradia, água tratada e saneamento básico são essenciais para o controle desta endemia.

Por fim, este estudo procurou identificar um biomarcador imunológico de infecção pelo *S. mansoni*. Avaliamos se as reatividades dos anticorpos IgG4 anti-SEA poderiam ser utilizados em um processo de monitoramento da população da área endêmica ao longo do tempo. Neste contexto, avaliamos se a IgG4 anti-SEA poderia ser utilizada como um biomarcador. A análise da IgG4 anti-SEA, seria, portanto, simples, rápida e sensível em um sistema bem validado. Além disso, a quimioterapia utilizada para o controle da esquistossomose, realizada em grandes campanhas de base populacional, requer técnicas de monitoramento mais rápidas e sensíveis para a seleção de indivíduos alvo para o tratamento. Segundo Wang *et al.* (2004), monitorar o progresso da doença e avaliar o impacto dos tratamentos em nível populacional são de grande importância para o controle da esquistossomose.

Observamos que o anticorpo IgG4 anti-SEA teve um poder de predição da infecção significativo em todos os períodos avaliados. Este poder de predição, avaliado por meio da área da curva ROC, variou de 84% no início do estudo a 66% no último ano avaliado. Esta variação mostrou que, apesar de significativa em todos os anos investigados, a capacidade preditiva deste biomarcador reduz com o passar do tempo. Uma hipótese para explicar esta redução estaria pautada na carga parasitária. De fato foi observado que quando a média de ovos por grama de fezes está mais elevada, este biomarcador teve um maior poder de predição da infecção. Quando houve uma redução na média de ovos na população do estudo a capacidade preditiva do biomarcador também reduziu o que sugere uma correlação direta (GRAF. 14).

A correlação entre a carga parasitária e o aumento dos níveis de IgG4 anti-SEA também foi encontrada em outros estudos (GROGAN *et al.*, 1997; LIMA, 2005; VIANA *et al.*, 1995). Como são poucos estudos que avaliam os biomarcadores imunológicos (IgG4 e IgE) e a sua capacidade preditiva da infecção por *S. mansoni*, vale destacar o trabalho de Kurniawan e colaboradores (1993) porém, em estudos em filariose. Estes pesquisadores sugeriram o uso do isotipo IgG4 na detecção de infecções ativas, visto que, os indivíduos infectados com microfilárias apresentaram altos níveis de IgG4.

Outro aspecto que talvez contribua para a redução da capacidade preditiva do IgG4 anti-SEA seria o isotipo IgE. O nosso estudo mostrou que as reatividades deste isotipo aumentaram ao longo do tempo. A literatura sugere que a imunidade contra o *S. mansoni*

depende do balanço entre os anticorpos IgG4 e IgE (BONNARD *et al.*, 2004; CALDAS *et al.*, 2000; HAGAN *et al.*, 1991; RIHET *et al.*, 1992; SILVEIRA *et al.*, 2002), visto que o isotipo IgG4 é ineficiente na ativação do complemento (ISKANDER; DAS; AALBERSE, 1981) e, além disso, compete com IgE específica na ligação a antígenos do verme nos sítios de ligação de mastócitos, impedindo a sua degranulação (STANWORTH & SMITH, 1973). Ao avaliar este balanço de anticorpos foi identificado que a razão IgG4/IgE anti-SEA não melhorou o poder de predição da infecção pelo *S. mansoni* comparado ao IgG4 anti-SEA.

No que se refere a reinfeção, o anticorpo IgG4 anti-SEA não foi considerado um bom biomarcador. Já a razão entre IgG4/IgE anti-SEA melhorou o poder de predição da reinfeção porém, com baixo valor preditivo possivelmente influenciado pela prevalência e/ou pela carga parasitária.

Apesar da literatura apontar a existência do balanço entre esses anticorpos, não foi possível verificar este efeito de forma nítida em nosso estudo, uma vez que a redução da razão IgG4/IgE anti-SEA foi observada em ambos os grupos reinfectedos e não reinfectedos, embora a mediana da razão tenha sido maior no grupo reinfectedo. Além disso, a reatividade de IgG4 anti-SEA manteve-se sempre elevada ao longo dos anos investigados, em ambos os grupos. Esta observação é importante uma vez que este balanço talvez não ocorreu da forma que os estudos tem destacado. Vale mencionar que a maioria dos estudos longitudinais que sugere a existência do balanço entre os anticorpos IgG4 e IgE, foram realizados em um menor intervalo de tempo, que variou de seis semanas a dois anos após o tratamento, (BONNARD *et al.*, 2004; CALDAS *et al.*, 2000; DEMEURE *et al.*, 1993; HAGAN *et al.*, 1991; LI *et al.*, 2001; RIHET *et al.*, 1991; 1992; SILVEIRA *et al.*, 2002; WALTER *et al.*, 2006). O acompanhamento de oito anos da população realizado em nosso estudo demonstrou que essa possível correlação de curto prazo não se mantém ao longo do tempo. Entretanto, cabe ressaltar o pequeno tamanho da amostra dos grupos reinfectedos e não reinfectedos o que pode ter minimizado este efeito, influenciando os nossos resultados.

Portanto, sugerimos estudos longitudinais que avaliem a reinfeção com uma amostra mais ampla. Além disso, sugerimos também análises da reatividade dos anticorpos IgG4 com antígenos recombinantes do ovo. Isto pode acarretar na identificação de proteína(s) que permitam utilizar o biomarcador (IgG4) para, talvez, predizer a presença de reinfeção e também melhorar o poder de predição da infecção pelo *S. mansoni* em áreas de baixa carga parasitária.

Conclusões e considerações finais

7 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das hipóteses propostas neste estudo, as análises dos resultados permitem concluir que a infecção pelo *S. mansoni* está associada tanto a resposta imune quanto ao contato com água e a idade. Ademais, o IgG4 anti-SEA pode ser utilizado como um biomarcador imunológico de monitoramento em áreas endêmicas para prever a presença da infecção pelo *S. mansoni*. Ainda, em relação à infecção podemos concluir que a razão entre IgG4/IgE anti-SEA não teve um valor preditivo importante em nenhum dos períodos avaliados. Verificamos ainda que anticorpos IgG4 anti-SEA não podem ser utilizados como biomarcadores para o monitoramento de reinfecção pelo *S. mansoni* e que a razão entre IgG4/IgE anti-SEA pode ser utilizada para o monitoramento da reinfecção, apesar de ter um baixo valor preditivo.

Considerando a esquistossomose como problema de saúde pública e sua complexidade epidemiológica, os resultados deste estudo têm várias implicações para o controle desta infecção em áreas rurais, principalmente quando consideramos que a maioria destas áreas apresenta baixo nível socioeconômico.

O fato da infecção por *S. mansoni* não estar associada às variáveis socioeconômicas, devido à pobreza generalizada na área de estudo, indica que o desenvolvimento e a melhoria da infra-estrutura rural tais como, saneamento básico através da distribuição de água tratada e encanada e coleta e tratamento do esgoto, reduz a contaminação fecal dos habitats dos caramujos, contribuindo para uma diminuição nas taxas de infecção após o tratamento. Isto favorece não só o controle da esquistossomose, mas de outras doenças relacionadas à água.

Estudos que investigam a complexidade da epidemiologia da esquistossomose devem, cada vez mais, ter uma abordagem ampla capaz de envolver os aspectos socioeconômicos, ambientais, imunológicos dentre outros, visando sempre desenvolver uma análise crítica dos mesmos, a fim de redirecionar os programas de controle. Sendo assim, este estudo pode contribuir para a continuidade e novas perspectivas de investigações no campo da epidemiologia e imunologia voltadas para o controle da esquistossomose, que ainda, permanece como um importante problema de saúde pública no Brasil.

