

LANNY CRISTINA BURLANDY SOARES

***ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA DE BAIXA
ENDEMICIDADE: SOROEPIDEMIOLOGIA E CONTROLE***

CAMPINAS

2002

LANNY CRISTINA BURLANDY SOARES

***ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA DE BAIXA
ENDEMICIDADE: SOROEPIDEMIOLOGIA E CONTROLE***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre
em Ciências Médicas, área de Ciências Biomédicas.*

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CÂNDIDO DE SOUZA DIAS

CAMPINAS

2002

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

So11e Soares, Lanny Cristina Burlandy
Esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade:
soroepidemiologia e controle. / Lanny Cristina Burlandy Soares.
Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Luiz Cândido de Souza Dias
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Schistosoma mansoni. 2. Epidemiologia. 3.
Sorodiagnóstico. I. Luiz Cândido de Souza Dias. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. III. Título.

UNIDADE	80
Nº CHAMADA	UNICAMP
	So11e
V	EX
TOMBO BC/	54852
PROC.	16-124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	24/07/03
Nº CPD	

CM00187007-4

BIB ID 295536

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cândido de Souza Dias

Membros:

1. Prof. Dr. Luiz Cândido de Souza Dias

2. Prof. Dr. Francisco Anaruma Filho

3. Prof. Dr. Carlos Roberto Correa

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

DEDICATÓRIA

*Ao Lucas e a Laura,
meus filhos.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr Luiz Cândido de Sousa Dias, meu reconhecimento sincero por sua orientação segura e pelo desprendimento na condução desta pesquisa; por seu incentivo e confiança no meu trabalho acadêmico; pela amizade e pelas oportunidades proporcionadas durante estes anos.

À Profa. Dra. Hermínia Y. Kanamura, professora titular na UNITAU e pesquisadora do Instituto Adolfo Lutz, pelo companheirismo, apoio técnico-científico dispensado e pelas valiosas sugestões que aperfeiçoaram esta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Cláudio Lúcio Rossi, chefe do Laboratório de Imunologia do departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas, por sua contribuição na Banca do Exame de Qualificação e pelo apoio técnico ao disponibilizar o laboratório.

Ao Prof Luiz Augusto Magalhães pela valiosa participação como membro da Banca do Exame de Qualificação.

A Dra Célia Regina Garlipp, do Departamento de Patologia Clínica, por fazer parte da pré-banca e contribuir com este trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Correa, do Departamento de Medicina Preventiva e Social da Faculdade de Medicina da UNUCAMP, por sua colaboração como parte da banca examinadora desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Francisco Anaruma Filho, da Associação Cultural de Garça – Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal, FAEF, por fazer parte da banca examinadora desta dissertação.

Aos colegas do IMT na pessoa do Prof. Dr. Pedro Paulo Chieffi, chefe do Laboratório de Imunopatologia da Esquistossomose (LIM 06) do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, pela colaboração prestada a esta pesquisa.

Ao Edward José de Oliveira, o companheiro em todos os momentos, por sua parceria e amizade na realização deste trabalho.

As colegas de pós-graduação Rosana Aparecida Trevisan, Juliana Julien Salvarani, e Célia Regina Mendes pelo auxílio amigo e pelo companheirismo durante estes anos.

Aos colegas do Laboratório de Parasitológica da Unicamp: Ângela Terezinha L. Teixeira, Sueli Aparecida de Oliveira, Tacilda S. Nalon, e José Sérgio R. Palma por repartirem comigo durante estes anos, o conhecimento e a experiência.

Aos colegas do Núcleo de Cirurgia e Medicina Experimental da Unicamp pela colaboração muitas vezes prestada.

À Rita Maria da Silva pesquisadora do Instituto Adolfo Lutz, pelo incentivo, amizade e apoio técnico-científico dispensado na padronização das técnicas.

À diretoria do Gastrocentro e do Departamento de Anatomia Patológica pelo auxílio na execução das técnicas.

À Maria Cristina Conceição Melo, técnica do Laboratório de Imunopatologia da Esquistossomose (LIM 06) do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, pela colaboração na manutenção do ciclo de *S. mansoni*.

Ao Ricardo Mario de Carvalho Ciaravolo, diretor da SUCEN na Regional de São Vicente e sua equipe-de-campo sediada em Pedro de Toledo, por seu apoio e pela coleta das amostras biológicas.

A coordenadoria da Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e a todos os seus funcionários pelo apoio técnico-administrativo.

Aos professores do curso de pós-graduação, pelo conhecimento transmitido e a todos os profissionais que contribuíram direta ou indiretamente neste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro parcial, viabilizando o projeto (Proc. 97/13904-0).

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À minha família, em especial ao Lineu, pelo carinho, incentivo e paciência.

A todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

	<i>PÁG.</i>
RESUMO.....	<i>xii</i>
ABSTRACT.....	<i>xv</i>
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	27
3. ARTIGO.....	29
Summary.....	30
Introduction.....	31
Material and Methods.....	33
Results.....	35
Discussion.....	37
References.....	44
Figures.....	47
4. DISCUSSÃO.....	52
5. CONCLUSÕES.....	67
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
7. ANEXOS.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS

OPG	Ovos por grama de fezes
EPG	Eggs per gram
RIF	Reação de Imunofluorescência Indireta
RIF-IgG	Reação de Imunofluorescência Indireta para detecção de anticorpos IgG
RIF-IgM	Reação de Imunofluorescência Indireta para detecção de anticorpos IgM
PECE	Programa Especial de Controle da Esquistossomose
CACESQ	Campanha de Combate à Esquistossomose
SUCEN	Superintendência de Controle de Endemias
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USP	Universidade de São Paulo
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay

LISTA DE TABELAS

	PÁG.
Tabela 1: Análise comparativa dos resultados obtidos pela RIF-IgG, em relação ao Kato-Katz e RIF-IgM em habitantes de Pedro de Toledo, 1998.....	85
Tabela 2: Intensidade de infecção por <i>Schistosoma mansoni</i> , <i>Ascaris lumbricoides</i> e <i>Trichuris trichiura</i> , pelo método de Kato-Katz, com média geométrica do número de ovos por grama de fezes (opg), em habitantes de Pedro de Toledo, 1998.....	86
Tabela 3: Coeficientes de prevalência para esquistossomose mansoni, pelos métodos de imunofluorescência indireta (RIF-IgG e RIF-IgM), em habitantes de Pedro de Toledo, São Paulo, 1998.....	87

