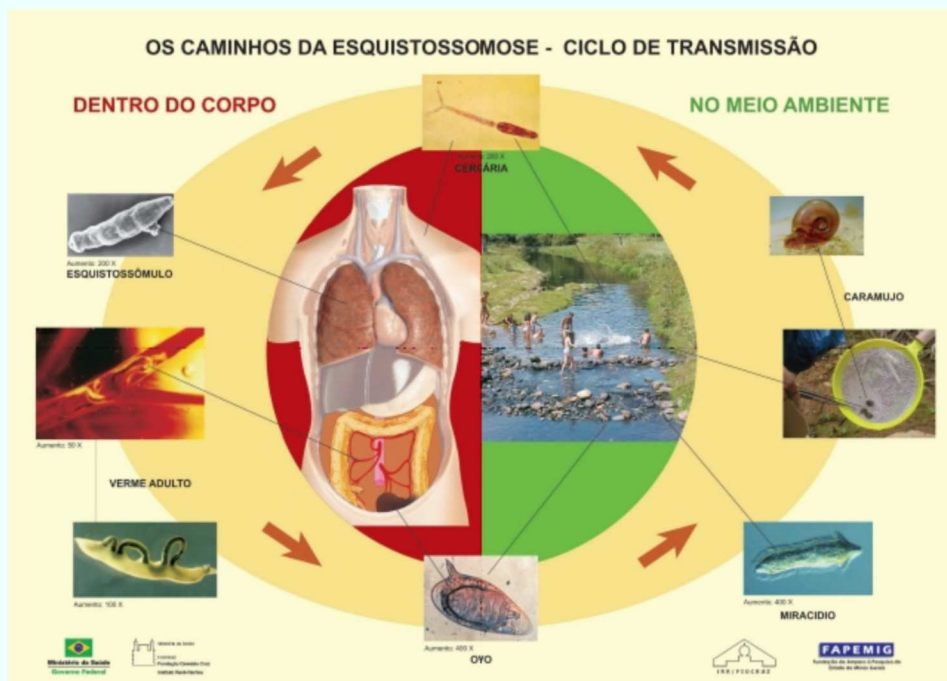


**“Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar prevalência e controle de esquistossomose em área de baixa endemicidade (Chonim de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil);recomendações de novas abordagens integradas”**



**Martin Johannes Enk**

**Ministério da Saúde  
Fundação Oswaldo Cruz  
Centro de Pesquisas René Rachou  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**

**“Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar prevalência e controle de esquistossomose em área de baixa endemicidade (Chonim de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil); recomendações de novas abordagens integradas”**

**por**

**Martin Johannes Enk**

**Tese apresentada com vistas à obtenção do Título de Doutor em Ciências na área de Doenças Infecciosas e Parasitárias**

**Orientação: Prof. Dr. Paulo Marcos Zech Coelho**

**Co-orientação: Profa. Dra. Virginia Torres Schall**

**Belo Horizonte**

**Junho/2007**

Catálogo-na-fonte  
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ  
Biblioteca do CPqRR  
Segemar Oliveira Magalhães CRB/6 1975

E56a  
2007

Enk, Martin Johannes.

Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar prevalência e controle de esquistossomose em área de baixa endemicidade (Chonim de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil); recomendações de novas abordagens integradas

Enk, Martin Johannes. – Belo Horizonte, 2007.

XII, 85 f. il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f. 75 - 85

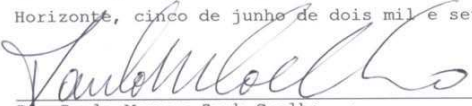
Tese (doutorado) – Tese para obtenção do título de Doutor em Ciências pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

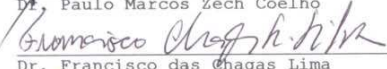
1. *Schistosoma mansoni* 2. baixa prevalência 3. diagnóstico  
4. Educação em Saúde I. Título. II. Coelho, Paulo Marcos Zech (Orientação). III. Schall, Virginia Torres (Co-orientação)

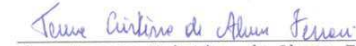
CDD – 22. ed. – 614.553

**Ata da quarta defesa de tese de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, do aluno Martin Johannes Enk, sob a orientação do Dr. Paulo Marcos Zech Coelho e co-orientação da Dra. Virginia Torres Schall**

Aos cinco dias do mês de junho do ano de dois mil e sete, às quatorze horas, realizou-se no auditório do Centro de Pesquisa René Rachou, o exame da quarta tese de Doutorado, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou/FIOCRUZ, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências - área de concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias. A tese do aluno Martin Johannes Enk intitula-se "Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar prevalência e controle de esquistossomose em área de baixa endemicidade (Chonim de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil); recomendações de novas abordagens integradas". A banca examinadora foi constituída pelos professores: Dr. Paulo Marcos Zech Coelho - CPqRR/Fiocruz (orientador e presidente da banca), Dr. Francisco das Chagas Lima - Santa Casa de Misericórdia/BH (membro titular), Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari - UFMG (membro titular), Dr. José Rodrigues Coura - IOC/Fiocruz (membro titular), Dr. Rodrigo Corrêa Oliveira - CPqRR/FIOCRUZ (membro titular) e Dra. Celina Maria Modena - CPqRR/Fiocruz (suplente). Após arguir o aluno e considerar se o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização na apresentação dos dados, a Banca Examinadora assim se pronunciou: De acordo com o regulamento do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, o aluno foi considerado Aprovado. Uma vez encerrado o exame, eu, Paulo Marcos Zech Coelho, presidente da Banca, assino a presente ata juntamente com os membros da Banca Examinadora. Belo Horizonte, cinco de junho de dois mil e sete.

  
Dr. Paulo Marcos Zech Coelho

  
Dr. Francisco das Chagas Lima

  
Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

  
Dr. José Rodrigues Coura

  
Dr. Rodrigo Corrêa Oliveira

*A minha família, Beth, Markus e Theresa,  
pelos momentos de ausência e  
pela compreensão durante a realização deste trabalho*

*“E não vae demorar que passemos adiante,  
mais aperfeiçoando o methodo, corrigindo  
falhas, eliminando aberturas, e melhor  
attendendo, então, no apuro do estudo da  
experiência, na lógica e no determinismo do  
raciocínio inductivo, o alto escopo de uma  
grande sciencia, de uma grande e bella  
sciencia, que se faz arte na defesa da vida.”*

*Carlos Chagas  
Lição de abertura dos cursos da Faculdade de  
Medicina do Rio de Janeiro – 1928\**

(\*) Carlos Chagas: Colatânea de trabalhos científicos. Brasília. Editora Universidade de Brasília. 1981.

## **Agradecimentos**

Durante o tempo de desenvolvimento deste projeto muitas pessoas o tornaram possível.

A todas meu muito obrigado.

Dentre elas quero destacar a meu orientador, amigo e professor Dr. Paulo Marcos Zech Coelho, por abrir portas para que eu pudesse aprofundar em um mundo novo e pela palavra sempre amiga na hora certa.

A professora Dra. Virginia Schall, co-orientadora, pela disponibilidade e pelos incentivos de forma constante e motivadora.

O Dr. Cristiano Lara Massara, amigo que aprendi a respeitar, pelas lições de vida, seja no campo ou no laboratório e pelo bom humor nas situações difíceis no trabalho, além do suporte lingüístico, especialmente no início do meu ingresso na instituição e na elaboração da tese.

A turma do Laboratório de Esquistossomose (LESQ), do Laboratório de Educação em Saúde (LABES) e do Laboratório de Helmintoses Intestinais (LAHEI), por me suportar em todas as fases do desenvolvimento deste projeto.

Aos biólogos e grandes amigos Héilton da Silva Barros, Paula Cristina Marques Cardoso, pela disponibilidade e pela valiosa ajuda na coleta dos dados e Ronaldo Scholte Carvalho pela elaboração do questionário eletrônico, que facilitou a coleta de dados.

A bioestatística Anna Carolina Lustosa Lima pelas inúmeras sessões na análise dos dados e pelas sugestões para apresentação deles.

A diretoria do Centro de Pesquisas René Rachou, nas pessoas do seu ex diretor Dr. Roberto Sena Rocha e atual diretor Dr. Álvaro Romanha, pelas facilidades proporcionadas e pelo apoio logístico.

O Áureo Almeida de Oliveira, amigo e companheiro de campo, pela permanência tranqüila por tanto tempo na área, recolhendo dados e pela leitura das lâminas.

A bióloga Vanessa Borges e os técnicos da Secretaria de Estado da Saúde para leitura de laminae

As amigas do Moluscário do Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR), pelo exame e infecção dos moluscos e agradável convivência.

A Sandra Costa Drummond, da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES-MG), pelas facilidades proporcionadas no suporte com recursos humanos e rapidez no fornecimento dos medicamentos.

A Diretoria de Ações Descentralizadas (Dads) de Governador Valadares, pelas informações valiosas sobre a área na fase inicial do projeto, pela permanente colaboração durante a fase do trabalho de campo, fornecendo excelentes técnicos para a confecção de lâminas e o para o levantamento malacológico.

A Secretaria de Saúde da Prefeitura de Governador Valadares, pelas facilidades concedidas no transporte na área de estudo, particularmente os motoristas, que se disponibilizarão a acompanhar a nossa equipe durante a fase de trabalho no campo, abrindo mão dos seus momentos de lazer.

Ao Geraldo da Piedade de Paula, agente de saúde e chefe da equipe do Programa de Agentes Comunitários de Saúde (Pacs) de Chonim de Cima e os demais colegas dele, por suas valiosas contribuições durante o trabalho no campo, alegria contagiante e pelas conversas até tarde após o trabalho de campo pesado, tornando nossa permanência na área tão agradável.

A Maria de Fatima Lima de Paula, diretora da Escola Estadual Marçal Ciriaco da Siva, envolvida no trabalho pela disponibilidade em nos receber quando chegávamos, muitas vezes em horas inoportunas, e pelas facilidades concedidas para a realização deste trabalho.

Aos alunos e professores das escolas, por tão bem ter percebido o valor do nosso trabalho e colaborado em todas as fases do projeto.

A toda a população de Chonim de Cima, por ter acolhido de forma tão calorosa a nossa equipe.

A Fiocruz, FUNDEP, FAPEMIG, CNPq e do SUS-Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte pelo financiamento.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.



Este trabalho foi realizado nos Laboratórios de Esquistossomose e de Educação em Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz, sob a orientação do Dr. Paulo Marcos Zech Coelho e co-orientação da Dra. Virginia Schall, com suporte financeiro da Fiocruz, FUNDEP, FAPEMIG, CNPq e do SUS-Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte.

## SUMÁRIO

<b>I. Resumo</b> .....	01
<b>II. Abstract</b> .....	03
<b>III. Apresentação</b> .....	05
<b>IV. Introdução</b> .....	09
4.1 Histórico e dispersão espacial .....	10
4.2 Ações e estratégias para prevenção e controle da esquistossomose .....	12
<b>V. Objetivo</b> .....	15
5.1 Objetivo geral .....	16
5.2 Objetivos específicos .....	16
<b>VI. Fundamentação teórica</b> .....	17
6.1 Diagnóstico .....	18
6.1.1 Categorias dos métodos de diagnóstico da esquistossomose .....	18
6.1.2 Técnicas coproscópicas quantitativas e qualitativas .....	19
6.1.3 Sensibilidade, especificidade e valor preditivo .....	20
6.1.4 Intensidade da infecção e contagem de ovos .....	23
6.1.5 Aplicação dos métodos parasitológicos para o diagnóstico individual e populacional .....	24
6.1.6 Técnicas Parasitológicas .....	25
6.1.7 Técnicas imunológicas .....	28
6.1.8 Técnica da PCR .....	29
6.2 Tratamento .....	30
6.3 Saneamento Básico .....	32
6.4 Educação em Saúde .....	33
6.5 Métodos e estratégias para a avaliação da prevalência da esquistossomose – a necessidade de novas alternativas .....	38
<b>VII. Métodos</b> .....	41
7.1 Escolha da área de estudo .....	42
7.2 Descrição da área de estudo .....	42
7.3 Exame parasitológico de fezes da população .....	43
7.4 Tratamento dos positivos .....	44
7.5 População escolar estudada .....	44
7.6 Entrevistas com as famílias .....	45
7.7 Inquérito malacológico .....	45
7.8 Educação em Saúde .....	45
7.8.1 Ações de atualização dos conhecimentos .....	46
7.8.2 Desenvolvimento de material educativo (Cartilhas sobre esquistossomose) .....	47
7.9 Aspectos éticos da pesquisa .....	48
7.10 Análise dos dados .....	49
7.10.1 Análise univariada .....	49
7.10.2 Análise multivariada .....	49

<b>VIII. Artigos</b> .....	50
8.1 Progress towards the detection of schistosomiasis (publicado) .....	
8.2 Factors related to transmission and infection with <i>Schistosoma mansoni</i> in a village in the south eastern region of Brazil (em conclusão para submissão).....	
8.3 The impact of the number of stool samples on the prevalence, the infection intensity and the distribution of the infection with <i>Schistosoma mansoni</i> among a population in an area of low transmission (submetido) .....	
8.4 A combined strategy to improve the control of schistosomiasis in areas of low prevalence (aceito) ) .....	
<b>IX. Discussão</b> .....	51
<b>X. Considerações finais</b> .....	61
<b>XI. Anexos</b> .....	64
Anexo 1 Mapa da área de estudo .....	65
Anexo 2 Consentimento livre e esclarecido .....	66
Anexo 3 Questionário .....	68
Anexo 4 Material educativo .....	71
Anexo 5 Cartilhas .....	74
<b>XII. Referências</b> .....	75

## Lista de figuras

Figura 1 - Categorias de métodos diagnósticos da esquistossomose mansoni	19
Figura 2 - Dados qualitativos <i>versus</i> quantitativos obtidos através do diagnóstico coproscópico. ....	20
Figura 3 - Quatro possíveis categorias de doenças definidas através de método diagnóstico. ....	21
Figura 4 - Valores preditivos de um teste diagnóstico . ....	23
Figura 5 – Fluxograma dos exames realizados na população . ....	44

## **I. Resumo**

A situação da esquistossomose no Brasil tem mudado nos últimos anos, ocorrendo decréscimo de altas prevalências e de formas graves, ampliação da área geográfica e transmissão associada a mudanças sócio-ambientais. Apesar do aumento do conhecimento sobre a doença os avanços no diagnóstico não são satisfatórios. Esta situação se reflete na eficácia dos programas de controle em áreas de baixa endemicidade, tornando-se um dos mais importantes desafios de saúde pública, exigindo estratégias inovadoras e mais eficazes. A sede do distrito de Chonim de Cima em Governador Valadares, Minas Gerais, com prevalência estimada de 10% com as técnicas usuais, uma população estável e de tamanho adequado para o objetivo do estudo, foi escolhida para avaliar novas abordagens na identificação dos positivos e elaborar alternativas de implantação de ações integradas de controle da doença. Um levantamento malacológico nas principais coleções hídricas da região possibilitou notificar a presença das três espécies de moluscos transmissores. Dados sócio-demográficos da população permitiram identificar os fatores de risco, atitudes e comportamentos relacionados à doença, sendo significativos: gênero, faixa etária, escolaridade, ocupação, e especialmente, o lazer (nadar e pescar) e práticas agrícolas. Também a locomoção no ambiente, que requer a travessia de córregos, coloca as pessoas em contato permanente com locais de risco. Em relação ao diagnóstico, analisou-se o impacto do aumento de número de amostras de fezes e de número de lâminas examinadas pelo método Kato Katz na prevalência e na intensidade da infecção por *S. mansoni*. Verificou-se que a prevalência de 13,8, obtida com uma lâmina de uma única amostra, aumenta para 27,2%, com 10 lâminas em três amostras, e chega a 35,4 %, pela combinação de exames denominada “padrão ouro”. A hipótese de que o escolar positivo é um indicador de portadores da doença em suas famílias foi estatisticamente validada. Essa confirmação, associada a um número diferente de amostras e de lâminas analisadas para quatro sub-populações, permitiu propor uma nova estratégia para estimativa de prevalência e controle da doença, válida para uma comunidade inteira, superior em custo e benefício, quando comparada ao padrão que vem sendo oficialmente utilizado no país até então. Esta estratégia combinada alcança uma proporção de positivos para o tratamento, similar àquela obtida com seis lâminas de três amostras, mas utilizando três vezes menos o número de lâminas. O desenvolvimento de duas cartilhas, em linguagem simples e com imagens que poderão ser utilizadas pelos profissionais com a população, aborda, além dos aspectos biomédicos da verminose, os conteúdos sociais envolvidos na transmissão e manutenção da doença, para estimular encontros educativos, nos quais, o saber popular possa ser compartilhado com o conhecimento científico, iniciando e incentivando um diálogo permanente que deve transcender a informação e levar a reflexão, importante para o controle sustentável na localidade.

## **II. Abstract**

The situation of schistosomiasis in Brazil has been changing during the last years, showing a decrease of prevalence and severe chronic forms of the disease, an increase of geographical expansion and new ways of transmission. In spite of the growing knowledge about the disease, the progress in the development of diagnostic tools is not satisfactory. This situation is reflected in the effectiveness of control programs in areas of low prevalence, becoming one of the most important challenges of public health, demanding innovative and more effective strategies. The village Chonim de Cima situated in the municipality of Governador Valadares, Minas Gerais, with an estimated prevalence of 10%, a stable population and an appropriate size for the study's objective, was chosen to evaluate new approaches in the identification of schistosomiasis positives and to elaborate alternatives for the implantation of integrated actions in the control of the disease. A malacological survey of the main water collections of the area revealed the presence of the three species of mollusks, which transmit the disease. Socio-demographic data of the population allowed to identify risk factors, attitudes and behavior related to the disease. Gender, age group, education, occupation, agricultural practices and especially leisure activities (to swim and to fish) showed a significant relation to infection with schistosomiasis. Also barefoot the crossing of brooks puts people in permanent contact with locations of risk to acquire the infection. In relation to diagnosis of *S. mansoni*, the impact of an increasing sampling effort (number of samples and slides examined according to the Kato Katz technique) on prevalence and infection intensity was analyzed. It could be verified that the prevalence increased from 13,8%, obtained with a slide of single sample, to 27,2% with 10 smears of three samples, and reaches 35,4%, for the combination of exams denominated " gold standard". The hypothesis that the positive scholar is an indicator of schistosomiasis positives among members of the same household was statistically evaluated and confirmed. That confirmation, associated to a different sampling effort analyzed for each of four sub-populations, allowed to propose a new strategy for prevalence estimates and disease control, valid for a whole community, superior in the cost-benefit relation, when compared to the approach currently used in the country. This combined strategy reaches a proportion of positive for the treatment, similar to that obtained with six slides of three samples, but needs a three times smaller number of slides. The development of two leaflets, in simple language and with images that can be used by professionals for teaching the population, deals, besides the biomedical aspects of schistosomiasis, with social contents involved in the transmission and maintenance of the disease. It intends to stimulate educational encounters, during which, popular knowledge can be shared with scientific, beginning and motivating a permanent dialogue that should transcend the information and take to reflection, which is important for maintainable control in the area.



### **III. Apresentação**

A pesquisa “Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar a prevalência e o controle da esquistossomose em área de baixa endemicidade, (Chonin de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil); recomendação de novas abordagens integradas” foi originada a partir das observações da necessidade de desenvolvimento de medidas e indicadores mais efetivas de prevalência e de estratégias integradas nos programas de controle em áreas de baixa endemicidade.

O projeto, desenvolvido durante os anos de 2005 e 2006, recebeu apoio financeiro da FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais) da Fiocruz (Fundação Oswaldo Cruz), do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e Sistema Único de Saúde (SUS).

A tese está sendo apresentada sob a forma de coletânea de artigos, segundo as Normas Regimentais da Pós Graduação do Centro de Pesquisas René Rachou. Para tanto foram elaborados quatro artigos e duas cartilhas, sendo que um deles já está publicado, um outro aceito, um enviado e um em fase de preparação para publicação. Os artigos completos encontram-se no corpo da Tese. Os artigos são apresentados após uma breve fundamentação teórica e revisão bibliográfica do estudo. As cartilhas estão em processo de impressão e uma copia de cada está anexada ao trabalho.

Segue-se breve apresentação de cada um artigo e das cartilhas:

1. **Rabello A, Enk MJ.** 2007 Progress towards the detection of schistosomiasis *Report of the scientific working group on schistosomiasis: 67-71*,www.who.int/tdr/swg/07

Este trabalho reforça a necessidade urgente de criar modelos e cooperações público-privadas para pesquisa, desenvolvimento e disponibilização de produtos simples, com preço acessível e alta sensibilidade para um diagnóstico da esquistossomose. Enfatiza o desenvolvimento de ferramentas mais eficazes para detecção de esquistossomose em se tratando de controle em áreas de baixa prevalência, avaliação de taxa de cura e resistência a drogas e ensaios clínicos para candidatos a vacina e a novas drogas.

2. **Enk MJ, Lustosa Lima AC, Barros HS, Massara CL, Coelho PMZ, Schall VT.** Factors related to transmission and infection with *Schistosoma mansoni* in a village in the south eastern region of Brazil **(em conclusão para submissão)**

Neste artigo buscou-se identificar os fatores associados a esquistossomose, ocasião em que um levantamento da prevalência foi feito entre a população de 1061 indivíduos caracterizando-se as condições demográficas, sócio econômicas e os motivos de contato com água. Foram identificados fatores relacionados com a endemia como gênero, faixa etária escolaridade e ocupação. Além disso, especialmente o lazer (nadar e pescar) e práticas agrícolas, bem como, a própria locomoção no ambiente, que requer a travessia de córregos, colocam as pessoas em contato permanente com locais de risco.

3. **Enk MJ, Lustosa Lima AC, Drummond SC, Schall VT, Coelho PMZ** The impact of the number of stool samples on the prevalence, the infection intensity and the distribution of the infection with *Schistosoma mansoni* among a population in an area of low transmission *Acta tropica* **(submetido)**

Aqui é apresentado o impacto do aumento de número de amostras de fezes e de número de lâminas examinadas pelo método Kato Katz na prevalência e na intensidade da infecção por *S. mansoni* em uma área considerada de baixa endemicidade. Observou-se um aumento na prevalência de 13,8% com uma lâmina de uma única amostra, que é usado nos programas de controle da esquistossomose em Minas Gerais, para 27,2% baseado em 10 lâminas em três amostras, até 35,4 % como valor de “padrão ouro”, que teve o acréscimo do exame de 0,5 gramas de fezes pelo método de formol éter. Nossos dados demonstram que a prevalência obtida com uma lâmina de uma única amostra está significativamente subestimada. Isso aplica especialmente para áreas de baixa endemicidade, onde a eficácia e o custo-benefício do controle da endemia são questionáveis. Os resultados indicam que enquanto não houver um método de diagnóstico mais eficaz, um caminho para solucionar esse problema é o tratamento em massa dos grupos alvos, como as faixas etárias de maior positividade.

4. **Enk MJ, Lustosa Lima AC, Massara CL, Coelho PMZ, Schall VT.** A combined strategy to improve the control of *Schistosoma mansoni* in areas of low prevalence in Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **(aceito)**

Este artigo mostra que os resultados de exames de fezes para *S. mansoni* entre os escolares em uma área de baixa prevalência podem ser utilizados como indicador de indivíduos positivos que moram na mesma residência. Baseado na confirmação deste fato e em combinação com

um número diferente de amostras e de lâminas entre quatro sub-populações – escolar, membros de casas com escolar positivo, membros de casas com escolar negativo e residências sem escolar – uma proposta para uma nova estratégia foi desenvolvida, válida para uma comunidade inteira. Esta estratégia combinada alcança uma proporção de positivos para o tratamento similar àquela obtida com seis lâminas de três amostras, mas utilizando três vezes menos o número de lâminas. Este estudo indica que a eficácia de programas de controle da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade pode ser aumentada significativamente, combinando dados epidemiológicos destas áreas com uma abordagem alternativa durante o processo de levantamento.

## 5. Cartilhas

Estas cartilhas representam o resultado de um trabalho multidisciplinar do Laboratório de Educação em Saúde, Laboratório de Esquistossomose e Laboratório de Helmintoses Intestinais. A elaboração delas foi baseada em experiências da equipe no campo desde 2000 e na demanda dos profissionais da área de educação e da saúde, bem como das comunidades em geral.

Trata-se de uma abordagem em linguagem simples e com imagens que poderão ser utilizadas pelos profissionais com a população. Além dos aspectos biomédicos da esquistossomose, os aspectos sociais envolvidos na transmissão e manutenção da doença são abordados. As cartilhas têm como objetivo o estímulo para encontros educativos, nos quais, o saber popular possa ser compartilhado com o conhecimento científico, iniciando e incentivando um diálogo permanente que deve transcender a informação e levar a reflexão sobre as relações entre saúde e desenvolvimento socioeconômico e cultural, políticas e públicas e direitos dos cidadãos.

As cartilhas encontram-se nos anexos (anexo 5).



#### **IV. Introdução**

#### 4.1 - Histórico e dispersão espacial

Admite-se hoje, quase sem exceção, que a esquistossomose mansoni originou-se na África (Paraense 1959).

No Brasil, a endemia surgiu provavelmente associada ao tráfico de escravos durante o período colonial nas regiões do Nordeste. A ocorrência de moluscos potenciais transmissores da infecção, hospedeiros humanos susceptíveis, inexistência de saneamento básico, temperaturas anuais altas e uma vasta coleção hídrica (ribeirões, córregos, valas de irrigação, etc.), nestas regiões propiciaram a implementação da endemia e assim a doença não encontrou obstáculos para a sua instalação e expansão.

A dispersão da esquistossomose mansoni em Minas Gerais se deu, provavelmente, no início do século XVIII com a migração em larga escala de escravos, durante o ciclo do ouro e do diamante. A urgente necessidade de braços para a mineração levou para este estado a escravatura proveniente do nordeste do país, que, aliás, já estava conhecendo o declínio da produção açucareira e, por isso mesmo, prescindia de escravos. Na primeira metade do século XVIII, cerca de 1/5 da população do Brasil migrou para Minas Gerais e com ela, a parasitose (Carvalho et al. 1987).

Os primeiros relatos da doença foram feitos por Silva (1908 a,b,c). Em três artigos publicados no *Brazil-Médico*, o autor apresentou o resultado de seus estudos, relacionando 20 casos de esquistossomose, observados na Bahia. Os estudos de Pirajá da Silva constituíram uma das contribuições mais importantes para a demonstração do *Schistosoma mansoni* como uma espécie válida. Talvez por lhe faltar material africano desta espécie para estudos comparativos, exprimiu certa dúvida quanto a identidade entre as formas africana e americana, chegando mesmo a sugerir para esta última um novo nome: *S. americanum*. Entretanto em todos os seus trabalhos usou o nome de *S. mansoni* para o parasito que estudava no Brasil. Em seus relatos, descreve que todos os ovos observados nas fezes dos pacientes tinham espícula lateral.

Hoje a esquistossomose é encontrada numa faixa contínua que se estende do Rio Grande do Norte até o norte de Minas Gerais, e em vários focos isolados pelo país, inclusive no Rio Grande do Sul (Carvalho et al. 1998).

Atualmente, a distribuição da esquistossomose mansoni no Estado de Minas Gerais não é regular, intercalando áreas de maior prevalência com outras, onde a transmissão é baixa ou nula (Carvalho et al. 1987). Dos 853 municípios do Estado, 519

já notificaram a endemia, com um número estimado de 1.000.000 de pessoas infectadas vivendo em uma área de 300.000 Km<sup>2</sup> (Katz 1998).

Em 1983, com a implantação do Programa de Controle da Esquistossomose no Estado de Minas Gerais, através da Secretaria de Saúde do Estado, a doença foi incorporada ao sistema de notificação compulsória (Katz 1986a e b).

Hoje, entre as doenças parasitárias que afetam o homem a esquistossomose mansoni é endêmica em cinquenta e dois países da América do Sul, do Caribe, da África e da região oriental do Mediterrâneo (Chitsulo et al. 2000; Steinmann et al. 2006). É uma das endemias que apresenta maior distribuição espacial e constitui um dos mais importantes problemas de saúde pública em algumas regiões tropicais e subtropicais (Katz & Peixoto 2000; King et al. 2005). Esta situação não mudou desde a última reunião do Comitê de Especialistas da OMS em 1984, apesar do sucesso dos programas de controle. Isso se deve ao contínuo e desordenado crescimento da população nos países em desenvolvimento, resultando em desigualdade social que relega grande parte da população a moradia precária, falta de saneamento básico e ausência de estruturas de lazer, bem como ao desconhecimento por parte das pessoas das formas de transmissão e das medidas de prevenção.

Do início do século passado, quando da descrição da doença no Brasil, até aproximadamente meados da década de 50, a maioria dos estudos realizados sobre a doença dizia respeito basicamente à localização de áreas de ocorrência e a procedência dos doentes, construindo resultados que se mostravam parciais. Frente a carência de dados, Pellon & Teixeira (1950) partiram para a realização de um inquérito que elucidasse a verdadeira incidência das helmintoses que representavam problemas para o país. Estes pesquisadores estavam determinados a colaborar com o Departamento Nacional de Saúde, que na administração do higienista Prof. Barros Barreto iniciava campanhas de profilaxia. Assim em agosto de 1950, por intermédio da Divisão de Organização Sanitária, publicaram o mais completo inquérito de distribuição da esquistossomose mansoni no Brasil. Este levantamento foi realizado pela Divisão de Organização Sanitária, do Ministério da Educação e Saúde em escolares de 7 a 14 anos de idade, de 11 estados brasileiros, através do exame parasitológico de fezes pela técnica de sedimentação. Foram realizados 440.786 exames, obtendo-se prevalência média de 10,09% para todo o país. Os autores estimaram em 2,6 milhões o número total de casos de esquistossomose nos estados pesquisados (Pellon & Teixeira 1950).

Katz & Peixoto (2000), utilizando dados da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), e do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estimaram que no Brasil existiam 7,1 milhões de esquistossomóticos em 96 e 6,3 milhões em 1997. Ressaltaram a necessidade da realização de um novo inquérito nacional de prevalência, onde as amostras sejam representativas das populações dos estados brasileiros, mostrando assim a real situação dessa helmintose no país.

Ainda hoje, apesar dos avanços do conhecimento, a esquistossomose continua sendo um importante problema de saúde pública no país. O emprego da quimioterapia em larga escala representou a mais importante medida para a redução das formas graves da endemia. Contudo, a doença aumentou sua distribuição geográfica, torna-se, portanto urgente, maior investimentos em ações de prevenção, como melhoria do saneamento básico e educação em saúde, além de mais estudos que permitam desenvolver metodologias que aumentem a sensibilidade dos métodos de diagnóstico, visando ao controle e vigilância, principalmente em áreas de média e baixa prevalência e em novos focos notificados.

#### **4.2 - Ações e estratégias para prevenção e controle de esquistossomose.**

As estratégias de controle da esquistossomose devem ser planejadas observando-se as particularidades de cada área endêmica, de acordo com seus objetivos, recursos e capacidades, respeitando diferenças nos níveis local, regional e nacional (OMS 1994).

No Brasil, diversos trabalhos usando-se diversas medidas, isoladas ou associadas, têm sido realizados para o controle desta parasitose, os quais incluem a quimioterapia (Favre 1999, Pieri et al. 1998), a aplicação de moluscicidas naturais, (Schall et al. 1998, Baptista et al. 1997, Souza 1995, Baptista et al. 1994, Lopes et al. 1988, Souza et al. 1987, Pereira et al. 1978), ou sintéticos (Teles et al. 2002a), a Educação em Saúde (Gazzinelli et al. 2002, Gazzinelli et al. 1998, Gomes dos Santos et al. 1993, Gomes dos Santos et al. 1996, Schall 1989, 1994, 1995, 1996, 1997a e b, 1998, Schall et al. 1993), o saneamento básico (Teles et al. 2002b, Dias et al. 1992, Coura Filho 1998) e ações envolvendo a participação ativa da comunidade (Massara & Schall 2004, Coura-Filho 1998, Barbosa 1996).

Os resultados, muitas vezes, são animadores, embora circunscritos às áreas pesquisadas e de curta duração, faltando sustentabilidade aos programas. É comum não



haver interação de medidas como o tratamento, o saneamento básico, mudanças sociais e implantação de programas de Educação em Saúde, simultaneamente, o que poderia propiciar melhores condições de vida e compreensão nas populações afetadas.

Segundo recomendações do Programa Nacional de Controle da Esquistossomose (Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério de Saúde), hoje são considerados relevantes dois tipos de controle: o da morbidade e o da transmissão.

O **controle da morbidade** (controle da doença) implica na redução da gravidade, prevenindo o aparecimento da forma hepatoesplênica que pode ser conseguido somente através do tratamento específico como relatado primeiramente por Kloetzel (1963) e reafirmado por Katz (1986a).

De fato, segundo Bina (1992), o tratamento específico da esquistossomose constitui aspecto da mais alta importância, passando a quimioterapia a ter relevância no controle da morbidade. Sob este aspecto, o tratamento não representa apenas a possibilidade de cura parasitológica dos pacientes, mas, sobretudo, uma arma capaz de prevenir e/ou reverter as formas graves da doença. Em contraste com as formas crônicas assintomáticas da esquistossomose, a forma hepatoesplênica apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade. A gravidade desta forma clínica, ao lado das dificuldades na aplicação de medidas de controle a longo prazo, justifica o significativo papel da terapêutica específica como uma ferramenta importante no controle da morbidade da esquistossomose.

Já o **controle da transmissão** significa uma redução da infecção humana e do caramujo, visando interromper o ciclo evolutivo do parasito, para o qual o tratamento por si só é insuficiente (Katz 1986a).

Este controle é possível de ser feito, a um custo financeiro muito alto, embora careçam de modelos com alternativas mais econômicas e ágeis. De fato, países que encararam o problema da esquistossomose em toda a sua extensão conseguiram bons resultados, como por exemplo, a República da China, o Japão, Porto Rico, Venezuela e Santa Lúcia, no Caribe (Katz 1986a), Moçambique (Rey 1978) e Tunísia (Rey 1982).

No Brasil, alguns estudos nas últimas décadas visaram desenvolver e avaliar ações de controle. Os trabalhos de Barbosa et al. (1971) e Coura-Filho et al. (1992, 1995) demonstram a eficácia destes programas quando em ações combinadas, de tratamento, aplicação de moluscicida, fornecimento de água tratada a população, saneamento básico

e educação conseguiram reduzir os índices de prevalência da endemia e em algumas áreas.

## **V. Objetivo**

**5.1 - Objetivo geral:**

Este trabalho tem por objetivo geral avaliar a infecção por *S. mansoni* em uma população de área considerada de baixa endemicidade enfocando a) uma análise crítica de medidas e indicadores da prevalência da doença e b) ações de Informação em Saúde para o controle integrado da esquistossomose.

**5.2 - Objetivos específicos:**

- a) Investigar a variabilidade da prevalência para esquistossomose em relação ao número das amostras e lâminas examinadas pelo método Kato Katz.
- b) Avaliar a validade do inquérito escolar em identificar grupos de risco para a transmissão da esquistossomose
- c) Desenvolver uma estratégia para aumentar a eficácia na identificação de positivos em área consideradas de baixa prevalência
- d) Descrever os fatores associados á esquistossomose na localidade, como variáveis socioeconômicos e ambientais, padrões de contato com água da população estudada e presença e índice de infecção por *S. mansoni* de *Biomphalaria* sp., hospedeiros intermediárias.
- e) Avaliar a infecção com geohelmintos na população estudada.
- f) Realizar atividades informativas sobre a esquistossomose e outras verminoses para os escolares, professores, profissionais de saúde e a comunidade, e desenvolver material educativo (cartilhas sobre a esquistossomose).