Referências

REFERÊNCIAS

- ABEL, L.; DEMENAIIS, F.; PRATA, A.; SOUZA, A. E.; DESSEIN, A. J. Evidence for the segregation of a major gene in human susceptibility/resistance to infection by *Schistosoma mansoni*. **Am J Hum Gen**, v. 48, p. 959-970, 1991.
- ABEL, L.; DESSEIN, A.J. The impact of host genetics on susceptibility to human infectious diseases. **Curr Opin Immun**, v. 9, p. 509-516, 1997.
- AMARAL, R. S.; TAUIL, P. L.; LIMA, D. D.; ENGELS, D. An analysis of the impact of the Schistosomiasis Control Programme in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, p. 79-85, 2006.
- ANDERSON, R.; MAY, R. Infectious Diseases of Humans. Dynamics and Control. Oxford: **Oxford University Press**, 1992.
- BETHONY, J.; WILLIAMS, J. T.; KLOOS, H.; BLANGERO, J.; ALVES-FRAGA, L.; BUCK, G.; MICHALEK, A.; WILLIAMS-BLANGERO, S.; LOVERDE, P.T.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; GAZZINELLI, A. Exposure to *Schistosoma mansoni* infection in a rural area in Brazil. II: household risk factors. **Tropical Medicine and International Health**, v. 6, n. 2, p. 136-145, 2001.
- BETHONY, J.; WILLIAMS, J.T.; BROOKER, S.; GAZZINELLI, A.; GAZZINELLI, M.F.; LOVERDE, P.T; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; KLOOS, H. Exposure to *Schistosoma mansoni* infection in a rural area in Brazil. Part III: household aggregation of water contact behaviour. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, n.3, p. 381-389, 2004.
- BLACK, L. C.; STEINAUER, M.L.; MWINZI, P. N.; EVAN SECOR, W.; KARANJA, D.M.; COLLEY, D. G. Impact of intense, longitudinal retreatment with praziquantel on cure rates of schistosomiasis mansoni in a cohort of occupationally exposed adults in western Kenya. **Tropical Medicine and International Health**, v. 14, n. 4, p. 450-457, apr. 2009.
- BLACK, C. L.; MWINZI, P. N.; MUOK, E. M.; ABUDHO, B.; FITZSIMMONS, C. M.; DUNNE, D. W.; KARANJA, D. M.; SECOR, W. E.; COLLEY, D. G. Influence of Exposure History on the Immunology and Development of Resistance to Human Schistosomiasis Mansoni. **Plos Neglected Diseases**, v.4, n. 3, p. e637, march 2010a.
- BLACK, C. L.; MUOK, E. M.; MWINZI, P. N.; CATER, J. M.; KARANJA, D. M.; SECOR, W. E.; COLLEY, D. G. Increases in schistosome-specific IgE and CD23+ B cells in a cohort of Kenyan children undergoing repeated treatment and reinfection with *Schistosoma mansoni*. **J. Infect. Dis.**, v. 202, n. 3, p. 399-405, ago. 2010b.

- BONNARD, P.; REMOUE, F.; SCHACHT, A. M.; DEUFFIC-BURBAN, S.; DOMPNIER, J. P.; ELGUERO, E.; CHARRIER, N.; CASSAGNOU, M.; DIOP, M.; LY, A.; CAPRON, A.; RIVEAU, G. Specific isotype immune response in the diagnosis of human schistosomiasis pathology? **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 71, n. 2, p. 202-204, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Controle da esquistossomose: diretrizes técnicas**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 1998. 70 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Situação da prevenção e controle das doenças transmissíveis no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2004a. 39 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: relatório de situação: Minas Gerais**. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 24 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância em saúde: dengue, esquistossomose, hanseníase, malária, tracoma e tuberculose**. 2. ed. revis. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 197 p. (Cadernos de Atenção Básica, 21).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 816 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual do Agente de Saúde Pública Esquistossomose Instruções para Coproscopia / Tratamento**. 4. ED. – Belo Horizonte: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2003.
- BUTTERWORTH, A. E.; CAPRON, M.; CORDINGLEY, J. S.; DALTON, P. R.; DUNNE, D.W.; KARIUKI, H. C.; KIMANI, G.; KOECH, D.; MUGAMBI, M.; OUMA, J. H. *et al.* Immunity after treatment of human schistosomiasis mansoni II. Identification of resistant individuals, and analysis of their immune responses. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 79, p. 393-408, 1985.
- BUTTERWORTH, A. E.; BENSTED-SMITH, R.; CAPRON, A.; CAPRON, M.; DALTON, P. R.; DUNNE, D.W.; GRZYCH, J. M.; KARIUKI, H. C.; KHALIFE, J.; KOECH, D. *et al.* Immunity in human schistosomiasis mansoni: prevention by blocking antibodies of the expression of immunity in young children. **Parasitology**, v. 94, n. 2, p. 281-300, 1987.
- BUTTERWORTH, A. F.; DUNNE, D. W.; FULFORD, A.; CAPRON, M.; KHALIFE, J.; CAPRON, A.; KOECH, D.; OUMA, J.; SUTRROCK, R. F. Immunity in human schistosomiasis mansoni: cross-reactive IgM and IgG2 anti-carbohydrate antibodies block the expression of immunity. **Biochimie**, v. 70, n. 8, p. 1053-1063, aug. 1988.

- BUTTERWORTH, A. E.; DUNNE, D. W.; FULFORD, A. J.; THORNE, K. J.; GACHUHI, K.; OUMA, J. H.; SUTRROCK, R. F. Human immunity to *Schistosoma mansoni*: observations on mechanisms, and implications for control. **Immunol Invest**, v. 21, n. 5, p. 391-407, 1992.
- CALDAS, I. R.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; COLSIMO, E.; CARVALHO, O. S.; MASSARA, C. L.; COLLEY, D. G.; GAZZINELLI, G. Susceptibility and resistance to *Schistosoma mansoni* reinfection: parallel cellular and isotypic immunologic assessment. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 62, n.1, p. 57-64, 2000.
- CAPRON, A.; DESSAINT, J. P.; CAPRON, M.; BAZIN, H. Specific IgE antibodies in immune adherence of normal macrophages to *S. mansoni* schistosomules. **Nature**, v. 253, p. 474-475, 1975.
- CAPRON, A.; DESSAINT, J. P.; CAPRON, M.; JOSEPH, M.; TORPIER, G. Effector mechanisms of immunity to schistosomes and their regulation. **Immunol Rev.**, v. 61, p. 41-62, 1982.
- CARTER, C. E.; COLLEY, D. G. Partial purification and characterization of *Schistosoma mansoni* soluble egg antigen with Con A-Sepharose chromatography. **J Immunology**, v. 122, n 6, p. 2204-2209, 1979.
- CASTILLO-CHAVEZ, C.; FENG, Z.; XU, D. A schistosomiasis model with mating structure and time delay. **Mathematical Biosciences**, v. 211, n. 2, p. 333-341, 2008.
- CHEEVER, A. W.; Hoffmann, K. F. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunol Today**, v. 21, n. 9, p.465-6, sep. 2000.
- CHITSULO, L.; ENGELS, D.; MONTRESOR, A.; SAVIOLI, L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Tropica**, Netherlands, v. 77, n. 1, p. 41-51, oct. 2000.
- CHURCHER, T. S.; PION, S. D.; OSEI-ATWENEBOANA, M. Y.; PRICHARD, R. K.; AWADZI, K.; BOUSSINESQ, M.; COLLINS, R.C.; WHITWORTH, J. A.; BASÁÑEZ, M. G. Identifying sub-optimal responses to ivermectin in the treatment of River Blindness. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 39, p. 16716-16721, 2009.
- COMIN, F.; SPEZIALI, E.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; FARIA, A. M. Aging and immune response in chronic human schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 108, p. 124-130, 2008.
- CORRÊA-OLIVEIRA, R. CALDAS, I. R.; MARTINS-FILHO, O. A.; CARVALHO, C. Q.; CUNHA-MELO, J. R.; SILVEIRA, A. S.; PRATA, A.; WILSON, A.; GAZZINELLI, G. Analysis of the effects of treatment of human *Schistosoma mansoni* infection on the immune response of patients from endemic areas. **Acta Tropica**, v. 77, p. 141-146, 2000.