LISTA DE FIGURAS

	<i>PÁG.</i>
Figura 1: Coeficientes de prevalência para esquistossomose mansoni pelos métodos de imunofluorescência indireta (RIF-IgG) e Kato-Katz e intensidade de infecção (opg – média geométrica de ovos por grama de fezes) em 1980 e 1998, em Pedro de Toledo, São Paulo.....	80
Figura 2: Coeficientes de prevalência para esquistossomose mansoni pelos métodos de Kato-Katz e imunofluorescência indireta (RIF-IgG), em 1980 e 1998, de acordo com a faixa etária, no município de Pedro de Toledo, São Paulo.....	81
Figura 3: Coeficientes de prevalência para a esquistossomose mansoni pelos métodos de Kato-Katz e imunofluorescência indireta (RIF-IgG), de acordo com a zona de residência e sexo, em 1980 e 1998, no município de Pedro de Toledo, São Paulo.....	82
Figura 4: Coeficientes de prevalência para esquistossomose mansoni pela imunofluorescência indireta (RIF-IgG, RIF-IgM), em 1998, de acordo com a faixa etária, em 581 habitantes do município de Pedro de Toledo, São Paulo.....	83
Figura 5: Coeficientes de prevalência para esquistossomose mansoni pelos métodos de Kato-Katz e imunofluorescência indireta (RIF-IgG, RIF-IgM), em 1998, de acordo com o sexo, zona de residência e naturalidade, no município de Pedro de Toledo, São Paulo.....	84



RESUMO

O controle da esquistossomose mansoni, iniciado em 1980 no município de Pedro de Toledo, área de baixa endemicidade no Estado de São Paulo, foi avaliado em 1998 por meio deste estudo. Têm-se demonstrado que nesta área, com pequenos índices de infecção, a sensibilidade dos métodos parasitológicos é falha devido ao reduzido número de ovos nas fezes, subestimando a prevalência. Os métodos sorológicos de alta sensibilidade e especificidade permitem obter coeficientes de prevalência mais próximos do real. Por amostragem aleatória, 12% (894) dos moradores do município forneceram amostras clínicas, sendo 749 amostras de fezes e 591 de sangue da polpa digital, em papel de filtro. As técnicas utilizadas para diagnóstico de infecção pelo *Schistosoma mansoni* foram o método parasitológico de Kato-Katz para exame de fezes e o método sorológico de imunofluorescência indireta para detecção de anticorpos IgG (RIF-IgG) e IgM (RIF-IgM). O coeficiente de prevalência do método parasitológico foi de 1,6%, com intensidade de infecção média de 40,9 ovos por grama de fezes (opg). As reações sorológicas apresentaram entre si um coeficiente de concordância considerado bom (Kappa = 0,84), com prevalências de 33,2% para a RIF-IgG e de 33,5% para a RIF-IgM. A RIF-IgM se mostrou um teste sorológico seguro e prático, constituindo importante instrumento na avaliação do perfil epidemiológico de populações em área de baixa endemicidade. Existiu uma acentuada discrepância entre a prevalência pelo método parasitológico em relação aos imunológicos, sendo a prevalência sorológica cerca de 20 vezes maior. Estes resultados sugerem a importância da inclusão dos métodos sorológicos em inquéritos epidemiológicos, na complementação dos achados parasitológicos, no diagnóstico e tratamento da parasitose. Com estas medidas, os indivíduos falso-negativos para o exame de fezes poderiam ser diagnosticados e tratados, diminuindo fontes de infecção em potencial. Comparando-se os dados de 1980 com os obtidos no presente estudo (1998) verifica-se um deslocamento na curva de distribuição das prevalências quanto à faixa etária, de maior prevalência no grupo de 10 a 19 anos em 1980 para 25 a 29 anos em 1998. Os coeficientes obtidos em 1980 de 22,8% (58,5 opg de fezes) e 55,5%, respectivamente pelo método de Kato-Katz e RIF-IgG, em relação aos resultados deste estudo, demonstram queda significativa nos coeficientes de prevalência, indicando efetividade das medidas de controle. Todavia, existe um residual de transmissão, demonstrando a necessidade de um

esforço conjunto na ampliação das medidas de controle e vigilância da esquistossomose
mansoni



ABSTRACT

In 1980, schistosomiasis mansoni control measures were introduced in the municipality of Pedro de Toledo, a low endemic region in the State of Sao Paulo and this study was conducted, in 1998, to evaluate the program. Flaws were detected in the sensitivity of the parasitological methods used in this area of low infection indices due to the reduced number of eggs in the feces, which resulted in underestimated prevalence indices. Highly sensitive-specific serological methods provide prevalence indices that are closer to reality. A random sample of 12% of the residents in the municipality provided clinical samples that consisted of 749 stool samples and 591 blood samples from the finger on filter paper. The Kato-Katz parasitological technique for stool examinations and the serological techniques of indirect immunofluorescence for the detection of IgG (RIF-IgG) and IgM (RIF-IgM) antibodies were used in the diagnostics of mansoni schistosomiasis. The prevalence index obtained by the parasitological method was 1.6% with an infection intensity of 40.9 eggs per gram of feces (epg). Good concordance was shown by the serological reactions ($Kappa = 0.84$) with a prevalence of 33.2% for the RIF-IgG and 33.5% for RIF-IgM. The serological test RIF-IgM proved to be safe, practical and an important tool for assessing the epidemiological profile of a population in a low endemic area. A clear discrepancy was observed between the prevalence indices obtained by the parasitological and immunological methods, as the serological prevalence was 20 times greater than the parasitological prevalence. These results demonstrated the importance of incorporating serological techniques in epidemiological surveillance, for complementing parasitological findings and in the diagnosis and treatment of parasitoses. These techniques help in diagnosis and treatment of individuals who are false negative for stool examinations, which in turn reduces potential infection foci. When the prevalence distribution curve according to age group for 1980 was compared with that of this study (1998), a transference was observed of the highest prevalence, which was in the 10 -19 year old age group (190) to the 25 - 29 year old age group (1998). In 1980, the indices obtained by the Kato- Katz and RIF-IgM methods were 22.8% (58.5 epg of feces) and 55.5%, respectively. When compared with the results obtained by this study, a significant fall was observed in prevalence indices that indicated the effectiveness of the control measures. Nevertheless, the occurrence of residue transmission demonstrates the need for a joint effort in extending control and surveillance measures related to schistosomiasis mansoni.



INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença de veiculação hídrica, cujos agentes etiológicos são representados por trematódeos do gênero *Schistosoma*. Ocupa o segundo lugar entre as doenças tropicais, depois da malária, em importância e repercussão sócio-econômica (World Health Organization – WHO - Geneve, 1997). Constituindo grande problema de saúde pública, essa endemia está associada à pobreza e ao baixo desenvolvimento econômico, que gera a necessidade de utilização de águas naturais contaminadas para o exercício da agricultura, trabalho doméstico e/ou lazer (KATZ e PEIXOTO, 2000).

As espécies de interesse médico são: *Schistosoma mansoni*, única espécie que ocorre no Brasil, causadora da esquistossomose mansoni; *Schistosoma haematobium*, causador da esquistossomose vesical e *Schistosoma japonicum*, responsável pela esquistossomose japonesa (KATZ e DIAS, 1999). Cerca de 200 milhões de pessoas no mundo estão infectadas por uma destas três espécies e 600 milhões expostas ao risco de infecção (WHO, 1997).

