



FIOCRUZ

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e
Medicina Investigativa**

**AVALIAÇÃO DE PREVALÊNCIA E DINÂMICA DA ESTRUTURA
POPULACIONAL DE *Schistosoma mansoni* EM TRABALHADORES DE
HORTIFRUTICULTURAS EM SALVADOR, BAHIA.**

PEDRO SANTOS MUCCILLO REIS

Salvador - Bahia

2020

IGM

PEDRO SANTOS MUCCILLO REIS

Avaliação de prevalência e dinâmica da estrutura populacional de *Schistosoma mansoni* em trabalhadores de hortifruticulturas em Salvador, Bahia.

2020

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa**

**AVALIAÇÃO DE PREVALÊNCIA E DINÂMICA DA ESTRUTURA
POPULACIONAL DE *Schistosoma mansoni* EM TRABALHADORES DE
HORTIFRUTICULTURAS EM SALVADOR, BAHIA.**

PEDRO SANTOS MUCCILLO REIS

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Macedo Barbosa

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Saúde e Medicina Investigativa para obtenção do grau de mestre.

Salvador - Bahia

2020

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

R375a Reis, Pedro Santos Muccillo.
Avaliação prevalência e dinâmica da estrutura populacional de *Schistosoma mansoni* em trabalhadores de hortifruticulturas em Salvador, Bahia. / Pedro Santos Muccillo Reis. - 2020.
48 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Macedo Barbosa, Laboratório de Patologia e
Biologia Molecular

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) –
Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, 2020.

1. *Schistosoma mansoni*. 2. Esquistossomose. 3. Agricultura. 4. Urbanização.
I. Título.

CDU 616.995.122

" AVALIAÇÃO DE RISCO OCUPACIONAL E DINÂMICA DA ESTRUTURA POPULACIONAL DE Schistosoma mansoni EM TRABALHADORES DE HORTIFRUTICULTURAS EM SALVADOR, BAHIA."

PEDRO SANTOS MUCCILLO REIS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 16 de junho de 2020.

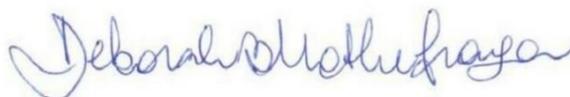
COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Márcia Cristina Aquino Teixeira
Professora
FACFAR-UFBA



Dra. Neci Matos Soares
Professora
UFBA



Dra. Deborah Bittencourt Mothe Fraga
Pesquisadora
IGM/FIOCRUZ

FONTES DE FINANCIAMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001
NIH (NIAID R01AI121330)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, à Deus. Obrigado por me dar saúde e forças todos os dias para cumprir com as minhas atividades. Sou grato a cada oportunidade que tive, a cada porta que se abriu para mim e por cada pessoa que colocou no minha vida durante esta caminhada.

Aos meus pais e irmãos, por todo o amor, companheirismo e por sempre me derem todo o suporte para eu chegar onde cheguei. Principalmente por sempre confiarem em mim e no meu potencial. Obrigado pela minha formação como ser humano. Obrigado à toda a minha família.

Aos meus amigos: vocês me mostram o quão bom eu sou quando achei que tudo era tão trivial. Obrigado pelo amor, confiança, companheirismo e momentos. A cada dia cresço com vocês.

Ao Professor Dr. Lúcio Barbosa, meu orientador. Sou grato por todo o aprendizado e confiança que pôde transmitir a mim ao longo destes anos que já trabalhamos juntos na ciência. Sou grato por todas as oportunidades e por confiar no meu trabalho.

Ao Dr. Ronald Blanton por sempre querer extrair o melhor de mim e por financiar este projeto. Obrigado por nos confiar o seu laboratório e nos oportunizar vivenciar outras experiências na ciência e mundo acadêmico.

Ao Dr. Mitermayer Reis e Dr. Luciano Kalabric, por sempre estarem guiando este trabalho e sugerindo abordagens para realizar-mos com êxito.

A todos os amigos e colaboradores do LPBM, os quais interferiram positivamente desde a minha chegada. Além contribuírem com o meu crescimento dentro do laboratório e no universo da pesquisa. Agradeço também à toda a equipe da Biblioteca do Instituto Gonçalo Moniz – IGM/FIOCRUZ, em especial a Ana Maria Fiscina, pelo suporte com a formatação final deste exemplar.

À Dra. Lídice Paraguassú e equipe, por abraçar e ajudar nas fases iniciais do projeto nas visitas das hortas.

A todos os trabalhadores das hortas urbanas da cidade de Salvador-BA, que sempre nos receberam com muita educação, aceitaram participar do trabalho e compartilharam seus tempos conosco. Muito obrigado! Espero um dia poder retribuir em

forma de saúde pública e qualidade de vida para vocês, como fruto desta dissertação e possíveis futuros trabalhos.

“Eu não estou interessado em nenhuma teoria (...).
Amar e mudar as coisas me interessa mais”.

Belchior

REIS, Pedro Santos Muccillo. Avaliação prevalência e dinâmica da estrutura populacional de *Schistosoma mansoni* em trabalhadores de hortifruticulturas em Salvador, Bahia. 48 f. il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2020.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Trabalhadores agrícolas em Salvador, Bahia, Brasil, têm sido descritos com maior prevalência e intensidade de infecção por *Schistosoma mansoni* do que a população em geral. Este fato correlaciona-se com o grande fluxo migratório para a capital baiana, com grande parte destas pessoas estabelecendo suas moradias em locais de baixo saneamento básico e desenvolvimento. Mantendo assim, um potencial de continuidade do ciclo do *S. mansoni*. O presente estudo identificou todas as áreas de agricultura comercial na cidade e monitorou longitudinalmente os trabalhadores infectados. **OBJETIVO:** Este estudo tem como objetivo avaliar a distribuição, prevalência e intensidade da infecção por *Schistosoma mansoni* em todos os trabalhadores agrícolas em Salvador, Bahia. Assim como a dinâmica e estrutura populacional dos parasitas. **MATERIAL E MÉTODOS:** O estudo foi dividido em duas etapas. A primeira etapa consistiu em um corte transversal, onde foi realizada a identificação de diferentes áreas de agricultura urbana na cidade de Salvador, com uma descrição posterior da prevalência de esquistossomose entre seus trabalhadores. A segunda etapa consistiu no monitoramento longitudinal de trabalhadores de duas das áreas previamente identificadas. Os exames de Kato-Katz foram realizados em até 3 amostras de fezes coletadas em dias diferentes nas etapas 0 (corte transversal), 1, 3, 4, 6 e 7 meses, seguidos de tratamento em cada período. A estrutura da população de *S. mansoni* foi avaliada usando 18 microssatélites. Os resultados para testar a diferenciação genética entre as populações estudadas foram dadas pelo índice de diferenciação D de Jost (*Jost's D*). **RESULTADOS:** Em 8 bairros, 18 hortas urbanas comerciais foram identificadas. Os plantios irrigados com água de fonte natural corresponderam a 67% e o *Biomphalaria* sp. estava presente em 56% destas localidades. Todos os 36 trabalhadores identificados forneceram pelo menos uma amostra de fezes. A maioria era do sexo masculino (83,3%), com idade média de 51 anos \pm 14,6 anos. Histórico prévio para esquistossomose foi relatada por 36% deles. A prevalência geral foi de 25% com uma carga parasitária média de 367 ± 549 ovos por grama de fezes. Os casos positivos vieram de 2 localidades (Pirajá e Pernambués). As populações Componente apresentaram uma diferenciação moderada ($D_c = 0,101$), portanto o fluxo gênico foi limitado entre os locais, separados a 10 km de distância. No mês 1, três trabalhadores permaneceram eliminando ovos nas fezes após o tratamento, sendo que dois deles não seguiram o protocolo indicado. Três meses depois, um trabalhador que testou negativo após a primeira rodada de tratamento tornou-se positivo. No mês 4, todos foram negativos no retratamento. Ao 7º mês, dois trabalhadores foram novamente positivos. A diferenciação entre infrapopulações no mês 0 e 7 ($D_i = 0,07$) sugere que a reinfecção é mais provavelmente local, uma vez que houveram períodos de amostras negativas. **CONCLUSÃO:** Diante dos aspectos epidemiológicos, parasitológicos e moleculares, nota-se que entre os trabalhadores infectados, a esquistossomose permanece como um grande problema de saúde e social. As evidências encontradas sugerem que estes trabalhadores se infectam localmente nas hortifruticulturas de Salvador – BA. Estudos longitudinais futuros, devem ser conduzidos com um espaço de tempo maior entre as coletas para serem obtidos resultados um pouco mais robustos relativos a velocidade de reinfecção.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*. Esquistossomose. Microssatélites. Agricultura. Urbanização.

REIS, Pedro Santos Muccillo. Evaluation of prevalence for *Schistosoma mansoni* and changing parasite population structure in agricultural workers in Salvador, Bahia. 48 f. il. Dissertation (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2020.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Agricultural workers in Salvador, Bahia, Brazil have been described with a higher prevalence and intensities of *Schistosoma mansoni* infection than the general population. This fact is correlated with the large migratory flow to Bahia's capital, making these people establish their homes in places with low basic sanitation and development, maintaining a potential for the continuation of the *S. mansoni* cycle. This study identified nearly all areas of commercial agriculture in the city and longitudinally monitored infected workers. **AIM:** This study aims to assess the distribution, prevalence, intensity of *Schistosoma mansoni* infection in all local agricultural workers in Salvador, Bahia. Such as the dynamics and population structure of the parasites. **MATERIAL AND METHODS:** The study was divided into two stages. The first stage consists of a cross-section where the identification of different areas of agriculture in the city of Salvador was carried out with a later description of the prevalence of schistosomiasis among its workers. The second stage, consisted of longitudinal monitoring of workers from two of the previously identified areas. Kato-Katz examinations were performed on up to 3 stools collected on different days at baseline, 1, 3, 4, 6 and 7 months followed by treatment at each period. *S. mansoni* population structure was assessed using 18 microsatellites. The results for genetic differentiation between the studied populations were given by the Jost D differentiation index (Jost's D).. **RESULTS:** Across 8 neighborhoods, 18 gardens were identified. Crops were irrigated with surface water in 67%, and *Biomphalaria* sp. were present in 56%. All 36 workers provided at least one stool sample. The majority were male (83.3%), with a mean age of 51 years \pm 14.6 years. Previous schistosomiasis was reported by 36%. Across all sites, the prevalence was 25% with a mean egg burden of 367 ± 549 per gram of feces. Positive cases came from 2 sites (Pirajá and Pernambués). Component populations showed moderate differentiation ($D_c = 0.101$), thus gene flow was limited between sites 10 km apart. At 1 month, three workers still had eggs in their stool samples after treatment, but two of them did not follow the suggested protocol. Three months later, 1 worker who was negative after the first round of treatment became positive. At 4 months, all were negative on retreatment or first treatment (for 2 cases). At 7 months, 2 workers were again positive. Differentiation between infrapopulations at baseline and 7 months ($D_i=0.07$) indicates that reinfection was most likely, since there were periods of negative stools. **CONCLUSION:** Due the epidemiological, parasitological and molecular aspects, it is observed among infected workers, that schistosomiasis remains as major health and social problem. Our findings suggest that these workers are infected locally in the horticulture of Salvador - BA. In the future, longitudinal studies should be conducted with a longer time interval between collections to obtain more robust results regarding the rate of reinfection.