- CORRÊA-OLIVEIRA, R.; CALDAS, I.R.; GAZZINELLI, G. Natural versus drug-induced resistance in *Schistosoma mansoni* infection. **Parasitol Today**, v. 16, p. 397-399, 2000.
- COURA-FILHO, P.; ROCHA, R. S.; FARAH, M. W.; DA SILVA, G. C.; KATZ, N. Identification of factors and groups at risk of infection with *Schistosoma mansoni*: a strategy for the implementation of control measures? **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, n. 3, p. 245-253, 1994.
- COURA, J. R.; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in brazilian endemic areas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, p. 13-19, aug. 2004. Supplementum I.
- COURA, J. R.; CONCEIÇÃO, M. J. Specific schistosomiasis treatment as a strategy for disease control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4 p. 598-603, jul. 2010.
- DAYNES, R. A.; ARANEO, B. A.; ERSHLER, W. B.; MALONEY, C.; LI, G. Z.; RYU, S. Y. Altered regulation of IL-6 production with normal aging. Possible linkage to the age associated decline in dehydroepiandrosterone and its sulfated derivative. **J. Immunol.**, v. 150, p. 5219-5230, 1993.
- DEMEURE, C. E.; RIHET, P.; ABEL, L.; OUATTARA, M.; BOURGOIS, A.; DESSEIN, A. J. Resistance to *Schistosoma mansoni* in humans: influence of the IgE/IgG4 balance and IgG2 in immunity to reinfection after chemotherapy. **Journal of Infectious Diseases**, v. 168, p. 1000-1008, 1993.
- DE MOIRA, A. P.; FULFORD, A. J.; KABATEREINE, N. B.; OUMA, J. H.; BOOTH, M.; DUNNE, D. W. Analysis of Complex Patterns of Human Exposure and Immunity to Schistosomiasis mansoni: The Influence of Age, Sex, Ethnicity and IgE. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 9, p. e820, sept. 2010.
- DESSEIN, A. J.; COUISSINIER, P.; DEMEURE, C.; RIHET, P.; KOHLSTAEDT, S.; CANEIRO-CARVALHO, D.; OUATTARA, M.; GOUDOT-CROZEL, V.; DESSEIN, H.; BOURGOIS, A. *et al.* Environmental, genetic, and immunological factors in human resistance to *Schistosoma mansoni*. **Imunol Invest**, v. 21, p. 423-53, aug. 1992.
- DOENHOFF, M. J. Is schistosomicidal chemotherapy sub-curative? Implications for drug resistance. **Parasitol Today**, v. 14, n. 10, p. 434-435, 1998.
- DUNNE, D. W.; BUTTERWORTH, A. E.; FULFORD, A. J.; KARIUKI, H. C.; LANGLEY, J. G.; OUMA, J. H.; CAPRON, A.; PIERCE, R. J.; SUTRROCK, R. F. Immunity after treatment of human schistosomiasis mansoni: association between IgE antibodies to adult worm antigens and resistance to infection. **European the Journal of Immunology**, v. 22, p. 1483-1494, jun. 1992.

- DUNNE, D. W.; MOUNTFORD, A. Resistance to infection in human and animal models. In AAF Mahmoud, *Schistosomiasis*. **Imperial College Press, London, United Kingdom**, p.4715-4721, 1998.
- ENK, M. J.; LIM, A. C.; DRUMMOND, S. C.; SCHALL, V. T.; COELHO, P. M. The effect of the number of stool samples on the observed prevalence and the infection intensity with *Schistosoma mansoni* among a population in an area of low transmission. **Acta Tropica**, Netherlands, v. 108, n. 2-3, p. 222-228, nov./dec. 2008.
- ENK, M. J.; AMARAL, G. L.; COSTA E SILVA, M. F.; SILVEIRA-LEMOS, D.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; MARTINS-FILHO, O. A.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; GAZZINELLI, G.; COELHO, P. M.; MASSARA, C. L. Rural tourism: a risk factor for schistosomiasis transmission in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p.537-540, jul. 2010a.
- ENK, M.; LIMA, A. C.; BARROS HDA, S.; MASSARA, C. L.; COELHO, P. M.; SCHALL, V. T. Factors related to transmission of and infection with *Schistosoma mansoni* in a village in the South-eastern Region of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 4, p. 570-577, jul. 2010b.
- FENWICK, A. Waterborne infectious diseases-could they e consigned to history? **Science**, United States, v. 313, n. 5790, p. 1077-1081, aug. 2006.
- FENWICK, A.; WEBSTER, J. P.; BOSQUE-OLIVA, E.; BLAIR, L.; FLEMING, F. M.; ZHANG, Y.; GARBA, A.; STOTHARD, J.R.; GABRIELLI, A. F.; CLEMENTS, A. C.; KABATEREINE, N. B.; TOURE, S.; DEMBELE, R.; NYANDINDI, U.; MWANSA, J.; KOUKOUNARI, A. The Schistosomiasis control initiative (SCI): rationale, development and implementation from 2002-2008. **Parasitology**, England, v. 136, n. 13, p. 1719-1730, jul. 2009.
- FERRARI, M. L. A.; COELHO, P. M.; ANTUNES, C. M.; TAVARES, C. A.; DA CUNHA, A. S. Efficacy of oxaminiquine and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infection: a controlled trail. **Bull World Health Org**, v. 81, n. 3, p. 190-196, may. 2003.
- FERREIRA, I. L. M.; TABOSA E SILVA, T. P. Mortalidade por esquistossomose no Brasil: 1980 - 2003. **Rev. de Patologia Tropical**, v. 36, n. 1, p. 67-74, abril. 2007.
- FITZSIMMONS, C. M.; JOSEPH, S.; JONES, F. M.; REIMERT, C. M.; HOFFMANN, K. F.; KAZIBWE, F.; KIMANI, G.; MWATHA, J. K.; OUMA, J. H.; TUKAHEBWA, E. M.; KARIUKI, H. C.; VENNERVALD, B. J.; KABATEREINE, N. B.; DUNNE, D. W. Chemotherapy for Schistosomiasis in Ugandan Fishermen: Treatment Can Cause a Rapid

- Increase in Interleukin-5 Levels in Plasma but Decreased Levels of Eosinophilia and Worm-Specific Immunoglobulin E. **Infection and immunity**, v. 72, n. 7, p. 4023-4030, jul. 2004.
- FULFORD, A. J.; BUTTERWORTH, A. E.; STURROCK, R. F.; OUMA, J. H. On the use of age-intensity data to detect immunity to parasitic infections, with special reference to *Schistosoma mansoni* in Kenya. **Parasitology**, v. 105, p. 219-227, 1992.
- FULFORD, A. J.; WEBSTER, M.; OUMA, J. H.; KIMANI, G.; DUNNE, D. W. Puberty and age-changes in susceptibility to schistosome infection. **Parasitology Today**, v. 14, p. 23-26, 1998.
- GANLEY-LEAL, L. M.; MWINZI, P. N.; CETRE-SOSSAH, C. B.; ANDOVE, J.; HIGHTOWER, A. W.; KARANJA, D. M.; COLLEY, D. G.; SECOR, W. E. Correlation between Eosinophils and Protection against Reinfection with *Schistosoma mansoni* and the Effect of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Coinfection in Humans. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 4, p. 2169-2176, apr. 2006.
- GAZZINELLI, A.; BETHONY, J.; FRAGA, L. A.; LOVERDE, P. T.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; KLOOS, H. Exposure to *Schistosoma mansoni* infection in a rural area of Brazil I: water contact. **Tropical Medicine and International Health**, England, v. 6, n. 2, p. 126-135, feb. 2001.
- GAZZINELLI, A.; VELASQUEZ-MELENDEZ, G.; CRAWFORD, S. B.; LOVERDE, P. T.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; KLOOS, H. Socioeconomic determinants of schistosomiasis in a rural area in Brazil. **Acta Tropica**, Netherlands, v. 99, p. 260-271, oct. 2006.
- GRYSEELS, B.; STELMA, F. F.; TALLA, I.; VAN DAM, G. J.; POMAN, K.; SOW, S.; DIAW, M.; STURROCK, R. F.; DOEHRING-SCHWERDTFEGER, E.; KARDORFF, R. Epidemiology, immunology and chemotherapy of *Schistosoma mansoni* infections in a recently exposed community in Senegal. **Trop. Geogr. Med.**, v. 46, p. 209-219, 1994.
- GRYSEELS, B. Uncertainties in the epidemiology and control of schistosomiasis. **Am J Trop Hyg**, v. 55, p. 103-108, nov. 1996.
- GROGAN, J. L.; KREMSNER, P. G.; VAN DAM, G. J.; METZGER, W.; MORDMULLER, B.; DEELDER, A. M.; YAZDANBAKHSH, M. Antischistosome IgG4 and IgE responses are affected differentially by chemotherapy in children versus adults. **Journal of Infectious Diseases**, v. 173, p. 1242-1247, may. 1996.
- GROGAN, J. L.; KREMSNER, P. G.; VAN DAM, G. J.; DEELDER, A. M.; YAZDANBAKHSH, M. Anti-schistosome IgG4 and IgE at 2 years after chemotherapy: infected versus uninfected individuals. **J Infect Dis.**, v. 176, n. 5, p. 1344-50, nov. 1997.