A importância da esquistossomose mansoni, no quadro das endemias parasitárias, deve-se a sua vasta distribuição, sendo encontrada em 74 países na África, Oriente Médio, América do Sul, Caribe, Filipinas e sudeste da Ásia (WHO, 1997). No Brasil, acredita-se existir no mínimo 2,5 milhões de portadores da esquistossomose mansoni e cerca de 25 milhões de indivíduos expostos ao risco de contraí-la (PASSOS e AMARAL, 1998). Embora não existam dados precisos, as estimativas mostram a extensão da parasitose, justificando a necessidade de esforços cada vez maiores, visando o controle desta importante endemia parasitária (KATZ e PEIXOTO, 2000).

A introdução da doença no Brasil ocorreu provavelmente pelos escravos que vieram em número superior a três milhões, a partir do século XVII, de diferentes regiões da África. Seguramente, os escravos africanos estavam infectados tanto por *S. mansoni* como por *S. haematobium*, mas apenas *S. mansoni* se implantou no país, pelo encontro de hospedeiros intermediários adequados (moluscos do gênero *Biomphalaria*) e condições ambientais semelhantes às da região de origem (KATZ e DIAS, 1999).

A grande extensão da área endêmica, aliada ao caráter francamente expansivo da doença no território brasileiro, confere à esquistossomose mansoni uma grande relevância no panorama atual da saúde pública brasileira (PASSOS e AMARAL, 1998). Devido à mobilidade das populações das zonas endêmicas, a presença de portadores da parasitose é verificada em todos os estados brasileiros, independentemente da existência de focos de transmissão (REY, 1991). A esquistossomose mansoni é endêmica em 19 estados e no Distrito Federal (AMARAL e PORTO, 1994; GRAEFF-TEIXEIRA *et al.*, 1999).

Inicialmente considerada uma doença com característica de distribuição tipicamente rural, hoje se observa sua expansão para áreas antes indenes e sua urbanização vem se intensificando nos últimos anos (SILVA, 1992). Nas grandes cidades ou capitais, as áreas de transmissão são raras ou inexistentes no centro e nos bairros onde habita a população com maior poder econômico. Todavia, as periferias destas cidades, onde reside a população de baixa renda, reproduzem as más condições de saneamento que permitem a instalação de novos focos de esquistossomose, como ocorre nas regiões rurais ou nas pequenas comunidades (KATZ e PEIXOTO, 2000). A expansão da esquistossomose mansoni a áreas urbanas alcançou grandes proporções durante as últimas cinco décadas. Recentemente, novos focos da doença foram descritos em áreas antes consideradas indenes, como no Rio Grande do Sul (GRAEFF-TEIXEIRA *et al.*, 1999).

A iniciativa de maior impacto no controle da endemia a nível nacional foi à implantação, em 1976, do Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PECE). Após sua instalação em áreas de média e alta endemicidades do nordeste, constatou-se que o impacto mais notável foi sobre os casos de forma grave da doença, tendo-se reduzido essa forma a níveis muito pequenos. O coeficiente de mortalidade sofreu redução, assim como o risco de infecção (SILVEIRA *et al.*, 1990). No entanto, segundo dados do Ministério da Saúde, a partir de 1988, em alguns estados do Nordeste, os coeficientes de prevalência da esquistossomose voltaram a se elevar, aproximando-se dos níveis existentes antes do PECE (DIAS *et al.*, 1992b).

Tem-se atribuído aos movimentos migratórios de indivíduos provenientes de áreas endêmicas do leste e nordeste do país, a responsabilidade pela introdução da esquistossomose no Estado de São Paulo. Em 1918, foi registrado o primeiro caso

importado, procedente da Bahia, e em 1923, em Santos, foram relatados os primeiros casos autóctones (SILVA, 1983). A partir da década de 50 detectaram-se as principais áreas de transmissão da doença no Estado: Baixada Santista; Vale do Rio Ribeira de Iguape (municípios de Itariri e Pedro de Toledo); Vale do Rio Paraíba do Sul; Vale do Rio Paranapanema e Grande São Paulo; alguns anos depois foram detectados focos na região de Campinas e Bebedouro (SILVA, 1985).

O controle da parasitose no Estado de São Paulo teve efetivamente seu início em 1968, após a detecção das áreas de transmissão. Criou-se a CACESQ (Campanha de Combate à Esquistossomose), tendo como linhas mestras a quimioterapia dos infectados e o uso de moluscocidas em criadouros do vetor (Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN, 1982). No Estado há um predomínio quase que absoluto da *Biomphalaria tenagophila* como transmissora natural de *S. mansoni* (DIAS *et al.*, 1992b). A partir da década de 70 a SUCEN, órgão da Secretaria de Estado da Saúde, incorporou-se à CACESQ e passou a executar, além das medidas já realizadas, a educação sanitária nas áreas importantes de transmissão: Vale do Paraíba, Vale do Ribeira, Baixada Santista, Litoral Sul, Bacia do Paranapanema e áreas metropolitanas de São Paulo e Campinas (SUCEN, 1984; AMARAL e PORTO, 1994).

Em estudo no Estado de São Paulo, GLASSER (1995) aponta tendência de redução no número de portadores e de autoctonia da doença com um grande predomínio de casos procedentes de outros estados brasileiros endêmicos, principalmente Minas Gerais, Bahia e Pernambuco. No período de 1981 a 1992 apenas 11% dos casos notificados contraíram a esquistossomose no Estado e desses casos autóctones 86% se concentraram no Litoral e Vale do Paraíba (GLASSER, 1995).

A intensa urbanização do Estado, onde cerca de 93% da população vive em área urbana, bom abastecimento de água potável e aumento do sistema de coleta de esgoto são alguns fatores que contribuem para a melhoria gradativa da situação epidemiológica. Contribuem, também, a maior disponibilidade de assistência médica e a diminuição do crescimento populacional verificada na última década, em função inclusive de redução da migração. A retomada na busca ativa de casos proporciona também conhecimento mais

profundo sobre a epidemiologia das áreas de transmissão e conseqüentemente um controle mais efetivo da endemia (GLASSER, 1995).

As características da transmissão e da epidemiologia no Estado de São Paulo permitem enquadrá-lo no perfil de área de baixa endemicidade, onde o coeficiente de prevalência é inferior a 15% e a intensidade de infecção é pequena, ou seja, os indivíduos infectados eliminam menos de 100 ovos por grama de fezes (opg) (DIAS *et al.*, 1992b).

Na região do Vale do Ribeira, a esquistossomose humana foi descrita pela primeira vez em 1953, em Itariri, município vizinho a Pedro de Toledo, onde este estudo foi realizado. O primeiro relato de caso autóctone de esquistossomose no município de Pedro de Toledo foi descrito por PIAZ e RAMOS (1960), na década de 50. O programa de controle da esquistossomose nestes municípios, entre 1968-69 foi realizado pela CACESQ. A partir de 1975, o programa foi prosseguido pela SUCEN.