Keywords: *Schistosoma mansoni*. Schistosomiasis. Microsatellites. Agriculture. Urbanization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Ciclo de vida do <i>S. mansoni</i>	15
Figura 2	Distribuição da esquistossomose no mundo.....	16
Figura 3	Distribuição de hortas em Salvador – BA.....	22
Figura 4a	Distribuição das hortas existentes em Salvador – BA comparadas com as encontradas por PARAGUASSU (2013).....	27
Figura 4b	Localização das hortas de trabalho (circuladas em vermelho) onde encontrou-se positividade para esquistossomose.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Marcadores microssatélites utilizados	25
Tabela 2	Características gerais dos trabalhadores das hortas de Salvador	28
Tabela 3	Características gerais das hortas de Salvador	29
Tabela 4	Prevalência das helmintíases entre os trabalhadores das hortas de Salvador.....	32
Tabela 5	Características dos trabalhadores com esquistossomose em Salvador.....	33
Tabela 6	Características parasitológicas pré e pós tratamento nos períodos avaliados. Positividade descrita de forma quantitativa para Ovos Por Grama de Fezes.....	34
Tabela 7	Dc longitudinal nos diferentes inquéritos parasitológicos.....	36
Tabela 8	Dc entre os trabalhadores de Pirajá ao longo dos anos.....	36
Tabela 9	Análise das características da população de parasitos genotipadas.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ae	Número de alelos efetivos
CTAB	<i>Cetyl TrimethylAmmonium Bromide</i>
Dc	Valor de D para população componente
Di	Valor de D para infrapopulação
Ne	Tamanho efetivo populacional
OPG	Ovos por Grama de Fezes
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RAPDs	<i>Random Amplification of Polymorphic DNA</i>
SNPs	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	20
2.1	OBJETIVO GERAL.....	20
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	211
3.1	DESENHO DO ESTUDO.....	21
3.2	PARTICIPANTES	21
3.3	INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO.....	23
3.4	AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA POPULACIONAL DE <i>S. MANSONI</i> DOS INDIVÍDUOS INFECTADOS.....	24
3.4.1	Isolamento e purificação dos ovos de <i>S. mansoni</i>	24
3.4.2	Extração de DNA genômico	24
3.4.3	Genotipagem com marcadores microssatelites	25
3.5	ANÁLISE DOS DADOS.....	26
4	RESULTADOS	277
5	DISCUSSÃO	39
6.	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	434

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma parasitose causada pelo trematódeo do gênero *Schistosoma sp.*, sendo o *Schistosoma mansoni* o único presente no Brasil. Esta é uma doença potencialmente grave, que gera importantes consequências para a saúde pública e economias locais (BOCANEGRA et al., 2015). As formas clínicas da esquistossomose podem ser divididas em fase inicial e tardia. A primeira é caracterizada pela forma aguda da doença, que pode ser sintomática ou assintomática. A segunda é denominada como forma crônica, que terá sua classificação definida de acordo com o órgão mais acometido (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A fase aguda ocorre semanas ou meses após o contato inicial com o agente infectante. Os sinais e sintomas relacionados à fase aguda são inespecíficos, sendo manifestados na forma de febre, dores de cabeça, mialgia, eosinofilia e dor abdominal, por exemplo, persistente por aproximadamente 2-10 semanas (COLLEY, 2014). Indivíduos hipersensíveis ou em casos de reinfecção, podem apresentar manifestação alérgica e prurido local. Esta fase ocorre mais frequentemente em viajantes ou imigrantes que vão para zonas endêmicas para *S. mansoni*. O diagnóstico nesta fase é difícil pela inespecificidade dos sinais e sintomas. Os casos assintomáticos são os mais comuns, sendo descobertos em exames laboratoriais de rotina (LEWIS e TUCKER, 2014; BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A forma crônica caracteriza-se principalmente pelo desenvolvimento de fibrose hepática. Os ovos não são excretados e permanecem alojados no fígado, induzindo uma resposta granulomatosa no hospedeiro. O processo de formação do granuloma induz a inflamação crônica, que irá levar à manifestação da esquistossomose (PETERSON e VON LICHTENBERG, 1965). Nesta fase, os sinais e sintomas são identificados por exame físico (dor a apalpação dos colóns, fígado com hipertrofia do lóbulo esquerdo e consistência aumentada), além da ultrassonografia (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). As formas mais comuns de manifestação são: hepática, hepatointestinal e

hepatoesplênica. Em casos de infecção prolongada e/ou com alta carga parasitária a chance de desenvolvimento desses sintomas aumenta (CHEEVER, 1968).

O tratamento para esquistossomose no Brasil é realizado com o Praziquantel, que faz parte do grupo dos tioxantônicos. Este medicamento oferece uma larga margem de segurança para o tratamento de indivíduos com esquistossomose. Embora os efeitos adversos, toxicidade e eficácia terapêutica sejam semelhantes aos apresentados pelo fármaco utilizado no passado (Oxaminiquina), o Praziquantel possui custo significativamente mais baixo (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). O praziquantel apresenta-se em comprimidos de via oral com concentração de 600mg. A Organização Mundial da Saúde sugere a administração 40mg/kg de peso por indivíduo infectado (WHO, 2012), mas a dose varia em cada localidade. No Brasil, são administrados em dose única de 50mg/kg de peso para adultos e 60mg/kg de peso para crianças (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

O *S. mansoni* possui um ciclo de vida com passagem obrigatória por um vetor da Família Planorbidae, caramujos *Biomphalaria* sp. (*B. glabrata*, *B. straminea*, *B. tenagophila*) (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Para o seu ciclo é necessário que os ovos liberados nas fezes humanas cheguem a corpos d'água (FIGURA 1). Esses irão eclodir e liberar os miracídios, que são larvas ciliadas e o primeiro estágio de vida livre do parasito. Esta fase evolutiva irá por seguinte infectar o caramujo. Depois de alterar a sua forma evolutiva para esporocisto e passar por sucessivas divisões no interior dos *Biomphalaria* sp., este é liberado no meio aquático novamente sob a forma de cercária, que penetra a epiderme e mucosa dos seres humanos que entrarem em contato com corpos d'água contaminados. Dentro dos humanos, as cercárias se transformarão em esquistossômulos, que posteriormente (aproximadamente 30 dias) irão se desenvolver para a forma de vermes adultos, depositando-se no lúmen das veias mesentéricas e sistema porta hepático, desta forma, dando continuidade ao processo de ovoposição e manutenção do seu ciclo (KATZ e ALMEIDA, 2003).

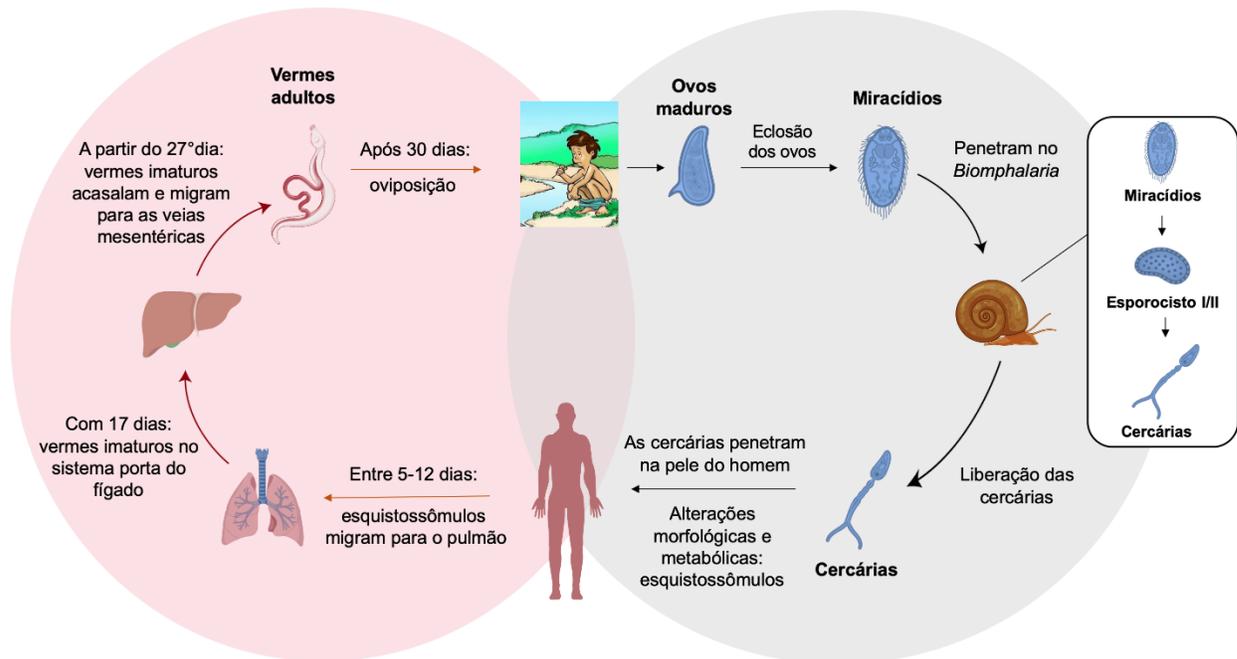


FIGURA 1 – Ciclo de vida do *S. mansoni* (ZANARDI, 2019).

A esquistossomose é uma doença de veiculação hídrica ligada a um saneamento básico precário, típica de países em desenvolvimento. No mundo, é endêmica em cerca de 52 países, inclusive no Brasil (OMS, 2018), com cerca de 700 milhões de pessoas em risco de infecção (FIGURA 2). Ela é considerada uma das mais prevalentes infecções parasitárias no mundo, com cerca de 200 milhões de pessoas infectadas e 20 milhões com a forma grave da doença (KING, 2005; OMS, 2013). No país, nesta última década, a prevalência de casos foi de 2 a 5%, aproximadamente 10 milhões de pessoas. Na Bahia, os números seguem aproximadamente a média nacional (DATASUS, 2014). Após estes dados de 2014, foi realizado entre os anos de 2015 a 2018 o Inquérito Nacional de Prevalência de Esquistossomose mansoni e Geohelmintíases (INPEG). Nele, foi observado uma prevalência nacional de aproximadamente 2% e o estado da Bahia seguindo novamente estas médias, com aproximadamente 3% (KATZ, 2018). No entanto, a distribuição da doença não acontece de forma uniforme e, se microrregiões forem analisadas, as prevalências observadas seriam muito maiores do que as

estatísticas gerais. Em zonas rurais, esses valores alcançam cerca de 40% (BARBOSA et al., 2016; NACIFE et al., 2018), e em microáreas urbanas podem atingir 16 a 25% (CALASANS et al., 2018; BLANTON et al., 2015).