- GUIMARÃES, R. J. P. S.; FREITAS, C. C.; DUTRA, L. V.; MOURA, A. C.; AMARAL, R. S.; DRUMMOND, S. C.; GUERRA, M.; SCHOLTE, R. G.; FREITAS, C. R.; CARVALHO, O. S. Analysis and estimative of schistosomiasis prevalence for the state of Minas Gerais, Brazil, using multiple regression with social and environmental spatial data. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 1, p. 91-96, sep. 2006.
- HAGAN, P.; WILKINS, H. A.; BLUMENTHAL, U. J.; HAYES, R. J.; GREENWOOD, B. M. Eosinophilia and resistance to *Schistosoma haematobium* in man. **Parasite Immunology**, v. 7, p. 625-631, 1985.
- HAGAN, P.; BLUMENTHAL, U. J.; CHAUDRI, M.; GREENWOOD, B. M.; HAYES, R. J.; HODGSON, I.; KELLY, C.; KNIGHT, M.; SIMPSON, A. J.; SMITHERS, S. R. *et al.* Resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium* in Gambian children: analysis of their immune responses. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 81, p. 938-946, 1987.
- HAGAN, P.; BLUMENTHAL, U. J.; DUNN, D.; SIMPSON, A. J.; WIKINS, H. A. Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. **Nature**, v. 349, p. 243-245, jan. 1991.
- HANDZEL, T.; KARANJA, D. M.; ADDISS, D. G.; HIGHTOWER, A. W.; ROSEN, D. H.; COLLEY, D. G.; ANDOVE, J.; SLUTSKER, L.; SECOR, W. E. Geographic distribution of schistosomiasis and soil transmitted helminthes in western Kenya: implications for anthelmintic mass treatment. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, United States, v. 69, n. 3, p. 318-323, sep. 2003.
- HARN, D. A. MITSUYAMA, M.; DAVID, J. R. *Schistosoma mansoni*. Anti-egg monoclonal antibodies protect against cercarial challenge *in vivo*. **J Exp Med.**, v. 159, p. 1371-1387, may. 1984.
- HODES, R. J. Molecular alterations in the aging immune system. **J. Exp. Med.**, v. 182, p. 1-3, jul. 1995.
- HUANG, Y. X.; MANDERSON, L. The social economic context and determinants of schistosomiasis japonica. **Acta Tropica**, Netherlands, v. 96, n. 2-3, p. 223-231, nov./dec. 2005.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA/ IBGE. **Censo 2010**. 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 jan. 2012.
- ISKANDER, R.; DAS, P. K.; AALBERSE, R. C. IgG4 antibodies in Egyptian patients with schistosomiasis. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v. 66, p. 200-7, 1981.

- ISMAIL, M.; METWALLY, A.; FARGHALY, A.; BRUCE, J.; TAO, L. F.; BENNETT, J. L. Characterization of isolates of *Schistosoma mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. **Am J Trop Med Hyg**, v. 55, n. 2, p. 214-218, aug. 1996.
- JASSIM, A.; HASSAN, K.; CATTY, D. Antibody isotypes in human schistosomiasis mansoni. **Parasite Immunol**, v. 9, n. 6, p. 627-50, nov. 1987.
- JIZ, M.; FRIEDMAN, J. F.; LEENSTRA, T.; JARILLA, B.; PABLO, A.; LANGDON, G.; POND-TOR, S.; WU, H. W.; MANALO, D.; OLVEDA, R.; ACOSTA, L.; KURTIS, J. D.; Immunoglobulin E (IgE) responses to paramyosin predict resistance to reinfection with *Schistosoma japonicum* and are attenuated by IgG4. **Infect Immun**, v. 77, p. 2051-2058, may 2009.
- JOSEPH, M.; AURIAULT, C.; CAPRON, A.; VORNG, H.; VIENS, P. A new function for platelets: IgE dependent killing of schistosomules. **Nature**, v. 303, p. 810-812, jun. 1983.
- KABATEREINE, N. B.; VERNNERVALD, B. J.; OUMA, J. H.; KEMIJUMBI, J.; BUTTERWRTH, A. E.; DUNNE, D. W.; FULFORD, A. J. Adult resistance to schistosomiasis mansoni: age-dependence of reinfection remains constant in communities with diverse exposure patterns. **Parasitology**, v. 118, p. 101-105, jan. 1999.
- KABATEREINE, N. B.; BROOKER, S.; TUKAHEBWA, E. M.; KAZIBWE, F.; ONAPA, A. W. Epidemiology and geography of *Schistosoma mansoni* in Uganda: implications for planning control. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, n. 3, p. 372-80, mar. 2004.
- KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smaer technique in schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 14, n. 6, p. 397-400, nov./dec. 1972.
- KATZ, N.; PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Revista Instituto Medicina Tropical**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 303-308, maio/jun. 2000.
- KHALIFE, J.; CAPRON, M.; GRZYCH, J. M.; BUTTERWORTH, A. E.; DUNNE, D. W.; OUMA, J. H. Immunity in human schistosomiasis mansoni: regulation of protective immune mechanism by IgM blocking antibodies. **J. Exp. Med**, v. 164, p. 1626-1640, nov. 1986.
- KIMANI, G.; CHUNGE, C. N.; BUTTERWRTH, A. E.; KAMAU, T.; BWAYO, J.; GACHIHI, G.; MUNGAI, B.; MUGAMBI, M. Eosinophilia and eosinophil helminthotoxicity in patients treated for *Schistosoma mansoni* infections. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v 85, n. 4, p. 489-492, jul./aug. 1991.

- KING, C. H. Parasites and poverty: the case of schistosomiasis. **Acta Tropica**, Netherlands, v. 113, n. 2, p. 95-104, feb. 2010.
- KING, C. H.; DICKMAN, K.; TISCH, D. J. Reassessment of the cost of chronic helminthic infection: a metaanalysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. **Lancet**, England, v. 365, n. 9470, p. 1561-1569, apr./may 2005.
- KLOOS, H.; PASSOS, L. K.; LOVERDE, P.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; GAZZINELLI, A. Distribution and *Schistosoma mansoni* infection of *Biomphalaria glabrata* in different habitats in a rural area in the Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil: environmental and epidemiological aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 7, p. 194-201, nov. 2004.
- KLOOS, H.; RODRIGUES, J. C.; PEREIRA, W. R.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; LOVERDE, P.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; GAZZINELLI, A. Combined methods for the study of water contact behavior in a rural schistosomiasis-endemic area in Brazil. **Acta Trop.**, v. 97, n. 1, p. 31-41, jan. 2006.
- KLOOS, H. ; CORRÊA-OLIVEIRA, R. ; OLIVEIRA QUITES, H. F.; CAETANO SOUZA, M. C.; GAZZINELLI, A. Socioeconomic studies of schistosomiasis in Brazil: a review. **Acta Tropica**, Netherlands, v. 108, n. 2-3, p. 194-201, nov./dec. 2008.
- KLOOS, H.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; DOS REIS, D. C.; RODRIGUES, E. W.; MONTEIRO, L. A.; GAZZINELLI, A. 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**, v. 105, n. 4, p. 578-586, jul. 2010.
- KURNIAWAN, A.; YAZSANBAKHSH, M.; VAN REE, R.; AALBERSE, R.; SELKIRK, M. E.; PARTONO, F.; MAIZELS, R. M. Differential expression of IgE and IgG4 specific antibody responses in asymptomatic and chronic human filariasis. **J Immunol**, v. 150, p. 3941-50, may. 1993.
- LI, Y.; SLEIGH, A. C.; ROSS, A.G.; LI, Y.; ZHANG, X.; WILLIAMS, G. M.; YU, X.; TANNER, M.; MCMANUS, D. P. Human susceptibility to *Schistosoma japonicum* in China correlates with antibody isotypes to native antigens. **Trop Trans R Soc Med Hyg**, v. 95, p. 441-448, jul./aug. 2001.
- LIMA, H. D. Influência da intensidade de infecção pelo *Schistosoma mansoni* sobre o perfil de marcadores imunológicos da resposta celular e humoral na forma clínica intestinal da esquistossomose. **Dissertação de mestrado, Centro de Pesquisa René Rachou – FIOCRUZ**, Belo Horizonte, p. 80, 2005.

LIMA E COSTA, M. F. F. Estudos clínicos-epidemiológicos da esquistossomose mansoni em Comercinho, Minas Gerais (1974 - 1981), **Phd Thesis, Departamento de clínica médica da Faculdade de Medicina da UFMG**, Belo Horizonte, 1983.

LIMA E COSTA, M. F.; ROCHA, R. S.; LEITE, M. L.; CARNEIRO, R. G.; COLLEY, D.; GAZZINELLI, G.; KATZ, N. A multivariate analysis of socio-demographic factors, water contact patterns and *Schistosoma mansoni* infection in an endemic area in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 33, n. 1, p. 58-63, jan./feb. 1991.

MARQUET, S.; ABEL, L.; HILLAIRES, D.; DESSEIN, H.; KALIL, J.; FEINGOLD, J.; WEISSENBAACH, J.; DESSEIN, A. J. Genetic localization of a locus controlling the intensity of infection by *Schistosoma mansoni* on chromosome 5q31-q33. **Nat Genet**, v. 14, p. 181-184, oct. 1996.

MASSARA, C. L.; PEIXOTO, S. V.; BARROS HDA, S.; ENK, M. J.; CARVALHO ODOS, S.; SCHALL, V. Factors associated with *Schistosomiasis mansoni* in a population from the municipality of Jaboticatubas, State of Minas Gerais, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 99, supl.1, p. 127-134, 2004.