Apesar dos esforços, o coeficiente de prevalência de 4,0% observada em Pedro de Toledo em 1970, subiu para 12,0% em 1978, com 85,0% de portadores autóctones. Este aumento de prevalência motivou a intensificação do controle que, a partir de 1980, passou a ser executado pela SUCEN em colaboração com a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e Universidade de São Paulo (USP) (DIAS *et al.*, 1992b). As medidas adotadas para o controle envolviam: educação sanitária, saneamento básico, aplicação de moluscocida e tratamento dos portadores diagnosticados por exame anual de fezes, utilizando-se o método parasitológico de Kato-Katz. Esta região, que até hoje é uma das principais áreas de transmissão da esquistossomose em São Paulo, tem sido objeto de estudo de pesquisadores destas instituições de pesquisa e ensino do Estado. Preocupados em conhecer melhor as características epidemiológicas da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade, estes profissionais, têm proposto modelos de programas para controle e vigilância da doença (DIAS *et al.*, 1989; DIAS *et al.*, 1992a; DIAS *et al.*, 1992b; KANAMURA *et al.*, 1994).

No censo de 1980, foram examinadas pelo método de Kato-Katz, cerca de 4.500 amostras de fezes de toda a população do município de Pedro de Toledo, constatando-se um coeficiente de prevalência de 22,8%, com intensidade de infecção de

58,5 opg (DIAS *et al.*, 1989). Com o objetivo de buscar técnicas diagnósticas alternativas, paralelamente utilizou-se nesta mesma população, métodos imunodiagnósticos de imunofluorescência indireta (em cortes congelados, para detecção de anticorpos IgG), e intradermoreação. Os coeficientes de prevalência observados foram respectivamente, 55,5% e 51,8%. Por meio de modelos probabilísticos, considerando como válidos os índices de sensibilidade e especificidade dos métodos imunodiagnósticos já conhecidos de publicações anteriores, estimou-se como sendo de 44,3% a prevalência verdadeira da esquistossomose no município em questão (DIAS *et al.*, 1992a).

A maioria dos indivíduos infectados em Pedro de Toledo, como freqüentemente observado em áreas de baixa endemicidade, não apresenta sintomatologia clínica compatível com a doença, caracterizada como de pouca gravidade (DIAS *et al.*, 1992b). Alguns fatores contribuem para isto: a existência apenas de *B. tenagophila* como hospedeiro intermediário, pouco susceptível à infecção natural, com índices de infecção por *S. mansoni* ao redor de 1,0% (DIAS *et al.*, 1989); transmissão focal e distribuição agregada dos casos autóctones (DIAS *et al.*, 1994); recreação como fator de maior risco de infecção humana e pequena carga parasitária (MARÇAL JUNIOR *et al.*, 1993). Sendo assintomáticos, os indivíduos infectados não se preocupam com a ocorrência da parasitose, com suas possíveis conseqüências a médio e longo prazo, e não procuram serviço médico. Esta situação impõe limitações no que diz respeito aos diagnósticos clínico e parasitológico da doença e dificulta seu controle.

Os quadros clínicos podem sugerir o diagnóstico de esquistossomose mansoni, principalmente se o paciente vive ou procede de zona endêmica, ou se relata ter estado em contato com águas de um foco de transmissão também conhecido (REY, 1992). No entanto, apenas provas laboratoriais podem fornecer elementos seguros para justificar o diagnóstico.

O exame parasitológico de fezes, baseado na alta densidade dos ovos de *S. mansoni*, por simplicidade e objetividade, é o principal método de diagnóstico e praticamente o único hoje em uso, nos exames de rotina. Entre os métodos parasitológicos mais utilizados estão o método de Lutz (LUTZ, 1919), também conhecido como método de Hoffman (HOFFMAN *et al.*, 1934) e o método de Kato-Katz (KATZ *et al.*, 1972). O

método de Ritchie (RITCHIE, 1948), método de Coprotest® (CERQUEIRA, 1988) e o teste de eclosão de miracídio, também são úteis no diagnóstico da parasitose. Em condições especiais, utiliza-se a punção-biópsia do fígado, biópsia retal ou raspagem da mucosa retal.

Segundo recomendação da Organização Mundial da Saúde, devem ser usados métodos quantitativos para estudos de natureza epidemiológica, e nesse caso, indica-se o método de Kato-Katz, não somente por apresentar resultados superiores aos demais métodos quantitativos, mas também por sua simplicidade, objetividade e por fornecer preparações quase que permanentes (WHO, 1993). O método de Kato-Katz além de indiretamente indicar a morbidade, permite detectar outras verminoses, classificar a carga parasitária dos infectados, avaliar a dinâmica da transmissão e do controle e comparar dados entre as zonas endêmicas.

Entretanto, qualquer que seja a técnica de exame de fezes usada, na interpretação correta de seus resultados, merecem ser considerados os seguintes aspectos: a) irregularidade na eliminação de ovos nas fezes: observada em casos crônicos de esquistossomose e nas infecções leves; b) ausência de ovos: pode ocorrer nas infecções unissexuais e na fase pré-patente da parasitose com duração de 4 a 5 semanas; c) carga parasitária: os métodos parasitológicos são usados com resultados satisfatórios quando existe uma carga parasitária média (100 a 400 opg) ou alta (acima de 400 opg) (REY, 1992; BERGQUIST, 1992). Nas áreas de baixa endemicidade, onde há reduzida prevalência e cargas parasitárias muito pequenas, a sensibilidade dos exames parasitológicos de fezes é limitada. Quando há carga parasitária baixa, torna-se necessário repetir os exames de fezes (REY, 1992). Em condições de campo, o limite de sensibilidade do método de Kato-Katz está entre 50 e 100 opg (TEESDALE *et al.*, 1985; SLEIGH *et al.*, 1982).

Além da identificação dos ovos do parasito nas fezes ou nos tecidos do paciente, outra estratégia diagnóstica é a utilização de métodos indiretos, por meio da detecção de marcadores imunológicos, como antígenos e anticorpos, ou na determinação de indicadores bioquímicos e patológicos que estão associados à infecção pelo *S. mansoni* (HAMILTON *et al.*, 1998). Os métodos imunológicos, embora ainda pouco usados na rotina do diagnóstico laboratorial da esquistossomose mansoni (VIANA *et al.*, 1995;

KANAMURA, 1994), vêm se tornando cada vez mais úteis como importantes instrumentos, quando utilizados em estudos populacionais, principalmente em áreas de baixa endemicidade. Permitem o conhecimento dos diferentes aspectos epidemiológicos da doença e avaliação de prevalência mais próxima da verdadeira do que a observada pelos métodos parasitológicos. São conhecidos vários trabalhos que avaliam a potencialidade dos diferentes métodos imunodiagnósticos em estudos populacionais (BUCK e ANDERSON, 1972; WARREN *et al.*, 1973; ENDERS *et al.*, 1974; BARAKAT *et al.*, 1983; KANAMURA *et al.*, 1994; NOYA *et al.*, 1999; VIANA *et al.*, 1995).

Enquanto as técnicas para detecção de antígenos parasitários circulantes ainda não apresentam sensibilidade suficiente para diagnóstico de indivíduos com baixos níveis de infecção (NOYA *et al.*, 1992a; EL MORSHEDY *et al.*, 1996; HANGARD *et al.*, 1996), metodologias de detecção de anticorpos específicos chegam a apresentar níveis de sensibilidade diagnóstica próximos a 100% (LIMA *et al.*, 1996). Assim, são fundamentais em estudos populacionais e na avaliação dos programas de controle da esquistossomose, em áreas de baixa endemicidade, como as encontradas no Estado de São Paulo. Embora apresente inúmeras vantagens, o diagnóstico sorológico ainda não é realizado na maioria dos inquéritos epidemiológicos e nem faz parte da rotina diagnóstica dos laboratórios de referência em saúde pública em nosso país.