## **VI. Fundamentação teórica**

## 6.1 - Diagnóstico

A sensibilidade e a especificidade dos métodos do diagnóstico da esquistossomose são pontos cruciais em todos os aspectos da doença. A estimativa do prognóstico, a avaliação da morbidade e da eficácia de drogas, a decisão no tratamento individual ou em massa e medidas de controle, dependem dos resultados destes testes. De acordo com a informação desejada, existem vários métodos diagnósticos. Infelizmente todos eles apresentam problemas ligados a sensibilidade ou especificidade. A técnica ideal, que combine altas taxas de sensibilidade e de especificidade com baixo custo e fácil aplicabilidade, inclusive no campo, ainda não foi encontrada.

### 6.1.1. Categorias dos métodos de diagnóstico da esquistossomose

O diagnóstico da esquistossomose envolve uma série de categorias de métodos que podem ser classificados como:

**Métodos diretos:** detectam ovos de *S. mansoni* nas fezes ou na mucosa retal.

**Métodos indiretos:** dependem de marcadores clínicos, bioquímicos ou imunológicos para detectar alterações ou patologias que estão associados à infecção. Estes métodos incluem a avaliação clínica, exames complementares laboratoriais e por imagem e exames imunológicos que visam a detecção de anticorpos.

**Métodos intermediários:** identificam matéria prima parasitária. Eles são considerados quase métodos diretos porque buscam a detecção de antígenos ou ácidos nucleicos do parasito. A razão desta proposta de classificação se fundamenta no fato de que os métodos intermediários, apesar de sua notável especificidade e sensibilidade são complexos e com várias etapas metodológicas que podem apresentar falhas para se inferir a presença do material parasitário, diferentemente da visualização de uma estrutura parasitária no microscópio ótico. Assim, os exames imunológicos que visam a detecção de antígenos e ácidos nucleicos do parasita representam este grupo proposto (Figura 1).

Categoria	Método		Identificação de
Diagnóstico clínico indireto	Avaliação clínica	Anamnese	Permanência em áreas de transmissão Contato com água contaminada Sintomas específicos
		Exame físico	Hepatosplenomegalia Ascite
	Exames complementares laboratoriais	Exame de sangue	Anticorpos (Ig)E
		Exame de fezes	Sangue (oculto) nas fezes
	Exames complementares por imagem	Ultra-sonografia	Hepato-esplenomegalia Fibrose Diâmetro dos vasos do sistema portal Circulação colateral Ascite
		Ressonância Magnética	Lesões medulares Lesões hepáticas
Diagnóstico laboratorial	Métodos diretos	Exame de fezes (microscopia)	Ovos
		Biópsia	Ovos, granulomas, fibrose
		Curetagem	Ovos
	Métodos indiretos	Imunologia ELISA	Anticorpos (resposta imunológica do hospedeiro frente a antígeno do <i>S. mansoni</i> )
	Métodos intermediários	Imunologia ELISA	Antígeno do parasita (matéria prima parasitaria)
		Biologia Molecular PCR	Ácidos nucleicos do parasita (matéria prima parasitaria)

Figura 1 - Categorias de métodos diagnósticos da esquistossomose mansoni

### 6.1.2 Técnicas coproscópicas quantitativas e qualitativas

As técnicas coproscópicas se dividem em dois grupos. O primeiro grupo consiste em técnicas qualitativas que detectam somente a presença dos ovos do parasito. O segundo, que inclui as técnicas quantitativas, além de detectar a presença do parasito, determina o número de ovos encontrados por grama de fezes.

Os dados qualitativos podem ser obtidos com maior facilidade e maior rapidez do que os dados quantitativos, porém estes últimos permitem estimar o número de ovos por

grama de fezes e com isso entender mais profundamente a dinâmica da infecção, especialmente em níveis comunitários (Figura 2).

Através da determinação da distribuição média de número de ovos por grama de fezes, que reflete a carga parasitária de uma população, importantes dados epidemiológicos podem ser obtidos. Estes dados, transformados em indicadores como fatores de risco, grau de morbidade, intensidade da infecção e reinfeção e taxa de cura, fornecem informações essenciais para o planejamento e monitoramento de programas de controle.

<b>Informação procurada</b>	<b>Dados necessários</b>
Intensidade da infecção	quantitativo
Presença / grau de morbidade	qualitativo/ quantitativo
Avaliação da quimioterapia ou possível resistência a drogas	quantitativo>qualitativo
Comparação de dados entre áreas endêmicas	quantitativo
Análise de dinâmica de transmissão	quantitativo
Controle da qualidade de resultados de testes	quantitativo

Figura 2 - Dados qualitativos *versus* quantitativos obtidos através do diagnóstico coproscópico

### 6.1.3 Sensibilidade, especificidade e valor preditivo

A sensibilidade, a especificidade e o valor preditivo de um resultado de teste são influenciados por um número de variáveis que às vezes são subestimados. As quatro possíveis classificações de uma doença através de um método diagnóstico e as inter-relações deles definem estes parâmetros (Figura 3).



		Teste	
		positivo	negativo
Doença	presente	Verdadeiro positivo (a) = Tem doença e tem teste positivo	Falso negativo (b) = Tem doença, mas tem teste negativo
	ausente	Falso positivo (c) = Não tem doença, mas tem teste positivo	Verdadeiro negativo (d) = Não tem doença e tem teste negativo

Figura 3 - Quatro possíveis categorias de doenças definidas através de método diagnóstico

*Sensibilidade* é a capacidade de uma determinada técnica em detectar o maior número de indivíduos verdadeiramente doentes ( $a/a + b$ ).

*Especificidade* é a capacidade de um teste ser sempre negativo na ausência de doença e não apresentando resultados falsos positivos ( $d/c + d$ )

*Valor preditivo positivo* é a proporção dos resultados com teste positivo, que identificam verdadeiramente a presença da doença em todos os testes positivos ( $a/a+c$ ).

*Valor preditivo negativo* é a proporção dos resultados com teste negativo, que identificam verdadeiramente a ausência da doença em todos os testes negativos ( $b/b+d$ ).

*Eficácia* é a capacidade do teste de classificar corretamente o maior número de indivíduos avaliados entre verdadeiramente doentes e saudáveis ( $a + d/a + b + c + d$ ).

Pode-se dar por certo que a especificidade dos testes parasitológicos é muito alta se não houver resultados falsos por erros grosseiros (contaminação, ou mistura de fezes, por exemplo). Quando o ovo do parasita é visualizado e identificado corretamente não existe chance dos resultados serem falso positivos.

Como demonstrado num trabalho minucioso de Feldmeier & Poggensee (1993) a sensibilidade do método aumenta quanto maior for a intensidade da infecção. A

probabilidade em detectar uma infecção depende da quantidade do material examinado, do número de ovos presentes, da proporção dos ovos que foram detectados e da distribuição deles nas fezes.

É seguro dizer que a dispersão de ovos de *Schistosoma* nas fezes segue a distribuição de Poisson. Por isso a probabilidade de detectar pelo menos um ovo em uma amostra de  $s$  gramas pode ser estimada através da fórmula  $p = 1 - e^{-sd}$ , sendo  $d$  a densidade de ovos. Também em cada técnica, além do tamanho da amostra  $s$ , uma perda intrínseca de ovos tem que ser considerada. Quando mais baixa a taxa de perda intrínseca, mais alta é a eficiência do método.

A sensibilidade  $S$  (em %) de uma técnica para detectar no mínimo um ovo em uma alíquota do tamanho  $s$  pode ser definido como  $S = 100 * 1 - e^{-rsd}$ , sendo  $r$  a taxa de recuperação de ovos (1- taxa da perda intrínseca). Assim a sensibilidade de um dado método depende de uma maneira semelhante não só da intensidade da infecção, mas também do tamanho da amostra e da taxa de perda intrínseca. A única maneira de aumentar a sensibilidade de um método é aumentar o tamanho da amostra já que a taxa de perda intrínseca de cada técnica específica e a densidade de ovos nas fezes não podem ser manipuladas pelo investigador. Isto também implica, sendo todos os outros fatores constantes, que a sensibilidade de qualquer teste diminuirá com a diminuição da intensidade da infecção. Este fato demonstra claramente as limitações de métodos parasitológicos em áreas de baixa endemicidade com baixa carga parasitária.

Segundo Rabello (1997) os valores preditivos positivos e negativos de um resultado de teste não dependem somente da especificidade e sensibilidade do método parasitológico utilizado, mas também da prevalência da doença na população estudada. (sendo a *prevalência* definida como o número dos verdadeiramente doentes em uma população, em um determinado período de tempo). Essa relação pode ser bem exemplificada quando prevalências são comparadas antes e depois de intervenções de tratamento, observando-se diferenças significativas entre elas. Como mostrado na figura 4, tendo uma dada prevalência de 20%, especificidade de 90% e sensibilidade de 90%, somente a metade de todos os indivíduos verdadeiramente doentes será identificada corretamente. Dada uma prevalência de 50% e as mesmas características dos testes, 90% de todos os indivíduos verdadeiramente doentes serão identificados corretamente. O conhecimento entre a relação de prevalência e valor preditivo pode ser aplicado em programas de levantamento para esquistossomose. Inquéritos para esquistossomose numa população total em uma área com prevalência baixa podem exigir muitos recursos

metodológicos e assim encarecer o programa. Se um subgrupo de risco (p. ex.: faixa etária ou padrão de comportamento) puder ser identificado, sendo representativo da população em geral, o inquérito ficaria bem mais barato e rápido.

Teste diagnóstico	
Especificidade: 90%	
Sensibilidade: 90%	
Prevalência 20%	Prevalência 50%
Valor preditivo positivo: 50.0%	Valor preditivo positivo: 90.0%
Valor preditivo negativo: 97.3%	Valor preditivo negativo: 90.0%

Figura 4 - Valores preditivos de um teste diagnóstico

#### 6.1.4 Intensidade da infecção e contagem de ovos

A intensidade da infecção ou carga parasitária é definida através da inferência do número de casais de vermes que parasitam o hospedeiro definitivo, que será calculada através do número de ovos nas fezes. Quanto maior o número de casais de vermes, maior será o número de ovos encontrados nas fezes. Quando a carga parasitária é de intensidade moderada até alta todas as técnicas parasitológicas apresentam resultados satisfatórios. Em casos de cargas parasitárias baixas as técnicas apresentam certas limitações. A explicação deste fato é que, considerando que um verme fêmea fecundado elimina aproximadamente 400 ovos por dia, somente cerca de 200 deles são eliminados com as fezes. Considerando que uma pequena alíquota destas fezes é examinada, por exemplo, 42,5 mg pelo método de Kato-Katz (Katz et al. 1972), a probabilidade de detectar ovos diminui significativamente em casos de infecções de baixa intensidade. A probabilidade de detectar uma infecção com um só casal de vermes através de exame de uma lâmina, realizado pelo método de Kato-Katz (descrição adiante) será de aproximadamente 1/24. Isto assumindo que uma pessoa elimina aproximadamente 200 g de fezes por dia, que contém 200 ovos e que uma amostra de 42,5 mg de fezes é examinada por esta técnica. Esta limitação, que afeta especialmente métodos quantitativos, só pode ser superada pelo aumento do número de amostras (coleta de amostras de fezes em dias consecutivos) e também pelo aumento do número de lâminas examinadas por amostra (duas a três lâminas). Este procedimento é de grande

importância na verificação de taxas de cura e na avaliação de drogas esquistossomicidas, quando se espera um abrupto declínio na intensidade da infecção e conseqüentemente na quantidade de ovos eliminados nas fezes. Estas considerações teóricas acima referidas foram exaustivamente confirmadas na prática e através de estudos no campo (Barreto et al. 1990, Rabello et al. 1992, Engels et al. 1996, 1997).

### **6.1.5 Aplicação dos métodos parasitológicos para o diagnostico individual e populacional**

#### **1. Diagnostico individual**

No diagnostico individual o uso de procedimentos de detecção mais sensíveis pode trazer vantagens, apesar de serem de execução mais trabalhosa. Nestas situações o tempo é o fator menos importante, e o método utilizado não precisa necessariamente ser quantitativo. Como os sinais e sintomas de uma infecção por *S. mansoni* não são específicos, métodos que detectem todos os tipos de ovos e larvas de helmintos e também protozoários intestinais podem ser preferidos no diagnóstico individual. Técnicas que preencham estes requisitos e que são usadas no dia-a-dia dos laboratórios incluem os métodos de sedimentação de Lutz (1919), padronizado por Hoffmann et al. (1934) e o de formol éter Blagg et al. (1955), modificado por Knight et al. (1976).

Métodos descritos mais recentemente são na maioria deles baseados em modificações de técnicas já conhecidas, visando melhorar a sensibilidade e fornecendo resultados mais satisfatórios, especialmente em áreas de baixa endemicidade, onde exames de rotina apresentam baixa sensibilidade na detecção destas infecções (Poldermann et al. 1994, Borel et al. 1999, Sayed et al. 2002, Eberl et al, 2002).

#### **2. Diagnostico de populações**

Ao contrário do diagnóstico individual, onde se torna necessário detectar com segurança o agente etiológico, na população, a intensidade da infecção tem evidente importância epidemiológica para avaliar a evolução da endemia, decidir a estratégia de tratamento mais apropriada e para monitorar programas de controle. Métodos quantitativos, especialmente o do Kato-Katz (1972) são indicados para obter estas informações.

## 6.1.6 Técnicas Parasitológicas

### 1. Técnicas parasitológicas qualitativas

Inúmeras técnicas qualitativas encontram-se descritas na literatura. Exames diretos descritos por Hoffmann et al. (1934) e Martins (1937) não são considerados adequados à pesquisa de ovos de *S. mansoni* por sua baixa sensibilidade. Técnicas de flutuação (Willis 1921 e Faust et al. 1939) não são úteis para identificação dos ovos de *S. mansoni* por esses serem pesados. Métodos de centrifugação (Faust et al. 1946, Saperó & Lawless 1953, Blagg et al. 1955) também apresentam baixa sensibilidade no diagnóstico da esquistossomose.

#### **Método de Blagg e colaboradores**

Utiliza fezes preservadas em formol tamponado a 10%, podendo assim ser conservadas por até alguns meses, sem que ocorram alterações nos protozoários e larvas e ovos de helmintos. Essa preservação permite, sem dificuldades, reconhecimentos específicos. Neste procedimento, agita-se o tubo contendo fezes conservadas, passando a suspensão em gaze, usando um tubo de 15 ml. Adiciona-se 4,5 ml de éter sulfúrico refrigerado e agita-se o tubo vigorosamente após tampá-lo com rolha de borracha. Após a retirada da rolha, centrifuga-se a suspensão por um minuto a 1.600 r.p.m. Formam-se quatro camadas no tubo, constituídas por éter, detritos de fezes, formol e sedimento, sendo que no fundo do tubo estarão os protozoários e os ovos e larvas dos helmintos. O anel formado pelos detritos deve ser removido com bastonete provido de algodão na ponta. Elimina-se o conteúdo do tubo com exceção do sedimento. O sedimento deve ser examinado em sua totalidade entre lâmina e lamínula.

#### **Técnica de eclosão de miracídeos**

É um método sensível, com indicações na demonstração de viabilidade dos ovos do parasito em estudos experimentais e com animais, entretanto, é complexo e só pode ser utilizado com fezes recentes sem o uso de conservantes.

## 2. Técnicas parasitológicas quantitativas

Entre os métodos parasitológicos quantitativos encontram-se os de Bell (1963), de Barbosa (1965) e o mais importante de todos o do Kato modificado por Katz et al (1972).

### **Método do Kato modificado por Katz et al. (1972)**

Mais conhecido como técnica de Kato-Katz apresenta uma sensibilidade similar, ou melhor, sobre os demais procedimentos quantitativos, tendo, além disso, a vantagem da simplicidade de execução, baixo custo e a possibilidade do armazenamento e transporte das lâminas em temperatura ambiente por meses, sem prejuízo dos resultados.

Em 1972 Katz et al. modificaram o método anteriormente descrito em japonês por Kato & Miura (1954), e posteriormente aperfeiçoado por Kato (1960), traduzido para inglês e aperfeiçoado por Martin & Beaver (1968) e introduzido no Brasil. Katz et al (1972) simplificaram a realização desta técnica quantitativa, por tornar desnecessária a pesagem prévia da amostra fecal. Estes autores utilizaram um pequeno retângulo de papelão (4x3cm) com espessura de 1,37mm, dotado de orifício de 6 mm de diâmetro em seu centro, para medir a quantidade de fezes a ser examinada. Colocando o cartão sobre uma lâmina de microscópio e preenchendo o orifício com fezes, auxiliado por um palito, após passá-las através de tela com malhas de 200 micra<sup>2</sup>, obtêm-se amostra que, em média, pesa 43,7mg, com variações compreendidas entre 42,5 e 45,4 mg. As fezes obtidas são espalhadas sobre uma lâmina, e cobertas com uma lamínula de celofane semipermeável, previamente tratada durante 24 horas com solução de glicerina, água destilada e verde de malaquita ou azul de metileno. Após a evaporação da água (uma ou duas horas após a preparação, dependendo da temperatura ambiental), a glicerina toma o lugar da água das fezes, clarificando o esfregaço e permitindo a visualização dos ovos no exame microscópico. Para calcular o número de ovos contidos em 1 g de fezes, pode-se admitir que toda lâmina contenha 42,5 mg de fezes e para obter o resultado final aproximado, multiplica-se por 24 o número total de ovos encontrados na lâmina.

Este método é o procedimento internacionalmente recomendado pela Organização Mundial de Saúde (1993) para o diagnóstico epidemiológico do *S. mansoni* porque combina o melhor custo benefício com praticidade e sensibilidade. Quando se trabalha

numa área com endemicidade e intensidade de infecção de moderada a alta, o método preenche todos estes requisitos. Em casos de baixas prevalências e baixas cargas parasitárias individuais (< 100 ovos por grama) as limitações começam a aparecer. Estudos no campo estimam o limite da sensibilidade entre 50 a 100 ovos por grama em uma única lâmina (Eberl et al. 2002, Teesdale et al. 1985, Sleight et al. 1982). Para superar esta insuficiência, recomenda-se examinar no mínimo duas ou três lâminas de amostras, coletadas em diferentes dias, aumentando assim significativamente a sensibilidade do método (Engels et al. 1996, Utzinger et al. 2003).

Um outro fator limitante está relacionado à consistência das fezes e conseqüentemente a eliminação diária de ovos (Engels et al., 1997, Eberl et al., 2002, Utzinger et al. 2001). Como o cálculo do número de ovos por grama está sendo baseado na suposição que a densidade de uma amostra de fezes é igual a 1 – porque a placa perfurada determina um volume definido e não o peso – uma amostra de fezes formadas pode ter uma contagem de ovos sete vezes maior que uma amostra mais líquida obtida do mesmo indivíduo (Teesdale et al. 1985). Além disto, fezes líquidas, que são um importante sintoma da esquistossomose, não podem ser processadas por este método (Lambertucci 1993.)

Outro impacto na limitação da sensibilidade deste método é a subestimativa sistêmica da prevalência e da intensidade da infecção após a quimioterapia (de Vlas et al. 1997, Sturrock 2001). Após o tratamento, muitos dos parasitas são eliminados e conseqüentemente a eliminação de ovos diminui significativamente. Isto implica a probabilidade de infecções persistirem em um nível (<50-100 opg) difíceis de serem detectadas por exames de rotina por este método. Isto também pode significar que taxas de cura de drogas esquistossomicidas são superestimadas quando esta técnica é aplicada na rotina (Ferrari et al. 2003) De novo a única maneira de aumentar a sensibilidade deste método é aumentar a quantidade do material examinado, isto é, aumentando o número de amostras e de lâminas por amostra, como citado anteriormente.

No entanto, reconhecendo as limitações da metodologia discutidas acima, a técnica do Kato-Katz permanece ainda como o melhor método parasitológico quantitativo para o diagnóstico da esquistossomose mansoni em áreas endêmicas.

### 6.1.7 Técnicas imunológicas

O método de ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) descrito por Engvall & Perlman (1971) e adaptado por Voller et al. (1976) é empregado em técnicas variadas para a quantificação da resposta imune em relação a antígenos definidos (técnicas indiretas) ou para a detecção da presença de antígenos do próprio parasito no soro (técnicas em princípio diretas). Como descrito acima, os resultados do teste diagnóstico relaciona a ocorrência da infecção e a relação entre sensibilidade e especificidade. Por isso, o desempenho de um teste diagnóstico é calculado como um índice, incorporando estes dois parâmetros. Como relatado por Fletcher et al. (1996), *“Assessment of the test’s accuracy rests on its relationship to some way of knowing whether a disease is truly present or not - a sounder indication of the truth often referred to as the ‘golden standard’. As it turns out, the golden standard is often elusive.”* “A avaliação da precisão de um teste depende se a doença está verdadeiramente presente ou não - uma indicação segura da verdade, muitas vezes é referida como ‘padrão ouro’. O padrão ouro apresenta-se frequentemente como uma medida difícil de ser determinada.” Este problema pode ter impacto importante em testes diagnósticos imunológicos porque o padrão ouro é quase sempre a técnica coproscópica e o método Kato Katz como sugerido acima, tem pouca validade pela baixa sensibilidade com número pequeno de lâminas e em cargas parasitárias baixas. Uma consequência aparentemente paradoxal disso é que testes imunológicos apresentam frequentemente baixa especificidade, significando resultados aparentemente falsos positivos.

#### 1. Técnicas imunológicas que detectam anticorpos

Infecções patentes por esquistossomose são altamente imunogênicas e não há dificuldade em mostrar a presença de anticorpos anti-*S. mansoni* ou a resposta imune mediada por células em indivíduos infectados. Virtualmente antígenos de todos os estádios de ciclo de vida do *S. mansoni* foram testados para verificar o seu potencial imunodiagnóstico. Antígeno de vermes adultos tem uma vantagem por ser abundante e ser uma fonte fácil de material antigênico. Extratos de vermes adultos funcionam bem com ELISA (Mott & Dickson, 1982; Maddison et al, 1985) e geralmente dão melhor sensibilidade e especificidade que os antígenos de formas evolutivas (McLaren et al. 1978). Em hospedeiros experimentais a reatividade dos anticorpos anti-esquistossoma



permanece baixa até que a infecção torne-se patente (Dunne et al 1984). Este fenômeno é baseado em uma alta capacidade imunogênica dos ovos – a saída deles do hospedeiro depende acima de tudo disto (Doenhoff et al 1998) - deixando títulos anti-esquistossoma elevados depois do início da eliminação de ovos. Este aumento dos títulos de anticorpos pode ser melhor explicado pela produção de anticorpos específicos contra epitopos, que são comuns em formas evolutivas do parasita, vermes adultos e ovos.

## **2. Técnicas imunológicas que detectam moléculas (material antigênico) do parasito**

Diferentes antígenos circulantes derivados de esquistossoma têm sido classificados na circulação, mas dois antígenos em particular foram extensivamente investigados: antígeno anódico circulante (AAC) e antígeno catódico circulante (ACC), nomeado de acordo com o seu comportamento migratório na eletroforese (Deelder et al, 1976). Métodos para detectar antígenos circulantes geralmente envolvem a captura de antígeno em “sanduíche” de anticorpos, sendo estes anticorpos monoclonais ou policlonais com especificidade para epitopos repetidos nos antígenos. O diagnóstico através de detecção de antígenos circulantes tem a vantagem potencial de que o antígeno provavelmente só está presente quando há infecção ativa recente. Este fato pode facilitar uma avaliação mais acurada do efeito do tratamento, da taxa de cura e da eficácia da droga (Van Lieshout et al. 1994, De Clerq et al. 1997). Além disso, a especificidade diagnóstica é alta, principalmente com o uso de anticorpos monoclonais. Os níveis de antígenos circulantes correlacionam com a contagem de ovos excretados e só uma pequena taxa de falso-positividade é encontrada fora de áreas endêmicas para esquistossomose (Van Lieshout et al. 1995, 2002). Estas vantagens são comprometidas pela baixa sensibilidade que ocorre em infecções com baixa carga parasitária e está relacionada com a quantidade muito pequena de antígeno produzido nestas circunstâncias.

### **6.1.8 Técnica da PCR**

Embora a técnica de amplificação de uma ou várias seqüências de DNA através da reação em cadeia da polimerase (PCR) seja extensamente utilizada no diagnóstico de

inúmeras doenças humanas há mais de uma década, sua utilização no diagnóstico da esquistossomose nunca havia sido relatada.

O trabalho de Pontes et al. (2003) demonstrou a possibilidade de se detectar o DNA do parasito de maneira sensível e específica em amostras de fezes. Em uma outra etapa do projeto, o desempenho da técnica foi comparado com o do exame parasitológico de Kato-Katz em estudo realizado com 194 amostras de fezes provenientes de uma área endêmica de Minas Gerais. Os resultados demonstraram uma alta correlação entre o desempenho do Kato-Katz e a da PCR, sendo que a PCR foi capaz de detectar um número maior de casos positivos, vários dos quais foram comprovadamente não diagnosticados pelo exame parasitológico.

## 6.2. – Tratamento

A quimioterapia moderna contra a esquistossomose começou quando Christopherson, em 1918, relatou o tratamento bem sucedido da doença com tartarato de antimônio. Compostos antimoniais de vários tipos foram, certamente, os medicamentos disponíveis mais usados até a Segunda Guerra Mundial (Brindley 1994). Período de progresso intenso começou a partir dos anos 60, com a introdução do niridazol, hycantone, oxamniquina e praziquantel. Estes dois últimos representam um grande avanço, pois são administrados por via oral, em dose única com poucos efeitos colaterais, apresentam altas taxas de cura parasitológica e, em caso de praziquantel, tem baixo custo.

Em Peri-Peri, área endêmica para esquistossomose no Estado de Minas Gerais, um projeto de controle da endemia foi feito entre 1974 e 1987. Foi aplicado moluscicida em intervalos trimestrais nas coleções hídricas da área, e indivíduos eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes foram tratados anualmente com oxamniquina. De 1974 a 1983 as medidas de controle foram realizadas pela equipe do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR) /Fiocruz que realizou o trabalho e, de 1984 a 1987 foram incluídas as atividades de controle na rede básica de saúde do município. Durante ambos os períodos, a prevalência, a incidência, a intensidade da infecção e a forma hepatoesplênica assim como os índices de caramujos infectados decresceram significativamente. A prevalência decresceu de 43,5 para 4,4%, a incidência de 19,3 para 1,7%, a intensidade da infecção de 281 para 87 ovos por grama de fezes (opg) e a forma hepatoesplênica de 5,9 para 0,0%. Os resultados obtidos sugerem que a inclusão

das medidas de controle nas atividades da rede básica do sistema operacional de saúde pública municipal foi efetiva tanto quanto o programa vertical conduzido pelo CPqRR. (Coura-Filho et al. 1992).

O oxamniquina começou a ser utilizado na década de 70 (Foster 1973, Foster & Cheetheam 1973). É um derivado hidroquinoleico dos tioxantônicos e que finalmente surgia como a droga ideal para tratar a esquistossomose mansoni. Apresenta efeitos colaterais reduzidos a pequenas manifestações de intolerância gástrica e raríssimos casos de convulsões, que podem ser previstos e tratados sem maiores conseqüências. Hoje é uma das drogas de escolha para o tratamento específico da esquistossomose mansoni, oferecendo larga margem de segurança para tratamentos em massa como os que foram realizados nas áreas endêmicas do Brasil pelos serviços de Saúde Pública até a produção do praziquantel por Farmanguinhos. A droga mostra ação só contra o *S. mansoni* e atua mais acentuadamente contra os machos

Inicialmente a oxamniquina foi utilizada em injeções intramusculares, em dose única, porém logo se descobriu ser igualmente ativa e eficaz quando tomada por via oral. A droga é ainda encontrada no comércio sob duas formulações: cápsulas com 250 mg de sal ativo e soluções contendo 50 mg/ml para uso pediátrico. A dose recomendada é de 20 mg/kg para crianças e de 15 mg/kg para adultos, tomadas de uma só vez cerca de uma hora após uma refeição. Recomenda-se ainda que o paciente permaneça em repouso pelo menos três horas após ingestão da droga, prevenindo assim o aparecimento de náuseas e tonteados. Muito embora casos de intolerância à droga já tenham sido observados, nenhum caso apresentou lesão hepática ou em qualquer outro órgão que possa ser atribuída diretamente a um efeito tóxico da droga. Há que se respeitar, contudo, as contra-indicações gerais para a realização do tratamento específico: gravidez, passado com crises convulsivas, grave debilidade física e hipersensibilidade comprovada aos componentes da fórmula. Exige-se que se tomem precauções, sem contra-indicar formalmente o tratamento (Ministério da Saúde 2001).

O praziquantel, desenvolvido na década de 70, é um medicamento do grupo das isoquinolinas que oferece uma grande margem de segurança para o tratamento da endemia, além da atuação contra todas as espécies de schistosoma que infecta o homem (Gönnert & Andrews 1977) e atua mais acentuadamente contra as fêmeas. É apresentado comercialmente em tabletes de 600 mg também utilizado por via oral, em dose única de 50 a 60 mg/kg de peso. Os efeitos colaterais são leves, semelhantes aos do oxamniquina, não existindo também evidências de que provoque lesões tóxicas

graves no fígado ou em outros órgãos. Em alguns países, como a China e o Egito e em outros países da África e recentemente no Brasil, este medicamento está sendo adotado pelos serviços de Saúde Pública para tratamentos em massa, com bons resultados. O exemplo da oxamniquina, o praziquantel constitui-se numa droga de eleição para o tratamento da esquistossomose nas formas intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica. Os efeitos colaterais mais significativos são pouco intensos e passageiros, e constituem-se principalmente de dor abdominal, cefaléia e sonolência (Ministério da Saúde 2001). Atualmente a droga está sendo produzida a baixo custo pelo Farmanguinhos / Fiocruz .

A necessidade de novos medicamentos é evidente em função da já comprovada existência de resistência as drogas esquistossomicidas. A falta de investimento no desenvolvimento de novos quimioterápicos está, provavelmente, relacionada ao tipo de população afetada. O custo do desenvolvimento de novos compostos é extremamente alto, chegando-se ao desânimo quanto à viabilidade na introdução de novo esquistossomicida para uso clínico no futuro (Cioli et al. 1995).

### 6.3 – Saneamento Básico

As obras de infra-estrutura sanitária são determinantes no controle da esquistossomose, pois, modificam o ambiente possibilitando o suprimento adequado de água e a correta eliminação de dejetos, impedindo que os mesmos contaminem os recursos hídricos (Katz 1986a).

Os objetivos traçados neste setor tanto para a pesquisa como para o controle da esquistossomose, tem sido sempre setoriais, quando se sabe que esta doença está intimamente ligada ao modo de vida das populações marginalizadas e, por conseqüência, incorporada à pobreza das regiões endêmicas. Segundo Barbosa (1980), estes conceitos não são novos. Annecke et al. (1955) mostraram na África do Sul, que as melhorias ambientais diminuam os índices de infecção da esquistossomose. Mais tarde, Pitchford (1972), mostrou também na África do Sul, que a redução dos contatos com as águas infectadas, por melhoras ambientais, diminuiu substancialmente os índices de infecção.

Em experimento controlado, por sete anos, em Pernambuco, medidas combinadas de saneamento básico e educação, dentro de um programa de desenvolvimento comunitário foram capazes de reduzir os índices de infecção por *S. mansoni*, chegando aos últimos anos do programa, a interromper a transmissão (Barbosa et al. 1971).

Em Ravena (MG), de 1980 a 1992, foi avaliado um programa de controle da esquistossomose que consistia em tratamento específico dos pacientes infectados em intervalos de quatro anos (1980/84/88) e no ano de 1980, 90,0% das residências foram supridas de água tratada. A prevalência da doença foi reduzida de 36,7% para 11,5% e a intensidade da infecção de 228,9 ovos por grama (opg) para 60,3 opg. Os três tratamentos quadrianuais e o suprimento de água potável foram suficientes para reduzir a prevalência e a intensidade da infecção e apontaram este modelo como eficiente no controle da esquistossomose sendo que sua implantação deveria ser estimulada em outras áreas endêmicas do Brasil (Coura-Filho et al. 1995 e Coura-Filho et al. 1996).

Na cidade de Bananal (SP) foi desenvolvido um programa de controle da esquistossomose, pela SUCEN (Superintendência de Controle de Endemias) e autoridades locais. Para tal foram feitos diagnóstico e tratamento dos doentes, inquéritos malacológicos, aplicação de moluscicida, suprimento de água potável e sistema de esgotos. Como resultado desta ação combinada a prevalência da endemia na área que era de 3,4% em 1998 passou a ser de menos que 1% (Teles et al. 2002b).

Teixeira (2003) ao avaliar o impacto do saneamento rural na saúde das crianças em Jaboticatubas (MG) concluiu que o perfil epidemiológico da saúde de crianças menores de 10 anos evidenciado na pesquisa, aponta ao gestor que o saneamento ambiental, as condições sócio-econômicas e culturais são determinantes para a promoção de saúde global desta população. O estudo mostra claramente a necessidade de investimento em ações no sentido de ampliar a construção de soluções individuais de disposição de dejetos, implantação de programas de proteção social buscando melhorar a renda familiar, regulamentação e promoção do turismo ecológico sustentável, regulamentação e fiscalização dos empreendimentos turísticos e imobiliários no município. Sustenta que os programas de Educação em Saúde teriam impacto na modificação dos fatores de risco determinantes da saúde destas crianças.

#### **6.4 - Educação em Saúde**

No Brasil, a importância da educação em saúde no controle integrado de doenças foi reconhecida há pouco mais de uma década pelo Conselho Nacional de Saúde (CNS), o qual, em sua Resolução nº 41 de 03/03/1993, reafirmou que *“deve ser a Educação para a Saúde considerada estratégia imprescindível para a promoção da saúde, prevenção das doenças e para a consolidação do SUS, nos níveis federal, estadual e municipal”*. Esta resolução do CNS, referendada pelo Ministério da Saúde, no

Documento Final da Proposta de Reforma Administrativa (Grupo Executivo para a Reforma Administrativa, 1993), considera a Educação em Saúde como um dos “*espaços de intervenção estratégica para a política de saúde*”. Como ressalta o documento, trata-se de uma “*área que perpassa toda a estrutura organizacional dos serviços, articulando-se com a informação, a comunicação e a epidemiologia, corroborando-se em estratégia básica para a consolidação do Sistema*”. Por sua vez, a Norma Operacional Básica (NOB 01/96) para o Sistema Único de Saúde (SUS) aprovada pela Comissão Intergestores Tripartite em 04/07/96 estabeleceu que: “*Ações de comunicação e de educação compõem, também, obrigatória e permanentemente, os campos de atenção à saúde, distinguindo-se por sua interpenetrabilidade no conjunto das atividades de assistência, intervenções ambientais e políticas extra-setoriais*” (publicada no Diário Oficial da União em 06/11/96, SUS, 1996).