MATOSO, L. F. Fatores associados aos níveis séricos de IgE total em residentes de uma área endêmica para Esquistossomose de Minas Gerais. **Dissertação de mestrado, Escola de Enfermagem da UFMG**, Belo Horizonte, p.70, 2008.

MEDHAT, A.; SHEHATA, M.; BUCCI, K.; MOHAMED, S.; DIEF, A. D. ; BADARY, S.; GALAL, H.; NAFEH, M.; KING, C. L. Increased interleukin-4 and interleukin-5 production in response to *Schistosoma haematobium* adult worm antigens correlates with lack of reinfection after treatment. **J Infect Dis**, v. 178, p. 512-519, aug. 1998.

MELO, A. L.; COELHO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni* e a doença. In DP Neves (Org) **Parasitologia Humana**, 10ª ed, p.174-193, Atheneu, São Paulo, 2002.

MENEZES, A. M. B.; LIMA, R. C.; MINTEN, G. C.; HALLAL, P. C.; VICTORA, C. G.; HORTA, B. L.; GIGANTE, D. P. ; BARROS, F. C. Prevalência de chiado no peito em adultos da coorte de nascimentos de 1982, Pelotas, RS. **Rev. Saúde Pública**, v. 42, supl. 2, p. 101-107, 2008.

MILLER, R. A. The aging immune system: primer and prospectus. **Science**, v. 273, p. 70-74, jul. 1996.

MOZA, P. G.; PIERI, O. S.; BARBOSA, C. S.; REY, L. Fatores sócio-demográficos e comportamentais relacionados à esquistossomose em uma agrovila da zona canavieira de Pernambuco, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, n.1, p. 107-115, apr. 1998.

- MUHUMUZA, S.; KITIMBO, G.; ORYEMA-LALOBO, M.; NUWAHA, F. Association between socio economic status and schistosomiasis infection in Jinja District, Uganda. **Tropical Medicine and International Health**, England, v. 14, n. 6, p. 612-619, jun. 2009.
- MUTAPI, F.; MDULUZA, T.; NDHLOVU, P. D. The Effect of Treatment on the Age-antibody Relationship in Children Infected with *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, suppl. 1, p.173-180, aug. 2002
- MUTAPI, F.; HAGAN, P.; WOOLHOUSE, M. E.; MDULUZA, T.; NDHLOVU, P. D. Chemotherapy-induced, age-related changes in antischistosome antibody responses. **Parasite Immunol.**, v. 25, p. 87-97, fev. 2003.
- MUTAPI, F.; BURCHMORE, R.; MDULUZA, T.; MIDZI, N.; TURNER, C. M.; MAIZELS, R. M. Age-related and infection intensity-related shifts in antibody recognition of defined protein antigens in a schistosome-exposed population. **J Infect Dis**, v. 198, p. 167-175, jul. 2008.
- NAUS, C. W.; VAN DAM, G. J.; KREMSNER, P.G.; KRIJGER, F. W.; DEELDER, A. M. Human IgE, IgG subclass, and IgM responses to worm and egg antigens in schistosomiasis haematobium: a 12-month study of reinfection in Cameroonian children. **Clin Infect Dis.**, v. 26, p. 1142-1147, may. 1998.
- NAUS, C. W.; KIMANI, G.; OUMA, J. H.; FULFORD, A. J.; WEBSTER, M.; VAN DAM, G. J.; DEELDER, A. M.; BUTTERWORTH, A. E.; DUNNE, D. W. Development of antibody isotype responses to *Schistosoma mansoni* in an immunologically naive immigrant population: influence of infection duration, infection intensity, and host age. **Infect. Immun.**, v. 67, n 7, p. 3444-3451, jul. 1999.
- NAUS, C. W.; BOOTH, M.; JONES, F. M.; KEMIJUMBI, J.; VENNERVALD, B. J.; KARIUKI, C. H.; OUMA, J. H.; KABATEREINE, N. B.; DUNNE, D. W. The relationship between age, sex, egg-count and specific antibody responses against *Schistosoma mansoni* antigens in a Ugandan fishing community. **Tropical Medicine and International Health**, v. 8, n. 6, p. 561-568, jun. 2003.
- OUMA, J. H.; FULFORD, A. J.; KARIUKI, H. C.; KIMANI, G.; STURROCK, R. F.; MUCHEMI, G.; BUTTERWORTH, A. E.; DUNNE, D. W. The development of schistosomiasis mansoni in an immunologically naive immigrant population in Masongaleni, Kenya. **Parasitology**, v. 117, p. 123-132, 1998.
- PAWELEC, G.; SOLANA, R.; REMARQUE, E.; MARIANI, E. Impact of aging on innate immunity. **J. Leukoc. Biol.**, v. 64, p. 703-712, 1998.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO / PNUD. **Desenvolvimento Humano e IDH**. 2007. Disponível em: <<http://www.pnud.org.br/atlas/tabelas/index.php>>. Acesso em: 20 jan. 2012.

RASO, G.; N'GORAN, E. K.; TOTY, A.; LUGINBÜHL, A.; ADJOUA, C. A.; TIAN-BI, N. T.; BOGOCH, II; VOUNATSOU, P.; TANNER, M.; UTZINGER, J. Efficacy and side effects of praziquantel against *Schistosoma mansoni* in a community of western Côte d'Ivoire. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, p. 18-27, 2004.

RIHET, P.; DEMEURE, C. E.; BOURGOIS, A.; PRATA, A.; DESSEIN, A. J. Evidence for an association between human resistance to *Schistosoma mansoni* and high anti-larval IgE levels. **European Journal of Immunology**, v. 21, p. 2679-2686, 1991.

RIHET, P.; DEMEURE, C. E.; DESSEIN, A. J.; BOURGOIS, A. Strong serum inhibition of specific IgE correlated to competing IgG4, revealed by a new methodology in subjects from a *S. mansoni* endemic area. **European Journal of Immunology**, v. 22, p. 2063-2070, aug. 1992.

RIZOPOULOS, D. ltm: An R package for latent variable modeling and item response theory analyses. **Journal of Statistical Software**, v. 17, n. 5, nov. 2006.

SATTI, M. Z.; LIND, P.; VENNERVALD, B. J.; SULAIMAN, S. M.; DAFFALLA, A. A.; GHALIB, H. W. Specific immunoglobulin measurements related to exposure and resistance to *Schistosoma mansoni* infection in Sudanese canal cleaners. **Clinical Experimental Immunology**, v. 106, p. 45-54, oct. 1996.

SILVA, A. A.; CUTRIM, R. N.; DE BRITTO E ALVES, M. T. E ALVES, M. T.; COIMBRA, L. C.; TONIAL, S. R.; BORGES, D. P. Water-contact patterns and risk factors for *Schistosoma mansoni* infection in a rural village of Northeast Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 39, n. 2, mar./apr. 1997.

SILVEIRA, A. M.; FRAGA, L. A.; PRATA, A.; CORREA-OLIVEIRA, R.; ADDISS, D. A.; VIANA, I. R.; COLLEY, D. G.; GAZZINELLI, G. Resistance to infection/reinfection by *Schistosoma mansoni* is not augmented by three treatment with 45 days intervals. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 1, n. 93, p. 113-114, jan./feb. 1998.

SILVEIRA, A. M.; BETHONY, J.; GAZZINELLI, A.; KLOOS, H.; FRAGA, L. A.; ALVARES, M. C.; PRATA, A.; GUERRA, H. L.; LOVERDE, P. T.; CORREA-OLIVEIRA, R.; GAZZINELLI, G. High levels of IgG4 to *Schistosoma mansoni* egg antigen in individuals with periportal fibrosis. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, United States, v. 66, n. 5, p. 542-549, may 2002.