Vários testes imunológicos vêm sendo empregados para detecção de anticorpos, como: reação intradérmica (PELLEGRINO, 1959; WARREN *et al.*, 1973), reação de fixação de complemento e a floculação (BUCK e ANDERSON, 1972; MACCARTEN *et al.*, 1975), reação periovular (YOGORE *et al.*, 1978), hemaglutinação (DIAS *et al.*, 1971), radioimunoensaio (HILLYER *et al.*, 1979), reação de imunofluorescência indireta (NASH, 1978) e ELISA (ENGVAL e PERLMANN, 1971). Atualmente, a reação de imunofluorescência indireta (RIF) tem sido realizada com sucesso em estudos epidemiológicos no Estado de São Paulo. O método de ELISA também tem sido utilizado, em estudos populacionais de larga escala, tendo em vista a possibilidade de automação (NOYA *et al.*, 1999; OLIVEIRA, 2001).

Diferentes antígenos têm sido utilizados na reação de imunofluorescência (RIF): antígeno particulado de verme adulto (DIAS *et al.*, 1971), cortes congelados de

verme adulto (DIAS *et al.*, 1992a) e cortes parafinados de verme adulto (SILVA *et al.*, 1992).

A reação de imunofluorescência indireta, em cortes congelados de vermes adultos, para pesquisa de anticorpos IgG (RIF-IgG), se mostrou bastante sensível e específica na identificação de infecção aguda e crônica. Anticorpos IgG são dirigidos principalmente contra estruturas antigênicas do verme, de natureza protéica, que se preservam na técnica de congelamento. No entanto, a RIF- IgG apresenta limitações na rotina diagnóstica, tendo em vista a dificuldade de obtenção dos cortes, que exigem emprego de criostato, equipamento complexo e de alto custo. Além disso, o transporte e armazenamento dos cortes de vermes exigem condições de congelamento para que haja manutenção de sua atividade antigênica (DIAS *et al.*, 1992a). Na maioria dos trabalhos, a sensibilidade e especificidade da RIF-IgG são superiores a 90% (DIAS *et al.*, 1992a; HOSHINO-SHIMIZU *et al.*, 1996).

Para detecção de anticorpos IgM, cortes de vermes fixados em solução de Rossman e incluídos em parafina podem ser empregados na reação de imunofluorescência indireta (RIF-IgM) em cortes de vermes parafinados, contra antígenos de secreção e excreção de natureza polissacarídica associados ao tubo digestivo do parasita (NASH, 1978). O fixador de Rossman preserva a antigenicidade da porção polissacarídica das estruturas relacionadas ao tubo digestivo e reduz ou elimina a antigenicidade de outras partes do verme, facilitando a observação da fluorescência a nível do tubo digestivo nas reações positivas (SILVA *et al.*, 1992). A RIF-IgM em cortes parafinados é uma reação mais prática que a RIF-IgG com cortes congelados. As lâminas parafinadas podem ser facilmente armazenadas, têm alta estabilidade à temperatura ambiente e podem ser mantidas por vários meses sem perda da antigenicidade (KANAMURA *et al.*, 1998a). Sendo assim, viabiliza-se a utilização desta metodologia por outros centros de pesquisa ou laboratórios de rotina que não mantêm o ciclo de *S. mansoni*.

A RIF-IgM se positiva precocemente após contato inicial com as cercárias de *S. mansoni* e os anticorpos IgM contra antígenos polissacarídicos de tubo digestivo do verme podem ser detectados antes mesmo de ser possível o encontro de ovos nas fezes. Sendo

assim, esta reação pode ser usada com sucesso no estudo da dinâmica da transmissão da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade (KANAMURA *et al.*, 1998b).

Os anticorpos IgM reagem principalmente com estruturas antigênicas relacionadas ao tubo digestivo, tanto na fase aguda como na crônica, mas estão presentes em níveis mais elevados na primeira fase (KANAMURA *et al.*, 1979; KANAMURA *et al.*, 1983). A possibilidade de se observar o tipo e a localização específica da fluorescência, a nível de tubo digestivo, permite excluir algumas reações não específicas, aumentando o grau de especificidade da RIF- IgM (SILLVA *et al.*, 1992). A RIF-IgM tem se mostrado sensível no diagnóstico de indivíduos com baixa carga parasitária (KANAMURA *et al.*, 1998a) e específica em amostras de soros normais em áreas não endêmicas para a esquistossomose mansoni (LIMA *et al.*, 1998). Na maioria dos trabalhos a sensibilidade e a especificidade da RIF-IgM está ao redor de 97% (HOSHINO-SHIMIZU *et al.*, 1996). É importante ressaltar que as amostras de sangue para a RIF-IgG e RIF-IgM podem ser coletadas em papel de filtro, e portanto bastante úteis em condições de campo (KANAMURA *et al.*, 1997).

A profilaxia da esquistossomose no município de Pedro de Toledo vem sendo desenvolvida pela SUCEN desde 1975. O histórico das prevalências dos anos de 1992 e 1998 em de Pedro de Toledo, determinado pelo método parasitológico de Kato-Katz, revela índices de infecção ao redor de 2%, demonstrando a efetividade do programa de controle na transmissão da endemia (MARÇAL JUNIOR *et al.*, 1999). Entretanto, um número desconhecido de indivíduos com baixa carga parasitária, não detectados pelo exame parasitológico, podem ter sido os responsáveis pela manutenção da transmissão, refletindo a dificuldade no controle ou erradicação da endemia.



OBJETIVOS

GERAL:

Avaliar a eficácia do Programa de Controle em Pedro de Toledo, área de baixa endemicidade para esquistossomose mansoni, após 18 anos de sua implementação.

ESPECÍFICOS:

- Avaliar o perfil epidemiológico da população por meio da comparação dos resultados deste estudo com os obtidos no município em questão no censo de 1980.⁴
- Determinar a prevalência parasitológica atual através do método de Kato-Katz e a prevalência sorológica pela RIF-IgG e comparar com os coeficientes de 1980.
- Realizar a RIF-IgM para contribuir na avaliação do perfil epidemiológico da população em estudo.
- Mostrar como a sorologia pode contribuir em estudos epidemiológicos, principalmente em áreas de baixa endemicidade.
- Avaliar o Programa de Controle e suas ações.