Essa mobilização em torno da consolidação do SUS, a necessidade de difusão de idéias e de princípios como a descentralização das ações para a esfera municipal, e a participação da comunidade, do direito à saúde e à informação, requer o aporte de metodologias próprias de Educação em Saúde, capazes de viabilizar a concretização destas necessidades e a sensibilização para o compromisso com novas práticas de participação e controle social.

Schall & Struchiner (1999) ao apresentarem o primeiro número temático dedicado unicamente a Educação em Saúde em mais de dez anos de existência da Revista *Cadernos de Saúde Pública* sustentam que: “*A educação em saúde é um campo multifacetado, para o qual convergem diversas concepções, das áreas tanto da educação, quanto da saúde, as quais espelham diferentes compreensões do mundo, demarcadas por distintas posições político-filosóficas sobre o homem e a sociedade*”.

Para Diniz (2003) a expressão educação em saúde é empregada como sendo uma educação ampliada, que inclui políticas públicas, ambientes apropriados, diálogo e troca de saberes, reorientação dos serviços de saúde para além dos tratamentos clínicos e curativos, assim como propostas pedagógicas libertadoras, comprometidas com o desenvolvimento da solidariedade e da cidadania, orientando-se para ações cuja essência está na melhoria da qualidade de vida.

Nesta perspectiva, Freire (1976) idealizava a educação enquanto uma ação cultural para a liberdade, pressupondo que toda prática educativa implica uma concepção do ser humano e do mundo. Caminho semelhante tomou Hollanda (1981), propondo a educação para a saúde como um processo de compreensão de vida,

utilizando exatamente a esquistossomose como modelo, estabelecendo ligações entre as informações novas sobre saúde e as experiências de vida dos alunos. No “modelo” da esquistossomose, os níveis de discussão e de consciência da comunidade passam obrigatoriamente pela análise das relações sociais de produção com ênfase na influência humana no meio ambiente, não havendo como desencadear-se qualquer ação sustentada e coletiva se não forem contempladas essas relações e se não for instituído um projeto ativo, comunitário, político e eminentemente participativo.

A educação pode contribuir para evidenciar o papel de cada um na profilaxia e controle da esquistossomose e de outras doenças, de uma forma mais positiva, possibilitando compreender as relações entre saúde e qualidade de vida.

Assim, no caso da prevenção da esquistossomose, vários elementos cognitivos e comportamentais entram em jogo, cabendo ampla discussão e informação nos níveis comunitário e familiar. Mais dependente do comportamento do homem do que do molusco, a transmissão da esquistossomose se faz fora de casa, e em circunstâncias muito variadas de contato com águas naturais com moluscos infectados. O comportamento humano também sobressai no que toca à contaminação das águas com as fezes de portadores do parasito. Neste contexto, toda uma série de hábitos e posicionamentos das populações interfere na transmissão, desde a questão individual da higiene pessoal, até os aspectos mais gerais de acesso à informação e ao saneamento básico. Este é um campo fértil na ação educativa em que um programa de controle da esquistossomose poderia auxiliar, pois lida diretamente com a realidade imediata das pessoas.

A educação popular em saúde, na perspectiva das doenças infecciosas e parasitárias, deve também fortalecer a capacidade das famílias em lutar na busca da saúde (Vasconcelos, 1997). Esse pressuposto é validado pelo autor em um trabalho desenvolvido em um centro de saúde da periferia de Belo Horizonte, entre os anos de 1994 e 1997.

Um trabalho desenvolvido, entre os anos de 1985 e 1995, em Taquaraçu de Minas (MG), área endêmica para esquistossomose, contou com a participação popular, tratamento seletivo dos pacientes, saneamento e educação, além de fornecimento de água potável. A prevalência da infecção, neste período, passou de 30,9% para 4,3%. A municipalização do programa através do SUS (Sistema Único de Saúde) usando um tratamento seletivo, fornecimento de água potável intradomiciliar, com participação popular nas medidas de controle, seguido de atendimento da demanda espontânea

apresentou resultados duradouros apontando a possibilidade de uso deste modelo para outras áreas endêmicas com características semelhantes (Coura-Filho 1998).

No espaço escolar, os trabalhos de Gomes dos Santos et al. (1993) e Schall et al. (1993), constataram que tanto professores quanto alunos não identificavam a esquistossomose e outras helmintoses, com prevalência expressiva em sua realidade local. Tais agravos não estavam incluídos no currículo escolar, e de pouca ou nenhuma informação dispunham. O trabalho educativo da equipe, envolvendo a participação da comunidade escolar e familiares dos alunos resultou em aumento do conhecimento e menor prevalência das helmintoses intestinais e da esquistossomose após dois anos de trabalho contínuo. Considerando-se o fato de tais helmintoses serem sabidamente prevalentes nas regiões estudadas, percebeu-se o quão alheia estava a escola em relação aos problemas da realidade de seus alunos.

Favre (1999), trabalhando em área endêmica para esquistossomose em Pernambuco, não conseguiu reduzir os níveis de prevalência da doença somente com o uso da quimioterapia. A autora sugere, entre outras medidas, o controle de moluscos vetores, saneamento ambiental e educação em saúde, porém, sem perder de vista que o controle da esquistossomose só pode ser efetivamente alcançado através de mudanças sociais que propiciem melhores condições de vida para as populações afetadas.

Gazzinelli et al. (1998), realizaram um estudo sobre os aspectos sócio-culturais da esquistossomose em área endêmica de Minas Gerais, mostrando a necessidade de desenvolvimento de programas de educação baseados na percepção e conhecimento da doença, a fim de modificar o comportamento e o contexto dos envolvidos. Em estudo posterior, Gazzinelli et al. (2003) investigaram a relação entre a educação e a postura dos sujeitos frente à esquistossomose, demonstrando a possibilidade de mudança a partir do conhecimento e reflexão acerca das próprias experiências com os ambientes e com a doença.

Uma análise e avaliação de estratégias e materiais educativos voltados para a prevenção da esquistossomose e outras helmintoses foram realizadas por Diniz & Schall (2000) a fim de traçar sugestões e propostas. As autoras realizaram um estudo sobre as classificações, conteúdos e ilustrações presentes nos materiais produzidos e/ou utilizados, a partir dos anos de 1970, em diversas regiões do país. Os dados permitiram verificar, principalmente, que os materiais eram meramente informativos. Em sua maioria, priorizavam uma forma de atividade pedagógica que se assemelha mais às estratégias de marketing e propaganda característicos de campanhas emergenciais de



saúde pública, reproduzindo-se ao longo dos anos como cópias uns dos outros (Schall & Diniz, 2001).

Assim, nota-se que nas últimas décadas, muitas instituições de saúde e grupos de profissionais buscam enfrentar o desafio de incorporar no serviço público a metodologia da educação, mas muitos estudos e investimento ainda se fazem necessários.

Em municípios endêmicos, a esquistossomose pode ser trabalhada como tema gerador, para motivar discussões mais amplas, o que foi realizado por Massara et al. (2006), a partir da abordagem da escola promotora de saúde. Trabalhos dessa natureza, que envolvem temas de saúde, suas relações com a construção de ambientes saudáveis e as possibilidades de mudanças no modo de agir, bem como o exercício dos direitos e deveres de cidadania são essenciais no ensino fundamental e médio, pois fazem parte da formação das novas gerações, as quais poderão se tornar mais participativas e comprometidas com as questões de saúde.

A Educação em Saúde é também uma estratégia com grande potencial de estimular a verdadeira participação comunitária, estabelecendo os elos entre os diversos níveis da comunidade, seja o decisório (governantes), o executivo (profissionais de saúde, professores, pesquisadores, líderes de comunidade e o participativo (a população). Tal perspectiva é apresentada por Schall (1998) em uma discussão sobre algumas experiências relativas à esquistossomose. Também Barbosa et al. (1996) relatam a sua experiência que estimula a participação popular na esfera municipal e local. Os autores situam a importância da representatividade da comunidade nas comissões municipais de saúde como instância legítima para o desenvolvimento dos processos de elaboração, execução e avaliação das ações de controle de endemias. E ressaltam o papel da educação em saúde, *“entendida enquanto processo de aquisição de conhecimento para uma ação transformadora, tanto da parte dos técnicos em saúde como dos membros da comunidade. Diversas formas de repartir o conhecimento podem ser utilizadas respeitando-se as bases culturais locais. Daí a importância da participação dos grupos sociais para a construção dos elementos culturais (representações sobre a esquistossomose), que irão subsidiar e dar coerência às estratégias de controle”*.

Um dos pontos de maior dificuldade para as ações e pesquisas em Educação em Saúde está na descontinuidade conseqüente às mudanças políticas que sempre promovem substituição dos quadros profissionais e das ênfases nos problemas, cada

partido ou lideranças enfatizando diferentes questões. Esta dependência da política é um dos pontos que precisa ser equacionado e cada vez que a população toma em suas mãos a supervisão de seus direitos públicos, aí incluídos os de saúde, maior será a sustentabilidade dos programas. Assim, as ações de Educação em Saúde devem estar pautadas na participação e envolvimento de pessoas chave da comunidade, comprometidas com o seu fazer profissional e com a população, que possam garantir a continuidade dos programas.

#### **6.5 Métodos e estratégias para a avaliação da prevalência da esquistossomose – a necessidade de novas alternativas.**

Os dados de prevalência da esquistossomose no Brasil estão desatualizados. Os números hoje disponíveis são do único inquérito nacional mais completo publicado por Pellon & Teixeira em 1950, onde foi relatada uma prevalência de 10,09% para todo o país. Estes dados são utilizados até hoje para estimar a prevalência na população atual.

Em 1976, foi implantado, no Brasil o Programa Especial do Controle da Esquistossomose (PECE), quando foi realizado novo inquérito nacional que, todavia não foi publicado. Por razões econômicas e políticas o programa, que inicialmente, foi elaborado para toda a área endêmica do país, abrangeu somente seis estados do Nordeste (Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Sergipe). Seus objetivos eram audaciosos e incluíam o controle da endemia através da eliminação da transmissão e redução da prevalência a menos de 4% nos seis estados, quimioterapia em massa com oxamniquina, aplicação de moluscicida (niclosamida), saneamento básico, abastecimento de água e educação em saúde em todas as comunidades trabalhadas. Foram feitos tratamentos dos positivos e, em menor escala, aplicação de moluscicida. Saneamento básico e Educação em Saúde foram ações localizadas (Almeida Machado 1982). Por causa da diversidade de metodologias adotadas na implementação do PECE em diferentes áreas endêmicas a avaliação do programa tornou-se uma tarefa difícil. Admite-se porém, que o PECE tenha sido efetivo para a redução da morbidade e consequentemente da mortalidade causada pela endemia (Lima e Costa et al. 1996).

Katz et al. (1978) examinaram 62.647 escolares de 7 a 14 anos residentes em diferentes microregiões do Estado de Minas Gerais, através de um único exame parasitológico de fezes, pelo método de Kato-Katz (Katz et al. 1972), encontrando uma prevalência de 10,1%, ou seja, 6.321 escolares estavam eliminando ovos de *S. mansoni*

nas fezes. No inquérito nacional realizado por Pellon & Teixeira (1950) a prevalência para o Estado de Minas Gerais foi de 4,92%. Katz et al. (1978) chamam a atenção para o crescimento da prevalência da endemia no estado, apesar do desenvolvimento sócio-econômico observado nas últimas décadas.

Em 1980, o PECE perdeu as características de Programa Especial do Ministério da Saúde, tornando-se um programa de rotina. Passou a denominar-se Programa de Controle da Esquistossomose (PCE). Em 1984, o Programa foi estendido para Minas Gerais e Bahia e seus objetivos foram alterados e passaram a ser menos audaciosos: reduzir a prevalência a níveis menores que 25% em áreas de média e alta prevalências; diminuir os índices de morbidade e de mortalidade; controlar a transmissão em localidades isoladas e impedir o avanço da endemia para áreas indenes.

Com estas medidas, a prevalência, a carga parasitária e a morbidade na população diminuíram significativamente, sem que a endemia, todavia deixasse de expandir (Engels et al. 2002, Lambertucci et al. 2000, Katz 1998).

Passos & Amaral (1998), baseados nos dados da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), estimaram o número de portadores de esquistossomose no país em 2,5 milhões e que cerca de 25 milhões estavam expostos ao risco de infecção. Os autores relataram os percentuais de positividade para esquistossomose nos anos de 1975 a 1997, sendo que na década de 90 esses valores oscilaram entre 7 e 11%.

Katz & Peixoto (2000), utilizando os mesmos dados da FUNASA (Passos & Amaral, 1998) e o levantamento populacional do IBGE para 18 estados brasileiros, estimaram em 7,1 milhões o número de portadores em 1996 e em 6,3 milhões em 1997. Os autores afirmam que estes dados podem não representar a realidade, uma vez que a prevalência utilizada para esse cálculo não foi obtida através de amostra representativa da população nos diferentes estados brasileiros. Ressaltam ainda a urgência e a importância de realização de um levantamento nacional da prevalência da esquistossomose com amostra representativa da população. Para conhecer a prevalência e a intensidade da infecção o exame parasitológico de fezes quantitativo é o instrumento-chave. A morbidade, as avaliações de intervenções terapêuticas e o acompanhamento de medidas de controle relacionados a doença são também baseados neste diagnóstico. Entretanto, o método ideal, que associe elevada sensibilidade, baixo custo e simplicidade operacional, ainda não está disponível.

O método hoje mais utilizado e mais conhecido é a técnica de Kato-Katz (Katz et al. 1972). Apresenta sensibilidade similar, ou melhor, do que os demais procedimentos

quantitativos, com a vantagem da simplicidade de execução, baixo custo e a possibilidade de transporte e armazenamento das lâminas por meses em temperatura ambiente, sem prejuízo dos resultados. O método permite o diagnóstico de todos os helmintos, exceto o *Strongyloides* sp e larvas de ancilostomídeos. Vale mencionar, que os ovos de ancilostomídeos ficam difíceis de identificar após algum tempo de confecção de lâmina.

Este método é internacionalmente recomendado pela Organização Mundial de Saúde (1993) para o diagnóstico do *S. mansoni* porque associa melhor custo-benefício com praticidade.

Por causa das limitações nos métodos diagnósticos por várias razões, incluindo a irregularidade na eliminação dos ovos nas fezes, o Ministério da Saúde, normatizou dentro do PECE, o tratamento em massa quando a prevalência na área estudada ultrapassasse 20,0%. Quando a prevalência ficasse entre 5,0 e 19,0%, toda a população de 7 a 18 anos seria tratada. Tratamento dos indivíduos positivos estava restrito somente quando a prevalência na área trabalhada fosse inferior a 4,0%. Esta metodologia gerou algumas controvérsias, mas estava amparada em bases científicas, pois, o oxamniquina em dose única não era prejudicial para o indivíduo não infectado (Almeida Machado, 1982).

Atualmente o Ministério da Saúde (2003) recomenda o tratamento em massa quando a prevalência da população pesquisada na localidade for igual ou superior a 50,0%, no primeiro trabalho realizado na área. Quando a prevalência for menor que 50,0% tratam-se todos os positivos. O exame coproscópico para definir a prevalência é padronizado pela mesma agência como uma lâmina de uma única amostra de fezes por pessoa, utilizando a metodologia de Kato-Katz.

Segundo estas determinações, muitas pessoas adultas positivas, especialmente aquelas com carga parasitária baixa, não são diagnosticadas e ficam sem tratamento, favorecendo assim a manutenção e a transmissão da endemia.

## **VII. Métodos**

### 7.1 – Escolha da área de estudo

A área foi escolhida pelo perfil da população, que nunca foi tratada para esquistossomose, pelo baixo índice de migração e por uma prevalência entre 10 e 15% da endemia segundo relatórios da Dads (Diretoria de Ações Descentralizadas para Saúde), regional de Governador Valadares.

O trabalho foi realizado em cooperação com a Secretaria Municipal de Saúde, que forneceu o transporte dentro da área (quando não fornecido pelo Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz) e com a Dads regional de Governador Valadares, que forneceu técnicos para a preparação de lâminas.

### 7.2 - Descrição da área de estudo

A localidade de Chonim de Cima encontra-se no norte do município de Governador Valadares, distando 30 km da sede, como ilustrado no Anexo I. O distrito tem uma área de 175 km<sup>2</sup>. A área é caracterizada por um grande número de coleções hídricas como córregos e lagoas, que são utilizados pela população local para atividades de lazer. O principal córrego, que atravessa a comunidade, serve como fonte de água potável, suprimindo as necessidades da população. Esta água, antes de chegar à 88,2% das residências, é bombeada para uma estação de tratamento, que está sob responsabilidade do Serviço de Águas e Esgotos (SAE) do município. Ao longo do seu percurso, este córrego, serve como principal destino do esgoto de várias residências. Na saída da localidade ele recebe todo o esgoto que não é processado adequadamente por falta de estação de tratamento. A economia da região está baseada na criação de gado para corte e produção de leite, agricultura de subsistência, pequenos negócios e comércio local. A única escola está situada na área central da localidade e recebe os alunos da zona urbana e rural do distrito. Os cuidados básicos de saúde estão a cargo de uma equipe de Programa de Agentes Comunitários de Saúde (Pacs), da Secretaria Municipal de Saúde Governador Valadares, que é formada por quatro agentes e um técnico, alocados em um único Posto de Saúde. Um médico, junto com uma enfermeira, atende os pacientes do distrito duas vezes por semana. Os casos mais graves são enviados para Governador Valadares.

### 7.3 – Exame parasitológico de fezes da população

Inicialmente em um grupo piloto, formado por 100 escolares na faixa etária de 7 a 14 anos, foi realizado exame de fezes, pelo método de Kato-Katz (Katz et al. 1972), duas lâminas pó amostra para estimar a prevalência da esquistossomose na área.

Posteriormente um exame parasitológico de fezes pelo mesmo método foi realizado na população total da localidade, examinando-se duas lâminas de cada amostra (Figura 5).

O tamanho da amostra de um grupo experimental foi definido através de um cálculo de relação de proporções utilizando o número da população total e a prevalência esperada. Os 305 participantes deste grupo foram selecionados por amostra aleatória sistemática, sendo escolhidos todos moradores de cada terceira casa seguindo a numeração de todas as casas habitadas da localidade. Neste grupo foram realizadas três coletas de fezes sendo seis lâminas da primeira, duas da segunda e duas da terceira amostra, totalizando dez lâminas de três amostras (Figura 5).

Além do exame de fezes pelo método de Kato-Katz (Katz et al., 1972), uma nova metodologia em desenvolvimento utilizando a técnica de formol-éter (Blagg et al., 1955) modificada para quantitativo, foi aplicada na primeira amostra de fezes em 218 participantes do grupo experimental, visando uma comparação entre as duas metodologias, onde os parâmetros sensibilidade e carga parasitária foram analisados. Esta metodologia usa material fecal filtrado pela tela de Kato e quantificado em 0,5 gramas e associa à técnica de centrifugação em éter sulfúrico (Blagg et al., 1955), examinando uma quantidade quase 12 vezes maior do que uma lâmina do método de Kato-Katz e, além disso, permite o diagnóstico de protozoários e larvas de helmintos (Figura 5).

A combinação de todos os resultados de ambas as técnicas dos 305 participantes do grupo experimental constituiu o valor referencial da prevalência da esquistossomose para as comparações no estudo e foi denominada como “padrão ouro”.

O resultado quantitativo para *S. mansoni* foi obtido pelo método de Kato Katz e calculado pela média aritmética no nível individual e pela média geométrica no nível populacional do número de ovos por grama de fezes (opg).

O resultado para os outros helmintos foi qualitativo.

As lâminas do Kato Katz e as amostras para o novo método foram preparadas

pelos técnicos da Dads (regional de Governador Valadares) e examinadas no Laboratório de Esquistossomose do CPqRR/Fiocruz. Para assegurar a qualidade dos resultados 10,0% das lâminas confeccionadas pela técnica de Kato-Katz foram re-examinadas por dois técnicos da Secretaria Estadual da Saúde.

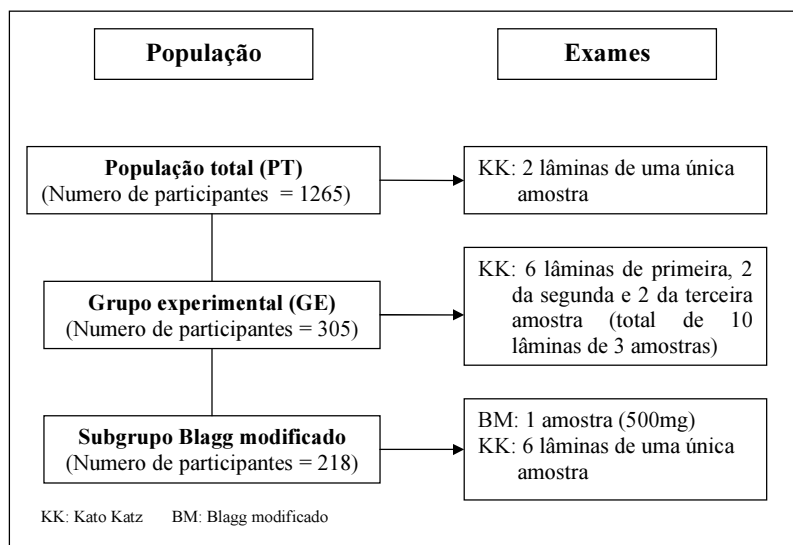


Figura 5 – Fluxograma dos exames realizados na população

#### 7.4 - Tratamento dos positivos

Os exames de fezes foram feitos a partir do início do projeto com tratamento subsequente dos positivos diagnosticados em ambas as metodologias. Os medicamentos utilizados foram doados pela Secretaria Estadual de Saúde. O praziquantel foi administrado oral nas dosagens de 50mg/kg para adultos e 60 mg/kg para crianças em dose única, no caso de esquistossomose, e o mebendazol (2 comprimidos de 100 mg cada oral em 3 dias consecutivos) no caso de outras helmintoses, supervisionado pelo médico do Posto de Saúde Municipal.

#### 7.5 – População escolar estudada



Todos os exames parasitológicos obtidos pelo método Kato Katz para esquistossomose em alunos matriculados foram utilizados para validação do trabalho publicado por Massara et al. (2006) e para o desenvolvimento de uma nova estratégia baseado neste trabalho para aumentar a eficiência na identificação e no tratamento de portadores de esquistossomose dentro de uma comunidade inteira.

#### **7.6 – Entrevistas com as famílias**

Todas as famílias foram visitadas pela equipe de pesquisa para a aplicação de questionário eletrônico (Anexo 2), contendo informações demográficas, sócio-econômicas, ambientais e padrões de contato com água. Foram utilizados Assistentes Pessoais de Dados Digitalizados (Personal Digital/Data Assistants – PDAs) da marca Dell AXIM X50 com software Visual CE, Microsoft ActiveSync V3.8 e Navio.

As seguintes informações foram coletadas para cada indivíduo: nome completo, sexo, data de nascimento, naturalidade, escolaridade, tempo de residência na localidade, ocupação, renda mensal, além do padrão de contato com água (frequência do contato para atividades domésticas, lazer e higiene). No caso de crianças menores de sete anos, estas informações foram obtidas com os membros mais velhos da família. O questionário foi adaptado de modelo utilizado por Firmo (1994) em pesquisa na região de Gorduras, B.Hte, MG.

#### **7.7 - Inquérito malacológico**

Após mapeamento das coleções hídricas, foi feito o inquérito malacológico com auxílio de uma concha metálica perfurada, que foi mergulhada nos criadouros para coleta de moluscos como descrito por Carvalho et al., 2005. Os moluscos capturados foram acondicionados em sacos plásticos, identificados por localidade e transportados ao Moluscário do Centro de Pesquisa René Rachou para classificação, mensuração e exame por exposição à luz artificial para verificar presença de cercárias e por esmagamento entre placas de vidro para observar a presença de cercárias de *S. mansoni*.

#### **7.8 – Educação em Saúde**

No decorrer da primeira fase do trabalho com a comunidade, através das primeiras entrevistas com os moradores e pessoas-chave como agentes de saúde e professores, percebeu-se o desconhecimento sobre a esquistossomose e a demanda dos últimos por maior informação. A partir dessa demanda, foi planejado um curso, de 16 horas, destinado aos professores e profissionais de saúde e oficinas com duração de oito horas para a população em geral.

### 7.8.1 Ações de atualização dos conhecimentos

Um curso, com duração de 16 horas, foi ministrado com o objetivo de atualizar professores e profissionais de saúde local nos principais conceitos de esquistossomose e helmintos intestinais e comportamentos de higiene. O curso visou também desconstruir crenças e conceitos incorretos e/ou incompletos e construir conhecimentos sobre a doença contextualizados na realidade local. O curso incluiu oficinas e práticas.

Outro curso com duração de oito horas foi ministrado para a população em geral. Aulas práticas também foram ministradas com o objetivo de enriquecer os novos conceitos.

Os professores e profissionais de saúde que freqüentaram o curso foram mobilizados para serem pessoas-chave repassando as informações para seus alunos, outros professores e também à comunidade.

O curso buscou fazer uma transposição do conhecimento científico sobre esquistossomose para uma linguagem de divulgação científica, além de oficinas e práticas adaptadas para o contexto local. Foram incluídas aulas teóricas com especialistas convidados de cada área do conhecimento relativa ao tema e aulas práticas com o objetivo de enriquecer e sedimentar os novos conhecimentos. O conteúdo específico incluiu nas aulas expositivas questões como a chegada e instalação da doença no Brasil, a situação atual no país e o ciclo biológico do *S.mansoni*.

Os cursistas foram estimulados a trazerem relatos de suas experiências associadas à doença, questões, dúvidas, possíveis crenças e tratamentos alternativos, advindos de práticas locais.

Na parte prática, para efeito comparativo, foram apresentadas caixas com moluscos do gênero *Biomphalaria*, transmissores da esquistossomose e outras com moluscos não transmissores; foram feitas demonstrações de como os moluscos deviam ser coletados, embalados, etiquetados e remetidos ao laboratório para análise; exames

com lupa de caramujos experimentalmente infectados, sob luz artificial e por esmagamento para observar a presença de cercárias (Anexo 3)

Em outras atividades foram dadas noções de diagnóstico, com ênfase no método quantitativo de Kato-Katz (Katz *et al*, 1972). Lâminas positivas foram colocadas em microscópios para observação dos ovos de *S. mansoni* e de outras verminoses (Anexo3).

O médico da equipe falou sobre sintomatologia, tratamento, cura e re-infecção, o que gerou alguns depoimentos dos cursistas sobre suas vivências próprias com a doença e de seus familiares.

Foram apresentados aos professores e profissionais de saúde os resultados obtidos com a pesquisa, como: prevalência da doença nos escolares e nas famílias, percentuais de famílias que tinham acesso a rede de esgoto, de água, fossa, energia elétrica e destino do lixo; a frequência e motivos pelos quais as pessoas da área tinham contato com as águas dos córregos e riachos do local; número e localização dos caramujos coletados com porcentagem de infectados.

As oficinas com a comunidade incluíram algumas apresentações do tema e práticas dialogadas adaptadas a partir do curso, sempre buscando uma aproximação com a realidade local. (Anexo 3)

### **7.8.2 Desenvolvimento de material educativo (Cartilhas sobre esquistossomose)**

A informação e divulgação científica no Brasil ainda é uma área bastante inexplorada pelos meios de comunicação em geral. A transposição do conhecimento científico requer uma linguagem apropriada para o público leigo e ilustrações igualmente adequadas que o permitam reconhecer os fenômenos e processos abordados.

Em geral, o conhecimento científico fica restrito aos meios acadêmicos, sendo necessário que alguns cientistas invistam no desenvolvimento de alternativas e processos que permitam ampliar o que denominam de alfabetização científica para a população, possibilitando a todos uma melhor compreensão do mundo em que vivem, maior capacidade crítica e participação cidadã, exercendo melhor vigilância sobre a própria vida e a sociedade. Na área da saúde esse investimento se torna uma responsabilidade social, considerando-se a importância da informação para a prevenção de doenças e para a realização e completude dos tratamentos.

Considerando tais aspectos, cartilhas informativas sobre esquistossomose foram desenvolvidas pela equipe a partir de experiências e dados obtidos em quatro

comunidades de áreas endêmicas. A adequação, repercussão, aceitação e opiniões dos professores, profissionais de saúde e grupos das comunidades envolvidas nas etapas anteriores foram incluídos no desenvolvimento das cartilhas. O material criado visa a ser oferecido para reprodução a órgãos governamentais, de modo a alcançar os profissionais que lidam quotidianamente com os problemas focalizados.

A originalidade da metodologia aplicada no desenvolvimento das cartilhas se baseia na transmissão de conhecimento científico em um contexto que tenta utilizar linguagem, personagens e situações do cotidiano. A proposta das cartilhas é de iniciar um processo de sensibilização e transformação de conceitos da doença e da saúde em geral de forma participativa. A metodologia apresentada enquadra-se numa estratégia que complementa as ações integradas de controle da esquistossomose.

### **7.9 – Aspectos éticos da pesquisa**

Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas René Rachou / Fiocruz em 16/05/2005, Protocolo CEPESH/CPqRR nº: 04/2005 de acordo com as atribuições da resolução 196/96.

No momento do registro das casas, após a apresentação, os entrevistadores, explicaram aos moradores os objetivos da pesquisa e os procedimentos a serem adotados para alcançá-los. Um termo de consentimento livre e esclarecido foi elaborado com a descrição resumida da metodologia da pesquisa e os riscos e benefícios provenientes desta (Anexo 1). Foi elaborado um termo por pessoa, que foi assinado (ou marcado com impressão digital). Em caso de crianças o termo foi assinado por um dos pais ou pelo responsável.

Os riscos na participação do projeto são mínimos. Houve coleta de 10 ml de sangue em quatro ocasiões, uma antes e três após o tratamento. A análise deste material esta em andamento, não tendo sido incluída na presente tese. O praziquantel, utilizado no tratamento dos pacientes positivos para esquistossomose, apresenta poucos efeitos colaterais na dosagem utilizada e é largamente usado para o tratamento da doença no país.

Os benefícios são vários. Diagnóstico e tratamento da esquistossomose e de todas as outras parasitoses, sem ônus para a comunidade. As ações de informação e educação em saúde associadas com a prevenção e controle da doença, bem como reflexões sobre

a necessidade de ações coletivas e políticas públicas foram realizados pela equipe do Laboratório de Educação em Saúde do CPqRR.

Finalmente, a população contribuiu para o aperfeiçoamento de técnicas que poderão beneficiar inúmeros pacientes e resultar em melhores métodos para uso em campanhas de Saúde Pública.

## **7.10 - Análise dos dados**

### **7.10.1 - Análise univariada**

Na análise univariada foram utilizados os testes do Qui-quadrado para comparação de proporções entre grupos, o teste de Bonferroni em caso de comparações múltiplas. A força das associações foi avaliada pelo cálculo do *Odds ratio* e de seus intervalos de confiança pelo método de Cornfield. O teste t de Student foi utilizado para comparação entre médias (Armitage, 1987). Para a comparação da intensidade da infecção entre indivíduos dependendo do número de laminae e número de amostras, o teste Wilcoxon foi aplicado e o teste de Mann-Whitney em caso de comparações das medianas da intensidade da infecção entre populações e grupos. As análises foram realizadas utilizando-se o pacote MINITAB 14.0.

### **7.10.2 - Análise multivariada**

A regressão logística múltipla foi utilizada para determinar o efeito independente de cada variável (Breslow & Day, 1980) na infecção pelo *S. mansoni*. O critério utilizado para inclusão das variáveis no modelo logístico inicial foi a significância estatística ao nível de 20% obtida da análise univariada (Greeland, 1989). As variáveis que apresentaram associação com esquistossomose ( $p < 0,05$ ) permaneceram no modelo logístico final.

As análises foram realizadas através do programa Stata (Stata Corporation, 1997).

## **VIII. Artigos**

## WORKING PAPER 8. PROGRESS TOWARDS THE DETECTION OF SCHISTOSOMIASIS

Ana Rabello and Martin Enk  
Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz,  
Belo Horizonte, Brazil

What progress has been made and what are the current priorities in research towards the detection of schistosome infections? Any comprehensive approach to address this matter requires a framework: diagnosing schistosomiasis to do what, where, to/ by whom?

### SOCIOPOLITICO-ECONOMIC REQUIREMENTS FOR MORBIDITY CONTROL

In the context of Goal 1 of the Millennium Development Goals, which is to eradicate extreme poverty and hunger, the 54th World Health Assembly (in 2001) recognized that tools are available to treat parasitic infections that deprive the poorest of the poor of their health and well-being, slow economic progress, and contribute to social marginalization. A resolution was put forward to start to seriously tackle worm infections, specifically soil-transmitted helminths and schistosomiasis. Accordingly, the World Health Organization launched the Partners for Parasitic Control (PPC) initiative, the global target of which is to treat at least 75% of all school-age children who are at risk of morbidity from soil-transmitted parasites and schistosomiasis by the year 2010 (Resolution WHA54.19. WHO, 2001<sup>[1]</sup>).

Because schistosomiasis has focal distribution, and in order to ensure the safe, efficient and economic use of praziquantel, tools are required that will allow simple, rapid and inexpensive identification of communities at highest risk of morbidity. The PPC calls for a diagnostic method that targets reduction of morbidity. More than 80% of individuals infected with schistosomes live in sub-Saharan Africa (Chistulo et al., 2000), where 106 million present with bladder wall pathology and 14.8 million with liver/ spleen enlargement (van der Werf, 2003), and where more than 800 million are at risk of infection. In this context it is worth mentioning that, in least developed countries, people in exposed

populations live on less than US\$ 2 a day (United Nations Statistics Division, 2005<sup>[2]</sup>) and have very limited access to health care and schooling.

The current strategy to achieve this PPC goal is to involve governments and the public health sector in implementing community-based programmes for school-age populations. This activity should ideally be part of integrated programmes requiring the engagement of local, often poorly trained, health care workers who deal with the different challenges on a minimum budget. A useful guide for planners and programme managers provides direction for collecting baseline parasitological data (Montresor et al., 2002) through questionnaire surveys for urinary schistosomiasis in all schools and, in areas likely to be endemic for urinary or intestinal schistosomiasis, urine and stool surveys in a random sample of schools. The Kato-Katz method is recommended for stool examination, and a filtration technique (or reagent strip) for detection of eggs (or blood) in urine. Is the scientific community capable of offering simpler and more effective diagnostic tools to the deworming programme than those presently available? Is there any progress? Is anything coming out of the pipeline?

### Questionnaires and reagent strips

When urgent intervention is required to prevent death and liver or bladder damage, often in an environment of civil unrest or man-made or natural disaster, any extra labour and costs needed are problematic. Although no new alternative, simple, fast screening method has been produced, during the last decade, scientific efforts have validated the usefulness of the questionnaire and the reagent strip as simple tools to estimate *Schistosoma haematobium* infection. Consistently in studies performed in different geographic areas, strong positive association has been found between reported haematuria, micro-haematuria and eggs in urine (Ansell et al., 1999; Stothard et al., 2002; van der Werf, Borsboom and de Vlas, 2003; van der Werf and de Vlas, 2004). Therefore a simple questionnaire asking “Did you have blood in urine during the last month?” and “Did you suffer from schistosomiasis during the last month?” is a validated tool that allows for a decision to be taken – the decision to treat all school-age children when 30% of them report gross haematuria, indicating that 50% have detectable eggs in urine (Guyatt et al., 1999). Lower predictive values are observed for the entire population, especially for women of childbearing age due to confound-

<sup>[1]</sup>World Health Assembly Resolution WHA 54.19. Schistosomiasis and soil-transmitted helminth infections. Geneva, World Health Organization, 2001.