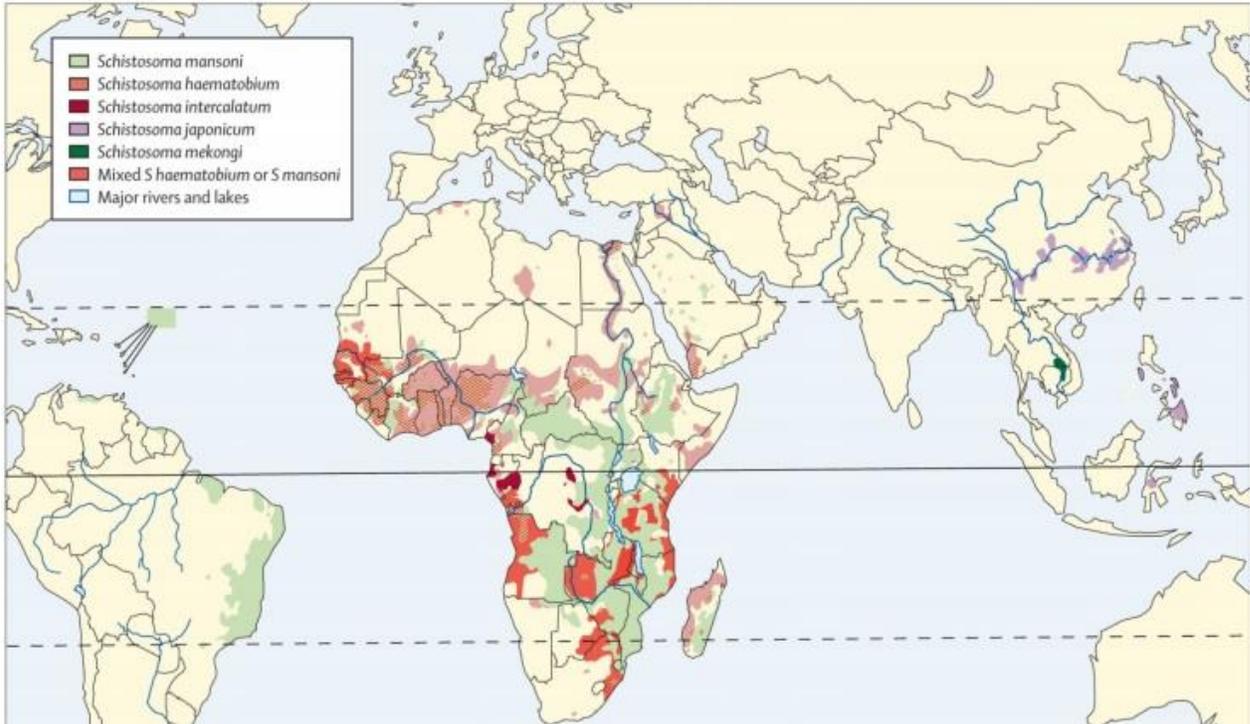


Figura 2 – Distribuição da esquistossomose no mundo (GRYSEELS et al., 2006).

Por conta de uma menor infraestrutura e de condições de vida gerais piores, como saneamento básico inadequado, a esquistossomose ainda possui uma grande disseminação em áreas rurais (GRYSEELS, 2012). Contudo, nos últimos anos, ela tem tomado grande protagonismo nos meios urbanos. A transição demográfica de pessoas do campo para as metrópoles em busca de melhores condições de vida e de emprego está entre as principais razões para o aumento da doença nas grandes cidades (GOMES et al., 2012). Nesse contexto, muitas pessoas dessas regiões menos privilegiadas chegam aos centros urbanos infectadas e se estabelecendo em localidades propícias para o desenvolvimento e estabelecimento do ciclo da esquistossomose.

O problema da esquistossomose urbana é visto em diferentes continentes e países onde a doença é endêmica, como por exemplo no Brasil (GOMES et al., 2012; BLANTON et al., 2015; SANTOS et al., 2017), Etiópia (BAJIRO et al., 2017), Costa do Marfim (M'BRA

et al., 2018), entre outros. Com o rápido processo de urbanização por todo o mundo, observa-se nesta década que mais da metade da população mundial encontra-se vivendo em centros urbanos, e com projeção de crescimento de 68,7% até o ano de 2050 (YU et al., 2012). Neste cenário das grandes metrópoles e processo de urbanização, temos a cidade de Salvador – BA que, seguindo a tendência mundial, é o destino de grandes transições demográficas do meio rural para o meio urbano.

Salvador, nos últimos 20 anos cresceu aproximadamente 300%, levando a um processo de urbanização desordenado e como resultantes muitas moradias sendo construídas de formas irregulares e sem saneamento básico (COPQUE et al., 2011; PEREIRA, 2011). O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) da cidade é de 0,759, considerado como alto (IBGE, 2017). Contudo, assim como a prevalência de esquistossomose pelo território nacional, esse índice não é homogêneo e não representa a totalidade da cidade (evidenciado pela grande desigualdade social). Em localidades de menor desenvolvimento são mais facilmente visualizadas a falta de saneamento básico, despejo de esgoto não tratado em corpos d'água e pessoas em potencial ou real contato com estes reservatórios. São nesses locais que grupos de agricultores vindos de zonas rurais se estabelecem e dão continuidade às suas atividades laborais no meio urbano. A agricultura urbana é um termo utilizado para a produção e processamento de alimentos no perímetro urbano e periurbano. Esta prática está presente em países por todo o mundo (PEARSON et al., 2010), incluindo na cidade de Salvador.

Em 2011, nosso grupo realizou um trabalho em uma comunidade do bairro do subúrbio ferroviário em Salvador onde foi observada positividade de 24,7% para o *S. mansoni*. As características epidemiológicas e os fatores de risco observados para a doença em Salvador foram similares aos encontrados em zonas rurais (BLANTON et al., 2015). No entanto, um grupo de agricultores que trabalham no local do estudo se destacaram pela alta carga parasitária encontrada, cerca de 4000 ovos por grama de fezes (OPG) (valor de referência: Infecção intensa ≥ 400 OPG). Refazendo o exame de fezes desses indivíduos 6 anos depois foi encontrada uma taxa de reinfecção de 100% dos trabalhadores avaliados (dados não publicados). Estes trabalhadores dedicam-se ao cultivo de plantas semiaquáticas como o *Nasturtium officinale*, popularmente conhecida como agrião. Para o cultivo destas hortaliças, o trabalhador precisa estar em contato

direto com corpos d'água constantemente, o que aumenta significativamente o risco de infecção para o parasito. Este risco se torna mais importante ao identificarmos *Biomphalaria glabrata* liberando cercárias nesta mesma área (ZANARDI et al., 2019).

Para uma análise mais completa acerca das características da infecção do *S. mansoni* nos trabalhadores agrícolas de Salvador, é importante a utilização de ferramentas genéticas além das epidemiológicas e parasitológicas. Através da genética populacional é possível determinar: possíveis fontes de infecção comum, influência de migração e do tratamento, diversidade e grau de diferenciação genética entre as populações de parasitos estudadas no momento e nas reinfecções. Apenas a epidemiologia clássica e parasitologia não fornecem informações objetivas sobre origem da infecção, grau de reinfecção, impacto do tratamento numa população, assim como, avaliar as falhas terapêuticas e as relações entre as diferentes subpopulações do parasito.

Para este tipo de análise, diferentes marcadores genéticos podem ser utilizados. SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), aloenzimas, RAPDs (*Random Amplification of Polymorphic DNA*), marcadores mitocondriais (ROSS et al. 1999; CURTIS et. al 2002) foram utilizados em diferentes trabalhos similares. No entanto, os marcadores microssatélites apresentam as principais características para este tipo de análise, como variabilidade, alta carga de informações, facilidade de utilização e reprodutibilidade (ROSS et al. 1999). Microssatélites são repetições em tandem de 2 até 8 nucleotídeos presentes no DNA genômico (ELLEGREN, 2004). Estes possuem um grande valor alélico e de informações se comparando com SNPs. Quanto mais marcadores utilizados, mais precisa será a análise das estruturas genéticas.

As populações em um determinado estudo podem ser analisadas através de alguns índices, sendo os mais utilizados: F_{st} , G_{st} e D de Jost. O último, permite medir a diferenciação total entre os indivíduos analisados a partir do número de alelos efetivos (A_e). Este possui a propriedade de produzir respostas lineares nas mudanças das frequências alélicas, e possui independência da diversidade da subpopulação (BLANTON, 2018). O D de Jost não carrega informações relevantes para análise de processos evolutivos que resultaram na composição presente de uma subpopulação. O valor de D vai medir possíveis divergências da diferenciação total. Ou seja, o D indica a

proporção de diversidade alélica entre populações (WHITLOCK, 2011). Sendo assim, alguns trabalhos relatam que o D pode adicionar informação sobre o grau de diferenciação entre alelos (JOST et al., 2018).

As populações analisadas, levando em consideração o D de Jost, podem ser divididas basicamente em: Infrapopulação (D_i), População Componente (D_c). Sendo D_i a medida de diferenciação dos organismos presentes em um hospedeiro em relação a outro. Já o D_c é a diferenciação entre diferentes grupos, que podem estar separados geograficamente ou por um espaço temporal numa análise de um mesmo grupo populacional. Os valores de D variam entre 0-1, onde quanto mais próximo de 0 dizemos que a população possui uma baixa diferenciação (População A e B são semelhantes) e quanto mais próximo de 1 possuem uma alta diferenciação (População A e B são diferentes entre si). Os valores de referência para essas medidas se dão como: Baixa diferenciação $<0,05$; Diferenciação moderada $0,05-0,150$; Alta Diferenciação $\geq 0,150$.

Outras medidas importantes a serem avaliadas são relativas a diversidade genética. Esta vai ser importante para indicar o quanto essas populações irão se adaptar as mudanças no ambiente. De forma geral, mais diversidade indica uma melhor sobrevivência da espécie. Para isto, dois índices são avaliados: o A_e (Número de alelos efetivos) e o N_e (Tamanho efetivo populacional). O A_e é também uma medida de diversidade e não precisa de ajustes para o tamanho amostral. Este representa o número de alelos com frequências iguais em uma população ideal e como este vai produzir a mesma heterozigotidade na população em análise. O N_e é uma medida de diversidade que representa o número mínimo de uma população ideal necessário para recompor a diversidade de uma população real. Com isso, nota-se que a diversidade é importante, pois esta reflete a força da deriva gênica (BLANTON, 2018; WRIGHT, 1931).