ARTIGO

IgM-IFT for epidemiology of schistosomiasis • Lanny Cristina Burlandy Soares
et al. **Schistosomiasis mansoni in a low endemic area: seroepidemiology and control**

**Lanny Cristina Burlandy-Soares^{*/+}, Luiz Cândido de Souza Dias*,
Herminia Yohko Kanamura**, Edward José de Oliveira ***, Ricardo M. C.
Ciaravolo ******

*Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Patologia Clínica,
Universidade Estadual de Campinas, P.O. Box 6111, 13083-970, Campinas, SP, Brasil **
Departamento de Biologia, Universidade de Taubaté, Taubaté, SP, Brasil *** Faculdade de
Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil ****
Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), São Paulo, SP, Brasil

In 1998, the parasitological Kato-Katz method and the immunological immunofluorescence test for detection of IgG and IgM antibodies (IgG-IFT and IgM-IFT) were used to assess the schistosomiasis control program in the municipality of Pedro de Toledo, a low endemic area in the State of São Paulo. It was selected a randomized sample (894 individuals) corresponding to about 12% of the inhabitants of Pedro de Toledo exposed to the risk of infection. An accentuated discrepancy was observed between the prevalence indices obtained by parasitological and immunological methods, the last ones being 20 times greater. According to the Kato-Katz method, the prevalence rate was 1.6%, with an infection intensity of 40.9 eggs per gram of stool (epg). By IgG-IFT and IgM-IFT, respectively, prevalence indices of 33.2% and 33.5% were obtained, with an indication of good agreement between them (Kappa index=0.84). When these prevalence indices were compared to the ones obtained in 1980, respectively, 22.8% and 55.5% by Kato-Katz and IgG-IFT, a significant fall was observed, indicating that the control measures were effective. Nonetheless, residual transmission was observed, demonstrating the need for a joint effort to include new approaches for better understanding the real situation and improving the control of the disease in low endemic areas.

Key words: *Schistosoma mansoni* - control - low endemic area - seroepidemiology

Financial support from CNPq and Fapesp (Proc 97/13904-0)

⁺Corresponding author. Phone: +55-19-3788-9451, e-mail: lannysoares@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

Schistosomiasis is an important global problem. It comes second to malaria as an important tropical disease with socioeconomic repercussion. It is endemic in 74 countries, occurring in Africa, the Middle East, South America, the Caribbean, Philippines and Southeast Asia. Approximately 200 million individuals in the world are infected with schistosomiasis and 600 million are exposed to the risk of infection (WHO 1993). In Brazil, the extensive endemic area along with its overtly expansive character makes schistosomiasis a very relevant disease in the present public health panorama. It is believed that there are at least 2.5 million schistosomiasis carriers and about 25 million individuals exposed to the risk of contracting the infection (Passos & Amaral 1998).

The control of this parasitosis in the State of Sao Paulo began in 1968 with the creation of CACESQ (Campaign for Combating Schistosomiasis). Since the seventies, SUCEN (Superintendence for Control of Endemic Diseases of the Health Department of Sao Paulo State Government) has been conducting a control program in all regions considered as important transmission areas in Sao Paulo: Valley of Paraíba do Sul River, Valley of Ribeira do Iguape River, Santos and south coastal region, Basin of Paranapanema River and the metropolitan areas of municipalities of Sao Paulo and Campinas (Dias *et al.* 1992b).

Due to its epidemiological characteristics, the endemic areas in the State of Sao Paulo are designated as areas of low transmission, with prevalence indices lower than 15% (Dias *et al.* 1992b). In these areas the infected individuals use to show low intensity infection, eliminating less than 100 eggs per gram (epg), without clinical symptoms that are compatible with the disease (Dias *et al.* 1992b).

This situation makes hard the diagnosis of the disease by means of parasitological stool examination, usually applied in population surveys (Dias *et al.* 1989). Various authors have shown that in areas of low endemicity, where individuals use to have reduced egg counts, the sensitivity of the parasitological method is flawed when compared to the immunological methods (Dias *et al.* 1992b; De Vlas & Gryscels 1992; Kanamura *et al.* 1998).

Immunological techniques for detection of circulating antigens have been proposed for diagnosis of schistosomiasis infection, but no sufficient sensitivity have been demonstrated for the cases of low egg counts (El-Morshedy *et al.* 1996). So, antibody detection techniques still are important tools in population studies. They provide information on different epidemiological aspects of the disease and a more reliable assessment of prevalence than parasitological methods. There are various studies that assess the potential of different immunodiagnostic methods in populations (Deelder & Kornelis 1981; Dias *et al.* 1992b; Noya *et al.* 1999). The immunofluorescence test (IFT) is a serological technique successfully applied as diagnostic tool in epidemiological studies of schistosomiasis mansoni, in the State of Sao Paulo (Kanamura *et al.* 1998).

Schistosomiasis in Sao Paulo was first described, in 1953, in the region of Valley of Ribeira do Iguape River, in Itariri, a neighboring municipality of Pedro de Toledo, where this study was conducted. Despite control measures, the prevalence rate in Pedro de Toledo rose from 4% in 1970 to 12% in 1978 and this situation motivated the intensification of control measures. These control activities started by SUCEN in 1980, with the collaboration of researchers from the State University of Campinas (UNICAMP) and the University of Sao Paulo (USP) (Dias *et al.* 1992a; b). The adopted control measures included: sanitary education; improvement on basic sanitation; application of molluscicides; annual stool examination by Kato-Katz method to assess the infection intensity and treatment of carriers identified as infected.

The 1980 survey involved stool examinations of approximately 4,500 individuals and a prevalence index of 22.8%, with an infection intensity of 55.5 epg, was demonstrated by Kato-Katz method (Dias *et al.* 1989). At the same time, prevalence indices of 55.5% and 51.8% were detected, respectively by immunofluorescence test for IgG antibodies (IgG-IFT) and intradermoreaction. The true prevalence of schistosomiasis in the municipality was estimated as 44.3%, according to a probabilistic model for correction of prevalence data through the application of sensitivity and specificity indices obtained from previously published paper (Dias *et al.* 1992a).

Since 1980, the prevalence indices in Pedro de Toledo fell sharply as a result of the established control program. In 1987, the parasitological prevalence index was 4.8%

(Dias *et al.* 1992b), in 1992 and 1998 prevalence data determined by the Kato-Katz parasitological method revealed indices around 2% (Marçal Jr *et al.* 1999), demonstrating the effectiveness of the control program, in Pedro de Toledo. Nonetheless, an unknown number of individuals with a low parasitic load have probably been responsible for the maintaining of transmission, demonstrating the difficulty in controlling or eradicating endemicity when a significant percentage of infected individuals goes undetected by the stool examinations. This underscores the importance of serological methods for obtaining prevalence rates that are closer to the possible real situation, in population studies.

The purpose of this study is to assess the effectiveness of the control program implemented in Pedro de Toledo, comparing the results of the parasitological and serological methods obtained in 1980, with the ones observed in 1998, eighteen years after the first seroepidemiological study in Pedro de Toledo. A random population sample, exposed to the risk of infection, was selected and submitted to the Kato-Katz parasitological method and to two immunological methods, the immunofluorescence test on frozen sections for detection of IgG antibodies (IgG-IFT), and the immunofluorescence test on paraffin section for detection of IgM antibodies (IgM-IFT). The IgG-IFT was used in both studies, in 1980 and 1998, and the results can be compared each other. The IgM-IFT was used only in the second study, in 1998, and its potential as diagnostic tool for epidemiological studies was analyzed comparatively to the IgG-IFT and parasitological Kato-Katz methods.