<sup>[2]</sup><http://unstats.un.org/unsd/default.htm> – accessed 23 October 2005.

ing conditions such as menstruation, pregnancy and genitourinary infections (Utzing et al., 1998). This aspect must be taken into consideration when planning the complementary strategy of the deworming programme which is based on community action and treatment of groups at high risk of infection. A matter of concern is that the efficiency of the questionnaire and strip test decreases as the prevalence and intensity of infection decrease.

The situation is far more difficult regarding the detection of *S. mansoni* and *S. japonicum* eggs in stool because using questionnaires for intestinal symptoms has proved less promising. Repeated and extensive studies aimed at developing and validating a questionnaire for rapid screening of *S. mansoni* infection have addressed a variety of possible specific symptoms. The questions "Did you have blood in stool during the last month?" and "Did you have bloody diarrhoea during the last month?" were significantly associated with the prevalence of *S. mansoni* infection, but the diagnostic performance of these symptoms was only moderate. In different districts of sub-Saharan countries, the sensitivity of information on the perception of blood in stools varied from 47% to 88.2%, the specificity varied from 57.7% to 76%, the positive predictive values varied from 66% to 73.2%, and the negative predictive values from 60% to 78.9% (Utzing et al., 1998, 2002).

Less information is available on the efficiency of the questionnaire in estimating *S. japonicum* infection. In China, a six-question (on episodes of diarrhoea, frequency of water contact, school grade attained, weakness, past history of *S. japonicum* infection, and previous treatment for schistosomiasis, if any) form showed sensitivity of 93.7% and specificity of 91.9% (Zhou et al., 1998). The use of multi-question questionnaires and their analysis by logistic regression resulted in an area below the receiver-operating characteristic curve of 0.90 (Tan et al., 2004), but these are complex approaches that require skilled personnel.

#### Egg detection

One of the drawbacks of the questionnaire and urinary strip test is that neither provides baseline information on the intensity of infection. There is no need to re-confirm that the urine filtration and Kato-Katz stool examination methods offer good sensitivity in highly endemic areas; these are highly studied methods and their usefulness for morbidity control is well defined. Urine is easily collected but, due to the circadian pattern of egg excretion, specimens should ideally be collected between 10 am and 2 pm. Parasitological methods (urine filtra-

tion or Kato-Katz) cost about 10 US cents; although these relatively cheap and simple methods have been available for decades, electricity, microscopes and trained microscopists may be very few or not available.

In this case again, the best scientific contributions and progress over the last decades have resulted not in the development of new methods but in better understanding of the advantages, limitations and utility of available methods. A recent example is the use of computer simulation to investigate the validity and cost-effectiveness of different screening and control strategies for *S. mansoni* infection in Uganda. In identifying schools with a prevalence of *S. mansoni* higher or equal to 50%, a sampling computerized method provided sensitivity and specificity of >90% at sample sizes of less than 20 children (Brooker et al., 2005).

### THE SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL REQUIREMENTS FOR TRANSMISSION CONTROL

In many countries such as Saudi Arabia, The Philippines, Morocco, China, Venezuela, and in regions of Egypt and Brazil, significant progress in the control of schistosomiasis and other diseases has been achieved by the national control programmes due to considerable increases in resource capabilities, health educational activities, and environmental sanitation. Use of large-scale chemotherapy has allowed prevalence to decrease dramatically and be kept at low levels.

In this strikingly diverse framework, in which reliable and accurate diagnostic tools are needed as a key element for schistosomiasis elimination, the health services are generally prepared and resources, though limited, are on hand. However, the window of opportunity to switch from morbidity control to transmission control in these areas is only partially opened because of the lack of diagnostic tools for reliable, simple and inexpensive identification of the relatively small number of individuals who harbour just a few worms. Can the scientific community offer more effective diagnostics tools than those presently available? Is there any progress?

Unfortunately, the results of research on improved diagnostic techniques are still unsatisfactory bearing in mind the ideal technique and the financial and infrastructural difficulties of most endemic countries. Repeated parasitological examinations of urine or stool associated with different methods of antibody detection remain the validated instruments. To overcome the lack of sensitivity in situations of low



worm burden (as found in low prevalence areas) and in evaluation after treatment, it is necessary to increase the number of stool samples. This approach reduces the operational advantages of the technique by increasing the costs, hampering the screen-and-treat operations, and reducing compliance. In monitoring the control programmes, parasitological data must be considered with caution since treatment may reduce the egg elimination rate by 90% in those patients who remain infected.

#### Antibody detection

Although the efficiency of antibody detection varies according to the antigen system or method, the techniques usually present high sensitivity but low specificity. Most commonly used is the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The search for antigens of higher specificity than the soluble crude egg (SEA) or worm antigens (SWAP) resulted in purified preparations such as cationic fraction 6 (CEF6) (Doenhoff et al., 1993), adult microsomal antigen for *S. mansoni*, japonicum and haematobium (MAMA, JAMA, HAMA) (Tsang et al., 1983), gut associated antigen 31/32 (Klinkert et al., 1991), and the alkaline phosphatase immunocapture assay (Pujol and Cesari et al., 1990). Variable results with these purified preparations were observed in different settings. They may be useful in specific situations (Doenhoff et al., 2004), but in general, the antibody-based methods offer low specificity, persistence after chemotherapy, cross reactivity, poor correlation with egg output, complex handling, and high costs.

Although some progress has been reported in the research and development of rapid tests for antibody detection, no validated resilient novel tool is available. Rapid tests for antibody detection in new assay formats have been reported for *S. japonicum*: the dot immunogold filtration assay (Wen et al., 2005), and the silver-enhanced colloidal gold metalloimmunoassay (Chu et al., 2005). A western blot assay has also been evaluated for anti-*S. mansoni* antibody detection (Sulahian et al., 2005). These new formats use crude antigens and still need to be validated in large-scale field trials.

#### Antigen detection

Similarly, a number of assays to detect circulating antigen have been described. Most experience has been obtained with the detection of anodic (CAA) and cathodic (CCA) schistosome antigens in serum and urine using the ELISA or dipstick platforms, and antigen capture with monoclonal antibodies. The main advantages are high specificity, positive correlation with worm burden, and the possibility

for estimation of infection intensity. Moreover, circulating schistosome antigens disappear rapidly after treatment and can therefore be used for assessment of cure. However, the sensitivity of antigen detection varies from 55% to 100%, being low in low endemic areas (van Lieshout, 2000) with no advantage over stool and urine examination.

#### DNA detection

Recently, a DNA detection assay was developed and evaluated in a pilot field study. The polymerase chain reaction (PCR) indicated a prevalence of 38.1%, while triple Kato-Katz testing indicated 30.9% prevalence in the same samples (Pontes et al., 2003). The DNA amplification assay may constitute an alternative to available diagnostic techniques for the detection of *S. mansoni* infection, but still needs further validation. The PCR may, in particular, constitute a tool for the diagnosis of *Schistosoma* sp. infection in special situations when high sensitivity and specificity are required and where infrastructure, financial resources and skilled personnel are available.

#### Combined approach

As long as there is no simple diagnostic test for mass screening in areas of low prevalence, one strategy is to combine different methods to identify the small number of infected people. One possibility is to use antibody detection, and to confirm actual infection with multiple parasitological examinations. The goal of this approach is to reduce the chances of under-diagnosis and at the same time to reduce unnecessary treatment. The implementation of a schistosomiasis surveillance system, run by local public health centres and based on geographical distribution, water contact patterns, and the mapping and registration of individual cases, can help to define the target population. Here again, inter and trans-disciplinary (bio-science, mathematics, epidemiology, programme management) research is needed in order to provide the basis for decisions on the most cost-effective approach.

Various control strategies have been defined by different national control programmes. Unequivocal benefits are expected in the above-mentioned high morbidity areas as praziquantel is a safe drug even during pregnancy and breastfeeding (Adam et al., 2005). The same strategy may not be proper in low endemic areas, where severe morbidity is rare, but the lack of a useful and simple diagnostics method combined with the low price of chemotherapeutic intervention has shifted the control strategy from individual diagnosis and treatment to selective population mass drug distribution. In an endemic area where less than 10% of children present with eggs in

stool or urine, the targeted treatment of all school-age children twice during their school years is recommended (Montresor et al., 2002). Expressing this approach in numbers, in a community with 1000 school-age children and an estimated prevalence of 8%, the drug will unnecessarily be administered to approximately 900 students.

This policy has potential implications:

- 1) The risk of increasing drug resistance.
- 2) The possible high costs and difficult sustainability when compared to individual diagnosis and treatment integrated into the primary health care system. The cost of a strategy based on 'passive chemotherapy' and health education proved to be about half that of mass drug distribution in two villages in China, with 11% and 12.3% prevalence of *S. mansoni* infection, with similar treatment coverage (Guo et al., 2005). On the other hand, in Ghana and Mali, only half of the patients reporting blood in stool or urine would receive treatment in a passive case detection health care system (van der Werf et al., 2004). The different experiences are certainly the result of health education and a strengthened primary health care service in China. Such a comprehensive approach brings benefits that go far beyond the targeted disease.
- 3) The ethical aspects. In respect to individual autonomy, whenever a drug is to be administered unnecessarily to a person, he/ she must be informed of the risks and benefits, and the alternative approaches must be debated. Moreover, residents in endemic areas must have the right to refuse to take the drug in the absence of an individual positive diagnosis.

#### The lack of notable development

In conclusion, this review reflects the limited investment of both public and private sectors in research and product development for diagnostics for schistosome infections. Despite the fact that research has yielded breakthroughs in molecular biology, chemistry and engineering, no advances have been taken up by industry and applied to diagnostics development for a growing range of illnesses and conditions including schistosomiasis. There is urgent need for an extended public-private partnership model to target research and development from genome sequencing to regulatory approval, including making available newly registered products to the public sector at affordable prices.

For the two scenarios discussed above (morbidity control and transmission control), it is clear that the priorities are to develop tests for rapid assessment of intestinal schistosomiasis in areas of high endemicity and to develop more sensitive and specific diagnostic tools for use in areas of low transmission, as was defined by TDR in 2001. In addition, improved diagnostics tools are needed to assist in chemotherapy, in the monitoring and evaluation of control programmes and of drug resistance, and in clinical trials of vaccine candidates and new drugs.

Importantly, the diminishing focus on schistosomiasis has reduced the number of involved research groups. The decline in funding for schistosomiasis and diagnostics has led to this lack of notable advances. As a final note, and most importantly, disease-endemic countries' research capacity and local autonomy are essential in carrying out and maintaining realistic, collaborative and self-sustained control programmes.

#### References

- Adam I, Elwasila E, Homeida M. Praziquantel for the treatment of schistosomiasis mansoni during pregnancy. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 2005, 99:37–40.
- Ansell J et al. The reliability of self-reported blood in urine and schistosomiasis as indicators of *Schistosoma haematobium* infection in school children: a study in Muheza District, Tanzania. *Tropical Medicine and International Health*, 1997, 2:1180–1189.
- Brooker S et al. Rapid assessment of *Schistosoma mansoni*: the validity, applicability and cost-effectiveness of the Lot Quality Assurance Sampling method in Uganda. *Tropical Medicine and International Health*, 2005, 10:647–658.
- Chitsulo L et al. The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Tropica*, 2000, 77:41–51.
- Chu X et al. Silver-enhanced colloidal gold metalloimmunoassay for *Schistosoma japonicum* antibody detection. *Journal of Immunological Methods*, 2005, 301:77–88.
- Doenhoff MJ et al. Seroepidemiology and serodiagnosis of schistosomiasis in Kenya using crude and purified egg antigens of *Schistosoma mansoni* in ELISA. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1993, 87:42–48.

- Doenhoff MJ, Chiodini PL, Hamilton JV. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? *Trends in Parasitology*, 2004, 20:35–39.
- Guo JG et al. The role of 'passive chemotherapy' plus health education for schistosomiasis control in China during maintenance and consolidation phase. *Acta Tropica*, 2005, 96:177–183.
- Guyatt H et al. The performance of school-based questionnaires of reported blood in urine in diagnosing *Schistosoma haematobium* infection: patterns by age and sex. *Tropical Medicine and International Health*, 1999, 4:751–757.
- Klinkert MQ et al. Immunological analysis of cloned *Schistosoma mansoni* antigens Sm31 and Sm32 with sera of schistosomiasis patients. *Tropical Medicine and Parasitology*, 1991, 42:319–324.
- Montresor A et al. Helminth control in school-age children. A guide for managers of control programmes. Geneva, World Health Organization, 2002.
- Pontes LA et al. Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2003, 68:652–656.
- Pujol FH, Cesari IM. Antigenicity of adult *Schistosoma mansoni* alkaline phosphatase. *Parasite Immunology*, 1990, 12:189–198.
- Stothard JR et al. Urinary schistosomiasis in schoolchildren on Zanzibar Island (Unguja), Tanzania: a parasitological survey supplemented with questionnaires. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2002, 96:507–514.
- Sulahian A et al. Development and evaluation of a Western blot kit for diagnosis of schistosomiasis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 2005, 12:548–551.
- Tan H et al. Rapid screening method for *Schistosoma japonicum* infection using questionnaires in flood area of the People's Republic of China. *Acta Tropica*, 2004, 90:1–9.
- Tsang VC et al. *Schistosoma mansoni* adult microsomal antigens, a serologic reagent. II. Specificity of antibody responses to the *S. mansoni* microsomal antigen (MAMA). *Journal of Immunology*, 1983, 130:1366–1370.
- Utzing J et al. *Schistosoma mansoni*, intestinal parasites and perceived morbidity indicators in schoolchildren in a rural endemic area of western Cote d'Ivoire. *Tropical Medicine and International Health*, 1998, 3:711–720.
- Utzing J, Tanner M. Screening for schistosomiasis with questionnaires. *Trends in Parasitology*, 2002, 18:375–377.
- van der Werf MJ, Borsboom GJ, de Vlas SJ. No effect of recall period length on prevalence of self-reported haematuria in *Schistosoma haematobium*-endemic areas. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2003, 97:373–374.
- van der Werf MJ et al. Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta Tropica*, 2003, 86:125–139.
- van der Werf MJ et al. Measuring schistosomiasis case management of the health services in Ghana and Mali. *Tropical Medicine and International Health*, 2004, 9:149–157.
- van der Werf MJ, de Vlas SJ. Diagnosis of urinary schistosomiasis: a novel approach to compare bladder pathology measured by ultrasound and three methods for hematuria detection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2004, 71:98–106.
- van Lieshout L, Polderman AM, Deelder AM. Immunodiagnosis of schistosomiasis by determination of the circulating antigens CAA and CCA, in particular in individuals with recent or light infections. *Acta Tropica*, 2000, 77:69–80.
- Wen LY et al. Evaluation on the applied value of the dot immunogold filtration assay (DIGFA) for rapid detection of anti-*Schistosoma japonicum* antibody. *Acta Tropica*, 2005, 96:142–147.
- Zhou H et al. Diagnosis of schistosomiasis japonica in Chinese schoolchildren by administration of a questionnaire. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1998, 92:245–250.

FACTORS RELATED TO TRANSMISSION AND INFECTION WITH  
*SCHISTOSOMA MANSONI* IN A VILLAGE IN THE SOUTH-EASTERN REGION  
OF BRAZIL

MARTIN JOHANNES ENK\*, ANNA CAROLINA LUSTOSA LIMA, HELITON DA  
SILVA BARROS, CRISTIANO LARA MASSARA, PAULO MARCOS ZECH  
COELHO, AND VIRGINIA TORRES SCHALL

*Laboratory of Schistosomiasis, Department of Scientific Support - Unit for Biostatistics,  
Laboratory of Health Education, and Laboratory of Intestinal Helminthiasis, René  
Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Belo Horizonte, Minas Gerais,  
Brazil*

**Abstract**

In this transversal study the factors related to the infection and transmission of *S. mansoni* in a village of the municipality of Governador Valadares, Brazil, were explored. Based on the stool examinations of two Kato Katz smears of a single sample among 1061 residents of this village, the prevalence for schistosomiasis (11.2%) and Soil Transmitted Helminthes (10.4% for hookworm infections and equal or less than 2% for the other helminthes) was established. In a multivariable analysis sets of demographic, socioeconomic and water contact pattern variables were tested for strength of relation with infection. Gender (male), age group (10 to 30 years) and leisure activities related to contact with unsafe water were identified as those variables with a strong association to the infection. Males presented a 3,39 times higher risk for infection than females. The age group between 10 and 19 years, showed a risk of infection 7,1 (95% CI= 3,2-16,0) times higher and that between 20 and 30 years that was 7,5 (95% CI= 3,0-18,5) times higher than the control with age between 0 and 10 years.

Individuals practicing leisure activities had a 1,96 higher risk than without these activities. The malacological survey on water collections in the village and two sites, which are used for leisure purposes, identified snails of the species *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* and *B.tenagophila*. Two exemplars of *B. glabrata* (0.53%) proved positive for *S. mansoni*. The results indicate that socio-economic improvements, like supply with safe water, have protective and preventive effect on infection with schistosomiasis. In the context an integrated control program, which takes socio-economic variables into consideration, may be based on two pillars, one, horizontal, which involves social empowerment and health education and another one, more vertical, which delivers treatment and infrastructural improvements.

**Keywords:** Schistosomiasis; *Schistosoma mansoni*; Socioeconomic factors; Risk factors; Area of low transmission; Brazil

### **Introduction**

There is much scientific evidence that socio-demographic variables and contact with unsafe water are associated to infection with schistosomiasis. Studies in different settings have been carried out, describing vulnerable parts of the population, such as school children, or behavior, related to a higher risk of acquiring the infection, as it is the case with household, occupational and leisure activities, or involving socio-economical status and its correlation to the disease (Lima e Costa, 1983; Guimarães *et al.* 1985; Cairncross *et al.* 1996; Silva *et al.* 1997; Barbosa & Barbosa, 1998; Moza *et al.* 1998; Watts *et al.* 1998; Bethony *et al.* 2001; 2004; Massara *et al.* 2004; Gazinelli *et al.* 2006). The data presented in this paper are part of a broader project with the main focus on diagnostic and control strategies of *S. mansoni* in an area of so called low prevalence. This article intends to investigate some aspects of the association between infections with *S. mansoni* and general demographic, socio-economic and water contact pattern variables in the village of Chonim de Cima and to give an overall view about the transmission and maintenance of the disease in this area. Therefore a malacological survey was carried out and an evaluation of safe water supply and sanitation issues also were part of this study. It also tries to gather knowledge on specific, local features of water contact that determine schistosomiasis infection, as well as the representation local populations have regarding the disease, providing support to elaborate control strategies, involving local communities (Barbosa *et al.*, 1996). Seeking such conditional characteristics allows investigators to realize local people's behavior, enabling an

association between the disease and activities that may result in an increased risk for infection, in order to propose specific preventive strategies (Laurel & Gil, 1975).

## **Material and Methods**

### **Study area and population**

The village of Chonim de Cima is situated in the county of Governador Valadares, in the north-east of Minas Gerais state, Brazil. The district of Chonim de Cima covers an area of 175 km<sup>2</sup> in the north of the county. The area is characterized by multiple water sources like brooks, swamps and small lakes, which are used for professional and leisure activities of the local population. The brook, before it enters the village, is used as the main water source for drinking and domestic needs of the population. For this purpose, the water is pumped to a water treatment station, which is run by the municipality owned Water and Sewerage Company of Governador Valadares. The treated and chlorinated water is stored in water tanks and finally delivered through a pipe system to the consumers in all households of the village. As the brook crosses the village it serves as principal recipient for sewage of innumerable individual drainages of households nearby. At the brook's exit of village the canalization system delivers untreated sewage into its water.

The economy of the village is based on cattle breeding for meat and milk production, subsidiary agriculture, small businesses and local trade. The only school of the district is situated in the center of the village and receives pupils from the rural and urban area. The school enrolment rate is above 90%, representing the Brazilian average. Basic medical support is provided by a team of PACS (Community Health Assistance Program), consisting of five health technicians, based in a little health facility. A medical doctor together with a fully trained nurse attends each Monday and Wednesday patients of the district. In case of specific medical examinations, treatment or hospitalization patients are brought to Governador Valadares, which is 30 km distant of the village and can be reached by driving 10 km on dust road and 20 km asphalted street.

This study area was selected because it is situated in an area of low prevalence for schistosomiasis, where the community never received previous chemotherapeutic treatment through the national schistosomiasis control program and the village's population was adequate in size for the study purpose and characterized by a low rate of migration.

During a census, carried out in cooperation with the local health authorities (PACS), 1448 residents living in 404 households were registered. Non permanent residents, a number of 183 individuals and 204 residents of the rural area of the district were excluded from this study, resulting in a total population of 1061 participants investigated.

#### **Parasitological survey**

A cross-sectional parasitological survey was carried out in all household. A single stool sample of each household member was examined according to the Kato Katz thick smear technique, using two slides each sample (Katz et al 1972). The slides were prepared in a field laboratory in Chonim de Cima by a well trained technician of the regional health agency. After that, two experienced laboratory technicians of the Laboratory of Schistosomiasis performed the microscopic examination in Rene Rachou Research Center (CPqRR). Approximately 10,0 % of all examined slides were subjected to a control system for diagnostic efficacy. The results for Soil Transmitted Helminthes (STHs) were expressed qualitatively, those for *S. mansoni* quantitatively to obtain the number of eggs per gram. For each individual the arithmetic mean egg count per gram of fezes based on the two samples was calculated. For analysis on group and population level the intensity of infection was calculated as the geometric mean of the individual egg counts.

#### **Treatment**

All participants positive for schistosomiasis were treated with praziquantel according to the recommendation of the Brazilian Ministry of Health (adults, 50 mg/kg in a single oral dose, children  $\leq$  15 years old, 60 mg/kg in a single oral dose). Those positive for STHs were treated with albendazole (adults and children, 400mg in a single oral dose) in the local health facility.

#### **Malacological survey**

A senior technician, trained by the CPqRR and with large experience in snail collection, from the regional center of disease control (DADS –Regional Section of Decentralized Health Assistance) carried out the survey in the presence of one member of the research team. Snails were collected from the brooks which are crossing the village, swamps, little ponds, irrigation ponds and fish reservoirs within the urban area. Additionally, two

sites used by the local population for leisure activities were examined for the presence of mollusks. The collection process was performed with perforated metal dippers fixed on a wooden stick and wooden tweezers (Thiengo 1995).

After capture the mollusks were packed in boxes especially designed for transport and taken to the laboratory. Those alive were measured and examined in small plastic flasks with dechlorinated water under artificial light in order to verify the presence of *S. mansoni* cercariae. Five snails of each collection site were put for identification based on comparative morphology of the reproductive organs and shell as described by Deslandes (1951) and Paraense (1975) and for molecular analysis according to Vidigal et al. (2000). The other snails were submitted to smashing between glass plates for verification of the presence of sporocysts and cercariae.

#### **Demographic, socioeconomic, water contact variables and data collection**

Different sets of variables, which have shown association to transmission and infection in other study areas were chosen to evaluate their relation to the disease in our setting (Gazinelli et al. 2006, Bethony et al. 2004, Massara et al. 2004). In order to investigate these different sets of variables, a questionnaire, based on a model developed by Firmo (1994) during research activities in the region of Gorduras, Belo Horizonte, Minas Gerais, and adapted to the local conditions of this study area, was used in this survey.

The following four sets of variables were applied in this study: a) a demographic set including name, age, gender, and family's origin; b) a socioeconomic set consisting of information about water supply, presence of electric energy, household possessions (car, bicycle, television set, radio, refrigerator), regime of ownership (proper or rent), total household's income (less or more than two minimum wages), education (non, first grade, second grade and more than second grade) and occupation (children and school children; manual and rural worker; employed in service sector; housewife, housekeeper, retired person and pensioner; and unemployed); c) a set of information about sanitation devices including sewage disposal (canalization, septic pit, rudimentary pit and direct disposal into the brook) and infrastructure of toilet (presence of toilet and type of floor) and d) a set about water contact pattern categorized in leisure activities (swimming and fishing), horticultural activities, fetching water, occupational exposure to untreated water, and crossing natural water collections, which means water contact with the bare feet when crossing brooks or swamps.



A team of four trained interviewers, all of them from the CPqRR, was in charge to carry out the survey. Prior to the survey they were trained to conduct the interviews by using PDAs (Personal Digital/Data Assistants). They visited all households. After signing a consent form for each resident of the household, a representative, in most cases the head of the household, was interviewed about general conditions and possessions of the residence. Individual data, including water contact pattern, were obtained by questioning each member of the household. In case of children less than seven years of age, this information was gathered by asking the household representative who answered the questionnaire about the residence.

### **Data analysis**

The chi-square test was applied to compare proportions between groups. The Odds Ratio was used to determine the strength of association of results of stool examinations between groups of the population. In the univariate logistic regression the relationship between the infection with *S. mansoni* and demographic, socioeconomic and water contact variables was explored. Considering all variables revealing a p-value < 0,20 and sequentially removing the variable with the highest p-value until all variables showed a p-value < 0,005, was the adapted procedure of the multivariate logistic regression to develop the final model. All tests were carried out with 95% level of confidence. The software package MINITAB 14.0 was used to carry out these calculations.

### **Ethical Considerations**

All participants were informed about the purpose of this study, the possible risks and inconveniences. The study protocol was received and approved by the Ethical Review Board of the CPqRR (No. 04/2005). The study was carried out between 2004 and 2006.

### **Results**

#### **Population**

The study population of 1061 individuals consisted of 597 (56,3%) females and 464 (43,7%) males, living in 351 residences. No significant difference was found between the proportion of female and male population (Chi square test: 16,672, p-value = 0,000). The age of this population ranged from 0 to 96 years revealing mean age of 27 years (23,0 – 30,0 years, CI 95%) and a medium age of 32 years (30,6 – 33,4 years, CI 95%).

The extreme age groups, less than 10 years and more than 60 years represent 19,2% and 17,2% of the entire population. More than 40% of the population was younger than 20 years. The detailed figures of the population correlating age and gender are shown in table 1.

A total number of 336 households, representing a proportion of 95,7% of the population have access to electric energy and 299 households representing 86,1% of the population receive treated water. Regarding the issue of sewage disposal, 188 households, representing 53,3% of the population are connected to the public sewage system and 99 households or 29,2% of the population are using some sort of pit and the rest of the households or 17,5 % of the population drains their sewage directly into the brook.

#### **Parasitological survey**

The parasitological survey among all 1061 participants revealed a total number of 119 individuals infected with *S. mansoni*, indicating a prevalence of 11,2%. Males, with a proportion of 18,1% schistosomiasis positives, showed a 3,1 times higher infection rate than females, with a proportion of 5,9%. The overall geometric mean egg count was 61,1, being 63,6 for females and 60,1 for males. As lined out in figure 1, the highest infection rates occur in an age from 10 to 30 years, and as shown in table 3, the highest egg counts per gram were found in the age group of children up to ten years.

The results of prevalence for STHs are equal or beyond 2,0%, except for hookworm infections, which reached a level of 10,4% (table 2). A proportion of 1,8% of the population revealed co-infection with two or more STHs, and 2,0% co-infection with schistosomiasis and one or more STH.

#### **Malacological survey**

Out of the 30 collection sites in the urban area, a number of 491 snails of the genus *Biomphalaria* were found at 22 (73,3%) locations. At both sites used for recreation and leisure activities outside of the village, 27 snail were captured. Of the total number of 391 alive mollusks, 235 (60,1%) were identified as *Biomphalaria straminea*, 152 (38,9%) as *Biomphalaria glabrata* and 4 (1%) as *Biomphalaria tenagophila*. Remarkably each snail species seems to prefer a specific habitat. All specimens of *B. straminea* were found in brooks, those of *B. glabrata* only in little ponds and water reservoirs and all *B. tenagophila* snails were captured in a single pond, which was used for fishing. The total number of 376 (96,2%) alive mollusks were examined for

infection with *S.mansoni*, of which 2 snails, or 0,53%, proved positive, both of the species *B. glabrata*. Considering only *B. glabrata* snails in the evaluation, the infection rate increases to 1,6% among this species.

#### **Demographic, socioeconomic and water contact variables**

A univariate logistic regression was conducted in order to identify a significant relationship between infection with *S.mansoni* and potential risk factors, represented by demographic, socioeconomic and water contact variables.

Among the demographic variables considered, a significant relation was found between the infection and gender, as well as age group. Males showed a 3,39 (95% CI= 2,2-5,3) higher risk for infection than females. The most notable results were found in the age groups between 10 and 30 years, where the risk of infection was 7,1 (95% CI= 3,2-16,0) and 7,5 (95% CI= 3,0-18,5) times higher than in the control with an age between 0 and 10 years. The family's origin also was associated with infection, revealing that families with origin outside of the study area are at lower risk.

The socioeconomic variables, which were related to infection with schistosomiasis, are shown in table 4. The rest of this set of variables, including water supply, presence of electric energy, household possessions, regime of ownership and household's income, revealed no statistically significant relationship to infection.

The variables connected with the household's sanitation revealed no relationship with infection in case of sewage disposal (p-value = 0.25) and presence of toilet (p-value = 0.42). The infrastructure of the toilet, evaluated by type of floor, presented a significant association with the disease. The risk decreases according to the increase of the infrastructure's quality, showing values of 0,4 (95% CI= 0,2-0,8) for ceramic floor and 0,5 (95% CI= 0,3-1,0) for concrete floor compared to floor without improvement.

The evaluation of the water contact pattern of the population in relation to infection is shown in table 5. The strongest association was found for the variable leisure activities showing a 3,5 fold increased risk (95% CI= 2,4-5,2) for those individuals practicing these activities.

Table 6 shows the final multivariable model for schistosomiasis infection. According to the results of this model, males at higher risk than females and the age group between 10 and 30 years shows the highest values of association with the infection. Members of the community, who practice leisure activities involving water contact with natural water sources, are also at highest risk than those without these activities. Further

analysis of the schistosomiasis positive male population in relation to age group and leisure activities, shows that 51,2% of the this population are between 10 and 20 years old and practice leisure activities. Figure 2 provides more detailed information about these distributions.

## **Discussion**

Bio-ecological data obtained in the present study reveals that the district of Chonim de Cima provides adequate environmental conditions for the vector reproduction and parasite survival expressed by schistosomiasis positive individuals as well as by infected snails. Considering the fact that the population never received treatment through the national schistosomiasis control program, raises the question why the infection rate among the residents of this village is not higher. Based on data of socioeconomic survey, the most probable answer is that measures, which are related to social improvement, especially safe water supply, prove to have a protective and preventive effect on the infection with schistosomiasis. This finds an expression in our data in the distribution of infection according to gender. Females are at lower risk, because their pattern of water contact involves, due to their more domestic activities mainly safe water sources. This assumption is reinforced by the finding, that no relation of infection with schistosomiasis and the occupation category, which includes this section of the population (housewife, house keeper, handicapped and retired persons) could be found. Furthermore the occupation category of manual and rural worker, mainly males, shows strong relationship to infection, due to contact to unsafe water. On the other hand the effect of the protective factor – safe water – is hampered by the lack of another important social achievement. The insufficient sanitation system, according to our data 70.8% of all households deliver sewage untreated into the main brook of the village, helps significantly to maintain the transmission of schistosomiasis in the area. The natural water resources, which are used for leisure purpose, become in this way contaminated and an important source of infection. As described in the final multivariable model, leisure activities represent an important risk factor to acquire infection with schistosomiasis. Putting this finding into the broader context of an integrated schistosomiasis control program, the importance of social improvements, which include the majority of the population, becomes evident. The current strategy, which focuses mainly on the treatment of the positives, has without any doubt a paramount role on the individual level. But on the community level, the option of

treatment without concurrent social improvements, especially in the water and sanitation sector, seems to be less effective, efficient and on the long turn less sustainable, because re-infection occurs after treatment as long as the environment remains contaminated with the parasite (Coura Filho et al. 1996).

This study also intended to identify subsets of the population, which are more vulnerable to infection with schistosomiasis. According to the final model, males in the age group between 10 and 30 years and practicing leisure activities related to contact with unsafe water show the highest accumulative risk of infection. Although vulnerability for infection depends on environmental, demographic and socioeconomic factors specific for each endemic area, our data follow in some aspects a pattern, which was found in other study areas. Especially the age group of 10 to 30 years represents such a subset of the population, which seems to be common (Costa e Lima 1983; Gazinelli et al. 2006). This information may be useful for the planning of more differentiated control programs for areas of low prevalence, which consider an approach involving target groups.

In conclusion, this study shows that the factors related to the transmission and infection with schistosomiasis cannot be understood only as a consequence of a variety of demographical, socio-economical and biological variables, which differ among study areas, but must be seen also in a framework, where different and complex biological and social systems interact and influence each other in a permanent search for homeostasis.

Finally it is worth to mention here that data of another study, which analyzed in depth the proportion of schistosomiasis positives among a representative sample of the same population, revealed a significant variation (Enk et al. 2007, submitted). According to the methodology applied the prevalence showed levels of 11,4 % for 2 Kato Katz slides of a single stool sample and 35,4 % for 10 Kato Katz slides of three stool samples combined with stool examinations carried out according to the formol ether centrifugation technique (Blagg et al 1955). This evidence indicates that prevalence is roughly underestimated, because approximately two thirds of the positives are not detected, if the routine sampling effort is applied. This finding strongly suggests that the association of the above evaluated variables with schistosomiasis has to be seen with caution whenever one or two slides of a single stool sample are used to define prevalence. That also means that in our case a comparison of the demographic and socioeconomic data with the higher and lower prevalence values might bring a deeper insight into this issue. Nevertheless, this evidence shows that the real situation of the

infection with schistosomiasis in areas of considered low prevalence, require more attention and a more sophisticated approach in order to obtain reliable information.

**Acknowledgements:** We thank Aureo Almeida de Oliveira, senior technician of the Laboratory of Schistosomiasis, for his valuable contribution in realizing the field work and examining the stool samples. We are grateful for the excellent cooperation of the technical team of the Secretary of Health in the State of Minas Gerais, Section Governador Valadares.

**Financial support:** This work obtained financial support from the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), Brazil, Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), and Sistema Único de Saúde (SUS).

**Authors' addresses:** Martin Johannes Enk, Laboratory of Schistosomiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mails: [marenk@cpqrr.fiocruz.br](mailto:marenk@cpqrr.fiocruz.br) . Anna Carolina Lustosa Lima, Department of Scientific Support, Unit for Biostatistics, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [anna@cpqrr.fiocruz.br](mailto:anna@cpqrr.fiocruz.br) . Heliton da Silva Barros, Laboratory of Health Education, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [barros@cpqrr.fiocruz.br](mailto:barros@cpqrr.fiocruz.br) . Cristiano Lara Massara, Laboratory of Intestinal Helminthiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [massara@cpqrr.fiocruz.br](mailto:massara@cpqrr.fiocruz.br) Paulo Marcos Zech Coelho, Laboratory of Schistosomiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, and Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br](mailto:coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br) . Virginia Torres Schall, Laboratory of Health Education, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [vttschall@cpqrr.fiocruz.br](mailto:vttschall@cpqrr.fiocruz.br).

#### REFERENCES

Barbosa CS, da Silva CB, Barbosa FS, 1996. Esquistossomiasis: reproduction and expansion of the endemic region in Brazil. *Rev. Saúde Pública* 30 (6):609-619

Barbosa C, Barbosa F. 1998. Padrão epidemiológico da esquistossomose em comunidade de pequenos produtores rurais de Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14(1):129-137.