- SMITS, H. L. Prospects for the control of neglected tropical diseases by mass drug administration. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v. 7, n. 1, p. 37-56, feb. 2009.
- STANWORTH, D. R.; SMITH, A. K. Inhibition of regain mediated PCA reactions in baboons by the human IgG4 subclass. **Clin. Allerg.**, n. 3, p. 37-41, 1973.
- STEINMANN, P.; KEISER, J.; BOS, R.; TANNER, M.; UTZINGER, J. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. **The Lancet Infectious Diseases**, United States, v. 6, n. 7, p. 411-425, jul. 2006.
- STURROCK, R. F.; KIMANI, R.; COTTRELL, B. J.; BUTTERWORTH, A. E.; SEITZ, H. M.; SIONGOK, T. K.; HOUBA, V. Observations on possible immunity to reinfection among Kenyan schoolchildren after treatment for *Schistosoma mansoni*. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 77, n. 3, p. 363-371, 1983.
- TEIXEIRA, J. C.; HELLER, L. Fatores ambientais associados à desnutrição infantil em áreas de invasão, Juiz de Fora, MG. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 7, n. 3, p. 270-278, set. 2004.
- THORS, C.; LINDER, E. Localization and Identification of *Schistosoma mansoni*/KLHcrossreactive Components in Infected Mice. **J Histochem Cytochem.**, v. 51, n. 10, p. 1367-73, oct. 2003.
- UTZINGER, J.; RASO, G.; BROOKER, S.; DE SAVIGNY, D.; TANNER, M.; ORNBJERG, N.; SINGER, B. H.; N'GORAN, E. K. Schistosomiasis and neglected tropical diseases: towards integrated and sustainable control and a Word of caution. **Parasitology**, England, v. 136, n. 13, p. 1859-1874, nov. 2009.
- VAN DER WERF, M. J.; DE VLAS, S. J.; BROOKER, S.; LOOMAN, C. W.; NAGELKERKE, N. J.; HABBEMA, J. D.; ENGELS, D. Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. **Acta Tropica**, Netherlands, v. 86, n. 2-3, p. 125-139, may 2003.
- VERECKEN, K.; NAUS, C. W.; POLMAN, K.; SCOTT, J. T.; DIOP, M.; GRYSEELS, B.; KESTENS, L. Associations between specific antibody responses and resistance to reinfection in a Senegalese population recently exposed to *Schistosoma mansoni*. **Tropical Medicine and International Health**, v. 12, n. 3, p. 431-444, march 2007.
- VIANA, I. R.; CORREA-OLIVEIRA, R.; CARVALHO ODOS, S.; MASSARA, C. L.; COLOSIMO, E.; COLLEY, D. G.; GAZZINELLI, G. Comparison of antibody isotype responses to *Schistosoma mansoni* antigens by infected and putative resistant individuals living in an endemic area. **Parasite Immunol.**, v. 17, n. 6, p. 297-304, jun. 1995.

- XIMENES, R.; SOUTHGATE, B.; SMITH, P. G.; GUIMARÃES NETO, L. Socioeconomic determinants of schistosomiasis in an urban area in the northeast of Brazil. **Pan American Journal of Public Health**, v. 14, p. 409-421, dec. 2003.
- WALTER, K.; FULFORD, A. J.; MC BEATH, R.; JOSEPH, S.; JONES, F. M.; KARIUKI, H. C.; MWATHA, J. K.; KIMANI, G.; KABATEREINE, N. B.; VENNERVALD, B. J.; OUMA, J. H.; DUNNE, D. W. Increased human IgE induced by killing *Schistosoma mansoni* in vivo is associated with pretreatment Th2 cytokine responsiveness to worm antigens. **The Journal of Immunology**, v. 177, p. 5490-5498, oct. 2006.
- WANG, Y.; HOLMES, E.; NICHOLSON, J. K.; CLOAREC, O.; CHOLLET, J.; TANNER, M.; SINGER, B. H.; UTZINGER, J. Metabonomic investigations in mice infected with *Schistosoma mansoni*: An approach for biomarker identification. **PNAS**, v. 101, n. 34, p. 12676-12681, aug. 2004.
- WEBSTER, M.; FALLON, P. G.; FULFORD, A. J.; BUTTERWORTH, A. E.; OUMA, J. H.; KIMANI, G.; DUNNE, D. W. Effect of praziquantel and oxamniquine treatment on human isotype responses to *Schistosoma mansoni*: elevated IgE to adult worm. **Parasite Immunol**, v. 19, p. 333-335, 1997.
- WEBSTER, M.; ROBERTS, M.; FULFORD, A. J.; MARGUERITE, M.; GALLISOT, M. C.; DIAGNE, M.; NIANG, M.; RIVEAU, G.; CAPRON, A.; DUNNE, D. W. Human IgE responses to rSm22.6 are associated with infection intensity rather than age per se, in a recently established focus of Schistosomiasis mansoni. **Trop Med Int Health**, v. 3, n. 4, p. 318-26, 1998.
- WOOLHOUSE, M. E. J. A theoretical framework for the immunoepidemiology of helminth infection. **Parasite Immunol**, v.14, p. 563-578, 1992.
- WOOLHOUSE, M. E. J.; HAGAN, P. Seeking the ghost of worms past. **Nat. Med.**, v. 5, p. 1225-1227, 1999.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. **Report of the WHO informal consultation on schistosomiasis control**. Geneva: World Health Organization, 1998. 45 p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. **Esquistosomiasis y helmintiasis transmitidas por el suelo**. Geneva: World Health Organization, 2001. 2 p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. **Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis**. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization, 2002. 4 p. (WHO Technical Report Series, n. 912).

WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. **Towards Evolution and Growth. Fourth External Review of the UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical OISlcASlcS (TDR).** May 2006a. 173 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. **Weekly epidemiological record.** World Health Organization, v. 81, p. 145-164, 2008a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. Global trends in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 86, n. 10, p. 738-738, oct. 2008b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. **The Global Network for Neglected Tropical Diseases Control (GNNTDC).** 2010a. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/GNNTDC/en/index.html>. Acesso em: 13 nov. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/WHO. Diseases Reference Group On Helminth Infections - DRG4/TDR/WHO. Report o priority research needs for helminth infections. 2012 (prelo).

ZHOU, X. N.; YANG, G. J.; YANG, K.; WANG, X. H.; HONG, Q. B.; SUN, L. P.; MALONE, J. B.; KRISTENSEN, T. K.; BERGQUIST, N. R.; UTZINGER, J. Potential impact of climate change on schistosomiasis transmission in China. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, United States, v. 78, n. 2, p. 188-194, feb. 2008.

Anexos e apêndices

ANEXOS E APÊNDICES**ANEXO 1 - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFMG**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC194/06 - EX 01/09

Interessado(a): Profa. Andréa Gazzinelli Corrêa de Oliveira
Departamento Materno-Infantil
Escola de Enfermagem - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 22 de janeiro de 2009 a extensão do projeto de pesquisa intitulado " **Aglomerado espacial da esquistossomose e de geohelmintos antes e após o tratamento** " bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto, referente à versão 1.0 de 24 de julho de 2006 do Protocolo DMID número 06-0034.

A validade desta extensão é de 1 (um) anos após o qual o relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO COMITÊ NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PARECER N° 612/2007

Registro CONEP: 13876 (Este n° deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

CAAE - 0194.0.203.000-06

Processo n° 25000.047210/2007-77

Projeto de Pesquisa: *Agglomeração espacial da esquistossomose e de geohelmintos antes e após tratamento*

Pesquisador Responsável: Dra. Andréa Gazzinelli de Oliveira

Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais (centro único)

CEP de origem: Universidade Federal de Minas Gerais (COEP)

Área Temática Especial: cooperação estrangeira

Patrocinador: não informado

Sumário Geral do Protocolo

O estudo será conduzido com 589 indivíduos residentes em Virgem das Graças, área rural do município de Ponto dos Volantes, localizado no Vale do Jequitinhonha. Trata-se de um estudo longitudinal que será realizado no período de dois anos.

O objetivo geral deste estudo é analisar o papel do hospedeiro definitivo (homem), do parasito e dos fatores de risco na infecção e reinfecção pelo *S. mansoni* e pelos helmintos transmitidos pelo solo, utilizando métodos estatísticos espaciais e tradicionais.

Os pacientes serão tratados com praziquantel e albendazol, por via oral, dose única, e 45 dias após o tratamento serão novamente coletados 3 amostras de fezes, durante 3 dias consecutivos, com o intuito de determinar a eficácia do tratamento. Ademais, serão coletadas amostras de sangue para realização da sorologia dos pacientes (> seis anos).

Para o exame parasitológico de fezes serão coletadas 3 amostras de cada indivíduo durante 3 dias consecutivos.

A resposta humoral será determinada pela reatividade aos antígenos brutos padrões de *Schistosoma* (SWAP e SEA) e antígenos recombinantes Smp 40 e Sm 20.8. Os soros dos pacientes serão analisados para determinação de isotipos específicos (IgE, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM e IgA).

Segundo a pesquisadora, após a realização dos ensaios, o soro será armazenado em freezer a (-70°C).

A coleta de dados demográficos, sócio-econômicos e do comportamento de

os dados dos questionários e laboratoriais serão armazenados no SPSS, versão 13.0.

Ao se proceder à análise das respostas ao parecer CONEP n° 363/2007, relativo ao projeto em questão, considerou-se que:

1. Foram anexados trabalhos publicados em revistas nacionais e internacionais

Cont. Parecer CONEP 612/07

2. Foi informado que não haverá banco de material biológico.
3. Foi informado que o patrocinador do estudo é o National Institute of Health (NIH)
4. O item III.7 do protocolo referente a descrição das medidas para proteção ou minimização de quaisquer riscos eventuais foi reescrito, ressaltando que a responsabilidade de prestar assistência aos sujeitos da pesquisa no caso de problemas de saúde decorrentes do trabalho, será do pesquisador.
5. Foram anexados novo cronograma da pesquisa e currículo da pesquisadora principal
6. Nova folha de rosto foi enviada com as devidas modificações

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação : Projeto aprovado.