Tendo em vista que existem outras zonas agrícolas na cidade de Salvador e que a realidade dos trabalhadores rurais observada em nosso estudo anterior deve ser similar, incluindo a presença do hospedeiro intermediário, visa-se identificar e avaliar estas populações de agricultores em relação prevalência para esquistossomose na cidade de Salvador – BA, com o intuito de melhoria da qualidade de vida com diminuição da morbidade por atividade ocupacional.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência, a dinâmica e a estrutura populacional de *Schistosoma mansoni* em trabalhadores de hortas urbanas em Salvador.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a prevalência e intensidade de infecção de *S. mansoni* entre os trabalhadores de hortas urbanas em Salvador;
- Descrever as taxas de reinfecção de *S. mansoni* nos trabalhadores de hortas urbanas em Salvador;
- Caracterizar o grau de diferenciação genética das populações de *S. mansoni* entre os trabalhadores de diferentes hortas de Salvador;
- Descrever a estrutura genética populacional do *S. mansoni* nos indivíduos reinfected, comparando estas antes e depois do tratamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. DESENHO DO ESTUDO

O presente estudo foi dividido em duas etapas distintas. A primeira etapa consta de um corte transversal onde foi realizada a identificação de diferentes áreas de agricultura na cidade de Salvador com posterior descrição da prevalência de esquistossomose entre os seus trabalhadores. Já a segunda etapa consistiu no acompanhamento longitudinal de trabalhadores de duas das áreas previamente identificadas. Foram realizados inquéritos parasitológicos por 6 meses, sendo realizadas visitas a cada 2 meses para determinar a eficácia do tratamento, taxas de reinfecção e estrutura populacional dos parasitos.

3.2. PARTICIPANTES

Trabalhadores de hortas urbanas na cidade de Salvador-BA foram convidados para participar do presente estudo e foram incluídos aqueles que concordaram em participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz – BA (CEP-FIOCRUZ) – CAAE: 42424915.9.0000.0040. Em casos em que o participante era iletrado, o consentimento foi obtido através da impressão digital. Os indivíduos que por vontade própria desistiram de participar do estudo tiveram seus dados retirados do trabalho. Um cálculo de tamanho amostral não foi necessário, visto que pretendíamos avaliar toda população de trabalhadores de hortas urbanas na cidade de Salvador-BA.

3.3. IDENTIFICAÇÃO DAS ÁREAS AGRÍCOLAS DE SALVADOR

Em 2013, as áreas de agricultura urbana foram mapeadas e avaliadas para a qualidade da água e grau de sustentabilidade na tese de doutorado de Lídice Paraguassú intitulada “A agricultura urbana como estratégia de sustentabilidade da cidade do

Salvador, Bahia, Brasil” (FIGURA 3). A identificação dessas localidades foi baseada em quatro critérios: 1) análise das imagens de satélite georreferenciados de Salvador; 2) busca ativa nos diferentes distritos sanitários; 3) informações da própria população local; 4) conversas informais com trabalhadores locais. A partir da aplicação desta metodologia foram identificadas 43 áreas de hortas urbanas com fins comerciais. Tendo em vista que a realização do primeiro trabalho foi em 2013, reaplicamos a metodologia descrita para atualizar os dados e verificar o atual *status* de cada uma das hortas trabalhadas. Neste trabalho foram consideradas hortas aquelas que possuíam o comércio como objetivo principal do plantio. Assim, plantações utilizadas para subsistência não entraram na presente avaliação. A seleção das áreas para a avaliação longitudinal aconteceu baseada na prevalência e intensidade de infecção para o *S. mansoni* entre os trabalhadores das hortas.

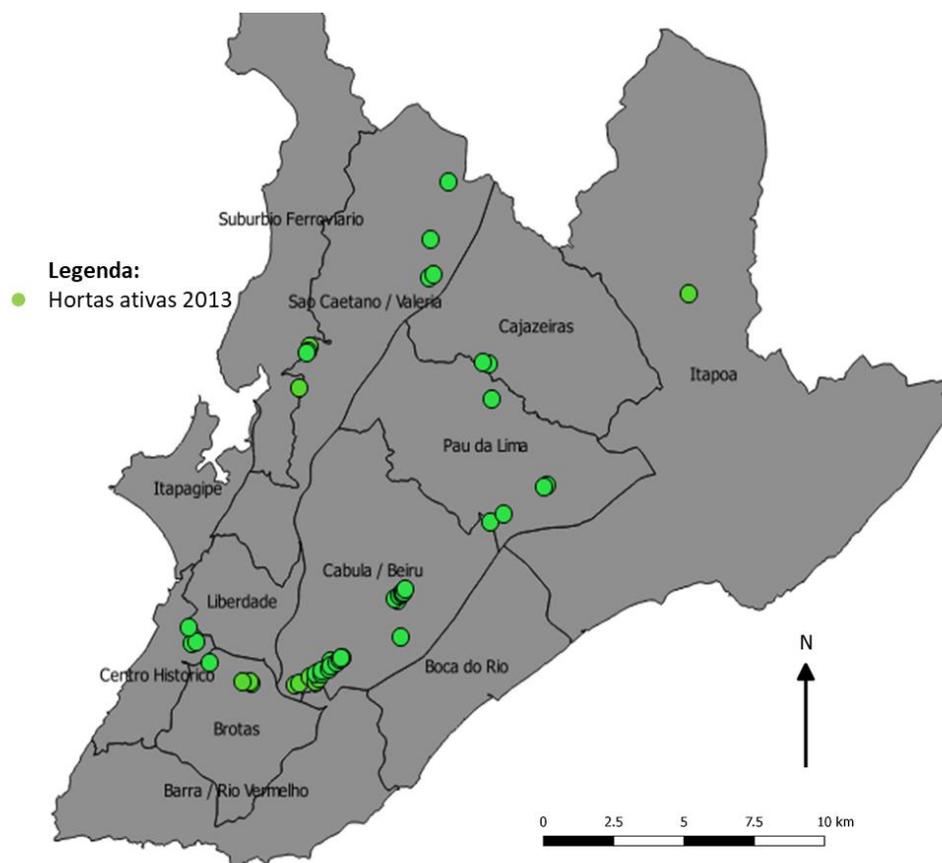


FIGURA 3: Distribuição de hortas em Salvador – BA encontradas por PARAGUASSÚ (2013). Imagem do autor

3.4. INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO

Os participantes do estudo responderam a um questionário com informações sociodemográficas e comportamentais. Para os chefes/responsáveis pelas hortas, perguntas específicas foram realizadas com o intuito de obter informações sobre o plantio e hábitos nestas áreas de trabalho. Após o inquérito epidemiológico, um coletor de fezes foi entregue para a verificação da prevalência da esquistossomose em cada horta, sendo confeccionadas duas lâminas por amostra. Para a segunda etapa do trabalho, 3 amostras de fezes em dias separados foram solicitadas de cada indivíduo. Os exames dos inquéritos parasitológicos aconteceram no Laboratório de Parasitologia Clínica da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) e o exame de escolha para análise qualitativa e quantitativa foi o Kato-Katz (KATZ, et al., 1972). As lâminas foram lidas após a secagem destas, ou 24h após a sua confecção.

Os participantes positivos para esquistossomose foram tratados com praziquantel seguindo orientações do Ministério da Saúde (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014), utilizando 50 mg/kg para adultos e 60 mg/kg para crianças. Outras helmintíases foram tratadas com o albendazol seguindo orientações da bula. Em todos os diferentes momentos, trinta dias após a quimioterapia, os indivíduos diagnosticados com esquistossomose foram examinados para verificação de eficácia do tratamento.

3.5. AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA POPULACIONAL DE *S. MANSONI* DOS INDIVÍDUOS INFECTADOS

3.5.1. Isolamento e purificação dos ovos de *S. mansoni*

As amostras positivas para *S. mansoni* foram pesadas em uma balança digital e, posteriormente, liquefeitas em salina a 2% com o auxílio de um liquidificador em baixa rotação. Para realizar o isolamento dos ovos de *S. mansoni* toda a amostra passou por uma rede de peneiras, iniciando em 300 micra e finalizando em uma rede de *nylon* com poros de 55 micra onde eles ficaram retidos e são retirados por uma lavagem com desta malha com salina 2% (DRESDEN & PAYNE, 1981; COELHO, et al., 2009). As amostras

foram ressuspensas em salina a 2% e estocadas a -20° C até o momento da extração do DNA genômico.

3.5.2. Extração de DNA genômico

A extração dos ácidos nucléicos aconteceu pela técnica de fenol:clorofórmio (AUSUBEL et al., 1987). As amostras de DNA foram então submetidas a duas rodadas de purificação com CTAB (*Cetyl TrimethylAmmonium Bromide*) para a remoção de inibidores da reação em cadeia da polimerase (do inglês, *polymerase chain reaction* – PCR).

3.5.3. Genotipagem com marcadores microssatélites

O DNA do *S. mansoni* foi genotipado utilizando 20 marcadores microssatélites (BARBOSA et al., 2013; BLANTON et al., 2015; BARBOSA et al., 2016; DADOS NÃO PUBLICADOS) (Tabela 1). A técnica consiste em inicialmente uma amplificação por PCR convencional, utilizando 2 uL do DNA extraído em duplicata com *primers* fluorescentes. O produto de PCR de cada amostra foi combinado baseado na variação de tamanho de nucleotídeos e da fluorescência, e posteriormente foi realizada uma eletroforese capilar no aparelho de sequenciamento da Applied Biosystems 3130xl (ThermoFisher Scientific – USA). Os resultados provenientes da eletroforese capilar foram obtidos utilizando o software PeakScanner (ThermoFisher Scientific - USA). Uma amostra foi considerada amplificada com sucesso se pelo menos uma das duplicatas apresentou picos mensuráveis dentro do tamanho esperado para cada marcador utilizado. Foram considerados como amostras viáveis para análise, aquelas que amplificaram pelo menos 50% dos marcadores utilizados. As que ficaram abaixo do *cutoff* estabelecido foram retiradas das análises, assim como os marcadores que não obtiveram pelo menos 60% de amplificação entre as amostras.

A área de Pirajá foi avaliada por nosso grupo em 2011 (BLANTON, et al. 2015). Alguns dos mesmos trabalhadores permaneceram na área desde aquele momento e

encontravam-se infectados. Desta maneira, fomos capazes de obter os dados genotípicos das populações parasitárias de 2011 dos mesmos indivíduos para realização de comparações longitudinais. Para esta análise, utilizamos os mesmos 13 marcadores microssatélites utilizados em 2011 (Tabela 1).