Bethony J, Willians JT, Kloos H, Blangero J, Alves-Fraga L, Buck G, Michalek A, Willians-Blangero S, LoVerde PT, Correa-Oliveira R, Gazzinelli A. 2001. Exposure to *Schistosoma mansoni* infection in a rural area in Brazil. II: Household infection factors. *Tropical Medicine International Health*, 6:136-145.

Bethony J, Willians JT, Brooker S, Gazzinelli A, Gazzinelli MF, LoVerde PT, Correa-Oliveira R, Kloos H. 2004. Exposure to *Schistosoma mansoni* infection in a rural area in Brazil. Part III: household aggregation of water contact behavior. *Tropical Medicine International Health*; 49:381-9.

Blagg W, Schoegel EL, Mansour NS, Khalat GI 1955. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am J Trop Med Hyg* 4: 23-28.

Cairncross S, Blumenthal U, Kolsky P, Maores L, Tayeh A. 1996. The public and domestic domains in the transmission of disease. *Tropical Medicine and International Health*:1:27-34.

Coura-Filho P, Rocha RS, Lamartine SS, Farah MWC, Resende DF, Costa JO, Katz N 1996. Control of schistosomiasis mansoni in Ravena (Sabará State of Minas Gerais, Brazil) through water supply and quadrennial treatments. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 91:659-664.

Deslandes N 1951. Técnica de dissecação e exame de planorbídeos. *Rev Serv Espec Saúde Pública* 4: 371-382.

Enk MJ, Lustosa Lima AC, Drummond SC, Schall VT, Coelho PMZ. 2007. The impact of the number of stool samples on the prevalence, the infection intensity and the distribution of the infection with *Schistosoma mansoni* among a population in an area of low transmission. *Acta tropica* (submitted)

Firno JOA. 1994. Avaliação clínico-epidemiológica da esquistossomose mansoni em uma área de periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais - Tese de Mestrado

Gazzinelli A, Velásquez-Melendez G, Crawford SB, LoVerde PT, Correa-Oliveira R, Kloos H. 2006. Socioeconomic determinants of schistosomiasis in a poor rural area in Brazil. *Acta Tropica* 99:260-271.

Guimarães MDC, Lima e Costa MFF, Lima LB, Moreira MA. 1985. Clinical-epidemiological study of schistosomiasis mansoni in schoolchildren of Ilha, Arcos District, Minas Gerais, Brazil, 1983. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 19:8-17.

Katz N, Chaves A, Pellegrino J. 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 14:397-400.

Laurel AC & Gil JB. 1975. Morbilidad, ambiente y organización social: modelo teórico para el análisis de la enfermedad en el medio rural. *Salud Pública Méx.*, 17:471-8.

Lima e Costa MFF. 1983. Estudos clínico-epidemiológicos da esquistossomose mansoni em Comercinho, Minas Gerais (1974-1981). Tese de doutorado, Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMG, Belo Horizonte.

Massara CL, Peixoto SV, Barros HS, Enk MJ, Carvalho OS, Schall VT. 2004. Factors associated with *Schistosoma mansoni* in a population from the municipality of Jaboticatubas, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias Inst. Oswaldo Cruz*, 99 (suppl I): 127-134.

Moza PG, Pieri OS, Simões Barbosa C, Rey L. 1998. Fatores sócio-demográficos e comportamentais relacionados à esquistossomose em uma agrovila da zona canavieira de Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14(1):107-115, 1998.



Paraense WL 1975. Estado atual da sistemática de planorbídeos brasileiros. *Arquivo do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, 55:105-128.

Silva AAM, Cutrim RNM, Alves MTSSB, Coimbra LC, Tonial SR, Borges DP. 1997. Water contact patterns and risk factors for *Schistosoma mansoni* infection in a rural village of Northeast Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39(2):91-96.

Thiengo S 1995. Técnicas malacológicas. In FS Barbosa, *Tópicos em Malacologia Médica*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 225-260

Vidigal THDA, Caldeira RL, Simpson AJG, Carvalho OS 2000. Further studies on the molecular systematics of *Biomphalaria* snails from Brazil. *Mem Inst OswaldoCruz* 95: 57-66.

Watts S, Khallaayoune K, Bensefia R, Laamrani H, Gryseels B. 1998. The study of human behaviour and schistosomiasis transmission in an irrigated area in Morocco. *Social Science and Medicine* 46:755-765.

Table 1

The population of Chonim de Cima by age and gender

Age group	Females		Males		Total	
	Number	Percentage	Number	Percentage	Number	Percentage
0 -10	102	17,1	102	22,0	204	19,2
10 -20	142	23,8	116	25,0	258	24,3
20 -30	59	9,9	36	7,8	95	9,0
30 -40	68	11,4	39	8,4	107	10,1
40 -50	66	11,1	47	10,1	113	10,7
50 -60	64	10,7	38	8,2	102	9,6
>60	96	16,1	86	18,5	182	17,2
<b>Total</b>	597	56,3	464	43,7	1061	100,0

Table 2

Prevalence of Soil Transmitted Helminths (STHs) among the population of Chonim de Cima (N=1061).

Type of Soil Transmitted Helminth	Number of		Prevalence
	Positives	Negatives	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	17	1044	1,6
Hookworm	110	951	10,4
<i>Enterobius vermicularis</i>	21	1040	2,0
<i>Trichuris trichiura</i>	0	1061	0,0
Taenia sp.	19	1042	1,8
<i>Hymenolepis nana</i>	7	1054	0,7

Table 3

Number of schistosomiasis positives and negatives, prevalence and egg count per gram in relation to gender and age group among the population of Chonim de Cima (N=1061)

<b>Variable</b>	<b>Results</b>				
	<b>Negatives</b>	<b>Positives</b>	<b>Total</b>	<b>Prevalence</b>	<b>Eggs per gram</b>
<b>Gender</b>					
male	380	84	464	18,1	60,1
female	562	35	597	5,9	63,6
<b>Age group</b>					
0 -10	197	7	204	3,4	160,1
10 -20	206	52	258	20,2	65,1
20 -30	75	20	95	21,1	59,5
30 -40	97	10	107	9,3	72,2
40 -50	102	11	113	9,7	80,3
50 -60	95	7	102	6,9	20,0
≥ 60	170	12	182	6,6	35,7
<b>Total</b>	942	119	1061	11,2	61,1

Table 4

Risk and 95% confidence intervals (CI) for schistosomiasis infection of individuals according to socioeconomic variables among the population of Chonim de Cima (N=1061)

Variable	Number of individuals	p-value	Risk	95% CI
<b>Education</b>		<b>0,002</b>		
Non	270		1,0	
1st grade	644	<b>0,003</b>	2,4	1,3 4,2
2nd grade	131	<b>0,000</b>	3,8	1,9 7,6
more than 2nd grade	16	0,907	1,1	0,1 9,2
<b>Occupation</b>		<b>0,000</b>		
Children and schoolchildren	376		1,0	
Manual and rural worker	140	<b>0,000</b>	3,9	2,3 6,5
Service sector	94	0,576	1,2	0,6 2,6
Housewife, housekeeper, retired and handicapped	371	0,139	0,7	0,4 1,1
Unemployed	79	<b>0,004</b>	2,6	1,4 5,1

Table 5

Risk and 95% confidence intervals (CI) for schistosomiasis infection according to water contact variables among the population of Chonim de Cima (N=1061)

Variable	Number of individuals	p-value	Risk	95% CI
<b>Leisure activities</b>		<b>0,000</b>		
No	718		1,0	
Yes	343		3,5	2,4 5,2
<b>Watering garden</b>		0,999		
No	1051		1,0	
Yes	10		0,0	0,0 0,0
<b>Fetching water</b>		0,695		
No	1028		1,0	
Yes	33		0,8	0,2 2,6
<b>Occupational exposure to untreated water</b>		0,158		
No	1023		1,0	
Yes	38		1,8	0,8 4,3
<b>Crossing natural water sources</b>		<b>0,016</b>		
No	937		1,0	
Yes	124		1,9	1,1 3,1

Table 6

Multivariable model of the association between demographic, socioeconomic and water contact variables and infection with schistosomiasis among the population of Chonim de Cima (N=1061)

Variable	Number of individuals	p-value	Risk	95% CI	
<b>Gender</b>		<b>0,000</b>			
Female	597		1,00		
Male	464		<b>3,39</b>	2,17	5,28
<b>Age group</b>		<b>0,000</b>			
0 -10	236		1,00		
10 -20	235	0,000	6,50	3,05	13,86
20 -30	96	0,000	7,54	3,20	17,76
30 -40	110	0,020	3,08	1,20	7,96
40 -50	110	0,013	3,26	1,29	8,24
50 -60	104	0,210	1,99	0,68	5,87
≥ 60	170	0,073	2,29	0,93	5,67
<b>Leisure activity (swimming and fishing)</b>		<b>0,003</b>			
No	718		1,00		
Yes	343		1,96	1,25	3,06
<b>Total</b>	1061				

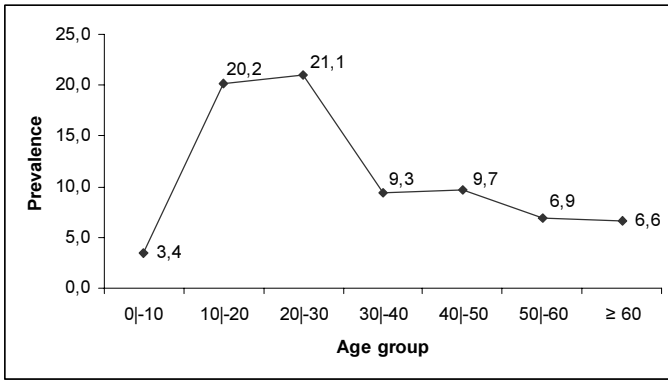


Figure 1  
Relation between age group and proportion of schistosomiasis positives among the population of Chonim de Cima (N=1061)



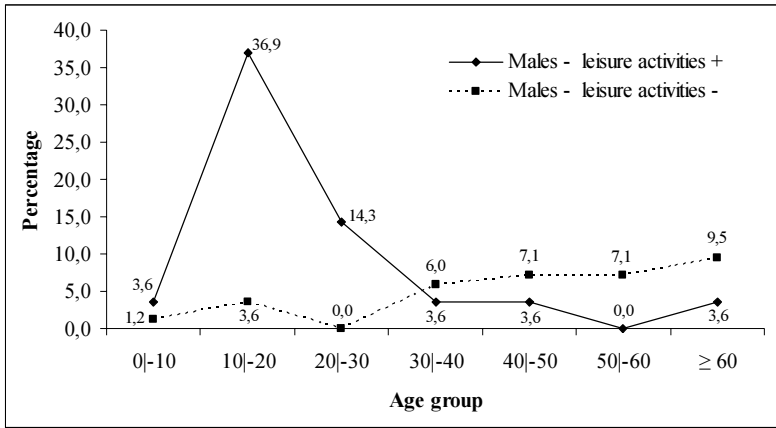


Figure 2

Relation between age groups, schistosomiasis positive males practicing leisure activities (males - leisure activities + ) and schistosomiasis positive males not practicing leisure activities (males - leisure activities - ) among the population of Chonim de Cima

**The impact of the number of stool samples on the estimates of prevalence, the infection intensity and the distribution of the infection with Schistosoma mansoni among a population in an area of low transmission**

Martin Johannes Enk<sup>a\*</sup>, Anna Carolina Lustosa Lima<sup>b</sup>, Sandra Costa Drummond<sup>c</sup>,  
Virginia Torres Schall<sup>d</sup>, Paulo Marcos Zech Coelho<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Schistosomiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

<sup>b</sup> Department of Scientific Support, Unit for Biostatistics, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

<sup>c</sup> Secretary of Health in the State of Minas Gerais, Rua Rio Grande do Norte 613, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

<sup>d</sup> Laboratory of Health Education, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

\*Corresponding author. Address: Laboratory of Schistosomiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Tel.: +55-31-33497700; fax: +55-31-32953115.  
E-mail address: marenk@cpqrr.fiocruz.br

## **Abstract**

Examination of fecal material by Kato Katz (KK) thick smears is the standard method for the diagnosis of intestinal schistosomiasis, which allows a qualitative and quantitative evaluation of the disease on individual and on populational levels. However, there is evidence that this technique lacks diagnostic sensitivity in individuals with low infection intensity or in low endemic areas. In a population of 1265 individuals we established the figures for prevalence and infection intensity by examining 2 KK slides. In a representative subset of 305 individuals (experimental group, EG) we assessed the comparative advantage of examining six KK smears of the first stool sample, two of the second and two of the third sample. In addition 452 stool samples of the experimental group were examined by the formol ether centrifugation technique. The proportion of all positive stool examinations detected by both methods among the experimental group served as reference value for prevalence (gold standard). Prevalence of schistosomiasis among the total population (TP) based on two KK slides was 12,5%. Prevalence among the EG varied from 13,8%, based on one KK slide, over 27,2 based on 10 KK slides of three stool samples to 35,4 % as value for the gold standard. The comparison of values for prevalence, stratified by age, revealed significant elevated numbers for all age groups, and interestingly, a change in the distribution pattern of the highest prevalence levels. These highest levels were not only found in children over ten years of age and young adults, but extended until an age of 50 years. The overall infection intensity in eggs per gram (epg), calculated as geometric mean, was 83 for the TP based on one KK slide, 78 for the EG based on one KK slide and 28 based on 10 KK slides of three stool samples. In summary our data demonstrate that control programs based on the examination of a single KK slide, as it is the case in Brazil, tend to underestimate significantly the prevalence and overestimate infection intensity. This applies especially for low endemic areas, where the efficacy and cost-effectiveness of such programs become questionable. Our data also indicate that the possible solution of this problem lies in mass treatment or at least in targeted mass treatment including age groups with the highest proportions of infected, as long as there is no diagnostic tool available, which combines, most of all high sensitivity with sustainability and suitability under field conditions.

**Keywords:** Schistosomiasis; Diagnosis; Prevalence; Infection intensity; Control; Low endemic areas

## Introduction

Infection with *S. mansoni* is one of the major parasitic diseases in the tropics and subtropics. Its socio-economic and public health importance based on symptoms and disability linked morbidities such as anemia, chronic pain, diarrhea, exercise intolerance and undernutrition is evident (King et al., 2005). Recent estimates of 779 million people at risk and 207 million infected indicates an increase of 12,6% and 7,2%, respectively in comparison to figures of the last decade. (Steinmann et al., 2006, Chitsulo et al., 2000). The diagnostic of the disease is usually carried out by parasitological methods. The technique of Kato (Kato and Miura, 1954), modified by Katz (Katz et al., 1972), is the procedure of choice recommended by the World Health Organization for the detection of eggs in feces (WHO, 1994). It is used on a large scale for identification and quantification of the disease on individual and populational levels because of its practical advantages and good performance in diagnosing moderate and heavy infections. Nevertheless, it is a well known fact and also scientifically well documented that this method is limited in the detection of positive individuals, when intensity of infection is low and it is less reliable in determining the prevalence in low endemic areas (Feldmeier and Poggensee, 1993; Kongs et al., 2001). In order to overcome these shortcomings, an increase in number of stool samples as well as in the number of slides per specimen is suggested. There exists general consensus that two KK slides for each of three stool samples improves sensitivity sufficiently enough to obtain reliable results. (Barreto et al. 1990; Rabelo et al., 1992; Engels et al., 1996, 1997; Utzinger et al., 2001;)

In the present study we assessed prevalence and infection intensity among a population in a low-endemic area with two KK slides of a single stool sample. In a representative subset of this population we evaluated the diagnostic performance, examining increasing numbers of stool samples and slides, starting with one KK smear up to ten smears of three stool samples. Additionally, stool samples were examined by the formol ether centrifugation technique described by Blagg (Blagg et al., 1955) in order to establish a solid reference value for prevalence, called gold standard. The variation of prevalence and infection intensity is described, and the implication on the decision making process for individual treatment and the impact on control programs are discussed based on these data.

## Methods

The present work is a cross-sectional study of a population and a representative subset for a semi-urban community in the state of Minas Gerais, Brazil. The village, Chonim de Cima, is located in the county of Governador Valadares, 30 km distant from the county's main city. Out of the 1448 inhabitants of the village, 1265 participated in the study (183 were excluded because they were not permanent residents of the village). A systematic random sample of 305 individuals was included in the investigation in order to reduce the huge number of required stool samples for the in depth analysis of the objectives. The sample size was calculated based on a test on comparison of proportions with a level of confidence of 95% and a power of the test of 90,0 %. The detected prevalence of the population (13,0 %), the expected prevalence of the population (22,0%) and the size of population (1265) was used to calculate the minimum sample size of 289 individuals. This experimental group (EG) consisting of 305 individuals was representative for the total population in relation to age (chi-square test:  $p=0,147$ ) and gender (chi-square test:  $p=0,137$ ). Furthermore no statistical significant difference was found between the total population (TP) and the experimental group for the distribution of schistosomiasis positive and negative individuals, obtained through the examination of two slides of one stool sample according to the KK technique (chi-square test:  $p=0,174$ )

The study objectives were explained to the participants and informed consent was obtained from the study population. All 1265 participants were asked to provide one stool sample. Two KK smears were prepared from this single stool sample. The 305 participants of the experimental group were asked to provide a total number of four stool samples during a period of two weeks. Six KK smears were prepared from the first stool sample and two smears from the second and the third sample. Only 264 participants returned the fourth stool sample of which 66 samples provided enough material for six smears, 1 for five slides, 196 for two slides and one for one slide. Additionally 0,5 gram of 452 stool samples of the experimental group was processed by the formol ether centrifugation technique and the total sediment was examined. A number of 218 samples of the first stool specimen were used for direct comparison with six KK smears of the same specimen. A combination of all results of both techniques served as gold standard for the experimental group (tables 1a and 1b).

Approximately 10,0 % of all slides were subjected to a control system for diagnostic efficacy.

For each individual the arithmetic mean egg count per gram based on the KK samples was calculated. For analysis of groups the intensity of infection was calculated as the geometric mean of the individual egg counts.

All participants identified as positive for schistosomiasis were treated with praziquantel (adults, 50 mg/kg body weight in a single dose; children  $\leq$  15 years of age 60 mg/kg body weight in a single dose)

The study protocol was received and approved by the Ethical Review Board of the René Rachou Institute/Fiocruz (No. 04/2005)

The chi-square test was used to compare proportions between groups and the method of Bonferroni in case of multiple comparisons. For comparison of infection intensity of positive individuals according to number of slides and stool samples the Paired Test of Wilcoxon was applied and the Mann-Whitney test for the comparison of the overall infection intensity between the total population and the experimental group. The level of concordance of results obtained by the KK technique and the formol ether centrifugation technique was evaluated by Kappa Statistics. The level of concordance is categorized as bad ( $< 0,20$ ), weak (0,21 – 0,40), moderate (0,41 - 0,60), good (0,61 - 0,80) and excellent (0,81 - 1) (Landis and Koch, 1977). All tests were carried out with 95% level of confidence. The software package MINITAB 14.0 was used to carry out these calculations.

## **Results**

A total of 1265 individuals (693 females and 572 males) participated in the survey to establish the prevalence of schistosomiasis within the community. A number of 142 positives (40 females and 102 males) with one KK smear and 158 positives (47 females and 111 males) with two KK smears of the same stool sample resulted in prevalence estimates of 11,2% and 12,5 %, respectively. Among the 305 participants (181 females and 124 males) of the experimental group a number of 42 (14 females and 28 males) individuals, corresponding a prevalence of 13,7%, proved positive for schistosomiasis and 47 (15 females and 32 males), resulting in a prevalence of 15,4%, by applying the same methodology as for the entire population. The comparison of the proportions of positives, as well as their gender related proportions between the experimental group and population showed no statistical significant difference (total proportions of all

positives: chi-square test for one KK smear:  $p=0,215$  and for two KK smears:  $p=0,174$ ; gender related proportions of all positives: chi-square test for one KK smear:  $p=0,518$  and for two KK smears:  $p=0,776$  ), which indicates that data obtained from the experimental group are representative for the total population.

The increase of KK smears of the same stool sample among the experimental population shows an increase of prevalence estimates from 13,7% to 19,0%. The increase of number of stool samples resulted – as expected - in a further increase of prevalence estimates from 20,7% to 27,2%. Considering all stool examinations carried out a proportion of 35,4% of positive individuals was found, which reflects the closest value to the real prevalence and was used as “gold standard” for comparisons. Table 2 gives more details about the figures related to the increase of KK smears and stool samples, as well as their comparison to the “gold standard”.

Figure 1 illustrates the prevalence resulting from examination of one single KK smear and the values obtained for the golden standard, stratified by seven age groups. The findings indicate, as expected, the highest prevalence among children and young adults (range of age from ten to 30 years), followed by a continuous decrease of the proportion of infected with increasing age, in case of the use of a single KK smear. In case of the values for the gold standard, besides the general increase of prevalence for each single age group, the highest levels of prevalence are maintained from ten to 50 years of age.

The comparison of the overall infection intensity between the total population and the experimental group showed values of 83 eggs per gram (epg) and 78 epg using one KK slide of the first sample. No significant difference between these values was found according to the Mann-Whitney test ( $p=0,555$ ).

The overall infection intensity of the 42 positives detected with one KK slide among the participants of the experimental group revealed no significant change in geometric mean egg count per gram, when examined with one single slide or with ten slides of three samples (78 epg – 1 slide, 81 epg – 10 slides three samples; Wilcoxon's test:  $p=0,339$ ). At a closer look, the stratification of these 42 positives into three categories of infection intensity (low = 1-100 epg, medium = 101-400 epg and high = >401 epg) according to the results of one KK slide and ten slides of three samples shows that a total number of eight positives migrated between the categories, five from category low to medium, two from high to medium and one from medium to high (table 3).

In contrary to the above mentioned findings, the overall infection intensity, revealed declining figures when the geometric mean egg count of all positives detected with one

or ten KK slides are compared. The geometric mean egg count obtained among the 42 positives with one slide was 78 epg and a value of 28 epg was registered for the 83 positives with ten slides of three samples. It is worth to mention that the calculation of the geometric mean egg count in this case is based on all positives detected with one or ten KK slides, which resulted in an inclusion of additional 42 positives.

As shown in table 4, the results for infection intensity are influenced by sample size and number of slides examined. With regard to infection intensity categories a sharp increase in the number of infected individuals, especially in the group of low egg counts was registered. A total number of 28 positives were detected with one single slide, and 61 individuals were found positive, using six slides of the first and two slides of the second and third stool specimen. This means an increase of 33 positives or 117,9% in the category of low infection intensity. In the category of medium infection intensity (101 – 400 epg) a significant increase from 8 to 17 positive individuals was found. The reduction of one positive in category of high infection intensity was caused by migration to next lower level as described above. In summary the difference of the comparisons of both examination procedures in relation to infection intensity categories consist in total increase of 41 positive individuals and in the migration of eight individuals.

Comparing infection intensity related to age groups, the highest was found among children from zero to ten years for one as well as for ten slides, but again the geometric mean egg count decreases when evaluated with one or ten slides. The findings of this age group have to be observed with caution because of the small sample size. In the same age group of the total population the evaluation with one KK slide the overall infection intensity also showed the highest value (mean egg count per gram of 154, locating four individuals in the infection intensity category low, four in category medium and two in category high), which makes the results of the experimental group up to a certain extent more reliable. In the other age groups of the experimental group a reduction of geometric mean egg count was also observed according to the increase of slides and stool samples.

With regard to the direct comparison of the qualitative analysis of stool samples between the KK technique and the formol ether centrifugation method among 218 participants, the prevalence of infection in this group was 30,7% which equals exactly the results of three KK smears of a single stool sample. Both techniques identified 67 individuals as positive for schistosomiasis. As shown in table 5.



A more profound analysis of the results reveals that both methods jointly identify a total number of 85 (100%) positive individuals. Both methods detect 67 (78,8% ) of infected, but only 49 (57,6%) of them are identified by each method. Of the remaining 36 (42,4%) each method detects 18 (21,2%) separately. The coefficient of concordance, Kappa, reveals a value of 0,612, which indicates moderate to good strength of concordance. A combination of both methods reveals an increase in prevalence of 21,2% in this setting of 218 participants.

## **Discussion**

Our data confirms and strongly supports that prevalence of schistosomiasis in areas of low transmission is by far underestimated (de Vlaas and Gryseels, 1992). Extrapolating our results of the experimental group, which establishes a prevalence of 35,4% as reference value ("gold standard"), to the total population of 1265 persons, indicates a total number of 448 infected individuals. This figure compared to the 13,8% or 175 individuals detected with a single KK smear, shows that 274 individuals, or 61,6% of the positives were not detected. These numbers improve with an increase of slides and samples - three smears of three different samples miss 153 infected or 34,0% of positives - , but still remain far from an acceptable range, even more, considering the fact that our reference value is only an approximation to the real prevalence, which for sure is higher.

As figure 1 reveals in a direct comparison of 1 KK slide to the gold standard among positives of the experimental group, the distribution of prevalence, stratified by age groups, does not follow the well known pattern, which reaches a peak during childhood and for young adults, and is followed by a steady decrease with increasing age. Our data show high prevalence levels continuing during adult life. The most probable explanation for this prolongation of high prevalence levels is the increase of sensitivity of the diagnostic method that allows identifying cases of schistosomiasis, which are not detected with a single smear. Given the fact that the absolute numbers of positives are much higher in the evaluation according to the gold standard (average of 44,3% from 10 to 50 years) compared to one slide (20,9% from 10 to 30) years, the current strategy of the schistosomiasis control program in Brazil, which is based on a single KK smear and the treatment of identified positives must be reconsidered. According to WHO (WHO, 1993), mass treatment, without prior stool examination should be considered whenever prevalence reaches levels of 50,0% or higher. This approach may seem to be

contradictive in this context, but our data show that even in areas of “so called” low prevalence – that means overall prevalence is calculated based on one KK slide – specific age groups reach very high prevalence levels. Mass treatment of these specific age groups, which may be called targeted mass treatment, offers at least in theory a solution to the dilemma that many positives escape in the diagnostic process in these so called low prevalence areas and consequently, by not receiving treatment, contribute significantly to the maintenance of the disease’s transmission and are at risk to develop, although in milder form, chronic schistosomiasis caused pathologies. Testing this strategy in praxis by applying it to our setting reveals that 301 positives of the age group from ten to 50 would be treated directly, and together with 50, which are detected through stool examination based on one KK slide of a single sample in the remaining age groups, sum a total number of 351 positive detected. Those are 176 positives more than by screening the whole population with a single KK smear, which identifies only 175 positive individuals in the total population for treatment. Nevertheless there remain, according to the prevalence figures of the gold standard, 107 positives, consisting of 30 in the age group under ten and 77 in the age group over 50, unidentified and untreated. One also may argue that a considerable number of uninfected individuals are submitted to unnecessary treatment. In our setting and according to the strategy 394 negative persons would receive chemotherapy. Although praziquantel is considered a safe drug, causing few and mainly mild side effects, a small risk remains to harm a healthy person. In order to assist policy makers in the field of public health in the decision making process to use of this drug under such circumstances, the responsibility lies not only with experts such as epidemiologists, parasitologists, pharmacists and medical doctors, but involves also the opinion of ethical boards and the proper community. Another issue in this context is the financial aspect. The direct costs in our setting consist in expenditure for the “traditional” approach of 1265 times the price of a KK smear and 175 times the price of treatment with praziquantel. The cost estimates for the suggested strategy include 570 times the price of a KK smear and 745 times the price of treatment with praziquantel. Estimating a value of 0,70US\$ for a single KK smear (0,40US\$ for material and 0,30 US\$ for labor) and 0,50 US\$ for treatment (0,35 US\$ for medication and 0,15US\$ for labor), the costs for the traditional approach amounts in 973,00 US\$ and for the suggested strategy in 771,50 US\$. According to these calculations for our setting, costs could be reduced by approximately 20,0% and treatment of positives increased by 100,0%. Although these data show significant improvements in cost

effectiveness and in the efficacy of treating positives, they have to be seen with caution, because the estimates are made, based on the results of our setting. Therefore more data of similar and different settings applying high standards of reference prevalence are necessary and welcomed, in order to validate our data before application on a larger scale. Nevertheless this new approach points to a possible direction how the efficacy of control programs in low endemic areas can be improved by using tools of diagnostic and treatment, which are cheap, easy and safe to use under field conditions. These considerations gain even more importance whenever the main objective of such programs is switched from morbidity to transmission control.

The issue of infection intensity is more complex than the estimates of prevalence and more susceptible to bias. For the calculation of the infection intensity a simple qualitative analysis of fecal material is not enough. A quantitative evaluation is necessary for the calculation of the egg count per gram. This requires a more sophisticated diagnostic approach. Fortunately, the KK technique meets these requirements, besides its well known limitations and lack of reliability in areas of low transmission and consequently low infection intensity. Different methodologies used for calculation of the mean infection intensity at individual and population level cause variations in results of the mean egg count, even within the same individual or population and makes comparisons between different populations very difficult (Fulford, 1994; Mutapi et al., 2003). In this study the main focus is on the impact of increasing number of slides and samples on infection intensity. According to our data a decrease of infection intensity goes clearly hand in hand with the increase of slides and samples. This decrease is based on the inclusion of individuals with low infection intensity and an indirect consequence of the increased sensibility of the diagnostic method. This dilution effect was found for the overall infection intensity on population level and on age group level.

The evaluation of the effect of increased number of slides and sample size on the infection categories low, medium and high, of the same 42 positive individuals reveals an increase of the number of positive individuals in the category of medium infections. In this case the daily variation of egg output, as extensively documented in the scientific literature (Barreto et al. 1990; Engels et al. 1996; Kongs et al., 2001) seems to be responsible. It causes randomly on the day when the stool sample is taken a variation of individual egg output and causes in this way the migration of positive individuals among infection intensity categories as described in table 5.

The variation in the number of positives as shown in table 3 is caused by a combination of the above described effects. The increase of number in the category of light infections is mainly based on newly detected individuals and the increase of number in the category of moderate infections and the decrease of heavy infection intensity are result of migration.

Looking into the figures of age-dependent infection intensity, children show the highest mean egg count. This can be explained by the interaction of three factors. Firstly, the immune system of children in this age did not have enough time to develop a required immunity against schistosomiasis, which helps to control infection intensity as it is the case in adults. Secondly, children have a higher risk to become infected because of their physical activities, which increases the probability to get in contact with contaminated water. Thirdly, the simple fact that, given the same worm burden as an adult, the amount of eggs produced is distributed in a smaller volume of fecal material. Therefore eggs are indirectly concentrated in the stool of children and a higher egg count is found if compared to the same amount of stool examined of an adult with the same worm burden. In the comparison of one KK slide with ten of three samples the infection intensity was reduced from 251 epg to 58 epg (the high egg count of 251 epg has to be seen with caution and is probably biased because of the small sample size in this age group. Nonetheless, and more importantly, all children with medium and high infection intensity were already detected with one single KK slide. As it is the case in this age group, all the others showed a decrease of infection intensity with an increase of slides and samples examined. In general terms this indicates that infection intensity is overestimated by one KK slide in comparison to ten slides of three samples. In general terms the impact of this decreasing effect in infection intensity on morbidity control programs is not so easy to evaluate, because, as mentioned before, the infection intensity itself is complicated to calculate and depends on various factors, which influence it in accordance to the setting. Cautiously the assumption can be made that morbidity control programs seem not to be as successful as initially thought, because they bring overestimated infection levels only to overestimated lower levels, when in reality considerable morbidity is already caused on low levels of infection intensity, which is confirmed by data from autopsies and by ultrasound (deVlas and Gryseels, 1992). A recent increase of reports about neuroschistosomiasis in Brazil confirms this assumption and leaves more doubts about the success of morbidity control programs (Nobre et al., 2001; Ferrari et al., 2004; Nascimento-Carvalho and Moreno-Carvalho,

2005;). All this together demonstrates that the relationship between infection intensity and morbidity is not as straightforward as assumed, but is considered as such in many evaluations of control programs, leading to an overestimation of the success of these programs.

In conclusion our data confirm and reinforce that prevalence is underestimated and infection intensity is overestimated, if evaluated by a single KK smear. The findings provide evidence that indicate possible directions in which strategies for the control of schistosomiasis in low transmission areas could go. In the case of Brazil, decades after the introduction of a nationwide schistosomiasis control program, which is mainly based on chemotherapy, major achievements are reported (Katz, 1998). Mortality rates and hospital admissions due to schistosomiasis were reduced by 50,0%. Morbidity, measured indirectly by detection of the hepatosplenic form of the disease also decreased. These control efforts reduced prevalence and infection intensity, so that many of former high endemic areas were transformed into areas of low transmission. But as our study shows estimates for prevalence in this so called low endemic areas may remain unexpectedly high, depending on the sensitivity of the diagnostic method, and real figures for prevalence are for sure even more elevated. This also demonstrates that the control program currently in use has reached its limits of efficacy and efficiency. New strategies have to be elaborated which reach the under the current diagnostic approach undetected positive individuals, and contribute to the future success of the control program. Under the current situation, considering especially the availability, or better non-availability of sensitive, sustainable, simple and field proven diagnostic tools, the choice for transmission control is targeted mass treatment, covering a wide range of the population with chemotherapy as described above.

#### **Acknowledgements**

We thank Aureo Almeida de Oliveira, senior technician of the Laboratory of Schistosomiasis, for his valuable contribution in realizing the field work and examining the stool samples. We are grateful for the excellent cooperation of the technical team of the Secretary of Health in the State of Minas Gerais, Section Governador Valadares.

This work obtained financial support from the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais, Brazil and Conselho Nacional de Pesquisa.

## References

- Barreto, M.L., Smith, D.H., Sleight, A.C., 1990. Implications of faecal egg count variation when using the Kato-Katz method to assess Schistosoma mansoni infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84, 554-555.
- Blagg, W., Schoegel, E.L., Mansour, N.S., Khalat, G.I., 1955. A new concentration technique for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 4, 23-28.
- Chitsulo, L., Engels, D., Montresor, A., Savioli, L., 2000. The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Trop.* 77, 41-51.
- De Vlaas, S.J., Gryseels, B., 1992. Underestimation of Schistosoma mansoni prevalences. *Parasitol. Today* 8, 274-277.
- Engels, D., Sinzinkayo, E., de Vlas, S.J., Gryseels, B., 1996. Intraspecimen fecal egg count variation in Schistosoma mansoni infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 54 (4), 319-324.
- Engels, D., Sinzinkayo, E., de Vlas, S.J., Gryseels, B., 1997. Day-to-day egg count fluctuation in Schistosoma mansoni infection and its operational implications. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 57(5), 571-577.
- Feldmeier, H., and Poggensee G., 1993. Diagnostic techniques in schistosomiasis control. A review. *Acta Trop.* 52, 205-220.
- Ferrari, T.C., Moreira, P.R., Cunha, A.S., 2004. Spinal cord schistosomiasis: a prospective study of 63 cases emphasizing clinical and therapeutical aspects. *J. clin. Neurosci.* 11, 246-253
- Fulford, A.J.C., 1994. Dispersion and Bias: Can We Trust Geometric Means? *Parasitol Today* 10, 446-448.
- Kato, K., Miura, M., 1954. Comparative examinations *Jap J Parasitol* 3:35 (Japanese text). apud Martin L.K., Beaver P.C., 1968. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 17, 382-391.
- Katz N 1998. Schistosomiasis control in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93 (suppl 1), 33-35
- Katz, N., Chaves, A., Pellegrino, J., 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 14, 397-400.