Brasília, 31 de julho de 2007


Gyselle Saddi Tannous
Coordenadora da CONEP/CNS/MS

APÊNDICE B - CONSTANTES DAS ATIVIDADES (OBSERVAÇÃO DE CONTATO COM ÁGUA) – VIRGEM DAS GRAÇAS

ATIVIDADES	(MÉDIA)	(MÉDIA)	CONSTANTE
	DURAÇÃO EM MINUTOS	% DO CORPO EXPOSTA	DURAÇÃO X % DO CORPO
Nenhuma atividade	0	0	0,0000
Lavando roupas	46	0,0797	3,6662
Pegando água	6	0,0596	0,3576
Lavando múltiplas partes do corpo	4	0,1287	0,5148
Tomando banho	11	0,9920	10,9120
Atravessando córrego	2	0,0420	0,0840
Brincando no córrego	16	0,1705	2,7280
Lavando vasilha	18	0,0746	1,3428
Aguando plantas	25	0,0801	2,0025
Lavando vegetais	4	0,0430	0,1720
Limpando córrego	103	0,0714	7,3542
Nadar	40	0,9920	39,6800
Pescar	60	0,1287	7,7220
Outras atividades	10	0,0917	0,9170

APÊNDICE C - QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO DE VIRGEM DAS GRAÇAS

Entrevistador: _____ Data: ___/___/___.

1) Localidade: VdG ___ Card1___ Card2___ Card3___ Card4___ Suss___ Casa: _____

2) Local de moradia:

(1) Casa própria___ (2) Alugada___ (3) Outros_____

3) Número de cômodos da casa: _____

4) Possui fogão: (1) a lenha ____, (2) a gás ____, (3) Ambos ____

5) Tem eletricidade? (0) Não ____ (1) Sim ____

Se não, como é feita a iluminação de sua casa? (1) Lâmparina à óleo diesel___
(2) Lâmparina à querosene___ (3) lâmpião à gás de cozinha ou aladim___ (4) Vela _____

6) Vocês têm em casa água encanada da Nascente? (0) Não ____ (1) Sim ____

7) Vocês têm em casa água de Mina? (0) Não ____ (1) Sim ____

8) Vocês têm em casa Cisterna? (0) Não ____ (1) Sim ____

9) Vocês têm em casa água de bica de Córrego? (0) Não ____ (1) Sim ____

10) Vocês têm em casa água de bica de Mina? (0) Não ____ (1) Sim ____

11) Vocês guardam água de chuva? (0) Não ____ (1) Sim ____

Se "Sim", para qual atividade vocês usam essa água?

Beber___ Cozinhar___ Tomar banho___ lavar roupas___ Outras_____

12) Você possui: (Escrever os mais comuns além dos citados)

Rádio _____ Carro _____ Máquina de lavar roupa_____

Som _____ Motocicleta _____ Vídeo (VCR) _____

TV _____ Geladeira _____ Outros (especificar) _____

Bicicleta _____ Liquidificador _____ Batedeira _____

13) Tem caixa d' água? (0) Não ____ (1) Sim ____

Se sim, a caixa d'água é: (1) Aberta___ (2) Fechada___

14) Possui banheiro? (0) Não ____ (1) Sim ____

15) Se sim, onde está localizado o banheiro? (1) Dentro de casa___ (2) Fora de casa_____

16) Eliminação de excretas: (1) Mato___ (2) Fossa seca___ (3) Vaso para fossa___

(4) Vaso para córrego___ (5) Outros _____

17) Possui chuveiro? (0) Não___ (1) Frio___ (2) Quente___

18) Possui torneira? (0) Não ___ (1) Sim ___
 Água da torneira vem de: (1) Nascente___ (2) Cisterna___ (3) Córrego___ (4) Outro ___

19) Possui tanque? (0) Não ___ (1) Sim ___

20) Renda familiar total por mês? _____.

21) Possui terras? (0) Não ___ (1) Sim ___
 Se positivo, as terras são: (1) Da família (2) própria

QUAL O TAMANHO DAS TERRAS QUE POSSUI? _____

OBS: 1 ALQUEIRE = 4 HECTARES (1 HECTARE = 10.000 m²).

22) Vende produtos de agricultura e/ou gado? (0) Não ___ (1) Sim ___
 Quanto arrecada por ano? _____

23) Existe algum parente que manda dinheiro para a família? (0) Não ___ (1) Sim ___
 Se sim, quanto envia por mês ou por ano? _____.

24) Recebe algum tipo de auxílio do governo? (0) Não ___ (1) Sim ___
 Quanto? _____

QUESTÕES DE 25 A 30, APENAS OBSERVAÇÃO DO ENTREVISTADOR

25) Parte interna:
 (1) Muito suja ___ (2) Suja___ (3) Média___ (4) Limpa___ (5) Muito limpa___

26) Parte externa:
 (1) Muito suja___ (2) Suja___ (3) Média___ (4) Limpa___ (5) Muito limpa___

27) Qualidade da casa:
 (1) (2) (3) (4) (5)

28) Tipo de chão: (1) Terra batida___ (2) Cimento___ (3) Madeira___ (4) Cerâmica___
 (5) Outros___

29) Tipo de parede: (1) Pau-a-pique___ (2) Madeira___ (3) Tijolo sem reboco___
 (4) Tijolo com reboco___ (5) Outros _____

30) Tipo de telhado: (1) Palha___ (2) Amianto___ (3) Telha___ (4) Laje___ (5) Outros ___

APÊNDICE D - MODELAGEM DA VARIÁVEL LATENTE - QUALIDADE DE MORADIA

TABELA 1

Descrição das variáveis utilizadas no modelo em 2001 e 2009

Variável	Descrição
V1	CAIXA D'ÁGUA
V2	TANQUE PARA LAVAR ROUPA
V3	TORNEIRA
V4	CHUVEIRO
V5	TIPO DE PISO
V6	CARRO E/OU MOTO NA RESIDÊNCIA
V7	BANHEIRO

TABELA 2

Distribuição de frequências (NÃO/SIM) das variáveis incluídas no modelo

Variáveis	Ano 2001		Ano 2009	
	Não	Sim	Não	Sim
V1	0,48	0,52	0,06	0,93
V2	0,59	0,40	0,30	0,69
V3	0,35	0,65	0,04	0,95
V4	0,63	0,37	0,16	0,83
V5	0,18	0,82	0,05	0,94
V6	0,93	0,06	0,74	0,25
V7	0,11	0,88	0,02	0,97

TABELA 3
Resultados do modelo de Teoria de Resposta ao Item (TRI)

Variáveis	Ano 2001		Ano 2009	
	Dificuldade	Discriminação	Dificuldade	Discriminação
V1	-0,06	2,98	-1,4	2,37
V2	0,25	3,46	-0,6	6,06
V3	-0,43	4,78	-1,67	2,17
V4	0,37	3,12	-0,46	4,26
V5	-1,32	1,65	-6,32	4,09
V6	4,83	0,58	2,88	9,92
V7	-1,88	1,4	-1,52	1,1

Nota: ajuste do modelo ($p < 0,001$)

TABELA 4
Escore gerados pelo modelo de TRI para cada possibilidade entre os itens que compõem a qualidade da casa

Número de combinações	Ano 2001								Ano 2009							
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	Escore z	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	Escore z
1	0	0	0	0	0	0	0	-1,58	0	0	0	0	1	0	0	-1,86
2	0	0	0	0	0	0	1	-1,08	0	0	1	0	1	0	1	-1,13
3	0	0	0	0	1	0	0	-1,02	0	0	1	0	1	1	1	-1,13
4	0	0	0	0	1	0	1	-0,74	0	1	1	0	1	0	1	-0,97
5	0	0	0	0	1	1	1	-0,66	0	1	1	1	1	0	1	-1,46
6	0	0	0	1	1	0	0	-0,54	1	0	0	0	1	0	1	-1,08
7	0	0	1	0	0	0	1	-0,40	1	0	0	1	1	0	1	-0,46
8	0	0	1	0	1	0	0	-0,38	1	0	1	0	1	0	0	-1,58
9	0	0	1	0	1	0	1	-0,25	1	0	1	0	1	0	1	-0,13
10	0	0	1	0	1	1	1	-0,20	1	0	1	1	0	0	1	-0,38
11	0	1	1	0	0	0	1	-0,08	1	0	1	1	1	0	1	-0,13
12	0	1	1	0	1	0	1	0,08	1	0	1	1	1	1	1	-0,13
13	0	1	1	1	1	0	1	0,43	1	1	0	0	1	0	1	-0,90
14	1	0	0	0	1	0	1	-0,42	1	1	1	0	0	0	1	0,00
15	1	0	1	0	0	0	1	-0,13	1	1	1	0	1	0	1	0,31
16	1	0	1	0	1	0	1	0,04	1	1	1	1	1	0	1	0,31
17	1	0	1	0	1	1	0	-0,05	1	1	1	1	1	1	1	0,31
18	1	0	1	1	1	0	1	0,37								
19	1	1	0	0	0	0	1	-0,25								
20	1	1	0	1	1	0	1	0,22								
21	1	1	1	0	1	0	1	0,41								
22	1	1	1	1	1	0	1	0,93								
23	1	1	1	1	1	1	1	1,12								

Nota: Os indivíduos com o pior cenário, isto é, que não possui nenhum dos itens avaliados receberam o menor escore (-1,58) em 2001 e (-1,86) em 2009. Aqueles com o melhor cenário, ou seja, possuam todos os itens avaliados, receberam o maior escore (1,12) em 2001 e (0,31) em 2009.