Tabela 1 – Marcadores microssatélites utilizados

Locus	Referência	Varição de tamanho de nucleotídeos	Num de alelos observados
SMMS2*	Silva et al. 2006	212 – 235	4
SMMS16*	Silva et al. 2006	211 – 229	7
SMMS3*	Silva et al. 2006	176 – 209	12
SMMS17*	Silva et al. 2006	286 – 304	7
SMMS18*	Silva et al. 2006	195 – 228	12
13TAGA*	Rodrigues et al. 2002	103 – 143	11
SMDA23*	Curtis et al. 2001	193 – 237	12
1F8A*	Blank et al. 2010	151 – 172	8
SM13-410*	Blanton et al. 2011	192 – 207	6
29E6A*	Blanton et al. 2011	160 – 178	7
SM13-478*	Blanton et al. 2011	225 – 258	12
15J15A*	Blanton et al. 2011	208 – 232	9
SMU31768*	Durand et al. 2000	190 – 226	13
LG5_sc36b	Não publicado	230 – 270	10
sc23b	Não publicado	190 – 220	9
SMD28	Não publicado	225 – 240	4
L46951	Não publicado	155 – 190	6
R95529	Não publicado	220 – 255	9
LG1_sc276	Não publicado	100 – 110	7
LG5_sc475	Não publicado	280 – 305	3

* Marcadores utilizados na população de trabalhadores de Pirajá em 2011

3.6 ANÁLISE DOS DADOS

Por conta do baixo tamanho amostral neste trabalho foi realizado apenas uma estatística descritiva. As variáveis categóricas foram descritas utilizando porcentagem e as variáveis contínuas foram descritas com média e desvio padrão. Os dados de genética populacional foram obtidos utilizando softwares adequados. Frequências alélicas foram calculadas comparando proporcionalmente as alturas dos picos dos *amplicons* encontrados após a eletroforese capilar. A diversidade das populações foi encontrada a partir do cálculo do número de alelos efetivos para todos os marcadores microssatélites testados. Para testar a diferenciação genética entre as populações estudadas foi utilizado o índice de diferenciação D de Jost (Jost's D). Este índice foi calculado a partir das frequências alélicas com o *software* SPADE. O tamanho efetivo populacional (N_e) e o coeficiente de migração (m) foram calculados apenas para Pirajá, por conta dos dados descritos nessa mesma localidade por nossa equipe em 2011, utilizando o *software* MLNE (WANG e WHITLOCK, 2003). Neste programa, assumimos o ano de 2011 como ano 0. Tendo em vista que cada geração do parasito dura aproximadamente 12 semanas, a primeira, segunda e terceira etapa do ano de 2019 foram consideradas as gerações 32, 33 e 34.

4. RESULTADOS

Das 43 hortas urbanas descritas em 2013 (PARAGUASSU, 2013), 18 permaneceram ativas em 2019 na cidade de Salvador e nenhuma nova foi identificada em novas buscas. Elas estão distribuídas em 8 bairros, sendo estes: Pernambués (n = 3); Cabula (n = 2); Narandiba (n = 1); Saramandaia (n = 5); São Marcos (n = 3); São Rafael (n = 1); Pirajá (n = 2); Valéria (n = 1). Os bairros estão localizados em 4 dos 12 distritos sanitários do município: Cabula / Beiru (n = 11); Pau da Lima (n = 4); Subúrbio Ferroviário (n = 2); and São Caetano / Valéria (n = 1) (FIGURA 4a).

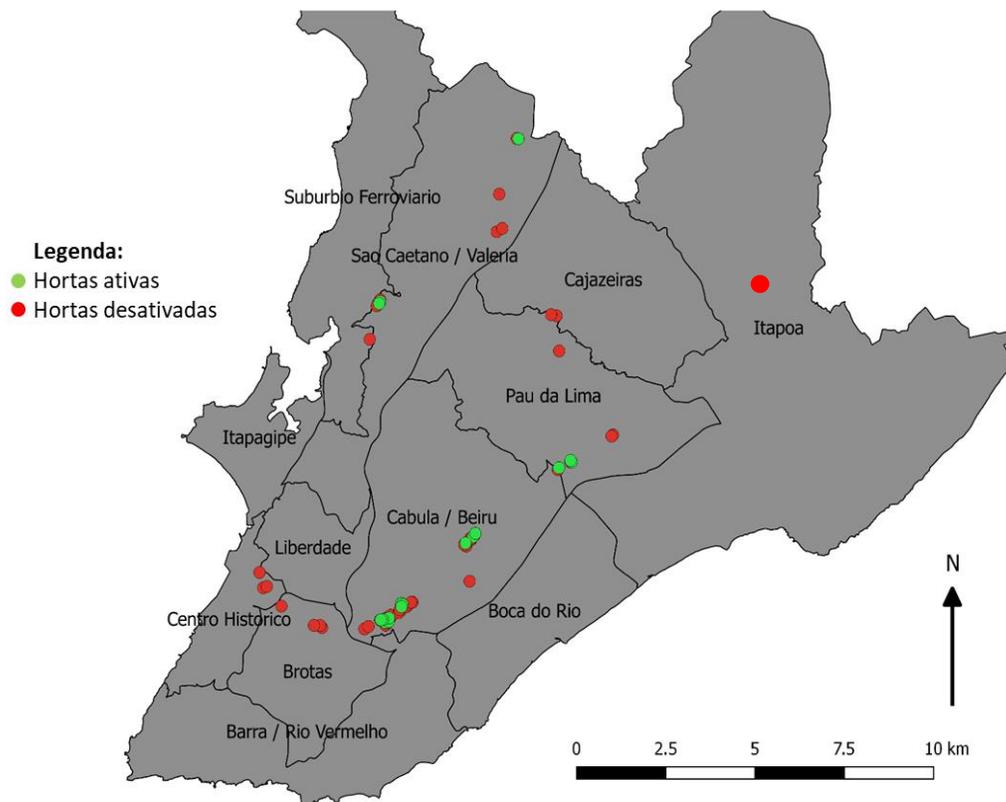


FIGURA 4a: Distribuição das hortas comerciais existentes em Salvador – BA comparadas com as encontradas por PARAGUASSU (2013). Imagem do autor

Nas hortas encontradas, trinta e seis trabalhadores foram identificados (Tabela 2). A maioria dos indivíduos eram homens (83,3%) com uma média de idade de 51,1 anos ±

14,6. Aproximadamente 70% dos indivíduos possuíam baixa escolaridade ou nenhuma (36,1% analfabetos e 33,3% com o fundamental I completo) e apenas 13,8% completaram o ensino médio. A maioria dos indivíduos (77,7%) declarou-se como pardos. Apenas 19,4% (7/36) dos trabalhadores incluídos no projeto são nativos de Salvador. No entanto, entre os que não nasceram na capital, relatam ter vivido cerca de 57,6% de suas vidas em Salvador. Todos os participantes relataram ter contato com água durante as suas atividades laborais. Quando perguntados sobre contato com fontes de água natural fora do ambiente de trabalho (como rios, lagos, cachoeiras e corrégos) 22,2% (8/36) responderam ter. Em relação à histórico prévio para esquistossomose, 36,11% (13/36) dos participantes da pesquisa relataram infecção no passado por *S. mansoni*, e apenas um desses participantes (1/13) relatou não ter recebido tratamento contra a esquistossomose.

Tabela 2 – Características gerais dos trabalhadores das hortas de Salvador (N=36)

Característica	n (%) ou média (±DP)
Sexo Biológico (Masculino)	30 (83,0)
Idade	51,1 (±14,60)
Natural de Salvador	7 (19,40)
Anos de vida em Salvador (n=27)	31,55 (±16,20)
Histórico de esquistossomose	13 (36,11)
Tratamento para esquistossomose (n=13)	12 (92,30)
Escolaridade	-
<i>Analfabeto / Fundamental 1 Incompleto</i>	13 (36,11)
<i>Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto</i>	12 (33,33)
<i>Fundamental 2 Completo / Médio Incompleto</i>	6 (16,66)
<i>Médio Completo / Superior Incompleto</i>	5 (13,88)
<i>Superior Completo</i>	0
Cor (autoreferida)	
<i>Pardo</i>	28 (77,7%)
<i>Preto</i>	2 (5,5%)
<i>Branco</i>	3 (8,3%)
<i>Indígena</i>	2 (5,5%)
Contato com corpos d'água durante o trabalho	36 (100)
Tem contato com outras coleções hídricas?	8 (22,22)
<i>Lazer (n=8)</i>	7 (87,50)

Característica	n (%) ou média (\pmDP)
<i>Pesca (n=8)</i>	2 (25,0)
<i>Lavar pratos/panelas (n=8)</i>	2 (25,0)
<i>Lavar carros/animais (n=8)</i>	2 (25,0)
<i>Lavar roupas (n=8)</i>	2 (25,0)
<i>Higiene Pessoal (n=8)</i>	2 (25,0)
TOTAL	36

4.1 CARACTERÍSTICAS DAS HORTAS

Entre as 18 hortas encontradas na cidade de Salvador os tipos de plantio mais comuns foram: hortelã, manjeriço e cebolinha (Tabela 3). Observa-se que em 12 hortas da cidade (66,7%) a irrigação é feita com água de fontes naturais, sendo 11 de minadouros (61,1%) e 1 direto de algum rio ou lago (5,6%). Apenas 6 hortas (33,3%) fazem uso de água encanada distribuída pela Empresa Baiana de Águas e Saneamento (EMBASA).

Em relação ao uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) em 12 hortas (66,7%) foram relatadas haver o incentivo ao uso destes equipamentos. No entanto, na prática, era observado que por mais que os participantes fizessem o uso até mesmo frequente dos equipamentos de proteção, estes ainda possuíam um grande contato com a água utilizada para a irrigação ou crescimento das hortaliças.

Em relação ao plantio em hortas alagadas, 2 das 18 hortas (11,1%) praticam esta modalidade. Contudo, 5 (27,8%) possuem histórico de ter feito estas modalidades no passado. Mais da metade das hortas presentes na capital apresentaram a presença do *Biomphalaria* sp., sendo observados em 10 das 18 (55,6%) localidades estudadas. Em todas as hortas com trabalhadores infectados por *S. mansoni*, havia a presença do hospedeiro intermediário.

Tabela 3 – Características gerais das hortas de Salvador (N=18)

Característica	n (%)
Tipo de Plantio	
<i>Hortelã</i>	12 (66,7)
<i>Manjeriço</i>	10 (55,6)
<i>Cebolinha</i>	9 (50,0)
<i>Couve</i>	7 (38,9)
Característica	
n (%)	
<i>Coentro</i>	6 (33,3)
<i>Alface</i>	4 (22,2)
<i>Rúcula</i>	3 (16,7)
<i>Quiabo</i>	2 (11,1)
<i>Agrião</i>	2 (11,1)
<i>Tomate</i>	1 (5,6)
<i>Maxixe</i>	1 (5,6)
<i>Frutas</i>	1 (5,6)
Origem da água para irrigação	
<i>Minadouro/Poço Artesiano</i>	11 (61,1)
<i>EMBASA (água encanada)</i>	6 (33,3)
<i>Rio/Lago</i>	1 (5,6)
Incentivo ao uso de EPIs	12 (66,7)
Horta alagada atualmente	2 (11,1)
Horta alagada passado	5 (27,8)
Presença <i>Biomphalaria</i> sp.	10 (55,6)
TOTAL	18

4.2 RESULTADOS PARASITOLÓGICOS

4.2.1 Primeiro inquérito parasitológico, mês 0 e 1 (2019.1)

A prevalência de esquistossomose entre as hortas de Salvador foi de 27,7% (5/18). Os indivíduos infectados foram encontrados nos distritos sanitários de Cabula/Beiru e Subúrbio Ferroviário, nos bairros de Pernambucoés e Pirajá, respectivamente (FIGURA 4b). No total de trabalhadores, a prevalência de *S. mansoni* foi de 25,0% (9/36) (Tabela 4), com uma carga parasitária média de $366,6 \pm 548,8$ OPG. Quatro dos indivíduos apresentaram baixa carga parasitária (<100 OPG), três apresentaram carga parasitária moderada (100-400 OPG) e os outros dois apresentaram alta carga parasitária (>400

OPG). A positividade para outras helmintfases foi de 13,8% (5/36) em quatro indivíduos com *Trichuris trichiura* e um com Ancilostomídeo.