- King, C.H., Dickman, K., Tisch, D.J., 2005. Reassessment of the cost of chronic helminthic infection: a meta-analysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. *Lancet* 365, 1561-1569.
- Kongs, A., Marks, G., Verle, P., Van der Stuyft, P., 2001. The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluation of *S. mansoni* infections. *Trop. Med. Int. Health* 6, 163-169.
- Landis, J.R., Koch, G.G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*; 33: 159-174.
- Mutapi, F., Gryseels, B., Roddam, A., 2003. On the calculation of intestinal schistosome infection intensity. *Acta Trop.* 87, 225-233.
- Nascimento-Carvalho, C.M., Moreno-Carvalho O.A., 2005. Neuroschistosomiasis due to *Schistosoma mansoni*: a review of pathogenesis, clinical syndromes and diagnostic approaches *Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo* 47, 179-184
- Nobre, V., Silva, L.C., Ribas, J.G., Rayes, A., Serufo J.C., Lana-Peixoto. M.A., Marinho, R.F., Lambertucci, J.R., 2001. Schistosomal myeloradiculopathy due to *Schistosoma mansoni*: report on 23 cases. *Mem. Oswaldo Cruz* 96 (suppl), 137-141
- Rabelo, A.L.T., Rocha, R.S., Oliveira, J.P.M., Katz, N., Lambertucci, J.R., 1992. Stool examination and rectal biopsy in the diagnosis and therapeutic evaluation of schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 34, 601-608.
- Steinmann, P., Keiser, J., Bos, R., Tanner, M., Utzinger, J., 2006. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis and estimates of people at risk. *Lancet Infect. Dis.* 6, 411-425
- Utzinger, J., Booth, M., N'Goran, E.K., Muller, I., Tanner, M., Lengeler, C., 2001. Relative contribution of day-to-day and intra-specimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. *Parasitol.* 122, 537-554.
- WHO, 1993. The control of schistosomiasis. Technical Report Series, 830. World Health Organization, Geneva.
- WHO, 1994. Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites. World Health Organization, Geneva.

Table 1a

Sum of all Kato Katz smears of all stool samples examined and considered the value of the gold standard

<b>Number of smears (Kato-Katz)</b>	<b>Number of participants</b>
10 smears of three samples (10 sts)	41
10 sts + 1 slide of the 4 <sup>th</sup> sample	1
10 sts + 2 slides of the 4 <sup>th</sup> sample	196
10 sts + 5 slides of the 4 <sup>th</sup> sample	1
10 sts + 6 slides of the 4 <sup>th</sup> sample	66
<b>Total</b>	<b>305</b>
<b>Total number of smears</b>	<b>3844</b>

Table 1b

Sum of all stool samples examined by the formol ether centrifugation technique described by Blagg et al. and considered for value of the gold standard

<b>Number of samples (Blagg et al.)</b>	<b>Number of participants</b>
0 (no stool sample returned)	18
1	137
2	135
3	15
<b>Total</b>	<b>305</b>
<b>Total number of samples</b>	<b>452</b>



Table 2

Distribution of positive and negative individuals identified by increasing number of Kato Katz slides and stool samples and comparison to “gold standard

Sampling strategy	Experimental group (N=305)					Comparison with “gold standard” (F)			
	Result			Number of slides per participant	Total number of slides	Number of positives lost	Sensitivity	NPV	Efficiency
	Negatives	Positives	Prevalence						
<b>1Sm – 1<sup>st</sup>Sa</b>	263	42	<b>13,8</b>	1	305	66	38,9	74,9	78,4
<b>2Sms – 1<sup>st</sup>Sa</b>	258	47	<b>15,4</b>	2	610	61	43,5	76,4	80,0
<b>3Sms – 1<sup>st</sup>Sa</b>	252	53	<b>17,4</b>	3	915	55	49,1	78,2	82,0
<b>4Sms – 1<sup>st</sup>Sa</b>	251	54	<b>17,7</b>	4	1220	54	50,0	78,5	82,3
<b>5Sms – 1<sup>st</sup>Sa</b>	248	57	<b>18,7</b>	5	1525	51	52,8	79,4	83,3
<b>6Sms – 1<sup>st</sup>Sa</b>	247	58	<b>19,0</b>	6	1830	50	53,7	79,8	83,6
<b>A</b>	242	63	<b>20,7</b>	2	610	45	58,3	81,4	85,2
<b>B</b>	237	68	<b>22,3</b>	4	1220	40	63,0	83,1	86,9
<b>C</b>	234	71	<b>23,3</b>	3	915	37	65,7	84,2	87,9
<b>D</b>	226	79	<b>25,9</b>	6	1830	29	73,1	87,2	90,5
<b>E</b>	222	83	<b>27,2</b>	10	3050	25	76,9	88,7	91,8
<b>F</b>	197	108	<b>35,4</b>	~18	5652	0	100,0	100,0	100,0

NPV: Negative predictive value, Sm(s): smear(s), Sa: sample

A: one Kato Katz smear of the first and one of the second stool sample (total – 2 smears)

B: two Kato Katz smears of the first and two of the second stool sample (total – 4 smears)

C: one Kato Katz smear of the first, one of the second and one of the third stool sample (total – 3 smears)

D: two Kato Katz smears of the first, two of the second and two of the third stool sample (total – 6 smears)

E: six Kato Katz smears of the first, two of the second and two of the third stool sample (total - 10 smears)

F: Reference value of prevalence (“gold standard”): summary of all Kato Katz smears of all stool samples and of all stool examinations processed by the formol ether centrifugation technique described by Blagg et al (Table 1a and 1b).

Table 3

Number of positive individuals identified with one Kato Katz slide or ten slides of three samples categorized by infection intensity

Infection intensity		10 slides			Total
		low	medium	high	
<b>1 slide</b>	low	23	<b>5</b>	0	28
	medium	0	7	<b>1</b>	8
	high	0	<b>2</b>	4	6
	Total	23	14	5	42

Table 4

The variability of infection intensity of schistosomiasis positive individuals identified with one Kato Katz smear of a single sample or 10 smears of three samples in relation to different age groups

Age group	1 Kato Katz slide of 1 sample						10 Kato Katz slides of three samples*					
	Result		Infection intensity**			Geometric mean	Result		Infection intensity**			Geometric mean
	negative	positive	low	medium	high		negative	positive	low	medium	high	
0 -10	61	5	1	2	2	241	57	9	4	3	2	58
10 -30	93	23	17	3	3	67	78	38	28	8	2	37
≥ 30	109	14	10	3	1	67	87	36	29	6	1	18
<b>Total</b>	<b>263</b>	<b>42</b>	<b>28</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>78</b>	<b>222</b>	<b>83</b>	<b>61</b>	<b>17</b>	<b>5</b>	<b>28</b>

\* six Kato Katz slides of the first, two of the second and two of the third stool sample (total - 10 slides)

\*\* low = 1 – 100 eggs per gram, medium = 101 – 400 eggs per gram, high = > 400 eggs per gram

Table 5

Comparison of the total number of participants negative and positive for schistosomiasis identified by the formol ether centrifugation method and by three smears of the same stool sample according to the technique of Kato Katz

<b>Blagg</b>	<b>Kato-Katz - 3 smears</b>		<b>Total</b>
	<b>positive</b>	<b>negative</b>	
<b>positive</b>	49	18	67
<b>negative</b>	18	133	151
<b>Total</b>	67	151	218

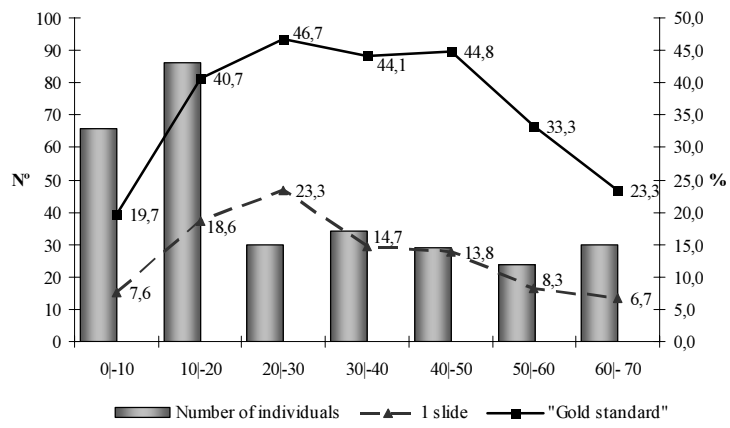


Fig.1. Variability of the proportion of schistosomiasis positive individuals identified with one Kato Katz smear of a single sample or by gold standard in relation to different age groups

**A COMBINED STRATEGY TO IMPROVE THE CONTROL OF  
*SCHISTOSOMA MANSONI* IN AREAS OF LOW PREVALENCE IN BRAZIL**

MARTIN JOHANNES ENK\*, ANNA CAROLINA LUSTOSA LIMA, CRISTIANO  
LARA MASSARA, PAULO MARCOS ZECH COELHO, AND VIRGINIA TORRES  
SCHALL

*Laboratory of Schistosomiasis, Department of Scientific Support - Unit for Biostatistics,  
Laboratory of Intestinal Helminthiasis, and Laboratory of Health Education, René  
Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Belo Horizonte, Minas Gerais,  
Brazil, Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Belo Horizonte, Minas  
Gerais, Brazil*

*Abstract.* The results of stool examinations for infections with *Schistosoma mansoni* among school children, living in a village of Minas Gerais State, Brazil, were used as indicator to identify schistosomiasis positive individuals within the entire population. This new approach is based on dividing the community into school children, members of households of schistosomiasis positive and negative school children and members of households without school children. Each subgroup was evaluated comparing different sampling efforts with the pre-determined gold standard to find the best relation between detection rate and sampling effort. Consequently these results were combined and a proposal for a new strategy, valid for an entire community, was elaborated. This alternative approach during the screening process permits to treat a similar proportion of positives as detected with six Kato Katz slides of three stool samples, with three fold reduced sampling effort, enhancing the efficiency of schistosomiasis control programs in low endemic areas.

## INTRODUCTION

In Brazil, due to decades of successful application of control programs, the number of low endemic areas increased significantly. Although morbidity and mortality of infections with *S. mansoni* were reduced progressively during this period, transmission continues nearly unchanged.<sup>1</sup> This is confirmed by an increase of the geographical extension of the disease, the appearance of new foci and local outbreaks of acute schistosomiasis, especially in areas of rural tourism, which also indicates that surveillance and control of schistosomiasis in endemic areas with low prevalence remain problematic.<sup>2, 3, 4</sup> Besides of other factors such as migration and insufficient sanitation infrastructure, lack of success seems also to be based on the diagnostic screening approach at population level. The nationwide strategy currently applied – i.e. one Kato Katz (KK) slide of a single stool sample - to determine infection rate, does not provide the necessary sensitivity and accuracy. Consequently figures for prevalence in low endemic areas are underestimated and not reliable.<sup>5</sup> Studies carried out in order to develop more efficient diagnostic alternatives for the sustainable evaluation of prevalence and permanent epidemiological surveillance did not result in a satisfactory solution for this problem. These alternative diagnostic tools are not cost effective or do not show sufficient sensitivity or are not easy to use under field conditions and at large scale.<sup>6</sup> This study intends - in contrast to the research, which tries to develop new diagnostic tools - to improve the efficacy of the current diagnostic methodology, namely the KK technique, by combining it with an approach based on an alternative screening strategy and epidemiological data common in areas of low prevalence. The recently described approach to use results of stool examinations of school children as indicator for schistosomiasis positive individuals in a community seems to be a promising

methodology in this context.<sup>7</sup> The current study tries to validate this methodology in a different setting, and beyond that, to develop a proposal of an improved strategy for the control and surveillance of schistosomiasis in low endemic areas.

#### MATERIALS AND METHODS

**Study area.** Chonim de Cima, is a little town in the county of Governador Valadares, located in the north-east of Minas Gerais state, Brazil. This location was selected because it is situated in an area of low prevalence for schistosomiasis, which offered following favoring conditions: the population never received treatment through the national schistosomiasis control program, the population size of 1448 inhabitants was adequate for the study purpose and the school enrolment rate showed a value above 90.0%, representing the Brazilian average. The study was carried out between 2005 and 2006.

The local economy is based on agriculture, cattle breeding and small regional trade. The area is characterized by multiple water sources like brooks and small lakes, which are used for professional and leisure activities of the local population. The main brook of the area crosses the town and serves as principal recipient for untreated sewage.

**Study population.** In cooperation with the local health authorities (PSF – Family Health Program) all residents (1448) and their households (404) were registered. Non permanent residents (183) were excluded from this study, resulting in a total number of 1265 participants. All 369 pupils above six years of age, attending the only school, located in the center of the town, participated in this project.

A subset of the population, denominated experimental group and representative for the general population was selected to limit the enormous quantity of stool samples and stool examinations during the in depth analysis of the infection rate for schistosomiasis.



The sample size was calculated based on a test on comparison of proportions with a level of confidence of 95.0% and a power of the test of 90.0 %. The prevalence of 13.0 % among school children, detected by a pilot study among 100 pupils and an expected prevalence of 22.0% for the population with a size of 1265 individuals was used to calculate the minimum sample size of 289 individuals. The selection process, designed as a systematic random sampling procedure, resulted finally in an experimental group consisting of 305 individuals, living in 111 houses.

**Parasitological survey.** After explaining the purpose of the project, the total population of 1265 participants was screened for schistosomiasis by examining two slides of a single stool sample according to the KK technique.<sup>8</sup>

The stool samples for the experimental group consisting of 305 participants, collected during a two weeks period, were examined in the following way: six slides of the first, two slides of the second and the third stool specimen, resulting in a total number of 10 slides of three stool specimens. A number of 264 individuals of the experimental group returned a fourth stool sample of which 66 provided enough material for six smears, 1 for five slides, 196 for two slides and one for one slide. Furthermore 0.5 gram of each of 452 stool samples of the experimental group was processed by the formol ether centrifugation technique according to Blagg et al., and the total sediment was examined.<sup>9</sup> The sum of the results of all stool examinations of all samples of both techniques among the 305 participants served to establish the reference value of prevalence, which was called “gold standard”.

The reading of all slides was carried out by technicians of the Laboratory of Schistosomiasis in the Rene Rachou Research Center / Fiocruz and the Secretary of Health for the State of Minas Gerais, and to ensure diagnostic efficacy ten percent of all slides were re-examined.

**Study design.** In a first step, the approach to use school children as indicator for schistosomiasis as described by Massara et al. was reproduced in this study among the household members of the total population, in order to confirm its validity in another setting. In a second step this methodology was combined with the results of increasing sampling efforts, enabling the development of a new strategy, which extends to an entire population and not only to the members of households of school children. For this purpose the population of the experimental group was divided in four groups. The first consisted of all school children, the second of all participants without school children in their households. The third and fourth group was stratified according to the stool examination results of different sampling efforts among the school children, in a group of members of households of schistosomiasis positive school children and in another group of members of households of schistosomiasis negative schoolchildren. Retrospectively different combinations were designed by evaluating the different sampling efforts of each subgroup of the experimental group in order to identify and treat as many as possible schistosomiasis positive individuals by using a minimum number of stool samples and slides, compared to the “gold standard” (Chart 1).

**Data analysis.** The chi-square test was used to compare proportions between groups. The Odds Ratio was used to determine the strength of association of results of stool examinations between groups of the population. The proportion of correctly detected individuals positive and negative for schistosomiasis of different sampling efforts in relation to the gold standard is denominated efficacy and expressed in percent (Tables 1 and 4). All tests were carried out with 95.0% level of confidence. The software package MINITAB 14.0 was used to carry out these calculations.

**Treatment.** All participants positive for schistosomiasis were treated with praziquantel according to the recommendation of the Brazilian Ministry of Health (adults, 50 mg/kg

in a single dose, children  $\leq 15$  years old, 60 mg/kg in a single dose). Those positive for STHs (Soil Transmitted Helminthiasis) were treated with albendazole (adults and children, 400mg in a single dose) in the local health facility.<sup>10</sup>

**Ethical Considerations.** All participants were informed about the purpose of this study, the possible risks and inconveniences. The study protocol was received and approved by the Ethical Review Board of the René Rachou Research Center/Fiocruz (No. 04/2005)

## RESULTS

**Parasitological Survey.** According to the increase of the number slides per stool sample and the number of stool samples, this study shows a steady increase of schistosomiasis positive individuals among the total population and the experimental group. The prevalence in the total population ranges between 11.2 % with one slide and 12.5 % with two slides from the same sample up to 20.8 % considering all stool samples, including those of the in depth analysis of experimental group. In this study a total number of 263 schistosomiasis positive individuals were identified among the 1265 participants. Among the 305 participants of the experimental group a number of 42 individuals, corresponding a prevalence of 13.7%, proved positive for schistosomiasis and 47, resulting in a prevalence of 15.4%, by applying the same methodology as for the entire population. The experimental group was representative for the total population in relation to age (chi-square test:  $p=0.147$ ) and gender (chi-square test:  $p=0.137$ ). Furthermore no statistical significant difference was found between the total population and the experimental group for the distribution of schistosomiasis positive and negative individuals, obtained through the examination of two slides of one stool sample according to the KK technique (chi-square test:  $p=0.174$ ). The detailed increase of prevalence according to the increased number of slides and

stool samples of the in depth analysis among the experimental group is shown in Table 1. Our data for prevalence in the experimental group show, that screening the population with one KK slide, which is the current approach recommended by the Brazilian Ministry of Health, misses 66 of the 108 positives (61.1%) compared to the numbers according to our “gold standard”. Extrapolating these figures to the total population, reveals a total number of 448 (Confidence interval = 380 – 516) positive individuals and consequently 274 (Confidence interval = 249 – 298) undetected and also untreated carriers of schistosomiasis, who maintain transmission of the disease in the area. The data also indicate that the sensitivity of such a strategy is only 38.9% with an efficacy of 78.4%.

**Validation of the approach to use school children as indicator in another setting.**

The results obtained by Massara et al. could be confirmed by our data (Table 2). There was no statistically significant difference in the proportion of schistosomiasis positive and negative household members among the households of positive school children (Chi-Square Test: P-Value = 0.727 for the comparison with the total population and P-Value = 0.079 for the comparison with the experimental group). Although there was a statistically significant difference in the this proportion among households with negative school children (Chi-Square Test: P-Value = 0.040), the evaluation of the Odds Ratios in both studies shows a large amplitude of the 95.0% confidence interval with a wide overlapping area, indicating significant similarity (Our data: Odds Ratio: 2.971, 95.0% confidence interval: 1.384 to 6.381; Massara et al.: Odds Ratio: 4.684, 95.0% confidence interval: 2.431 to 9.026).

**Evaluation of the approach at population level.** As the experimental group is representative for the total population in age, gender and distribution of schistosomiasis positives, this methodology, was applied among all individuals of this group. The

variability of the number of infected, detected by the KK technique depending on number of slides per stool sample and number of stool samples, as well as the inclusion of the values for the “gold standard” revealed, as expected, increasing numbers in all four groups. These four groups are described above in the material and methods section – study design. Table 3 shows the figures for these groups in detail. Applying stratifications based on results obtained by examination of schoolchildren, show that the number of positives among the members of households of positive and negative school children rises according to the increase of the number of KK slides and samples.

Based on these data a separate strategy for each of the four groups can be adopted, resulting in different combinations of these strategies. Each combination is characterized by the number of slides examined, as well as by specific values for prevalence, sensitivity, and efficacy. The figures for the different combinations are shown in Table 4. Combination 8 and combination 13 increase the number of positives detected from 42 to 73 (73.8%) and from 42 to 69 (59.5%) respectively with an 2.2 fold and 1.8 fold increase in slides examined in relation to screening the entire population with one KK slide. In relation to three stool samples examined by two KK slides each, among the entire population, combination 8 and combination 13 reveal an insignificant reduction in the proportion of schistosomiasis positives of 2.0% and 3.9%, respectively, but a considerable 2.7 fold and 3.3 fold reduced sampling effort, which means 1157 slides less for combination eight and 1270 slides less for combination 13 among the experimental group. The extrapolation of these figures to the total population means 4799 slides less for combination eight and 5267 slides less for combination 13 (Table 5). Combination 8 and 13 reveal themselves as the most effective options, considering the number of positives detected or treated in relation to the number of slides examined. These data can be observed in Figure 1. Comparisons among the proportions of

positives for each of the two combinations with the approach using 1 KK slide for the entire population (prevalence of 13.8%) show, that there is significant difference in the proportion of positives detected (combination 8: prevalence of 23.9%, Chi-Square Test:  $p=0.001$ ; combination 13: prevalence of 22.0% , Chi-Square Test:  $p= 0.008$ ). On the other hand there is no statistically significant difference when both combinations are compared to the proportion of positives found by examining three stool samples with two KK slides each (proportion of positives: 25.9%, Chi-Square Test: combination 8,  $p=0.574$ ; combination 13,  $p= 0.255$ ). As the experimental group is representative for the total population, the data for the combinations among the experimental group may be extrapolated to the total population. A selected set of these extrapolations are lined out in Table 5. In our setting, among the total population, this increased sampling effort (three stool samples – two KK slides each) reveals a total number of 328 (Confidence interval = 265-390) positives detected and 120 (Confidence interval = 98-142) or 26.8% missed, indicating a significant improvement of the detection rate (Chi-Square Test:  $p=0.000$ ) and of sensitivity and efficacy with values of 73.1% (Confidence interval = 68.1-78.1) and 90.5% (Confidence interval = 87.2-93.8), respectively.

#### DISCUSSION

Our study supports the conclusions drawn by Massara et al., that there is an association between the infection rates of schistosomiasis among school children and their household members. Schistosomiasis positive school children indicate, according to Massara et al., a four times - and according to our data - a three times higher probability to detect another positive individual living in the same household, compared to members of households of schistosomiasis negative school children. The difference found in the direct comparison of the proportions of positive individuals among

household of negative school children (Chi-Square Test: P-Value = 0.040) is probably caused by the fact that Massara et al. used a sample of households of schistosomiasis negative school children three times as big as that of positive school children and not the entire population as it is the case in our study, resulting in an underestimation of positive household members among the households of negative school children.

In a next step this approach was applied to the entire population, by using schistosomiasis positive and negative school children as indicator. This new approach to categorize an entire population resulted in the division of this population into four distinctive groups with specific infection rates for each. In combination with an in depth analysis of the infection rate of each of the four groups, a new strategy was developed, which shows potential to improve the efficiency of the control of schistosomiasis in low endemic areas.

An important point regarding schistosomiasis control in low endemic areas is the fact that prevalence is severely underestimated.<sup>5</sup> This is based on a lack of sensitivity of the diagnostic method and consequently causes a negative impact on the efficiency of control programs.<sup>11</sup> Traditionally, in order to increase the sensitivity of the diagnostic method, it is recommended, to increase the number of stool samples and KK slides examined per specimen. There exists a general agreement that three stool samples examined by two KK slides each, ensure solid and reliable figures for infection rates.<sup>12</sup><sup>13, 14</sup> Unfortunately this approach is not sustainable, because the increased sampling effort is not practicable at large scale under field conditions and the six fold increase of KK slides – in our study population from 1265 to 7590 slides – results in an unaffordable elevation of expenditure for mass screening. One solution to this dilemma is blanket mass treatment without prior screening, as already suggested decades ago.<sup>15</sup><sup>16</sup> The main problem regarding this option is the high number of unnecessary

treatments, in our setting 817 individuals or 64.6% of the population. Although praziquantel is a relative safe drug, causing few side effects, ethical considerations have to be taken into account, if mass treatment under such circumstances is appropriate.

The other option, if improvement of schistosomiasis control program in low endemic areas is the goal, lies in the combination of the diagnostic technique with an indirect approach which indicates the most infected segments of the population. As mentioned above, screening of school children and using their results of stool examination as indicator for identifying schistosomiasis positives among their household members, can provide this valuable information. In our setting, according to figures for the “gold standard” and including the school children into the households, rates of infection are 61.5% for households of positive school children, 14.5% for households of negative school children, and 35.7% for households without school children among the experimental group. These figures clearly show the way how the sampling effort should be directed to increase the efficacy of the screening method. Looking at the same figures, but excluding the school children, the infection rates are 56.5% for households of positive school children, 31.9% for households of negative school children (Table 3). The finding that one segment of the population, namely the household members of schistosomiasis positive school children, revealed, according to the in depth analysis, an infection rate above 50.0% constitutes another important pillar of this new strategy. Given this high infection rate, targeted mass treatment without prior screening is justified.<sup>17, 10</sup> The mass treatment of this segment also helps to economize a considerable number of stool examinations, which can be used for other segments of the population in order to increase the detection rate.

Putting this model into practice means, in a first step, to screen all school children with a relatively high sampling effort and to treat all those identified as positive for



schistosomiasis together with all their household members. In a second step all members of households without school children and those of schistosomiasis negative school children are screened and treated as well. According to different sampling efforts, various combinations of the screening procedures can be designed (Table 4). Out of these combinations, number 8 and 13 prove to be the most effective, considering the numbers of slides examined and the positives reached for treatment. Regarding the sampling effort, it is worth to mention that both combinations require the examination of more slides than the current approach (one KK slide per person). The number of slides examined increases from 305 for one KK slide for all participants to 673 for combination 8 and 560 for combination 13 among the experimental group, and from 1256 for one KK slide for all participants to 2791 for combination 8 and 2323 for combination 13 among the total population. Nevertheless, the increase in number of slides for combination 8 and combination 13 is reasonable in comparison to 1830 slides for three stool samples examined by two KK slides among the experimental group and 7590 slides among the total population, which are necessary to reach the same detection rate.

Our data indicate that there is room for improvement of control strategies, if the even little sensible diagnostic procedure is used selectively by combining it with a supportive approach, which provides information to direct the sampling effort. Furthermore, as this above described new strategy focuses on school children for the identification of schistosomiasis positive individuals among a community, there is an opportunity to combine such a program with health educational activities on school and community level, which enhances the success of such a program through better adherence and compliance.<sup>18, 19, 20</sup> School and community based control programs are known to provide mechanism not only to engage the population but also make programs

sustainable and maintainable by active participation of the community. The integration with other control programs, such as for STH, filariasis and others, gives a chance to potential programmatic synergies, which consequently results in reduced costs for integrated programs.<sup>21,22</sup>

However, there are limitations to the suggested strategy, which are not only based on the specific conditions of our setting, but also on the requirement of a developed primary health care structure, high school enrolment, and a solid family structure among the community, which shows similar water contact patterns among the household members. Most of these requirements are met for rural or semi-urban areas, especially in Brazil and as it is the case of our study area. Therefore our findings may serve as a proposal for the improvement of schistosomiasis control in areas of low transmission.

Acknowledgements: We thank Aureo Almeida de Oliveira, senior technician of the Laboratory of Schistosomiasis, for his valuable contribution in realizing the field work and examining the stool samples. We are grateful for the excellent cooperation of the technical team of the Secretary of Health in the State of Minas Gerais, Section Governador Valadares.

Financial support: This work obtained financial support from the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), Brazil, Conselho National de Pesquisa (CNPq), and Sistema Único de Saúde (SUS).

Authors' addresses: Martin Johannes Enk, Laboratory of Schistosomiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mails: [marenk@cpqrr.fiocruz.br](mailto:marenk@cpqrr.fiocruz.br) . Anna Carolina

Lustosa Lima, Department of Scientific Support, Unit for Biostatistics, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [anna@cpqrr.fiocruz.br](mailto:anna@cpqrr.fiocruz.br) . Cristiano Lara Massara, Laboratory of Helminthiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [massara@cpqrr.fiocruz.br](mailto:massara@cpqrr.fiocruz.br) Paulo Marcos Zech Coelho, Laboratory of Schistosomiasis, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, and Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br](mailto:coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br) . Virginia Torres Schall, Laboratory of Health Education, René Rachou Research Center / Oswaldo Cruz Foundation, Av. Augusto de Lima 1715, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, e-mail: [vtschall@cpqrr.fiocruz.br](mailto:vtschall@cpqrr.fiocruz.br).

#### REFERENCES

1. Katz N, 1998. Schistosomiasis control in Brazil. *Mem Ins. Oswaldo Cruz* 93 (suppl 1): 33-35
2. Barbosa CS, Montenegro SML, Abat FG, Domingues AL, 2001. Specific situations related to acute schistosomiasis in Pernambuco, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96 (Suppl. 5): 169-172
3. Enk MJ, Amorim A, Schall VT, 2003. Acute Schistosomiasis outbreak in the metropolitan area of Belo Horizonte, Minas Gerais: Alert about the risk of unnoticed transmission increased by growing rural tourism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98 (Suppl. 6): 745-750
4. Enk MJ, Caldeira RL, Carvalho OS, Schall VT, 2004. Rural tourism as a risk factor for the transmission of schistosomiasis in Mina Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo*

5. De Vlaas SJ, Gryseels B, 1992. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. *Parasitol Today* 8: 274-277.
6. Rabelo A and Enk MJ, 2007. Working Paper 8. Progress towards the detection of schistosomiasis. Scientific working group. Report on schistosomiasis. WHO, Geneva ([www.who.int/tdr/swg/07](http://www.who.int/tdr/swg/07))
7. Massara CL, Peixoto SV, Enk MJ, Barros HS, Carvalho OS, Sakurai E, Schall VT, 2006. Evaluation of an improved approach using residences of schistosomiasis-positive school children to identify carriers in an area of low endemicity. *Am J Trop Med Hyg* 74: 495-499
8. Katz N, Chaves A, Pellegrino J, 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 14: 397-400.
9. Blagg W, Schoegel EL, Mansour NS, Khalat GI, 1955. A new concentration technique for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am J Trop Med Hyg* 4: 23-28
10. Brazilian Ministry of Health, 2003. Manual for Public Health Worker: Schistosomiasis, 4<sup>th</sup> Edition. Belo Horizonte: Ministry of Health – National Health Foundation
11. Kongs A, Marks G, Verle P, Van der Stuyft P, 2001. The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluation of *S. mansoni* infections. *Trop Med Int Health* 6: 163-169
12. Rabelo ALT, Rocha RS, Oliveira JPM, Katz N, Lambertucci JR, 1992. Stool examination and rectal biopsy in the diagnosis and therapeutical evaluation of schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 34: 601-608.

13. Engels D, Sinzinkayo E, de Vlas SJ, Gryseels B, 1996. Intraspecimen fecal egg count variation in *Schistosoma mansoni* infection. *Am J Trop Med Hyg* 54 (4): 319-324.
14. Utzinger J, Booth M, N'Goran EK, Muller I, Tanner M, Lengeler C, 2001. Relative contribution of day-to-day and intra-specimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. *Parasitol* 122: 537-554.
15. Engels, D., Sinzinkayo, E., de Vlas, S.J., Gryseels, B., 1997. Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. *Am J Trop Med Hyg* 57(5), 571-577.
16. Almeida Machado P 1982. The brazilian program for schistosomiasis control, 1975 -1979. *Am J Trop Med Hyg* 31: 76-86.
17. World Health Organization, 2000. Report of the WHO informal consultation on schistosomiasis in low transmission areas: control strategies and criteria for elimination. WHO/CDS/CPE/SIP/2001.1 WHO, Geneva
18. Schall VT, Dias AGP, Malaquias MLG, Gomes dos Santos M, 1993. Educação em Saúde em escolas públicas de primeiro grau da periferia de Belo Horizonte, MG (Brasil). Avaliação de um programa relativo a esquistossomose. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 35: 563-572
19. Coura-Filho P, 1998. An alternative model for schistosomiasis control with active participation by the population through the unified Health System (SUS) in Taquaraçu de Minas (Minas Gerais, Brazil) from 1985 to 1995. *Cad Saúde Pú* 14:111-122.
20. Barbosa CB, Silva CB, Barbosa FN 1996. Esquistossomose: reprodução e expansão da endemia no Estado de Pernambuco no Brasil. *Rev Saúde Pú* 30: 609-616

21. Lammie PJ, Fenwick A, Utzinger J, 2006. A blueprint for success: integration of neglected tropical disease control programmes. *Trend Parasitol* 22 (7): 313-321
22. Brady AM, Hooper PJ, Otterson EA, 2006. Projected benefits from integrating NTD programs in sub-Saharan Africa. *Trend Parasitol* 22 (7): 285-291

Table 1: Results in absolute numbers and percentage of schistosomiasis positive and negative individuals according to the increasing number of slides and stool samples of the experimental group.

Experimental group (N=305)							
Sampling effort		Result			Comparison with "gold standard"		
Slides	Samples	Neg	Pos	Prev (%)	Sensitivity	NPV	Efficacy**
1	1	263	42	13.8	38.9	74.9	78.4
2	1	258	47	15.4	43.5	76.4	80.0
3	1	252	53	17.4	49.1	78.2	82.0
4	1	251	54	17.7	50.0	78.5	82.3
5	1	248	57	18.7	52.8	79.4	83.3
6	1	247	58	19.0	53.7	79.8	83.6
2	2	242	63	20.7	58.3	81.4	85.2
4	2	237	68	22.3	63.0	83.1	86.9
3	3	234	71	23.3	65.7	84.2	87.9
6	3	226	79	25.9	73.1	87.2	90.5
10*	3	222	83	27.2	76.9	88.7	91.8
<b>"Gold standard"</b>		197	108	35.4	100.0	100.0	100.0

Neg: schistosomiasis negative. Pos: schistosomiasis positive. Prev: Prevalence in %

NPV: Negative predictive value

\* six slides of the first sample and two slides each of the second and third sample

"Gold standard": Reference value of prevalence consisting of the sum of all Kato Katz slides of all stool samples and of all stool examinations processed according to the formol ether centrifugation technique

\*\* Efficacy: Proportion of true positives and true negatives detected by a specific sampling effort in relation to all positive and negative cases detected by the gold standard

Table 2a

Number and percentage of schistosomiasis positives and negatives detected in households of positive and negative school children found by Massara et al and our in study among the total population. using the same sampling effort of two slides of a single sample

Household members	Households with positive school children				Households with negative school children			
	Massara et al.		Our data		Massara et al.		Our data	
	Number	Per %	Number	Per %	Number	Per %	Number	Per %
Positives	25	39.7	16	43.2	25	12.3	30	20.4
Negatives	38	60.3	21	56.8	178	87.7	117	79.6
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>100.0</b>	<b>37</b>	<b>100.0</b>	<b>203</b>	<b>100.0</b>	<b>147</b>	<b>100.0</b>

Per %: percentage in %

Table 2b

Comparison of odds ratios found by Massara et al. and our in study among the total population. using the same sampling effort of two slides of a single sample

Comparison	Massara et al.	Our data
Odds ratio	4.56	2.97
95% confidence interval	2.37 to 8.77	1.38 to 6.38



Table 3 : Variability in the number of positives depending on the increase in the number of Kato Katz slides and samples among four groups of the experimental population. The results are shown in absolute numbers of positive individuals and in percentage of prevalence for each of the four groups.