MATERIAL AND METHODS

Description of the population and the region - This study was conducted in Pedro de Toledo, municipality localized in the Valley of Ribeira do Iguape River, with an estimated population of 7,668 inhabitants (SEADE 1998), and 5,500 individuals of which living in areas exposed to the risk of schistosomiasis mansoni. This region has been characterized as an area of low endemicity in the State of Sao Paulo (Dias *et al.* 1989; Dias *et al.* 1992b).

Sample - Approximately 15% of the individuals of both sexes, various age groups, residents in rural and urban areas of the municipality, exposed to the risk of infection by *Schistosoma mansoni*, were randomly selected during the second semester of 1998. The study group consisted of clinical samples from 894 individuals, being 749 stool and 591 blood samples. The control group was composed by 50 individuals of both sexes and various ages, some of them carriers of parasitic species other than *S. mansoni*. They were from Sao Lourenço, a locality of Pedro de Toledo considered as non-endemic for schistosomiasis, and they provided 37 stool samples and 50 blood samples obtained from finger pricks.

Clinical Samples - The stools were collected in previously supplied recipients, one sample from each individual. The blood samples obtained from the finger pricks were collected on strips of Whatman® n°3 filter paper (1.0 cm wide and 10.0 cm long), dried at room temperature and stored in plastic bags at -20°C. The dried blood was eluted from the filter paper by immersing an area of approximately 1.0 cm², in 330 µl of 0.01 M, pH 7.2, phosphate-buffered solution (PBS), and incubating for 18 hours at 4°C. The serum dilution after elution and removal of the paper filter was estimated to be 1:20 (Ferreira & Carvalho 1982) and used for the IFT-IgG and IFT-IgM (Silva *et al.* 1998).

Stool Examination - The Kato-Katz method (Katz *et al.* 1972) was used for parasitological examination, preparing three slides for each stool sample. *S. mansoni* egg counts were expressed in eggs per gram (epg), using the arithmetic mean of egg counts obtained from three slides for each sample, multiplied by 24. The intensity of infection was calculated by the geometric mean of the epg found among the infected individuals. A commercial system, Coprotest® (Cerqueira 1988), was used to examine the stool samples of the control group.

Immunofluorescence test for detection of IgG and IgM antibodies (IgG-IFT, IgM-IFT) - The IFT-IgG on frozen sections of worms included in Tissue-Tek® (Dias *et al.* 1992b). The immunofluorescence test for detection of IgM antibodies (IgM-IFT) against gut-associated antigens was performed on paraffin sections of *S. mansoni* worms treated with Rossman's solution, as described (Silva *et al.* 1992). The eluates were examined in duplicate and the anti-human IgG and IgM fluorescent conjugates (Biolab - RJ, Brazil)

were utilized according to their optimum titer determined by block titration against positive and negative control serum. The slides were read at an Olympus BX-FLA fluorescent microscope equipped with a 100W mercury lamp and an excitation filter BP 450 - 480 with a 100 X magnifying power. The sample were defined as positive for IgG-IFT when presented fluorescence in the parenchyma and/or gut of the worms, and for IgM-IFT, when presented fluorescence in the gut of the worms.

ETHICS

This study received the approval of the Committee for Ethics in Research, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas, UNICAMP. Process N° 190/99.

RESULTS

When the parasitological and serological prevalence indices obtained in 1998 were compared with those obtained in 1980 (Figure 1), an accentuated fall was observed in the prevalence indices during the control period. The prevalence index observed in 1980, according to the Kato-Katz method, fell from 22.8% to 1.6% in 1998. The serological prevalence, which according to the IgG-IFT was 55.5% fell to 33.2% in 1998. The prevalence observed in this study according to the IgM-IFT method was 33.5%.

In 1998, the Kato-Katz method was used to examine 749 stool samples and revealed that 284 individuals (37.9%) were infected by other helminthes, with a higher prevalence of *Ascaris lumbricoides* (23.2%), followed by *Trichuris trichiura* (12.9%) and *Schistosomiasis mansoni* (1.6%). Among the 12 individuals infected by *S. mansoni*, 75% presented discreet infection (<100 epg), 16.7% moderate infection (100 - 400 epg) and only one (8.3%) intense infection (>400 epg) (WHO, 1993). The geometric mean of infection intensity for *S. mansoni* was 40.9 epg.

When the prevalence indices, according to the age group, obtained in 1998 were compared to the ones obtained in 1980 (Hoshino-Shimizu *et al.* 1986) it was observed some tendency for dislocation of higher prevalence group from 10 - 14 age group, in 1980, to an older 25 - 29 group, in 1998 (Figure 2). According to the area of residence, the parasitological and serological prevalence indices were higher in rural than urban area in both, 1980 and 1998 (Figure 3). According to the Kato-Katz method in 1998, 83% of the individuals resided in the rural area and the 1980 census showed 56%. According to the IFT-IgG, 70% of the individuals with a positive serology lived in the rural area in 1998 and this percentage was 65% in 1980, with serological prevalence in the rural area of 35.4% and 65.4%, respectively. In relation to the sex, in 1980, parasitological prevalence was higher for the male than female group, and in 1998 was the opposite, higher in the female group (Figure 3). Serological prevalence indices were higher for the male group in both, 1980 and 1998.

In 1998, a total of 591 blood samples were also submitted to IgM-IFT, revealing a prevalence index of 33.5% (29.7 -37.5) 95% confidence interval, for IgM antibodies against *S. mansoni* gut associated antigens, and the 25 – 29 age group as the highest prevalence group (Figure 4). Positive results for both serological tests, IgG-IFT and IgM-IFT were obtained in 29.8% (26.2 - 33.7) 95% confidence interval, of the individuals living in areas at risk of *S. mansoni* infection in Pedro de Toledo, with higher prevalence for the rural zone and male group (Figure 5). In this study, 63.3% of the 894 participants and 69.4% of those positive for the IgM-IFT resided in the rural area, where prevalence index was of 35.1%. The data also showed among the individuals IgM-IFT positives, 75.3% were born in the State of São Paulo, with a large majority (76.5%) being from the region of the Valley of Ribeira do Iguape River, but the serological positivity were higher for the individuals who came from other states (Figure 5).

With relation to control group, 37 individuals examined were negative for *S. mansoni* eggs by the Coprotest® method, but other helminth species were observed in 10 individuals (24.0%) in this group. The IgG-IFT was positive for two individuals, giving a specificity rate of 96,0% and one individual showed to be positive for the IgM-IFT, resulting in a specificity rate of 98,0%. That on individual, who was positive for both immunological methods, showed infected also by *A. lumbricoides*.

DISCUSSION

Diagnostics of schistosomiasis is mainly based on stool examinations and it is reliable in areas of high and medium endemicity, where the intensity of infection is high. The characteristics of the transmission the State of Sao Paulo are different from other endemic areas of Brazil. The schistosomiasis endemic areas in Sao Paulo are of low endemicity with parasitological prevalence indices lower than 15%. In these areas the great majority of the infected individuals do not present clinical symptomatology and excrete less than 100 epg (Dias *et al.* 1992b).