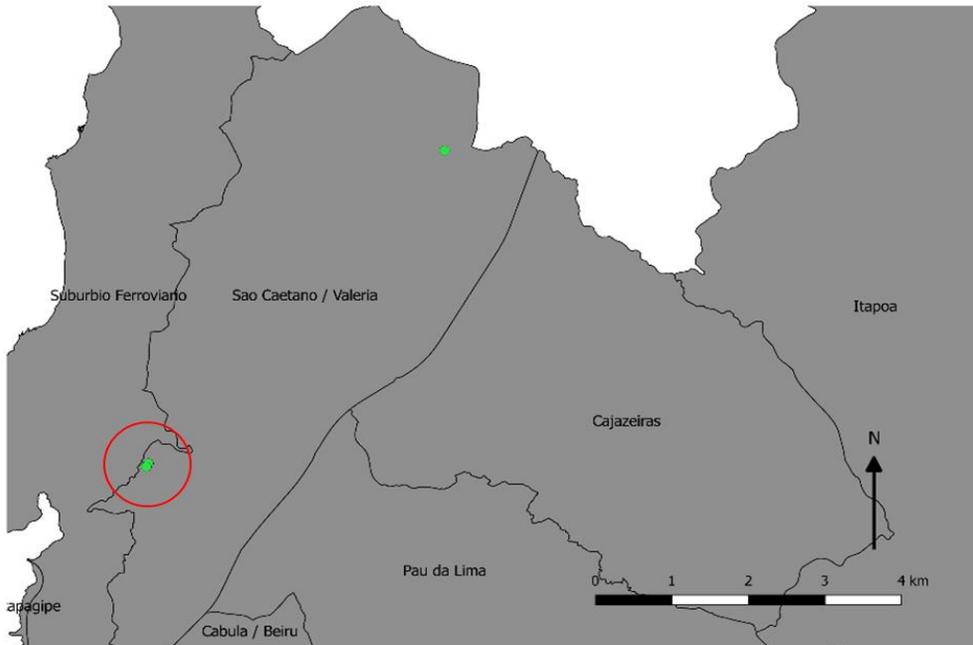


FIGURA 4b: Localização das hortas de trabalho (circuladas em vermelho) onde encontrou-se positividade para esquistossomose.

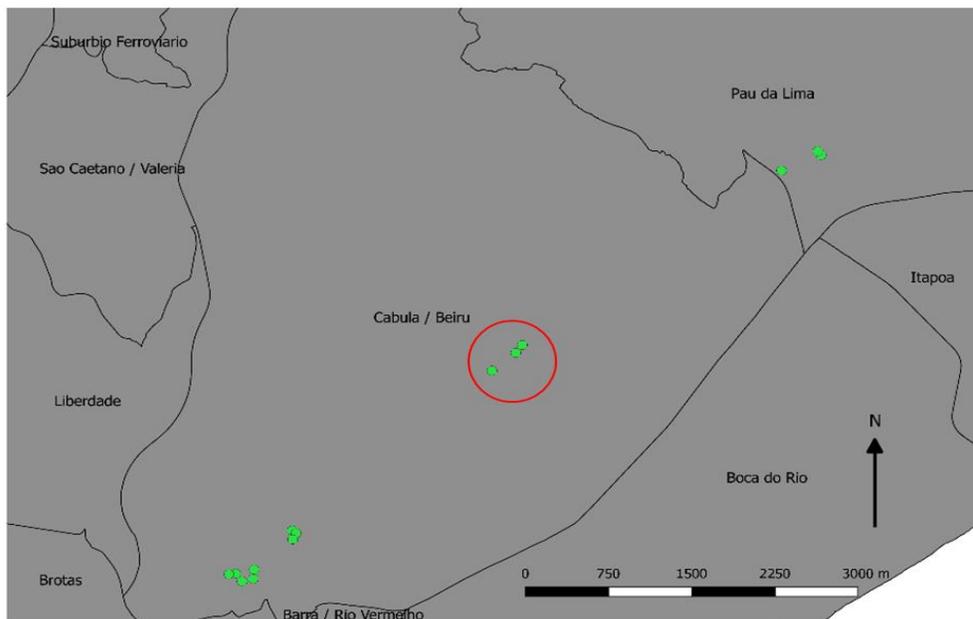


Tabela 4 - Prevalência das helmintíases entre os trabalhadores das hortas de Salvador (N=36).

HELMINTOS	n (%) ou média (DP)
<i>Schistosoma mansoni</i>	9 (25,0)
Carga parasitária - Ovos por grama de fezes	319 (\pm 586,59)
Outros helmintos	5 (13,88)
<i>Trichuris trichiura</i>	4 (9,09)
Ancilostomídeos	1 (2,77)
Coinfecção (SM + outro helminto)	3*

* Coinfecção: *S. mansoni* + *T. trichiura*

4.2.1. Características epidemiológicas dos trabalhadores infectados

Entre os indivíduos com esquistossomose, 33,3% (3/9) trabalham em 3 hortas pertencentes ao Distrito Sanitário de Cabula/Beiru no bairro de Pernambués. Os outros indivíduos (6/9) são divididos em duas hortas do Distrito Sanitário do Subúrbio Ferroviário no bairro de Pirajá. Todos os trabalhadores infectados eram do sexo biológico masculino, com idade média de 43,4 anos (\pm 14,5). Destes, 3 eram analfabetos (33,3%), 4 tinham o Ensino Fundamental I (44,4%) e os outros 2 tinham o Ensino Fundamental II (16,6%) (Tabela 5).

Todos os indivíduos infectados com *S. mansoni* se declararam como pardos. Em relação à cidade de nascimento, 44,4% (4/9) nasceram na cidade de Salvador, e todos viveram em média 74,2% de suas vidas na capital. Apenas um dos nove indivíduos infectados com *S. mansoni* relatou contato direto com corpos d'água naturais fora do ambiente de trabalho (11,1%). Mais da metade dos participantes (66,6% - 6/9) relataram infecção pelo parasita em algum momento de suas vidas, e apenas um relatou não ter sido tratado pela doença.

Tabela 5 – Características dos trabalhadores com esquistossomose em Salvador

	Total (N=9)	Pernambués (n=3)	Pirajá (n=6)
Característica	n (%) ou média (±DP)	n (%) ou média (±DP)	n (%) ou média (±DP)
Sexo Biológico (masculino)	9 (100,0)	3 (100,0)	6 (100,0)
Idade	43,4 anos (±14,5)	48,3 (±10,7)	41,2 (±18,9)
Escolaridade			
<i>Analfabeto</i>	3 (33,3)	3 (100,0)	0 (0,0)
<i>Ensino Fundamental I</i>	4 (44,4)	0 (0,0)	4 (66,7)
<i>Ensino Fundamental II</i>	2 (16,6)	0 (0,0)	2 (33,3)
Cor (autoreferida)			
<i>Pardo</i>	9 (100,0)	3 (100,0)	6 (100,0)
Naturais de Salvador	4 (44,4%)	0 (0,0)	4 (66,7)
% de tempo residindo em Salvador	74,2%	66,9%	82,0%
Contato com outras coleções hídricas	1 (11,1%)	0 (0,0)	1 (16,7)
Infecção prévia por SM	6 (66,6%)	0 (0,0)	6 (100,0)

Todos os indivíduos que foram positivos para a esquistossomose receberam as doses recomendadas de Praziquantel e 33,3% (3/9) desses indivíduos permaneceram eliminando ovos nas fezes trinta dias após a quimioterapia. Destes três, dois não seguiram o protocolo do tratamento e um alegou ter tomado corretamente os medicamentos. Com isso, considerando os indivíduos que realizaram a quimioterapia corretamente, a taxa de sucesso foi de 85,7% (6/7). Contudo observa-se que um participante teve uma diminuição na sua carga parasitária de 384 para 120 OPG (Tabela 6), o que pode ser um sugestivo de infecção recente. Um dos indivíduos que não tomou corretamente o medicamento também apresentou uma diminuição de 192 para 48 OPG. O terceiro não apresentou mudança na carga parasitária.

Tabela 6 - Características parasitológicas pré e pós tratamento nos períodos avaliados. Positividade descrita de forma quantitativa para Ovos Por Grama de Fezes (OPG).

ID	Período					
	Mês 0	Mês 1	Mês 3	Mês 4	Mês 6	Mês 7
1PE	192	48	24	Neg	Neg	-
2PE	240	Neg	Neg	-	Neg	-
3PE	72	Neg	Neg	-	NP	-
4PE	Neg	-	Neg	-	Neg	-
5PE	Neg	-	NP	-	NP	-
1PI	72	Neg	Neg	-	Neg	-
2PI	1872	Neg	Neg	-	NP	-
3PI	432	Neg	24	Neg	24	48
4PI	72	Neg	Neg	-	64	24
5PI	Neg	Neg	Neg	-	Neg	-
6PI	24	24	96	Neg	Neg	-
7PI	384	120	NP	-	NP	-
Média	373,3	64	48	-	44	36

Neg – Negativo no exame Kato-Katz

NP – Não Participou

PE – Pernambuco

PI – Pirajá

4.2.2 Segundo inquérito parasitológico, mês 3 e 4 (2019.2)

Nesta etapa de acompanhamento, dos 12 participantes do inquérito parasitológico inicial, 10 forneceram pelo menos uma amostra de fezes (86.3%). Nesta fase, foi observada uma prevalência de 30% (3/10) para SM com uma carga parasitária média de $48 \pm 41,6$ OPG. Destes casos positivos, observou-se um caso de reinfeção (Tabela 6). Os outros participantes não apresentaram sucesso no tratamento inicial e continuaram eliminando ovos nas fezes. Na fase de tratamento desta etapa (2019.2), todos os indivíduos que receberam o medicamento foram negativos para *Schistosoma mansoni*.

4.2.3 Terceiro inquérito parasitológico, mês 6 e 7 (2019.3)

No terceiro momento de exames, 8 dos 12 trabalhadores participaram fornecendo pelo menos uma amostra de fezes (66,6%). Nesta fase, apenas dois indivíduos apresentaram ovos de *S. mansoni* (25%) com uma carga parasitária média de $44 \pm 28,2$ OPG (Tabela 6). Os dois participantes receberam o tratamento e após a análise de eficácia do tratamento, observou-se que ambos permaneciam eliminando ovos nas fezes.

4.3 ESTRUTURA POPULACIONAL DE *S. MANSONI* DOS INDIVÍDUOS INFECTADOS

A genotipagem foi realizada com sucesso em 83,3% dos indivíduos avaliados. A taxa de sucesso média alcançada por marcador microsatélite foi de 80,9% ($\pm 13,6$). Dois marcadores (SMMS17 e SM13-478) foram retirados das análises por não atingirem o *cutoff* pré-estabelecido. Os dados genéticos indicam de forma geral que as infrapopulações parasitárias de Pirajá são mais uniformes que as de Pernambués (média D_i : $P_i=0.048$ vs $P_e=0.090$). Entre os diferentes inquéritos houve um aumento no D_i de Pernambués (0.120). Os valores de D_i nas populações parasitárias de Pirajá se mantiveram mais estáveis que as de Pernambués ($D_i P_i$: 19.1 vs $19.2=0.06$; 19.1 vs $19.3 = 0.07$; 19.2 vs $19.3 = 0.06$).