Sampling effort		Results for increasing sampling effort according to stratification							
		School children (N = 121)		Members of households without schoolchildren (N = 70)		Members of households of positive schoolchildren (N = 23)		Members of households of negative schoolchildren (N = 91)	
		Positives	Prevalence %	Positives	Prevalence %	Positives	Prevalence %	Positives	Prevalence %
1	1	18	14.9	8	11.4	4	17.4	12	13.2
2	1	20	16.5	9	12.9	5	21.7	13	14.3
3	1	21	17.4	10	14.3	7	30.4	15	16.5
4	1	22	18.2	10	14.3	7	30.4	15	16.5
5	1	23	19.0	10	14.3	9	39.1	15	16.5
6	1	23	19.0	11	15.7	9	39.1	15	16.5
2	2	21	17.4	15	21.4	9	39.1	18	19.8
4	2	23	19.0	17	24.3	10	43.5	18	19.8
3	3	25	20.7	15	21.4	10	43.5	21	23.1
6	3	28	23.1	19	27.1	11	47.8	21	23.1
10*	3	29	24.0	20	28.6	12	52.2	22	24.2
"Gold standard"		41	33.9	25	35.7	13	56.5	29	31.9

\* six slides of the first sample and two slides each of the second and third sample

"Gold standard": Reference value of prevalence consisting of the sum of all Kato Katz slides of all stool samples and of all stool examinations processed according to the formol ether centrifugation technique

Table 4: Comparison of different combinations composed of varying sampling efforts among the four groups of the experimental group

Combinations of strategies	Sampling effort (Number of slides/Number of Samples)				Results for experimental group (N=305)				
	School children	Members of households		Total number of slides	Negatives	Positives	Prevalence	Sensitivity**	Efficacy**
		Without / Negative school children	Positive school children						
<b>Combination 1</b>	<b>1/1</b>	<b>1/1</b>	<b>1/1</b>	<b>305</b>	<b>263</b>	<b>42</b>	<b>13.8</b>	<b>38.9</b>	<b>78.4</b>
<b>Combination 2</b>	1/1	1/1	0/0*	282	254	51	16.7	47.2	81.3
<b>Combination 3</b>	2/1	2/1	2/1	610	258	47	15.4	43.5	80.0
<b>Combination 4</b>	3/1	3/1	3/1	915	252	53	17.4	49.1	82.0
<b>Combination 5</b>	3/3	3/3	3/3	915	234	71	23.3	65.7	87.9
<b>Combination 6</b>	<b>6/3</b>	<b>6/3</b>	<b>6/3</b>	<b>1830</b>	<b>226</b>	<b>79</b>	<b>25.9</b>	<b>73.1</b>	<b>90.5</b>
<b>Combination 7</b>	1/3	1/1	0/0*	518	245	60	19.7	55.6	84.3
<b>Combination 8</b>	<b>3/3</b>	<b>2/2</b>	<b>0/0*</b>	<b>673</b>	<b>232</b>	<b>73</b>	<b>23.9</b>	<b>67.6</b>	<b>88.5</b>
<b>Combination 9</b>	6/3	1/1	0/0*	879	242	63	20.7	58.3	85.2
<b>Combination 10</b>	5/1	1/2	0/0*	923	235	70	23.0	64.8	87.5
<b>Combination 11</b>	3/3	3/3	0/0*	828	230	75	24.6	69.4	89.2
<b>Combination 12</b>	2/2	2/2	2/2	610	242	63	20.7	58.3	85.2
<b>Combination 13</b>	2/2	2/2	0/0*	560	238	67	22.0	62.0	86.6
<b>Combination 14</b>	1/2	1/1	0/0*	401	251	54	17.7	50.0	82.3
<b>Combination 15</b>	6/3	6/3	0/0*	1644	223	82	26.9	75.9	91.5
<b>“ Gold standard ”</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>5652</b>	<b>197</b>	<b>108</b>	<b>35.4</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>

\* Treatment without prior stool examinations.

\*\* Sensitivity (correctly identified positive individuals) and efficacy (correctly identified positive and negative individuals) compared to “gold standard”

\*\*\* "Gold standard": Reference value of prevalence consisting of the sum of all Kato Katz slides of all stool samples and of all stool examinations processed according to the formol ether centrifugation technique

Table 5: Results for extrapolation of combinations on population level including the total number of Kato Katz slides examined

<b>Results of extrapolation for selected combinations on population level</b>																
<b>Population</b>	<b>Combination 1</b>				<b>Combination 8</b>				<b>Combination 6</b>				<b>"Gold Standard"</b>			
	<b>Neg</b>	<b>Pos</b>	<b>Prev</b>	<b>Number of slides</b>	<b>Neg</b>	<b>Pos</b>	<b>Prev</b>	<b>Number of slides</b>	<b>Neg</b>	<b>Pos</b>	<b>Prev</b>	<b>Number of slides</b>	<b>Neg</b>	<b>Pos</b>	<b>Prev</b>	<b>Number of slides</b>
<b>EG</b>	263	42	<b>13.8</b>		232	73	<b>23.9</b>		226	79	<b>25.9</b>		197	108	<b>35.4</b>	
CI 95% LI	275	30	9.9	<b>305</b>	247	58	19.1	<b>673</b>	241	64	21	<b>1830</b>	213	92	30.0	<b>5652</b>
LS	251	54	17.6		217	88	28.7		211	94	30.8		181	124	40.8	
<b>TP</b>	1091	174	<b>13.8</b>		962	303	<b>23.9</b>		<b>937</b>	<b>328</b>	<b>25.9</b>		<b>817</b>	<b>448</b>	<b>35.4</b>	
CI 95% LI	1140	125	9.9	<b>1265</b>	1023	242	19.1	<b>2791</b>	1000	265	18.5	<b>7590</b>	885	380	30.0	<b>23442</b>
LS	1042	223	17.6		902	363	28.7		875	390	30.8		749	516	40.8	

EG: experimental group. TP: total population. Neg: schistosomiasis negative. Pos: schistosomiasis positive. Prev: Prevalence in %.

Combination 1: 1 slide / 1 stool sample among all participants (Recommendation of the Brazilian Ministry of Health).

Combination 8: 3 slides / 3 samples among school children + 2 slides / 2 stool sample among household members without school children and of negative school children + proportion of treated positive household members without prior stool examination of positive school children

Combination 6: 6 slides / 3 stool samples among all participants

“Gold standard”: Reference value of prevalence consisting of the sum of all Kato Katz slides of all stool samples and of all stool examinations processed according to the formol ether centrifugation technique

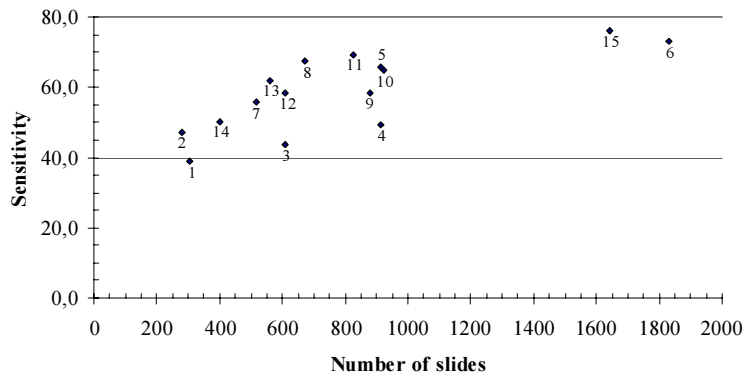
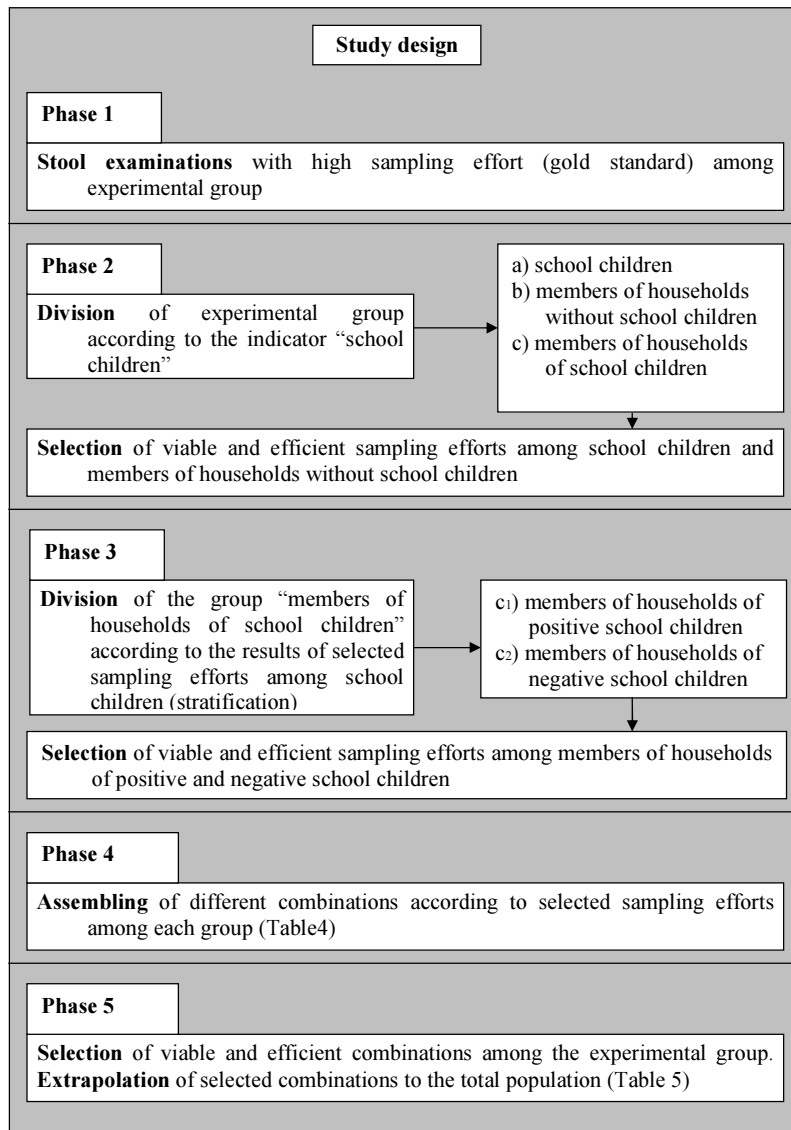


Figure 1.

Relation between number of slides and sensitivity of each of the fifteen combinations (♦ 1 to ♦ 15) composed of varying sampling efforts among the four groups of the experimental population

Diagram 1

Study design for the development of the improved strategy in detecting *S. mansoni* positives among the experimental group



## **IX. Discussão**



No Brasil, o problema do diagnóstico da esquistossomose nas populações requer estudos, dada a evidência de que o método utilizado apresenta baixa sensibilidade (de Vlaas & Gryseels, 1992; Engels et al 1996.; Kongs et al. 2004). Além disso, é urgente a necessidade de realizar um levantamento nacional da prevalência da doença, pois os dados existentes estão ultrapassados e incompletos (Katz & Peixoto, 2000; Passos & Amaral, 1998). Sabe-se que o perfil da epidemia no Brasil mudou ao longo de décadas de programas de controle. Apesar do tratamento eficaz e da conseqüente redução na mortalidade e, embora questionável, na morbidade, a doença expandiu-se geograficamente. Além disso, a prevalência está subestimada nas áreas consideradas de baixa endemicidade, nas quais têm sido registrados casos de outras formas da doença, como por exemplo, a neuroesquistossomose (Ferrari et al. 2004; Lambertucci et al. 2005).

Considerando o desafio de buscar melhores métodos de diagnóstico, o presente estudo tem por objetivo investigar algumas abordagens de medidas de prevalência em comunidade considerada de baixa endemicidade, no sentido de contribuir para desenvolver estratégias de melhor custo-benefício auxiliando no controle da mesma. Para tal foi escolhido para o estudo um município representativo do interior do Estado de Minas Gerais, que apresenta características tipicamente favoráveis a transmissão da doença e cuja população não havia sido submetida a tratamentos anteriores, pois a localidade nunca esteve incluída nos programas nacionais de controle. O estudo permitiu confirmar as características favoráveis a transmissão da doença na localidade, como presença de coleções hídricas diversas e das três espécies de moluscos hospedeiros intermediários de *S. mansoni*, bem como condições sócio-demográficas, ocupações e de lazer facilitadoras do contato com os vetores.

A presença dos três vetores em uma mesma localidade é pouco registrada na literatura, mesmo na região estudada. Um inquérito malacológico foi realizado em 30 coleções hídricas, sendo 28 dentro da comunidade e dois locais fora da localidade, estas últimas utilizadas para atividades de lazer. Este levantamento permitiu coletar 491 moluscos do gênero *Biomphalaria* em 22 coleções. Dos 391 moluscos examinados, 235 foram identificados como *B. straminea*, 152 como *B. glabrata* e quatro como *B. tenagophila*. Dois (0,53%) exemplares de *B. glabrata* estavam positivos para cercárias de *S. mansoni*. É importante ressaltar que cada espécie de molusco foi encontrada em um *habitat* específico. Todos os exemplares de *B. straminea* foram coletados em

córregos, os exemplares de *B. glabrata* em pequenas lagoas, poços e reservatórios de água e as de *B. tenagophila* em uma pequena lagoa utilizada como criadouro de peixe. Apesar de não ter sido ainda encontrada espécimes de *B. straminea* naturalmente infectadas em Minas Gerais, a possibilidade de esta espécie manter focos da doença não pode ser descartada. Como observado no Nordeste do Brasil a alta densidade planorbídica desta espécie é capaz de manter o ciclo da doença (Paraense & Correa 1989) e o mesmo fenômeno pode existir em áreas no Sudeste. Este fato se aplica também para *B. tenagophila* que mantém o ciclo da esquistossomose em áreas do Sudeste e Sul do país. A descrição de *B. straminea* em Chonim de Cima sugere a sua capacidade de disseminação. De fato, Paraense (1972, 1986) assinala que esta espécie é hoje altamente disseminada pela bacia hidrográfica brasileira. Além da migração natural – os moluscos utilizam-se das bacias hídricas para migração – foi identificada uma disseminação “facilitada” pelo homem. Os moluscos ou suas desovas são transportados acidentalmente com peixes que são utilizados na piscicultura comercial e nos parques (Guimarães et al., 1997). Este fato pode ser aplicado no caso da presença dos exemplares de *B. tenagophila* em uma pequena lagoa na localidade, que serve como criadouro de peixe. Como já existe a transmissão ativa da esquistossomose pela *B. glabrata*, pode ser só uma questão de tempo para que as outras duas espécies ganhem alguma importância da manutenção do ciclo do parasito na localidade. O encontro das três espécies de moluscos nesta localidade nunca havia sido relatado antes e é um importante alerta, sugerindo uma vigilância malacológica para monitorar a disseminação destes moluscos. A falta de saneamento na área, somado ao fato de que a população local, tem pouca informação sobre o envolvimento do molusco na transmissão da doença, pode agravar ainda mais a situação, como relatam Enk et al., (2003, 2004). Este achado confirma que o município de Governador Valadares é um dos municípios brasileiros onde já foram identificadas as três espécies hospedeiras do parasito com importância epidemiológica (*B. glabrata* - Pinto & Almeida, 1948; *B. straminea* - Penido et al, 1951; *B. tenagophila* - Souza et al, 2001), embora cada espécie em localidade diferente.

Algumas peculiaridades relativas aos aspectos sócio demográficos foram identificados neste estudo, envolvendo 1061 moradores da localidade para determinar os fatores relacionados com a infecção da esquistossomose, utilizando duas lâminas de uma única amostra. Na avaliação de variáveis demográficas, socioeconômicas e de

contato com a água, o modelo final da regressão logística multivariada destaca que o gênero masculino leva a um risco 3,39 vezes maior de adquirir a doença que o gênero feminino. Pertencer a faixa etária entre 11 e 20 anos e 21 e 30 anos apresenta respectivamente um risco 7,1 e 7,5 vezes maior que a faixa etária menor que 10 anos. Membros da comunidade que praticam atividades de lazer que envolve contatos com águas não tratadas têm um risco 1,9 vezes maior que as pessoas que não exercem estas atividades. Uma análise mais profunda do grupo dos masculinos positivos para esquistossomose revela que 51,2% deles se encontram na faixa etária entre 10 a 30 anos e praticam alguma atividade de lazer envolvendo contato com água não tratada.

Quanto ao diagnóstico, um dos principais objetivos deste estudo, foi a avaliação da prevalência da endemia em relação ao número de amostras de fezes coletadas e ao número de lâminas examinadas. Para isso uma amostra aleatória e sistemática, denominada grupo experimental, representativo da população, formada por 305 participantes foi selecionada para viabilizar o estudo levando em conta o grande número de lâminas que deveriam ser lidas na população total. Deste grupo foram coletadas quatro amostras de fezes, resultando em seis lâminas da primeira amostra, mais duas lâminas da segunda e terceira amostra. Na quarta coleta, 264 pessoas retornaram com as fezes, o que resultou em 66 amostras com seis lâminas, uma com cinco, 196 com duas, e uma com uma única lâmina. Além disso, 0,5g de 452 amostras deste grupo experimental foram examinadas pela técnica de centrifugação em formol éter. O somatório de todos os exames realizados no grupo experimental com ambas as técnicas resultou no valor mais próximo da real prevalência então denominado de “padrão ouro”. Os resultados desta avaliação revelam uma prevalência estimada da doença de 13,8% com uma única lâmina de uma única amostra e um valor de 35,4% para o “padrão ouro”. Extrapolando os resultados do grupo experimental para a população total de 1265 participantes, encontram-se 448 pessoas que poderiam estar infectadas, indicando que 274 positivos, ou seja, 61,6% destes positivos não estão sendo detectados. Este achado confirma e reforça que a prevalência da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade está subestimada (de Vlaas & Gryseels, 1992). É clássico na literatura o padrão de faixa etária de maior prevalência entre 10 e 30 anos, o que pode ser questionado pelo presente estudo. Ao se obter a prevalência de 35,4% observa-se uma significativa mudança nesse padrão. Além de um aumento geral da proporção de positivos em todas as faixas etárias, um achado significativo e inédito foi a extensão do

pico da proporção de positivos para todas as faixas etárias entre 10 e 50 anos. Uma provável explicação para os altos níveis de proporção de positivos nestas faixas etárias é um aumento da sensibilidade do método diagnóstico que permitiu a identificação de portadores da doença com carga baixa que não são detectados com uma única lâmina. Considerando o dado que o número dos positivos é muito maior na avaliação de acordo com o “padrão ouro” (proporção média de positivos de 44,3% entre 10 e 50 anos) comparado com uma única lâmina de uma única amostra (proporção média dos positivos de 20,9% entre 10 e 30 anos) recomenda-se uma reconsideração das estratégias dos programas de controle em áreas de baixa endemicidade. Uma possível solução para este problema pode ser o tratamento em massa desta faixa etária (10 a 50 anos), lembrando que os valores de “padrão ouro” neste estudo refletem uma aproximação da prevalência real que na verdade é ainda mais alta (OMS, 1993). Aplicando esta nova abordagem na área em estudo, significaria que 301 positivos na faixa etária entre 10 e 50 anos seriam tratados sem diagnóstico. Somando os 50 positivos diagnosticados nas faixas etárias, menor que 10 anos e maior que 50 anos, resulta num número total de 351 positivos tratados, indicando 176 mais positivos tratados do que na estratégia em vigor, que detecta somente 175 positivos numa população total de 1265 pessoas.

Os achados também demonstram que com o aumento do número de amostras e de lâminas a intensidade da infecção diminui, indicando um número superestimado de ovos por grama de fezes na abordagem em vigor. Definitivamente, pode-se assumir que os programas de controle da esquistossomose parecem não ter tanta eficiência como inicialmente indicado. No nosso estudo níveis antes superestimados de intensidade de infecção são diminuídos para níveis mais baixos com prevalências significativamente mais altas, devendo-se considerar que mesmo níveis de baixa intensidade de infecção podem causar lesões consideráveis. Isto se confirma com dados de autópsias e de ultrassonografia (deVlas & Gryseels, 1992) e com dados de mielorradiculopatia esquistossomótica (Ferrari et al. 2004; Lambertucci et al. 2005). Em síntese, estes dados demonstram que, a relação entre a intensidade da infecção e morbidade pode não ser direta como se pensava. Até hoje muitos programas de controle consideram esta relação como direta, e esse conceito deve ser repensado.

Como informação adicional ao inquérito coproscópico, foram levantadas as prevalências para os geo-helmintos na população. A prevalência dos ancilostomídeos

apresentou um valor de 10,4%. Os outros helmintos apresentaram baixa prevalência, sendo 1,6% para o *Ascaris lumbricoides*, 2,0% para o *Enterobius vermicularis*, 1,8% para o *Trichuris trichiura* e 0,7% para o *Hymenolepis nana*. Nenhum caso positivo para *Taenia* sp. foi registrado. Estes resultados apontam para um quadro surpreendentemente favorável das helmintoses intestinais nesta população.

Segundo o Ministério da Educação (<http://portal.mec.gov.br/seb>), em 2002 a cobertura escolar no Brasil já ultrapassava 90,6%. Este é um dos motivos da escola ser um local estratégico para realizar ações de educação em saúde, prevenção e controle de doenças e outros agravos à saúde.

Em 1985, Schall et al., verificaram que a prevalência da esquistossomose em escolares de um foco isolado no Rio de Janeiro era de 3,5%. Ao examinarem as famílias dos estudantes positivos encontraram 16,5% indicando as possibilidades de se identificar famílias e subáreas da localidade onde a transmissão era mais intensa. Tal observação foi investigada por Massara et al, (2006) que comprovaram uma probabilidade três vezes maior de encontrar um membro positivo nas famílias de escolares positivos que nas de escolares negativos. Contudo, como discutido pelos autores acima, a realidade dessa evidência requer a investigação em localidades diferentes de modo a verificar a amplitude dessa predição. No presente estudo, o fenômeno foi investigado considerando-se a população total de uma localidade, o que permite realizar a validação da influência real do escolar como indicador, pois, é possível comparar com os dados completos de toda a configuração e distribuição populacional. Dessa forma, além da aprovação da validade dessa medida, foi possível associá-la aos dados relativos ao diagnóstico, através de diversas combinações pelo método de Kato-Katz.

Esta metodologia combinada com os resultados para infecção com esquistossomose, obtidos pelo diferente número de amostras coletadas e lâminas examinadas, isto é, uma lâmina pelo método de Kato-Katz até o “padrão ouro”, como descrito anteriormente, possibilitou o desenvolvimento de uma nova estratégia, que incluiu a população inteira e não só os membros das residências com escolares. O grupo experimental foi dividido em quatro subgrupos, de acordo com os resultados dos exames parasitológicos dos escolares: um grupo de escolares, um de moradores em residências sem escolares, um de moradores em residências com escolares positivos e um de moradores em residências com escolares negativos. Aplicando os resultados

obtidos pelas diferentes avaliações de proporção de positivos e testando a eficiência da identificação de positivos em cada um destes grupos, observa-se que: a) o grupo dos moradores em residências com escolares positivos apresenta uma proporção de positivos acima de 50%, que justifica tratamento sem exame prévio; b) o número de positivos detectados cresce com o aumento do número de amostras coletadas do que com o aumento de número de lâminas examinadas de uma única amostra. Baseado nisso, uma nova estratégia foi desenvolvida onde são examinadas uma lâmina em cada uma de três amostras de fezes dos escolares, uma lâmina em cada uma de duas amostras nos membros de residências de escolares negativos e membros de residências sem escolares. Todos os membros de residências de escolares positivos são tratados sem diagnóstico. A comparação desta estratégia com os resultados dos exames com uma única lâmina de Kato-Katz, em todos os participantes do grupo experimental, revela um aumento na detecção de positivos de 42 para 73 (73,8%) com um aumento de 2,2 vezes o número das lâminas. Por outro lado, a comparação com o padrão considerado alto na detecção de positivos, como descrito por Rabelo et al (1992), Engels et al (1996), Utzinger et al (2001), ou seja, seis lâminas sendo, duas lâminas de cada uma das três amostras, revela um número de 73 positivos para a nova estratégia e de 79 para a outra. A redução na detecção de positivos de 2,0%, não é estatisticamente significativa, mas foi registrada uma economia de 1157 lâminas (63,2%), isto é, 673 lâminas para a nova estratégia e 1830 lâminas para esta última. Como o grupo experimental é representativo da população total, a extrapolação destes resultados significa uma economia de 4799 lâminas com o mesmo resultado na proporção de positivos. A aplicação desta estratégia em larga escala pode resultar em maior viabilidade de medidas preventivas e agilidade no tratamento. Colocando este modelo em prática significa: a) realizar um levantamento de todos os escolares com exames de fezes de alta sensibilidade como descrito acima e tratar todos os escolares positivos identificados juntamente com todos os membros de suas residências, e b) realizar um levantamento dos moradores das residências sem escolar e os membros das residências dos escolares negativos, e tratar todos os positivos detectados.

É importante salientar que a prevalência da esquistossomose varia significativamente com a metodologia aplicada (uma lâmina de Kato Katz ou “padrão ouro”). Este achado sugere que a associação da esquistossomose com as variáveis epidemiológicas avaliadas, deve ser observada com cautela. A subestimação da

prevalência pode mudar a força da associação destas variáveis e consequentemente alterar o resultado. Esta evidência mostra que a situação real da infecção com esquistossomose em áreas consideradas de baixa prevalência precisa mais atenção e abordagens mais sofisticadas para obter resultados mais confiáveis. Além disso, este fato sugere uma reavaliação da relação entre estas variáveis e a infecção do grupo experimental avaliado pelo “padrão ouro”.

Destaca-se aqui o fato de que as melhorias sociais tradicionalmente associadas à esquistossomose, como redes de água e saneamento que comprovadamente exercem uma função de prevenção e proteção contra a doença, mas não são suficientes por si para a erradicação da endemia na região, requerem ações complementares. Atividades de lazer, travessias de córregos, dentre outras práticas, permanecem associadas à endemia e requerem alternativas específicas, em que a participação da população e os processos educativos tornam-se fundamentais.

Neste contexto foram realizadas atividades educativas na comunidade como cursos, um com duração de 16 horas, com o objetivo de atualizar professores e profissionais de saúde da localidade sobre os principais conceitos de esquistossomose e helmintos intestinais, comportamentos preventivos e políticas públicas necessárias do controle. O curso visou também desconstruir crenças e conceitos incorretos e/ou incompletos e construir conhecimentos sobre a doença contextualizados na realidade local. A metodologia incluiu oficinas e práticas nas quais foi possível observar os moluscos vetores, lâminas com ovos e larvas do parasito e imagens reais de comprometimento da doença no organismo. Um outro curso com duração de oito horas foi ministrado para a população em geral, durante o qual aulas práticas e discussões abertas facilitaram a construção de novos conceitos e, sobretudo compreensão dos riscos da transmissão e relação com o saneamento básico, direito que deve ser requerido pela comunidade. Os professores e profissionais de saúde que freqüentaram o curso foram motivados e mobilizados para assumir o papel de pessoas-chaves na comunidade, no sentido de disseminar as informações para seus alunos, para outros professores e também à comunidade.

Do ponto de vista do conhecimento científico, o curso possibilitou às participantes maior aprofundamento e esclarecimento sobre a doença e compreensão das questões sobre esquistossomose, assim como alternativas pedagógicas de trabalhos com os alunos e população. Os professores e profissionais de saúde mostraram bastante

interesse pelo curso e alguns relataram suas experiências com a doença ou de amigos e familiares.

Foi possível discutir com os participantes as questões estruturais associadas à permanência da esquistossomose no município, representando a sua relação com as condições de vida da população. Foram discutidos os dados sobre a distribuição desigual dos diferentes grupos de risco, a relação com o processo produtivo e as transformações do ambiente e da sociedade que vêm contribuindo para a manutenção da doença. Os participantes se sentiram mais seguros e capacitados para difundir as informações nas escolas e/ou na comunidade. Durante a permanência da equipe na localidade, foi possível observar o desdobramento do trabalho dos professores com os alunos da escola municipal. Alguns trabalhos dos alunos foram recolhidos para análise.

Pelo relato dos professores, os alunos mostraram muito interesse com o trabalho desenvolvido nas escolas, principalmente com os projetos integrados e as atividades práticas que envolveram identificação de moluscos transmissores e não transmissores, a identificação de vermes na sua forma larvar e adulta, e especialmente a dissecação de camundongos, mostrando as patologias causadas pela esquistossomose e comparando as com animais não infectados.

A diretora da escola aproximou-se da equipe e relatou com muito entusiasmo a enorme criatividade por parte dos professores e alunos no trabalho integrado sobre esquistossomose em sala. Dentre as atividades desenvolvidas podemos destacar o interesse em conhecer melhor o problema, estimulando assim maior atenção para com o ambiente próximo às suas moradias e no entorno da comunidade e na busca de possíveis soluções desses problemas. Pode-se confirmar a utilização dos conhecimentos construídos no curso em matérias mais específicas como Matemática, Português, Geografia e História, focalizando a saúde como tema integrador.

Os participantes do curso potencializaram-se como pessoas chave na inserção do tema no currículo e na construção de conhecimentos com a comunidade escolar, alunos, familiares e outros professores.

As cartilhas (“Os caminhos da esquistossomose dentro do corpo” e “Os caminhos da esquistossomose no meio ambiente”) são produtos de um trabalho multidisciplinar. A construção delas foi baseada em experiências da equipe no campo desde 2000 e na demanda dos profissionais da área de educação e da saúde, bem como das comunidades em geral. Foram construídas em linguagem simples e com imagens que poderão ser



utilizadas pelos professores nas escolas e pelos profissionais da saúde com a população. São abordados os aspectos biomédicos da esquistossomose, além dos aspectos sociais envolvidos na transmissão e manutenção da doença. As cartilhas têm como objetivo o estímulo para encontros educativos, nos quais, o saber popular possa ser compartilhado com o conhecimento científico, iniciando e incentivando um diálogo permanente que deve transcender a informação e levar a reflexão. Tais materiais são estímulos para a continuidade do trabalho na comunidade, de modo que haja sustentabilidade das ações de controle, as quais devem ser disseminadas pelos municípios como preconizado pelo SUS. Assim, os profissionais de saúde necessitam de formação e recursos educativos que favoreçam as ações de vigilância e controle continuamente. Também as escolas são espaços públicos que oferecem oportunidade de realizar ações educativas em saúde, favorecendo a construção de conhecimentos científicos e atitudes de prevenção a doenças, bem como desenvolvimento do pensamento crítico e potencialização da força das ações coletivas, fundamentais para o exercício da cidadania. Tal formação desde a infância reforça o potencial de novas gerações mais comprometidas com a promoção da saúde e responsabilidade para a preservação do ambiente.

Estas cartilhas estão sendo avaliadas por diversos profissionais, contando com a revisão de especialistas do Programa Integrado de Esquistossomose que sugeriu alguns aperfeiçoamentos. Tais mudanças serão realizadas para a tiragem de 1000 exemplares de cada volume, financiada pela Fiocruz. Esta versão será avaliada em escolas e programas de saúde, através de estudo sistemático já previsto.

## **X. Considerações finais**

Na comparação da prevalência obtida com uma única lâmina pelo método de Kato Katz (metodologia atualmente em vigor nos programas de controle da doença no Brasil) com a soma de todas as amostras e lâminas examinadas pelo mesmo método e o método de Blagg (definido aqui como padrão ouro) observa-se:

- a) um aumento da prevalência de 13,8% para 35,4% na população, ou seja, aumento em mais de 60,0% na prevalência obtida em comparação com uma lâmina pelo Kato Katz;
- b) um aumento significativo das proporções de positivos em cada faixa etária;
- c) uma mudança no conhecido padrão da curva da proporção de positivos *versus* faixa etária, demonstrando a continuação do nível elevado de positivos até os 50 anos.
- d) Esses dados indicam que a prevalência da esquistossomose, obtida com uma lâmina de Kato Katz, tem sido significativamente subestimada em áreas consideradas de baixa endemicidade, especialmente nas faixas etárias mais avançadas, explicando a continuidade da transmissão da endemia após medidas de controle focalizadas em tratamento.

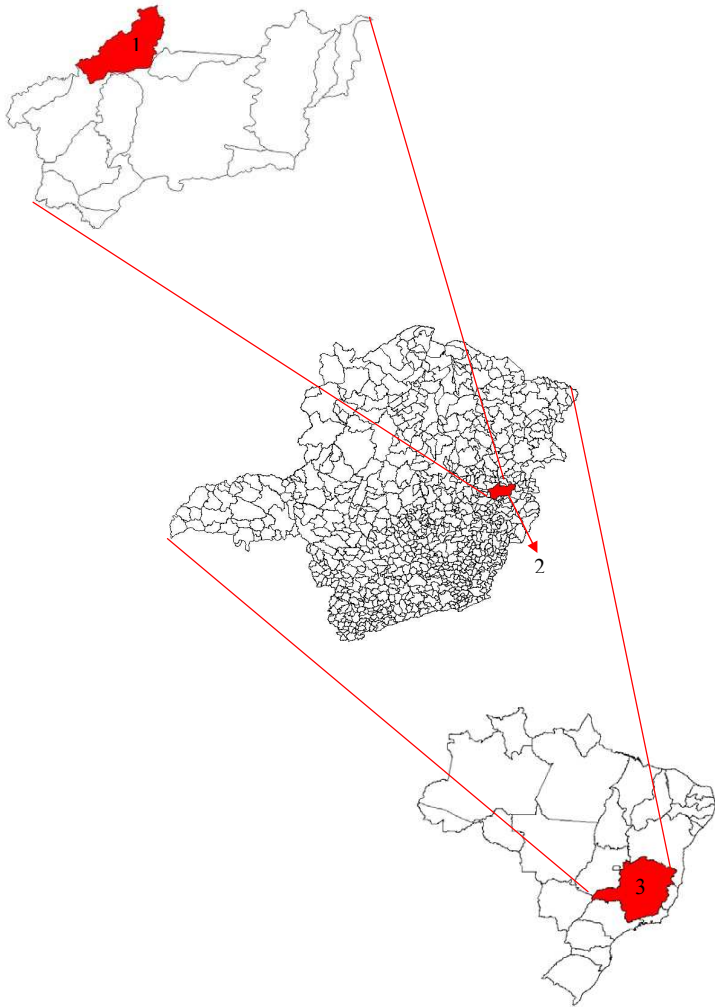
O uso do escolar como indicador para portadores de esquistossomose mostrou-se estatisticamente válido, confirmando dados anteriores. Neste trabalho houve um aperfeiçoamento desta metodologia, abrangendo a população inteira, permitindo assim uma maior eficiência do método Kato Katz para estimar a infecção. Foram alcançados com a nova metodologia níveis de prevalência similares aos resultados obtidos com seis lâminas de três amostras em todos os participantes, mas com uma economia de 63,2% no número total de lâminas examinadas.

Futuramente, após validação em outras áreas de baixa endemicidade, o uso do escolar como indicador para infecção com esquistossomose pode servir como modelo para estimar em larga escala a prevalência da doença, facilitando a determinação de valores mais próximas da taxa da infecção real, por ser mais eficaz e apresentar custo - benefício maior em relação à metodologia atualmente em uso (uma lâmina de Kato Katz para cada indivíduo)

Por demanda de professores e profissionais de saúde das áreas endêmicas trabalhadas desde o ano 2000, foram elaboradas duas cartilhas pela nossa equipe multidisciplinar para suprir a falta de material adequado. Este material visa, sobretudo, complementar os programas de controle, aumentando o sucesso destes programas e potencializando a prevenção de doenças e a promoção da saúde. As cartilhas focalizam na conexão entre corpo, meio ambiente e fatores de riscos para infecção, permitindo conhecer melhor as relações de transmissão da doença. Também permitem entender os danos causados pela doença e como o parasita se desloca da pele até o seu habitat definitivo. Tais abordagens favorecem a construção de conhecimentos científicos e atitudes de prevenção de doenças, bem como o desenvolvimento de pensamento crítico e potencialização da força das ações coletivas, fundamentais para o exercício da cidadania.