APÊNDICE E - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Enfermagem

TERMO DE CONSENTIMENTO**AGLOMERAÇÃO ESPACIAL DA ESQUISTOSSOMOSE E DE GEOHELMINTOS ANTES E APÓS O TRATAMENTO**

Instituição: Escola de Enfermagem – UFMG

Pesquisador Principal: Dra. Andréa Gazzinelli

Agência financiadora: National Institutes of Allergy and Infectious Diseases of the National Institutes of Health - USA

A esquistossomose (xistose) e as helmintoses intestinais (vermes) são doenças causadas por parasitas que infectam as pessoas quando entram em contato com água contaminada, caminham sem sapato em solos contaminados ou comem alimentos sem lavar. Estas doenças, se não tratadas, podem trazer conseqüências sérias como o crescimento do fígado, do baço e anemia. Atualmente já existem tratamentos eficazes contra todas elas, mas, por outro lado, as pessoas podem se infectar novamente com facilidade.

Você está sendo convidado a participar deste estudo porque reside em uma região onde um grande número de pessoas estão infectadas com esquistossomose e outros vermes. Só farão parte do trabalho aqueles que concordarem em participar.

PORQUE ESTE ESTUDO ESTÁ SENDO FEITO?

O objetivo deste estudo é verificar a importância dos fatores de risco (contato com água, ingestão de alimentos contaminados, fatores imunológicos) na infecção e reinfecção da esquistossomose e das outras verminoses utilizando métodos estatísticos espaciais e tradicionais. Será estudado como estes fatores podem interferir na aquisição das doenças, as conseqüências para o organismo e quais as pessoas que tem mais chances de se infectarem. Este estudo está sendo realizado porque pode auxiliar os pesquisadores e profissionais da área da saúde a desenvolverem formas de tratamento mais eficazes ou maneiras de prevenir estas doenças no futuro.

O QUE SERÁ FEITO NESTE ESTUDO?

Caso você concorde em participar deste estudo será pedido a você que responda a entrevistas e que entreguem material para exame de fezes e sangue para as finalidades descritas abaixo:

Comportamento sobre contato com água alimentos e solo: será feito um questionário em sua casa para conhecermos as fontes de água que você e sua família utilizam, as atividades de contato com água, a presença de animais e tipos de alimentos.

Exame parasitológico de fezes: será solicitado que sejam fornecidas 3 (três) amostras de fezes durante 3 dias consecutivos. Os pesquisadores fornecerão vasilhas e explicarão como a coleta deverá ser feita e como serão recolhidas as amostras. Estas amostras serão examinadas para verificar a presença de parasitas e, no caso de você estar contaminado por esquistossomose ou qualquer outro verme, você será tratado adequadamente.

Coleta de sangue: serão coletados aproximadamente 10 mililitros de sangue de você utilizando agulha e seringa descartáveis (após o uso serão jogadas fora). Este material será usado em testes de laboratório para avaliar a defesa do organismo aos vermes.

Todo material e os dados coletados durante a execução do projeto serão utilizados especificamente para os propósitos desta pesquisa.

Número de participantes: espera-se que aproximadamente 550 indivíduos de Virgem das Graças participem deste estudo nos 2 anos de duração do projeto.

QUAIS OS RISCOS E DESCONFORTOS PREVISTOS?

Existem pequenos riscos que podem ocorrer como sangramento, hematoma ou infecção no local de puncionamento da veia. Para minimizar estes riscos será realizada limpeza da pele antes do puncionamento da veia que será feito por profissionais técnicos treinados, com material esterilizado e descartável. Logo após, será feita uma pressão no local. Apesar da quantidade de sangue coletado ser pequena e não causar nenhum problema de saúde você poderá sentir tonteira após ou durante a coleta. Não há riscos relacionados ao questionário, pois o mesmo não inclui perguntas que possam causar embaraço.

O QUE SERÁ FEITO NO CASO DE ESTAR COM ESQUISTOSSOMOSE OU INFECTADO POR OUTRO PARASITA?

Todos os pacientes positivos para esquistossomose ou outro parasita serão tratados no Centro de Saúde de Virgem das Graças. Este tratamento é gratuito e realizado de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde pelo médico do Município que vem ao Centro semanalmente. Todos os profissionais envolvidos no tratamento são treinados e capacitados para atender a quaisquer problemas que possam vir a ocorrer em consequência do medicamento tais como tonteira, enjôo, vômito ou outro sintoma. Sabe-se que a medicação usada não possui efeitos colaterais sérios, entretanto, caso haja alguma ocorrência maior, será feita uma avaliação pelo médico e, se necessário, será encaminhado ao hospital mais próximo.

QUAIS OS BENEFÍCIOS DESTA ESTUDO PARA A POPULAÇÃO?

Aos indivíduos que concordarem em participar deste estudo, será feito o tratamento gratuito para esquistossomose e outros parasitas no Centro de Saúde de Virgem das Graças.

Esperamos que as informações obtidas com os dados deste trabalho possam beneficiar outras populações em risco de adquirir parasitoses no futuro. Os que não concordarem em participar do projeto também receberão o tratamento se assim o desejarem.

COMO SERÁ GARANTIDO O ANONIMATO DOS PARTICIPANTES?

Todas as informações obtidas são confidenciais e só serão fornecidas nos casos exigidos por lei. Cada indivíduo terá um número de identificação que será utilizado no lugar do nome. Instituições como o Instituto de Saúde dos Estados Unidos ou o Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais podem verificar os dados se acharem conveniente.

QUAIS OS CUSTOS PARA O PACIENTE?

Todos os procedimentos serão realizados gratuitamente. No caso de haver alguma complicação ou problema para o paciente decorrente deste estudo, os pesquisadores serão responsáveis por encaminhá-lo a tratamento médico sem nenhum custo.

QUAIS SÃO MEUS DIREITOS COMO PARTICIPANTE DESTA ESTUDO?

A participação neste estudo é voluntária. Você pode deixar o trabalho a qualquer tempo sem que haja perda dos benefícios a que tem direito.

ESTOQUE DE SANGUE PARA FUTUROS ESTUDOS

O soro proveniente do sangue será estocado no laboratório do Centro de Pesquisas René Rachou para ensaios futuros. Antes de realizarmos estes testes, eles serão revisados e aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa da UFMG e do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos. Você pode participar do estudo mesmo que não aceite que seja coletado sangue para o trabalho. Caso você não aceite a coleta de sangue para testes assine aqui: _____

Se precisar de maiores informações sobre o trabalho que está sendo realizado nesta comunidade você deverá entrar em contato com a Dra. Andréa Gazzinelli da Escola de Enfermagem-UFMG no telefone (0XX)31-3248.9863. No município, os contatos poderão ser feitos na Secretaria Municipal de Saúde em caso de necessidade de informações adicionais. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte. Caso haja necessidade, poderá ser solicitada cópia do projeto.

ASSINATURA

Se você concordar em participar do estudo assine seu nome abaixo.

NOME DO PARTICIPANTE :

ASSINATURA DO PARTICIPANTE : _____

NOME DA TESTEMUNHA : _____

ASSINATURA DA TESTEMUNHA : _____

DATA: ____/____/____.

PESQUISADOR:

Andréa Gazzinelli

Pesquisadora responsável

Endereço de contato dos pesquisadores:

Avenida Alfredo Balena 190 Santa Efigênia

Cep: 30130-100 Belo Horizonte-MG

Tel.: (031) 3409-9860

Endereço de contato do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP):

Avenida Presidente Antônio Carlos 6627 Prédio da Reitoria 7ºandar Sala 7018

Cep: 31270-901 Belo Horizonte-MG

Tel.: (031) 3409-4592.