O valor de D_c entre as diferentes localidades no mesmo inquérito (2019.1) indicam um grau de diferenciação moderado ($D_c = 0.101$) (Tabela 7). Avaliando as reinfecções nas duas diferentes hortas no período de 2 meses, foi possível observar uma diferenciação moderada ($D_c = 0.122$) em Pernambués. No entanto, os trabalhadores de Pirajá, de forma geral, mostraram um grau de diferenciação relativamente menor de forma longitudinal as duas hortas, aumentando apenas no último inquérito ($D_c P_i$: 19.1 vs $19.2=0.060$; 19.1 vs $19.3 = 0.096$; 19.2 vs $19.3 = 0.110$).

Tabela 7 - Dc longitudinal nos diferentes inquéritos parasitológicos.

	Pe2019.1	Pe2019.2	Pi2019.1	Pi2019.2	Pi2019.3
Pe2019.1	-	0.122	0.101	0.082	0.093
Pe2019.2	-	-	0.116	0.106	0.044
Pi2019.1	-	-	-	0.06	0.096
Pi2019.2	-	-	-	-	0.11
Pi2019.3	-	-	-	-	-

Além disso, as amostras dos indivíduos de forma longitudinal mostraram uma baixa diferenciação entre si. A média dos valores de D encontrada foi de 0.039, indicando que os indivíduos têm uma tendência a se infectar com as mesmas populações parasitárias. Foi possível realizar a genotipagem de apenas um indivíduo que permaneceu eliminando ovos após o tratamento. Essa amostra persistente foi retirada da população pré-tratamento e o valor de D entre amostras foi de 0.037.

Observando apenas Pirajá e comparando com as genotipagens encontradas 8 anos antes, em 2011, foi possível observar graus de Di moderados e menores quando os inquéritos eram mais próximos (Di: 2011 vs 2019.1 = 0.142; 2019.1 vs 2019.2 = 0.075; 2019.2 vs 2019.3 = 0.076). O Di dentro do mesmo inquérito avaliado mostrou ser baixo (média Di = 0.053). Dc por tempo indicou uma diferenciação moderada de 0.081 entre 2011 e 2019.1 (Tabela 8). Os outros momentos indicaram diferenciações mais baixas (Dc Pi: 19.1 vs 19.2=0.040; 19.1 vs 19.3 = 0.087; 19.2 vs 19.3 = 0.064).

Tabela 8 – Dc entre os trabalhadores de Pirajá ao longo dos anos.

	2011	2019.1	2019.2	2019.3
2011	-	0.081	0.082	0.068
2019.1	-	-	0.040	0.087
2019.2	-	-	-	0.064
2019.3	-	-	-	-

Baseado no número de infrapopulações genotipadas com sucesso em cada etapa de Pirajá, temos que entre 2011 e 2019.1 houve uma retomada da quantidade total de ovos liberados pelos trabalhadores destes locais. Contudo, nas fases seguintes (2019.2 e 2019.3), após as fases de tratamento, estes valores tenderam a diminuir. Em 2011, o N_e era composto por uma população considerada infinita. Já nas etapas de 2019 observa-se uma queda acentuada neste tamanho efetivo populacional, para 1386, 517 e 149 em 2019.1, 2019.2 e 2019.3, respectivamente. O valor de m (taxa de migração), mantém-se baixo com valores entre 0,001 – 0,028 (escala de 0-1), indicando um baixo fluxo migratório (Tabela 9).

Tabela 9 – Análise das características das populações de parasitos genotipadas ao longo dos anos em Pirajá.

Ano	2011	2019.1	2019.2	2019.3
Geração	0	32	33	34
Número de infrapopulações genotipadas	7	3	2	1
Total de ovos	164208	149185	15644	6482
Total de ovos/indivíduo	20526	16576	5214	3241
N_e	infinita	1386 (687 - 34513)	517 (371 - 623)	149 (139 - 169)
m	-	0,001 (0,0001 - 1)	0,022 (0,015 - 0,033)	0,028 (0,016 - 0,041)

5. DISCUSSÃO

No Brasil, segundo o Inquérito Nacional mais recente, o país ainda se apresenta como uma localidade endêmica para esquistossomose. Esta doença ainda é vista por quase todos os estados, sendo os mais afetados os da região Nordeste e Sudoeste, com prevalências de 1,3% e 2,4% respectivamente (KATZ, 2018). Contudo, como dito anteriormente, quando analisadas algumas microáreas/microrregiões esta prevalência pode ser muito superior aos índices nacionais, como as encontradas nestes grupos de trabalhadores.

Cidades de menor desenvolvimento possuem os ambientes ideais para a disseminação e manutenção do ciclo do *Schistosoma mansoni*. Salvador, como todas as grandes metrópoles brasileiras, possui localidades que possuem baixa infraestrutura, principalmente de saneamento básico, resultantes de um crescimento desordenado proveniente de pessoas em transição demográfica de zonas rurais. Esse contexto para esquistossomose é agravado quando a presença do *Biomphalaria glabrata* positivo para eliminação da forma infectante do parasito é descrito nessas localidades (ZANARDI et al., 2019). Nas localidades de hortas em Salvador, temos um contraponto à prevalência nacional (~2%) de esquistossomose onde cerca de 25% da população de trabalhadores encontram-se infectados e este resultado é mantido ao longo dos anos. Esta prevalência pode ainda estar subestimada, visto que na primeira etapa não foi possível a coleta de mais de uma amostra por indivíduo, mesmo confeccionando duas lâminas para uma amostra de cada indivíduo para melhorar a sensibilidade do teste. Além disso, das 25 hortas que deixaram de existir de 2013 (58,1%), não foi possível coletar as amostras dos indivíduos que trabalhavam nestas localidades.

Nas duas localidades onde encontramos positividade para esquistossomose nestes trabalhadores (Pirajá e Pernambués), observou-se que o método utilizado para irrigação era proveniente de minadouros/corpos d'água naturais. Contudo, por essas regiões estarem próximas a construções irregulares e com saneamento básico precário, essas fontes de irrigação podem estar contaminadas com fezes humanas, além de possuir a presença do hospedeiro intermediário.

As características epidemiológicas e prevalências de esquistossomose (3,5-28,7%) das localidades das hortas e dos trabalhadores são muito similares às descritas em outros trabalhos (BLANTON et al., 2015; BARBOSA et al., 2016; M'BRA et al., 2018; TEFERA et al., 2020). Assim como Elas indicam também a dificuldade encontrada por esses trabalhadores agrícolas. Sexo masculino, baixo grau de escolaridade e maioria não natural de Salvador corroboram com o indicativo da importância do êxodo rural para a transmissão e manutenção da esquistossomose na área. Dado o contexto no qual o Brasil se encontra, o perfil visto entre os participantes da pesquisa os faz ter uma propensão maior a ocupar trabalhos ditos como “subempregos”. Quanto mais baixo o nível de escolaridade de um indivíduo mais distante este está de ocupar cargos no mercado de trabalho tradicional (DIOGO, 2015), restando a estes trabalhos de subexistência.

Os casos de reinfecção foram relativamente baixos, visto a exposição elevada aos locais identificados como de risco de infecção. O tempo curto entre diferentes inquéritos, falha diagnóstica, mesmo com 3 amostras em dias diferentes, e outros pontos de risco para infecção estão entre as principais hipóteses para esse resultado. De qualquer maneira, tendo em vista outros trabalhos (DEJON-AGOBÉ et al., 2019; WOLDEGERIMA et al., 2019) e a nossa experiência na própria horta de Pirajá, onde encontramos 100% de reinfecção em 2011, e dado a falta de imunidade protetora, se nenhuma intervenção pública for realizada a tendência destes indivíduos é de voltarem a se infectar.

O tratamento com praziquantel fornecido para os trabalhadores foi considerado eficiente, pois os valores de cura se mantiveram em 66,6% e 100% para o primeiro e segundo inquéritos. Taxas de sucesso similares foram encontrados em outros trabalhos, indicando que resistência ao medicamento não parece ser um problema aqui no Brasil. Os indivíduos que permaneceram eliminando ovos relataram não terem aderido ao tratamento, seja de forma completa ou parcial. O indivíduo que relatou ter aderido corretamente ao tratamento apresentou uma carga parasitária mais baixa, podendo este ter sido fruto de uma infecção extremamente recente onde o praziquantel não tem eficácia completa (LEWIS e TUCKER, 2013).

Os dados da genética populacional avaliados de forma longitudinal corroboram com a história já conhecida destes trabalhadores agrícolas. Como esperado, há uma

diferenciação moderada entre as duas localidades, dado a distância, indicando não haver um fluxo gênico. Os resultados de D_i mostram uma relativa homogeneidade entre as infecções que ocorrem nas hortas. As infecções têm uma tendência a serem locais e permanecerem ao longo do tempo. As reinfecções, no entanto, devem ser avaliadas de maneira diferente nas duas localidades. Em Pirajá, dado o tipo de plantio (agrião) ser semiaquático, e possuir famílias trabalhando nestas localidades há anos se expondo a estas condições, o risco de reinfecção parece ser maior quando se compara a Pernambués. Nesta segunda horta, apenas um momento foi possível realizar uma comparação entre os D de Jost. Houve um moderado índice de D_c (0.122) entre os dois momentos e não houve nenhum infectado no terceiro inquérito. Em Pirajá, D_c foi mais baixo quando momentos consecutivos 2019.1 e 2019.2 foram avaliados (0.06), no entanto, avaliando as duas primeiras etapas com 2019.3, os D_c s foram mais altos. Nestes momentos, onde a carga parasitária (n avaliado) decaiu de forma significativa devemos destacar a importância da deriva genética nesses dados (BLANTON, 2018). A flutuação aleatória dos alelos pode ser a explicação para essas diferenciações elevadas mais do que qualquer outro fator evolutivo.

Os dados longitudinais apenas de Pirajá iniciando em 2011 indicam uma relativa estabilidade da população parasitária. Tanto D_i quanto D_c e as taxas de migração mostram que a estrutura populacional de *S. mansoni* pouco se modificou, mesmo depois de 8 anos sem nenhuma intervenção estrutural. Resultados similares foram descritos na população de uma localidade próxima (BLANTON et al. 2015). No entanto, ao ser realizado um remodelamento estrutural com melhorias de saneamento básico, numa região próxima as hortas no bairro de Pirajá, e avaliar os mesmos indivíduos após 4 anos, um valor de D_c de 0.30 foi encontrado (SILVA et al. 2019). Mostrando então que em uma população maior e na mesma localidade a diferenciação foi alta. Com isso, os dados moleculares reforçam que as hortas possuem a capacidade de proporcionar uma manutenção mais estável da diferenciação dos parasitos do que na população geral.