## **XI. Anexos**

**Anexo1 – Localização da área de estudo – distrito de Chonim de Cima (1) no município de Governador Valadares (2) em Minas Gerais**



## Anexo 2 – Consentimento livre e esclarecido usado em Chonim de Cima, município Governador Valadares, MG



### CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA A PARTICIPAÇÃO DO PROJETO

**“Análise crítica da metodologia estabelecida para determinar prevalência e controle de esquistossomose em área de baixa endemicidade (Chonim de Cima, Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil); recomendações de novas abordagens integradas”**

Consentimento individual ou dos pais responsáveis:

Eu \_\_\_\_\_ (ou pai/ mãe, responsável pelo menor \_\_\_\_\_) estou ciente com os procedimentos que serão realizados durante este estudo e concordo em participar do mesmo (autorizo a participação do menor acima mencionado).

**- Equipe responsável:**

Paulo Marcos Zech Coelho (CPqRR / FIOCRUZ – Ministério de Saúde)  
Martin Johannes Enk (CPqRR / FIOCRUZ – Ministério de Saúde)  
Sandra Costa Drommond (Secretaria Estadual de Saúde – Minas Gerais)

**- Informações Gerais:**

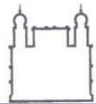
A Esquistossomose (xistose, barriga d’água) é uma doença que se adquire no contato com águas que contém caramujos infectados. Em alguns casos pode produzir barriga d’água e sangramentos (no vômito e nas fezes). Estes casos felizmente são raros porque hoje existem medicamentos que curam a maioria dos doentes.

**- Descrição da Pesquisa**

**Objetivos:** O presente estudo visa aperfeiçoar técnicas de exames de fezes e sorológicas (exame de sangue) para o diagnóstico, controle e cura após tratamento com Praziquantel (remédio em uso no Brasil).

**Descrição do Estudo:** Serão colhidas amostras das fezes e também serão colhidas pequenas quantidades de sangue (10 ml) antes e após o tratamento. Os exames de fezes irão detectar os ovos dos vermes com mais precisão, podendo facilitar assim, futuramente, o controle da transmissão das doenças. O exame de sangue tem como propósito detectar anticorpos e antígenos (substâncias específicas) que ajudam a reforçar o diagnóstico da doença e confirmam a cura após o tratamento.

*Av. Augusto de Lima, 1715, 30190-002 Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (+55) (31) 3295-3566 (ramal 140) - Fax: (+55) (31) 3295-3115  
E-mail: marenk@cpqrr.fiocruz.br*



Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz  
Centro de Pesquisas René Rachou  
Laboratório de Esquistossomose

**Benefícios:** Os participantes que apresentarem infecção detectada pelo exame de fezes, serão tratados gratuitamente com Praziquantel ou oxamniquine, no caso de xistose e com Albendazol ou Mebendazol em caso de outras verminoses. Serão também dados noções de higiene com o objetivo de evitar a transmissão das verminoses.

**Riscos em potencial:** Os riscos para os participantes são mínimos. Existe o desconforto da picada da agulha no momento da retirada do sangue. Os efeitos colaterais dos medicamentos são poucos e largamente compensados pelos benefícios do tratamento e da cura das verminoses.

**Permissão para revisão dos dados (confidencialidade):** Todas as informações serão confidenciais, ficando restritas aos pesquisadores, e a qualquer momento, a você, se assim desejar.

**Entendimento por parte dos participantes:** Eu pude fazer todas as perguntas relacionadas ao presente projeto e autorizo a equipe de pesquisadores acima relacionados a me incluir ou aquele(s) que estão sob a minha responsabilidade, na presente pesquisa. Estou ciente que a qualquer momento poderei interromper minha participação no projeto sendo garantida à assistência médica necessária. Posso, a qualquer momento, discutir questões relacionadas aos meus direitos, relativas a qualquer aspecto do presente projeto durante ou após sua execução.

**Consentimento:** Com base no exposto, concordo em participar voluntariamente dessa pesquisa. Tenho conhecimento da importância da minha cooperação e do meu compromisso com o sucesso da pesquisa. Sendo assim, autorizo os pesquisadores a marcarem os exames e tratamentos relacionados à pesquisa e me contactarem, conforme o andamento do projeto.

Se houver um compromisso ao qual não possa comparecer avisarei com antecedência.

\_\_\_\_\_  
Nome do participante ou responsável

\_\_\_\_\_  
Ass. do participante ou responsável

\_\_\_\_\_  
Nome do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Ass. do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Nome do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Ass. do Pesquisador

Av. Augusto de Lima, 1715, 30190-002 Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (+55) (31) 3295-3566 (ramal 140) - Fax: (+55) (31) 3295-3115  
E-mail: marenk@cpqrr.fiocruz.br





Levantamento Pessoal e de Contato

Chonim de Cima

---

**Dados Pessoais**

Numero da Casa  Estado

Numero do Participante  Chonim de Cima

Nome Completo

Data de Nascimento

Idade

Tempo de Residência na Cidade

Anos  Meses

Ja morou em outro lugar?  Sim  Nao

Sexo  Masculino  Feminino

**INICIAR** **Voltar** **Próximo**

---

**Dados Pessoais**

Procedência da Pessoa

Cidade  Estado

Apartir de (Ano):

Tempo de Residência

Anos  Meses

Ja morou em outro lugar?  Sim  Nao

**Voltar** **Próximo**

**Dados Pessoais**

Escolaridade

Ocupação

Renda Mensal (Salário Min)

Nenhum = 1

1 a 2 = 2

2 a 5 = 3

5 a 10 = 4

> que 10 = 5

**Voltar** **Próximo**

---

**Dados Pessoais**

Procedência da Pessoa

Cidade  Estado

Apartir de (Ano):

Tempo de Residência

Anos  Meses

Ja morou em outro lugar?  Sim  Nao

**Voltar** **Próximo**

---

**Contato de Água**

Lavar Roupas à mão

Lavar Vasilha

Buscar Água

Local

Tomar Banho (Higiene)

Local

**Voltar** **Próximo**

---

**Contato de Água**

Nadar

Local

Pescar

Local

Atravessar Corrego

Local

**Voltar** **Próximo**

<b>Contato de Água</b>		
Trabalho de Lavoura	Nunca	
Local		
Retirar Areia/Minério	Nunca	
Local		
Regar Horta	Nunca	
		<b>Voltar</b>
		<b>Próximo</b>
<b>Geohelminthos</b>		
Andar descalço	Nunca	
Lavar as mãos antes das refeições	Nunca	
Lavar bem os alimentos	Nunca	
Comer carne de porco mal passada	Nunca	
		<b>Voltar</b>
		<b>Próximo</b>
<b>Geohelminthos</b>		
Mantier as unhas cortadas e limpas	Nunca	
Colocar o dedo na boca	Nunca	
Reer unhas	Nunca	
		<b>Nova Pesquisa</b>
		<b>Voltar</b>
		<b>Fim</b>

Anexo 4 - Material utilizado no curso de atualização realizado em Chonim de Cima, município de Governador Valadares, MG



(1)



(2)

Amostras de moluscos do gênero *Biomphalaria*, transmissores da esquistossomose (1) e moluscos não transmissores (2), que podem ser encontradas na área.



(1)



(2)

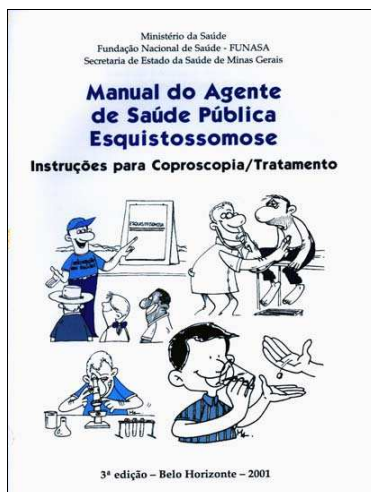


(3)

Amostras de vermes (1) *A. lumbricoides* , (2) *Taenia* sp. e (3) *Schistosoma mansoni*.

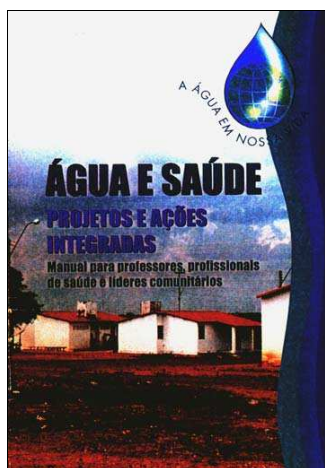


(1)



(2)

(1) Guia texto – Esquistossomose mansoni, 1999 e (2) Manual do Agente de Saúde Pública – Esquistossomose – Instruções para coproscopia e tratamento, 2001 ambos publicados pela Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde



(3)



(4)

Cartilhas da série “Água e Saúde: (1) - *Projetos e ações integradas* – manual para professores, profissionais de saúde e líderes comunitários e (2) – *Saber para prevenir*. (Schall, 2002) Elaboradas para projeto de educação em saúde em áreas irrigadas do Nordeste do

Brasil. Ministério da Integração Nacional/Banco Mundial, Brasília

**Anexo 5 - Cartilhas**

## **XII. Referências**



- Almeida Machado P 1982. The brazilian program for schistosomiasis control, 1975 - 1979. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31(1):76-86.
- Annecke S, Pitchford RJ, Jacobs AA. 1955, *appud* Pitchford RJ 1972. Control of schistosomiasis in South Africa and Malagasy. Proc. Symp. on the future of schistosomiasis control. Tulane Univ. Nova Orleans
- Armitage P. & Berry G. 1997. Statistical methods in medical research. Blackwell Scientific Publications, London, 2º Ed.
- Baptista DF, Soares LH, Vasconcellos MC, Lopes FEF, Paz IS, Schall VT 1997. Vegetative development and seed germination of *Euphorbia splendens* var *hislopii* a biomolluscicidal species. *Arq. Biol. tecn.* 40 :435-441.
- Baptista DF, Vasconcellos MC, Lopes FE, Silva IP, Schall VT 1994. Perspectives of using *Euphorbia splendens* as a molluscicide in schistosomiasis control programs. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 25: 419-424.
- Barbosa FAS 1965. Morbidade da esquistossomose. Recife, Faculdade de medicina da Universidade de Recife. p 180. (Tese, Doutorado).
- Barbosa CS 1996. *Esquistossomose em Pernambuco: Determinantes Bio-ecológicos e sócio culturais em comunidade de pequenos agricultores da Zona da Mata*. Tese de Doutorado. ENSP/Fiocruz, Rio de Janeiro.
- Barbosa FS 1980. Considerações sobre métodos profiláticos no controle da esquistossomose e os cuidados primários de saúde. *Ciência e Cultura*, 32: 1628-1632.
- Barbosa FS, Pinto R, Souza OA 1971. Control of schistosomiasis mansoni in a small Northeast Brazilian community. *Trans. Rev. Soc. Trop. Med. Hyg.* 65: 206-213.
- Barreto ML, Smith DH, Sleigh AC 1990. Implications of faecal egg count variation when using the Kato-Katz method to assess *Schistosoma mansoni* infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84: 554-555.
- Bell DR 1963. Anew method for counting *Schistosoma mansoni* eggs in faeces with special reference therapeutical trials. *Bull World Health Organ* 29:525-530.
- Bina JC 1992. O tratamento específico como arma no controle da esquistossomose. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 87: 195-202.
- Blagg W, Schoegel EL, Mansour NS, Khalat GI 1955. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am J Trop Med Hyg* 4: 23-28.
- Borel E, Etard JF, Addo A, Diakite M 1999. Comparison of a digestion-sedimentation technique with the Kato-Katz technique in the detection and quantification of *S. mansoni* eggs in light to moderate infections. *Parasite* 6 (2): 175-178.
- Breslow N, Day NE. 1980. Statistical Methods in Cancer Research. The analyses of case-control studies. IARC Scientific Publication no. 32 International Agency for Rerserach on Cancer, Lyon.

- Brindley PJ 1994. Drug resistance to schistosomicides and other antihelminthics of medical significance. *Acta Trop*, 56: 213-231.
- Carvalho OS, Jannotti Passos LK, Mendoça CLFG, Cardoso PCM, Caldeira RL 2005. Moluscos de importância médica no Brasil. Série Esquistossomose nº7. Centro de Pesquisas René Rachou / Fiocruz, Ministério de Saúde
- Carvalho OS, Nunes IM, Caldeira, RL 1998. First Report of *Biomphalaria glabrata* in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93: 39-40.
- Carvalho OS, Rocha RS, Massara CL, Katz N 1987. Expansão da esquistossomose mansoni em Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 82:295-298
- Chitsulo, L., Engels, D., Montresor, A., Savioli, L 2000. The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Trop*. 77, 41-51.
- Cioli D, Pica-Mattoccia L, Archer S 1995. Antischistosomal drug: past, present... and future? *Pharmacol. Ther.* Oxford, 68: 35-85.
- Coura-Filho P 1998. An alternative model for schistosomiasis control with active participation by the population through the unified Health System (SUS) in Taquaraçu de Minas (Minas Gerais, Brazil) from 1985 to 1995. *Cad. Saúde Públ.* 14:111-122.
- Coura-Filho P, Farah MWC, Resende DF, Lamartine SS, Carvalho OS, Katz N 1995. Determinantes ambientais e sociais da esquistossomose mansoni em Ravena, Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saúde Públ.* 11:254 -265.
- Coura-Filho P, Rocha RS, Lamartine SS, Farah MWC, Resende DF, Costa JO, Katz N 1996. Control of schistosomiasis mansoni in Ravena (Sabará State of Minas Gerais, Brazil) through water supply and quadrennial treatments. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 91:659-664.
- Coura-Filho P, Rocha RS, Lima e Costa, MFF, Katz N 1992. Avaliação de um programa municipalizado de controle da esquistossomose mansoni em Peri-Peri (Capim Branco, MG-Brasil) *Rev. Inst. Med. trop São Paulo*, 43; 543-548.
- De Clercq D, Sacko M, Vercauysse J, vanden Bussche V, Landoure A, Diarra A, Gryseels B, Deelder A. 1997. Assessment of cure by detection of circulating antigens in serum and urine, following schistosomiasis mass treatment in two villages of the Office du Niger, Mali. *Acta Trop. Dec*;68(3):339-346.
- Deelder AM, Klappe HT, van den Aardweg GJ, van Meerbeke EH 1976. Schistosoma mansoni: demonstration of two circulating antigens in infected hamsters. *Exp Parasitol.* Oct;40(2):189-97.
- De Vlas SJ, Engels D, Rabello AL, Oostburg BF van Lieshut L, Poldermann AM, van Oontmaarsen GJ, Habbema JD, Gryseels B 1997. Validation of a chart to estimate true *Schistosoma mansoni* prevalences from simple egg counts. *Parasitology* 114: 113-121.
- De Vlaas, S.J., Gryseels, B., 1992. Underestimation of Schistosoma mansoni prevalences. *Parasitol. Today* 8, 274-277.

- Dias LCS, Marçal Junior O, Glasser CM, Kanamura HY, Hotta LK 1992. Control of schistosomiasis mansoni in a low transmission área. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 87:233-239.
- Diniz MCP 2003. As representações sociais da esquistossomose de escolares de área endêmica de Minas Gerais. Belo Horizonte: Faculdade de Educação. Universidade Federal de Minas Gerais. 106p. (Dissertação de Mestrado, Mestrado em Educação: Conhecimento e inclusão social).
- Diniz MCP, Schall V 2000. Estudo exploratório sobre estratégias e materiais educativos utilizados na prevenção e controle da esquistossomose e outras helmintoses. *Atas da 52ª Reunião da SBPC*, Brasília, p. 72.
- Doenhoff MJ 1998. Granulomatous inflammation and the transmission of infection: schistosomiasis--and TB too? *Immunol Today*. Oct; 19(10):462-467.
- Dunne DW, Bain J, Lillywhite J, Doenhoff MJ 1984. The stage-, strain- and species-specificity of a *Schistosoma mansoni* egg antigen fraction (CEF6) with serodiagnostic potential. *Trans R Soc Trop Med Hyg*;78(4):460-470.
- Eberl M, al-Sherbiny M, Hagan P, Ljubojevic S, Thomas AW, Wilson RA 2002. A novel and sensitive method to monitor helminth infections by faecal sampling. *Acta Trop* 83: 183-187
- Engels D, Sinzinkayo E, de Vlas SJ, Gryseels B 1996. Intraspecimen fecal egg count variation in *Schistosoma mansoni* infection. *Am J Trop Med Hyg* 54 (4): 319-324.
- Engels D, Sinzinkayo E, de Vlas SJ, Gryseels B 1997. Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. *Am J Trop Med Hyg* 57(5): 571-577.
- Engels D, Chitsulo L, Montresor A, Savioli L, 2002. The global epidemiological situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. *Acta Tropica* 82:139-146
- Engvall E, Perlman P, 1971. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry Sep*;8(9):871-874
- Enk MJ, Amorim A, Schall, VT 2003. Acute schistosomiasis outbreak in the metropolitan area of Belo Horizonte, Minas Gerais: Alert about the risk of unnoticed transmission increased by growing rural tourism. *Mem Inst. Oswaldo Cruz* 98:745-750
- Enk MJ, Caldeira RL, Carvalho OS, Schall VT 2004. Rural tourism as risk factor for the transmission of schistosomiasis in Minas Gerais State, Brazil. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*, 99: 105-108
- Faust EC, Sawitz W, Tobie J, Odom V, Peres C, Lincicome DR 1939. Comparative efficiency of various techniques for the diagnosis of protozoa and helminthes in feces. *J Parasit* 26: 241-262.

- Faust EC, Ingalls JW, See JK 1946. The diagnosis of schistosomiasis japonicum II. Technics for the recovery of the eggs of *Schistosoma japonicum*. *Am J Trop Med Hyg* 26: 559-584.
- Favre TC 1999. Impacto da quimioterapia sobre a infecção por *Schistosoma mansoni* em duas localidades da área endêmica em Pernambuco. Tese de Doutorado. Biologia Parasitária. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
- Feldmeier H, Poggensee G 1993. Diagnostic techniques in schistosomiasis control. *Acta Trop* 52: 205-220.
- Ferrari MLA, Coelho PMZ, Antunes CMF, Tavares CAP, Cunha AS 2003. Efficacy of oxamniquine and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infection: a controlled trial. *Bull World Health Org* 81 (3): 190-196.
- Ferrari, T.C., Moreira, P.R., Cunha, A.S., 2004. Spinal cord schistosomiasis: a prospective study of 63 cases emphasizing clinical and therapeutical aspects. *J. clin. Neurosci.* 11, 246-253
- Firmo JOA. 1994. Avaliação clínico-epidemiológica da esquistossomose mansoni em uma área de periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais - Tese de Mestrado
- Fletcher , RH et al 1996. Clinical epidemiology: The Essentials. Wiliams and Wilkins London, UK
- Foster R 1973. The preclinical development of oxamniquine. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 15 (suppl 1): 1-9.
- Foster R , Cheetham BL 1973. Studies with the schistosomicide oxamniquine (UK-4271). I. Activity in rodents and in vitro. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 67: 674-684.
- Freire P 1976. Ação cultural para liberdade e outros escritos. Rio de Janeiro: Paz e Terra.
- Gazzinelli A, Gazzinelli MF, Cadete MM, Pena Filho S, Sá RI, Kloos H 1998. Aspectos sócio-culturais da esquistossomose mansoni em área endêmica de Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, 14: 841-849.
- Gazzinelli MF, Gazzinelli A, Santos RV, Gonçalves LAO 2002. A interdição da doença: uma construção cultural da esquistossomose em área endêmica, Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saúde Pública* 18: 1629-1638.
- Gomes dos Santos M, Firmo JOA, Schall VT 1996. Concepts of health and illness among students and teachers from public schools: A survey in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil. *Ciência e Cultura*, 48:172-177.
- Gomes dos Santos M, Moreira MM, Malaquias MLG, Schall VT 1993. Educação em Saúde em escolas públicas de 1º grau da periferia de Belo Horizonte, MG, Brasil. I. Conhecimentos, opiniões e prevalência de helmintoses entre professores e alunos. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 35: 573-581.
- Gönnert R, Andrews P 1977. Praziquantel a new broad-spectrum antischistosomal agent. *Z Parasitenkd* 52: 129-150.

- Greeland S. 1989. Modeling and Variable Selection em Epidemiologic Analysis. *American Journal of Public Health*, 79(3).
- Guimarães CT, Souza MA, Soares DM, Souza CP 1997. Levantamentos malacológicos em parques urbanos de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saúde Pública* 13(2):313-316.
- Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL 1934. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J Publ Health Trop Med* 9: 283-298
- Hollanda H (org.) 1981. Saúde como compreensão de vida. Um programa de saúde destinado a professores e alunos de 5º a 8º série do 1º grau. Brasília: Convênio Ministério da Saúde DNES - MEC/ Premem.
- Kato K, Miura M 1954. Comparative examinations *Jap J Parasitol* 3:35 (Japanese text). apud Martin LK, Beaver PC 1968. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. *Am J Trop Med Hyg* 17: 382-391.
- Kato K 1960. Acorrect application of the thick-smear technique with cellophane-paper cover. *A pamphlet* 1-9 (Japanese text). apud Komiya Y Kobayashi A 1966. Evaluation of Kato's thich-smear technic with cellophane cover for helmith eggs in feces. *Jap J Med Sci Piol* 19: 59-68.
- Katz N 1986a. Possibilidades de controle da esquistossomose. *Rev. Bras. de Medicina*, 50: 85-88.
- Katz N 1986b. Controle da esquistossomose no Estado de Minas Gerais. In: Modernos conhecimentos sobre esquistossomose mansônica. 14: 51-66.
- Katz N 1998. Schistosomiasis control in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93(suppl 1):33-35
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 14:397-400.
- Katz N, Motta E, Oliveira VB, Carvalho EF 1978. Prevalência da esquistossomose em escolares no Estado de Minas Gerais. In Resumos do XIV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, João Pessoa, p 102.
- Katz N, Peixoto SV 2000 Critical analysis of the estimated number os schistosomiasis mansoni carriers in Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 33:303-308.
- King, C.H., Dickman, K., Tisch, D.J., 2005. Reassessment of the cost of chronic helminthic infection: a meta-analysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. *Lancet* 365, 1561-1569
- Kloetzel K 1963 A suggestion for the prevention of severe clinical forms of Schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop.* 5 :686-687
- Knight WB, Hiatt RA, Cline BL, Richie LS 1976. A modification of the formol ether concentration technique for increased sensitivity in detection of *Schistosoma mansoni* eggs. *Am J Trop Med Hyg* 25: 818-823.

- Kongs, A., Marks, G., Verle, P., Van det Stuyft, P., 2001. The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluation of *S. mansoni* infections. *Trop. Med. Int. Health* 6, 163-169.
- Lambertucci JR 1993. Pathological and Clinical Aspects in Human Schistosomiasis (eds Jordan P, Webbe G, Sturrock RF) CAB International, Wallingford, UK.
- Lambertucci JR, Serufo JC, Gerspacher-Lara R, Rayes AAM, Teixeira R, Nobre V, Antunes CMF 2000. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. *Acta Tropica* 77:101-109.
- Lambertucci JR, Pereira SR, Silva LC. 2005. Myeloradiculopathy in acute schistosomiasis mansoni. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38(3): 277-278
- Lima e Costa MF, Guerra HL, Pimenta Junior FG, Firmo JOA, Uchôa E 1996. Avaliação do programa de controle da esquistossomose (PCE/PCDEN) em municípios situados na bacia do Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 29(2):117-126.
- Lopes JLC, Lopes JNC, Souza CP, Cunha WR 1988. Avaliação da atividade moluscicida de extratos vegetais. II. Supl. *Acta Amazonica*, 18:145-149.
- Lutz A 1919. *Schistosoma mansoni* and schistosomiasis observed in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 11: 109-140.
- Maddison SE, Slemenda SB, Tsang VC, Pollard RA 1985. Serodiagnosis of *Schistosoma mansoni* with microsomal adult worm antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay using a standard curve developed with a reference serum pool. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* May;34(3):484-94.
- Martin LK, Beaver PC 1968. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. *Am J Trop Med Hyg* 17: 382-391.
- Martins AV 1937. Sobre a pesquisa de ovos de *Schistosoma mansoni* pelo método da sedimentação-concentração. *Brazil Méd* 51: 319-321.
- Massara CL, Schall VT 2004. A pedagogical approach of schistosomiasis – An experience in Health Education in Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99 (supl. 1):113-119.
- Massara CL, Peixoto SV, Enk MJ, Barros HS, Carvalho OS, Sakurai E, Schall VT. 2006. An evaluation of an improved approach using residences of schistosomiasis schoolchildren to identify carriers in a low endemic area. *Am J Trop Med Hyg* 74 (3):495-499.
- McLaren M, Draper CC, Roberts JM, Minter-Goedbloed E, Lighthart GS, Teesdale CH, Amin MA, Omer AH, Bartlett A, Voller A. 1978. Studies on the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) test for *Schistosoma mansoni* infections. *Ann Trop Med Parasitol.* Jun;72(3):243-53.
- Ministério de Educação <http://portal.mec.gov.br/seb> consultado em 21.05.2007
- Ministério da Saúde 2001. Esquistossomose mansoni: Guia texto.4. ED. – Belo

Horizonte: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde.

Ministério da Saúde 2003. Manual do Agente de Saúde Pública Esquistossomose Instruções para Coproscopia / Tratamento. 4. ED. – Belo Horizonte: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde.

Mott, KE and Dixon H 1982. Collaborative study on antigens for immunodiagnosis of schistosomiasis *Bull World Health Organization* 60: 729-753

Organização Mundial da Saúde 1993. *The control of Schistosomiasis*. WHO Technical Report Series, no. 830, 86pp.

Organização Mundial da Saúde 1994. *O Controle da esquistossomose: Segundo relatório do comitê de especialistas da OMS*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 117p.

Paraense WL 1959. Histórico. *Rev. Bras. Malariol Doenças Tropicais*, XI: 105-117.

Paraense WL, Correa LR 1989. A potential vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84: 281-288.

Paraense WL 1972. Fauna planorbídea do Brasil. *In: CS Lacaz, GR Baruzzi, W. Siqueira JR (eds) Introdução a geografia Médica do Brasil*, Edgard. Blucher, Ed. Univ. São Paulo, cap. 10, p 213-239.

Paraense WL 1986. Distribuição dos caramujos no Brasil. *In: FA Reis, Modernos conhecimentos sobre a esquistossomose mansônica*. Biblioteca da Academia Mineira de Medicina, Belo Horizonte, p. 117-129.

Passos ADC, Amaral RS 1998. Esquistossomose mansônica: aspectos epidemiológicos e de controle. *Rev. Soc. Brasil Med Trop*, 31(sup II):61-74

Pellon AB, Teixeira I 1950. Distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no Brasil. Divisão de Organização sanitária. Rio de Janeiro.

Penido HM, Pinto DB, Deslandes N 1951. Estudo comparativo da anatomia interna de caramujos provenientes de Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Pará. *Rev Serv Espec Saúde Pública* 4: 383-405.

Pereira JP, Souza CP, Mendes NM 1978. Propriedades moluscicidas da *Euphorbia cotinifolia* L. *Rev. Bras. Pesquisas Médicas e Biológicas*, 11:345-351.

Pieri OS, Barbosa CS, Moza PG 1998. Schistosomiasis control base on repeated chemotherapy in a rural village of the sugar-cane zone in Northeast Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 93 (suppl 1):259-264.

Pinto C, Almeida AF 1948. *Schistosomiasis Mansoni no Brasil*, Monografias do Inst Oswaldo Cruz 5, 287 pp.

Pitchford RJ 1972. Control of schistosomiasis in South África and Malagasy. Proc. Symp. on the Future of Schistosomiasis Control. Tulane Univ., Nova Orleans.

Poldermann AM, Panday UG, Ramkisoen S, van Lieshout L, Oostburg BFJ 1994. A sedimentation-selective filtration method for the diagnosis of light infections with

*Schistosoma mansoni*. *Acta Trop* 58: 221-227.

Pontes LA, Oliveira MC, Katz N, Dias-Neto E, Rabello A 2003. Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg*. Jun;68(6): 652-656.

Rabello ALT, Rocha RS, Mendes de Oliveira JP, Katz N, Lambertucci JR 1992. Stool examination and rectal biopsy in the diagnosis and evaluation of therapy of schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 24 (6): 601-608.

Rabello A 1997. Diagnosing Schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93 (5): 669-676.

Rey L 1978. Esquistossomose em Moçambique. Relatório de uma visita para avaliação do problema e sugestões para a organização do controle da endemia Organização Mundial de Saúde. MPD/SCH. 37p.

Rey L 1982. Schistosomiasis em Tunisie. Resultat après diz ans de lutte contre l'endemie. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 75: 505-522.

Sapero JJ, Lawless DK 1953. The "M.I.F." stain-preservation technic for identification of intestinal protozoa. *Am J Trop Med* 2: 613-619.

Sayed HA, El Ayyat AA, Sabry HY, Amer NM 2002. Upgrading of Kato-Katz technique for diagnosis of *S. mansoni* infection in rural Egypt. *J Egypt Soc Parasitol* 32 (3): 813-820.

Schall VT 1989. Educação em Saúde e esquistossomose: breve retrospectiva e uma proposta. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 84: 84-90.

Schall VT 1994. Environmental and Health Education for School-Age Children a transdisciplinary Approach. *Cad. Saúde Públ.*, 10: 259-263.

Schall VT 1995. Health Education, Public Information and Communication in schistosomiasis control in Brazil: a brief retrospective and perspective. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 90: 229-234.

Schall VT 1996. Saúde e afetividade na infância: o que as crianças revelam e a sua importância na escola. Tese de doutorado. Departamento de Educação. PUC/RJ – Rio de Janeiro. 349 p.

Schall VT 1997a. Affectivity in health and enviromental education for children. Proceedings – 8<sup>th</sup> IOSTE Symposium Edmonton Canadá Vol IV: 185-189.

Schall VT 1997b. Reading, playing and learning sciences thought stories and games. Proceedings – 8<sup>th</sup> IOSTE Symposium Edmonton Canadá Vol IV: 190-195.

Schall VT 1998. An Interactive Perspective of Health Education for the tropical Disease Control: The schistosomiasis case. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 93 (suppl 1):51-58

Schall VT, Dias AGP, Malaquias MLG, Gomes dos Santos M 1993. Educação em Saúde em escolas públicas de primeiro grau da periferia de Belo Horizonte, MG (Brasil). Avaliação de um programa relativo a esquistossomose. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 35:563-572.



- Schall VT, Diniz MCP 2001. Information and education in schistosomiasis control: na analysis of the situation in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 35-43.
- Schall VT, Struchiner M 1999. Educação em saúde: novas perspectivas. *Cad. Saúde Pública*, 15: 4-5.
- Schall VT, Vasconcellos MC, Souza CP, Baptista DF 1998. The molluscicidal activity of "crown of Christ" (*Euphorbia splendens* var *hislopii*) latex on snails acting as intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 58 :7-10.
- Silva P 1908a. Contribuição para o estudo da esquistossomose na Bahia. *Brazil Méd.*, 22:281-283.
- Silva P 1908b. Contribuição para o estudo da esquistossomose na Bahia. Dezesesseis observações. *Brazil Medico*, 22:441-444.
- Silva P 1908c. Contribuição para o estudo da esquistossomose mansoni na Bahia. Vinte observações. *Brazil Medico*, 22:451-454
- Sleigh A, Hoff R, Mott KE, Barreto M, de Paiva MT, Pedrosa SS, Sherlock I 1982. Comparison of filtrating staining (Bell) and thick smear (Kato) for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* eggs in fezes. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 76: 403-406.
- Souza CP 1995. Molluscicidal control of snails vectors of schistosomiasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 90 :165-168.
- Souza CP, Mendes NM, Araújo N, Katz N 1987. Atividade moluscicida do extrato butílico de *Phytolacca dodecandra* (ENDO) sobre *Biomphalaria glabrata*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 82:345-349.
- Souza CP, Caldeira RL, Drummond SC, Melo AL, Guimarães CT, Soares DM, Carvalho, OS 2001. Geographical distribution of *Biomphalaria* Snails in the State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(3): 293-302.
- Steinmann, P., Keiser, J., Bos, R., Tanner, M., Utzinger, J., 2006. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis and estimates of people at risk. *Lancet Infect. Dis.* 6, 411-425
- Sturrock RF 2001. Schistosomiasis epidemiology and control: how did we get there and Where should we go? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96, *Suppl.*: 17-27.
- Teixeira RA 2003. Saneamento rural e saúde das crianças em Jaboticatubas, 2001. Dissertação de Mestrado. Epidemiologia. Escola de Veterinária, 74pp
- Teles HMS, Carvalho ME, Ferreira CS, Zacharias F, Lima VR, Fadel MLC 2002b. Schistosomiasis mansoni in Bananal (State of São Paulo, Brazil). I. Efficiency of diagnosis and treatment procedures. *Mem Inst. Oswaldo Cruz* 97:181-186.
- Teles HMS, Ferreira CS, Carvalho ME, Lima VR, Zacharias F 2002a. Schistosomiasis mansoni in Bananal (State of São Paulo, Brazil). II Intermediate Hosts. *Mem. Inst.*

Oswaldo Cruz, 97:37-41.

Teesdale Ch, Fahringer K, Chitsulo L 1985. Egg count variability and sensitivity of a thin smear technique for the diagnosis of *Schistosoma mansoni*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79: 369-373.

Utzing J, Keiser J, Shuhua X, Tanner M, Singer BH 2003 Minireview. Combination Chemotherapy of schistosomiasis in laboratory studies and clinical trails. *Antimicrobial Agents Chemother* 47 (5): 1487-1495.

Utzing J, Booth M, N'Goran EK, Muller I Tanner M Lengeler C 2001. Relative contribution of day-to-day and intra-specimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. *Parasitology* 122: 537-554.

Vasconcelos EM 1997. *Educação popular como instrumento de reorientação das estratégias de controle das doenças infecciosas e parasitárias*. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 218p. (Tese, Doutorado Doenças Parasitárias. Faculdade de Medicina).

Van Lieshout L, de Jonge N, el-Masry N, Mansour MM, Bassily S, Krijger FW, Deelder AM. 1994. Monitoring the efficacy of different doses of praziquantel by quantification of circulating antigens in serum and urine of schistosomiasis patients. *Parasitology. Jun;108 ( Pt 5):519-26*

Van Lieshout L, Panday UG, De Jonge N, Krijger FW, Oostburg BF, Polderman AM, Deelder AM. 1995. Immunodiagnosis of schistosomiasis mansoni in a low endemic area in Surinam by determination of the circulating antigens CAA and CCA. *Acta Trop. Mar;59(1):19-29*.

Van Lieshout L, Polderman AM, Deelder AM. 2000. Immunodiagnosis of schistosomiasis by determination of the circulating antigens CAA and CCA, in particular in individuals with recent or light infections. *Acta Trop. Oct 23;77(1):69-80*.

Voller A, Bidwell DE, Bartlett A 1976. Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. *Bull World Health Org* 53(1):55-65.

Willis HH. 1921. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *Med J Australia* 6: 375-376.