Em estudos rurais, onde 5 inquéritos diferentes foram realizados, modificações na estrutura populacional parasitária começaram a ser observadas quando a partir apenas do tratamento houve uma diminuição do N_e , indicando o início de um gargalo genético (BARBOSA et al 2016). Neste trabalho, foi possível observar uma modificação da

estruturação genética com uma redução do N_e ao longo dos diferentes inquéritos o que seria favorável à eliminação do parasito nos trabalhadores. No entanto, sem intervenção de infraestrutura local com saneamento básico no entorno da água utilizada para irrigação, e dado a alta exposição e utilização da água contendo caramujos infectados minutos após o tratamento a tendência destes trabalhadores é de se reinfectarem.

Um aspecto limitante no trabalho possivelmente foi o tempo de exposição destes indivíduos entre uma coleta e outra. Esperava-se que a infecção ocorresse numa velocidade mais rápida, além de encontrar mais trabalhadores de hortas urbanas. O baixo N não dificulta fazer algumas conclusões. Em um próximo modelo de estudo, faz-se necessário analisar longitudinalmente com um intervalo temporal maior. Outra limitação é o fato de a administração do medicamento não ser de forma assistida, o que fez com que alguns não seguissem o protocolo correto em algumas etapas. A realização do tratamento só pôde ser feita desta forma, pois os trabalhadores não poderiam tomar o medicamento e voltar para as suas atividades laborais, sofrendo dos efeitos adversos do praziquantel, como náuseas e tontura, por exemplo.

6. CONCLUSÃO

Diante dos aspectos epidemiológicos, parasitológicos e moleculares, nota-se que entre os trabalhadores infectados, a esquistossomose permanece como um grande problema de saúde e social. Estes indivíduos conhecem a doença, mas por diferentes razões não conseguem modificar seus hábitos e sua forma de trabalho. Com esses resultados, há uma forte suposição de que os nichos de trabalho dentro da cidade de Salvador – BA se configurem como um risco ocupacional. Contudo, sem um inquérito das comunidades no entorno das hortas não é possível ainda afirmar com certeza.

As ferramentas de genética populacional e de biologia molecular agregaram boas informações acerca da infecção por esquistossomose nos trabalhadores avaliados. Foram utilizados um grande número de marcadores microssatélites. No entanto, o baixo número de hortas urbanas, a baixa quantidade de trabalhadores por hortas/bairros, algumas perdas de segmento, além de insucessos em algumas das amostras genotipadas, não nos permitem fazer afirmações com absoluta certeza da origem da infecção. Contudo, as evidências encontradas sugerem fortemente que estes trabalhadores se infectem nas hortifruticulturas de Salvador – BA. Estudos longitudinais futuros, devem ser conduzidos com um espaço de tempo maior entre as coletas para serem obtidos resultados um pouco mais robustos relativos a velocidade de reinfecção.

Visto que estes participantes possuem uma alta média de OPG, faz-se necessário análises de possíveis morbidades causadas por esquistossomose. Uma estratégia para o futuro seria a realização de exames de imagem por ultrassonografia para avaliação do sistema porta e condição hepática e esplênica. Trabalhos conduzidos em outras regiões semelhantes a capital da Bahia poderiam trazer mais dados comparativos para a realidade de trabalhadores de hortifruticultura e infecção por *S. mansoni*.

REFERÊNCIAS

- AUSUBEL, F.M. *et al.* **Current protocols in molecular biology**. New York, NY: Green Publishing Associates and Wiley Inter-science, 1987.
- BARBOSA, L.M. *et al.* Characteristics of the human host have little influence on which local *Schistosoma mansoni* populations are acquired. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 7, 2013.
- BARBOSA, L.M. *et al.* Repeated praziquantel treatments remodel the genetic and spatial landscape of schistosomiasis risk and transmission. **Int. J. Parasitol.**, v. 46, n. 5-6, p. 343-350, 2016
- BLANTON, R.E. *et al.* The relative contribution of immigration or local increase for persistence of urban schistosomiasis in Salvador, Bahia, Brazil. **PLoS Negl. Trop. Dis.** v. 9, n. 3, 2015.
- BLANTON, R.E. Population Genetics and Molecular Epidemiology of Eukaryotes. **Microbiol. Spectr.**, v. 6, n. 6, 2018. 10.1128/microbiolspec.AME-0002-2018.
doi:10.1128/microbiolspec.AME-0002-2018
- BOCANEGRA, C. *et al.* Epidemiology of schistosomiasis and Usefulness of indirect diagnostic tests in school-age children in Cubal, Central Angola. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, v. 9, n. 10 p. e0004055, 2015.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância da esquistossomose mansoni (diretrizes técnicas) 4ª edição**, 2014, p. 19. Disponível em:
http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_esquistossome_mansoni_diretrizes_tecnicas.pdf. Acesso em: 24 de jan. 2019.

CALASANS, T.A. S. *et al.* Socioenvironmental factors associated with *Schistosoma mansoni* infection and intermediate hosts in an urban area of northeastern Brazil. **PLoS One**, v. 13, n. 5, p. e0195519, 2018.

CHEEVER, A. W. A quantitative post-mortem study of *Schistosomiasis mansoni* in man. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 17, p. 38-64, 1968.

COELHO, P.M. *et al.* N. Use of a saline gradient for the diagnosis of schistosomiasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 720–723, 2009.

COLLEY, D.G. *et al.* Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253–2264, 2014. Disponível em: doi:10.1016/S0140-6736(13)61949-2

COPQUE, A.C.Ds.M. *et al.* Expansão urbana e redução de áreas verdes na localidade do Cabula VI Região do miolo da cidade do Salvador, Bahia. In: ANAIS XV SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO - SBSR, Curitiba, PR, Brasil, 30 de abril a 05 de maio de 2011, INPE pp. 706–713.

DATASUS. **PROGRAMA DE CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE – BAHIA**. 2014. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinan/pce/cnv/pceba.def>. Acesso em: 24 de jan. 2019.

DEJON-AGOBÉ, J.C. *et al.* *Schistosoma haematobium* infection morbidity, praziquantel effectiveness and reinfection rate among children and young adults in Gabon. **Parasites Vectors**, v. 12, p. 577, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3836-6>.

DIOGO, F. **Pobreza, emprego e escolaridade: notas sobre o caso português. Pobreza e exclusão social em Portugal: contextos, transformações e estudos**. 2015. p. 117–132.

DRESDEN, M.H.; PAYNE, D.C. A sieving method for the collection of schistosome eggs from mouse intestines. **J. Parasitol.**, v. 67, p. 450–452, 1981.

ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nat. Ver. Genet.**, v. 5, p. 435–445, 2004. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg1348>.

GOMES, E.C. S. *et al.* Schistosomiasis transmission and environmental change: a spatio-temporal analysis in Porto de Galinhas, Pernambuco--Brazil. **Int. J. Health Geogr.**, v. 11, p. 51, 2012. Published 2012 Nov 20. doi:10.1186/1476-072X-11-51.

GRYSEELS, B. *et al.* Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, p. 106–118, 2006.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. **Infect. Dis. Clin. North Am.** v. 26, n. 2, p. 383-397, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2010. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ba/salvador.html?>. Acesso em: 24 de jan. 2019.

JOST, L. *et al.* Differentiation measures for conservation genetics. **Evol. Appl.**, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/eva.12590>.

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

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Cienc. Cult.**, v.55 n.1, 2003.

KING, C.H.; DICKMAN, K.; TISCH, D.J. Reassessment of the cost of chronic helminthic infection: a meta-analysis of disability-related outcomes in endemicschistosomiasis. **Lancet.**, v. 35, n. 9470, p. 1561-1569. 2005.

LEWIS FA, TUCKER MS. Schistosomiasis. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 766, p. 47-75, 2014. Disponível em: DOI: 10.1007/978-1-4939-0915-5_3.

M'BRA, R. K. *et al.* Risk factors for schistosomiasis in an urban area in northern Côte d'Ivoire. **Infect. Dis. Poverty**, v. 7, n. 1, p. 47, 2018. doi:10.1186/s40249-018-0431-6

NACIFE, M.B.P.E.S.L. *et al.* Prevalence of schistosomiasis mansoni in indigenous Maxakali villages, Minas Gerais, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 60, p. e26, 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. OMS. 2013. Disponível em: <https://www.who.int/schistosomiasis/strategy/en/>. Acesso em: 9 dez. 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. OMS. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>. Acesso em: 29 jan. 2019.

PARAGUASSU, L. A. A. **A agricultura urbana como estratégia de sustentabilidade da cidade do Salvador, Bahia, Brasil**. 2013. Tese (Doutorado em El Medio Ambiente Natural y Humano en la CSociales). Universidad de Salamanca, USAL, Espanha.

PEREIRA J.M.P.D. Deconcentration, migration and differentials by income strata in Bahia State. **Informe GEPEC**, Toledo v. 15, n. 3, p. 546-563, 2011.

PETERSON, W.P.; VON LICHTENBERG, F. Studies on granuloma formation. IV. In vivo antigenicity of schistosome egg antigen in lung tissue. **J. Immunol.**, v. 95, p. 959-965, 1965.

SANTOS, A.D. *et al.* Spatial analysis of the prevalence of schistosomiasis in an endemic coastal area in north-eastern Brazil. **Geospat Health**, v. 12 n. 2, p. 570-2017. Disponível em: doi: 10.4081/gh.2017.570.,

SILVA, P. Contribuição para o estudo da schistomiase na Bahia. **Brasil-Médico**, v. 22, p. 281-283, 1908.

STRAUSS, E. Hepatosplenic schistosomiasis: a model for the study of portal hypertension. **Ann. Hepatol.**, p. 6-111, 2002.

TEFERA, A.; BELAY, T.; BAJIRO, M. Epidemiology of *Schistosoma mansoni* infection and associated risk factors among school children attending primary schools nearby rivers in Jimma town, an urban setting, Southwest Ethiopia. **PLoS One**, v. 15, n. 2, p. e0228007, 2020. Disponível em: doi: 10.1371/journal.pone.0228007. eCollection 2020.

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian Populations. **Genetics**, v. 16, n. 2, p. 97–159, 1931.

WANG, J.; WHITLOCK, M.C. Estimating effective population size and migration rates from genetic samples over space and time. **Genetics**, v. 163, p. 429-446, 2003.

WHITLOCK, M.C. $G'ST$ and D do not replace FST . **Mol Eco**, v. p. 1083–1091, 2011. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04996.x>.

WOLDEGERIMA, E. *et al.* prevalence and reinfection rates of *schistosoma mansoni* and praziquantel efficacy against the parasite among primary school children in Sanja Town,

Northwest Ethiopia. **J. Parasitol. Res.**, 2019:3697216. 2019. Disponível em: doi: 10.1155/2019/3697216. eCollection 2019.

YU, S.; ZHU, Y.-G.; LI, X.-D. Trace metal contamination in urban soils of China. **Sci. Total Environ.**, v. 421, p. 17-30, 2012.

ZANARDI, V.S. *et al.* Prevalence of Infection of *Biomphalaria glabrata* by *Schistosoma mansoni* and the risk of urban Schistosomiasis mansoni in Salvador, Bahia, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**. 52, e20190171. 2019. Epub Sept 05. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0171-2019>