A great majority of the epidemiological studies that provide information for implementing control measures in our country are based on parasitological techniques. The Kato-Katz method is practically the only parasitological method utilized for the diagnosis of parasitose, mainly because of its simplicity and low cost. However, discreet infections may be overlooked due to false-negative results, even though more than one slide is examined (De Vlas & Gryseels 1992). Parasitological methods have poor sensitivity in the cases of individuals with a small number of eggs in the stools. It not only underestimates the prevalence in areas with individuals with low infection intensity but also in populations living in endemic areas where the schistosomiasis control program is being assessed, which impedes a correct analysis of the control strategies (Dias *et al.* 1992a; b; Noya *et al.* 1999).

In order to successfully assess control programs for schistosomiasis mansoni without underestimating prevalence, diagnostic tests that present adequate specificity-sensitivity are of fundamental importance. Under certain conditions, some serological tests are better for estimating the real prevalence of this parasitosis than the classical stool exams (Noya *et al.* 1999). While the techniques for detecting circulating antigens have still not attained an acceptable degree of sensitivity for diagnosing individuals with low parasitic loads (Noya *et al.* 1999), the sensitivity of the methodologies that detect specific antibodies is close to 100% (Lima *et al.* 1996). The indirect immunofluorescence reaction utilizing paraffin wax worm sections as antigens (IgM-IFT) or frozen sections (IgG-IFT) has presented satisfactory results regarding the degree of sensitivity - specificity (Kanamura *et al.* 1979; Deelder & Kornelis 1981). Other methodologies such as the ELISA test may also be used as important diagnostic tools (Noya *et al.* 1999). Although the serological

techniques are very efficient, they are not used in most of the epidemiological studies conducted in the country and are not a part of the diagnostic routine for schistosomiasis mansoni.

Pedro de Toledo where this study was realized is a municipality in the State of Sao Paulo with active schistosomiasis transmission and is one of the areas that has been very carefully studied and controlled in the State (Dias *et al.* 1989; 1992b; Marçal Jr *et al.* 1991). The parasitological prevalence in 1970 was 4% and rose to 12% in 1978. After parasitological, epidemiological and immunological studies were conducted, an endemic control program was intensified in 1980, with an emphasis on specific treatment, sanitary education and improved basic sanitation (water supply and sewage system) (Dias *et al.* 1992b). These measures are still being maintained.

Low endemic schistosomiasis mansoni areas have demonstrated high serological prevalence indices that are 2 to 5 times higher than the parasitological indices (Dias *et al.* 1989; Noya *et al.* 1999). The serological prevalence obtained in the 1980 census in Pedro de Toledo with the IgG-IFT test was 2.6 times higher. The prevalence index with the Kato-Katz method was 22.8%, with an infection intensity of 58.5 epg and with the IgG-IFT it was 55.5% (Figure 1), while all were symptomatic carriers of the disease. True prevalence using the Gart & Buck equation was estimated as 44.3% (Dias *et al.* 1992a).

The serological prevalence index in this study using the IgG-IFT was 33.2%, which was 20 times more than the parasitological index of 1.6% obtained with the Kato-Katz method and with an infection intensity of 40.9 epg (Figure 1). The Kappa coefficient of 0.083 confirmed the poor concordance between these methods and the true prevalence values of 4.9% for the Kato-Katz method and 15.4% for the IgG-IFT method also reflected this discrepancy.

The fact that the parasitological prevalence was underestimated was demonstrated when a great majority of the infected individuals (75%) presented discreet infection with the number of eggs eliminated lower than the sensitivity of the technique (22.6 epg). It is a known fact that a single stool examination does not satisfactorily include individuals with less than 23 epg, which is the lowest limit of sensitivity of the Kato-Katz method (Noya *et al.* 1992).

In 1980, the highest prevalence indexes by the Kato-Katz and IgG-IFT methods, approximately 31% and 61%, respectively (Figure 2), were observed in the 10 - 14 age group and the sanitary education was a priority for school children (7 - 14 years old). The initial impact of the control measures was outstanding, especially in this age group. The parasitological prevalence fell to 8% in 1987 and this resulted in the involvement of the whole population in the sanitary education program, which was mainly conducted through periodic lectures (Marçal Jr *et al.* 1991). In this study, the prevalence index obtained in 116 school children by the IgG-IFT was 24.1%, which was less than the general prevalence of 33.2% by the same technique. Hence, the influence of the control measures on this group was confirmed (Figure 2).

An interesting observation was the high prevalence rate, serological as well as parasitological, that was transferred to an older age group. In 1980, the highest positive index was that of individuals in the age group 15 –19 years (Figure 2) and at present, the age group 25 –29 years old has the highest seroprevalence index (Figure 4). Despite sanitary education has also involved the adults, this group is mostly responsible for the maintenance of schistosomiasis. Adult habits influenced by the socioeconomic level are determinants in the transmission. As there are no options of leisure, the poorer population uses streams and lakes for diversion, raising the risk of schistosomiasis *mansoni* infection. The adult population obviously finds it hard to change their habits and therefore, their involvement in control strategies is very important. The present significant fall in the rate of prevalence in the 15 – 19 year old age group, who were born after the control program was intensified, is without doubt due to the effectiveness of the control measures (Figure 2).

In the endemic regions of Brazil, the number of individuals infected is greater in rural areas. In Pedro de Toledo, males from the rural regions have a greater tendency to trematoda cercariae exposure (Marçal Jr *et al.* 1991). In 1980, 56% of the individuals who were positive by the Kato-Katz method lived in the rural area and 72% were of the male sex. The high infection index, in 1987, in the rural area of Pedro de Toledo was attributed to poor sanitary conditions (Marçal Jr *et al.* 1991). In 1998, 83.3% of the 12 infected individuals by the Kato-Katz resided in the rural area and only 33% were males. Of the 4 autochthonous cases in Pedro de Toledo, three were females and lived in the rural area, while one who was a male lived in the urban area.

No significant difference was observed between serological prevalence in the urban and rural areas, it not remained the same in 1980 (Figure 3). However, the majority of those positive for the serology in this study resided in the rural area (Figure 5). It was originally considered a typically rural disease but nowadays, transmission of schistosomiasis mansoni also occurs in the periphery of large cities where the residents belong to the lower income classes and new foci install due to the poor sanitary conditions.

When the present prevalence was compared with the prevalence present at the time the program was implemented, in 1980, it demonstrated a reduction in endemic transmission, which was probably due to the prophylactic measures adopted. Nevertheless, the persistence of *S. mansoni* transmission and active infection was evident with the detection of 4 autochthonous cases (one child, two adults and one elderly individual) among the 12 individuals with eggs in the feces. With the exception of one individual, the rest were migrants from the northeastern region of Brazil (Figure 5).

The data also showed that although the higher serology prevalence of the individuals from others states, the great majority of those individuals with serology positives are from the Ribeira Valley regions. In Pedro de Toledo, from 1980 to 1991, it was observed that with the reduction in the number of autochthonous cases there was an increase in the number of imported cases (Dias *et al.* 1994). This tendency was observed in the State of Sao Paulo. From 1981 to 1992, only 11% of the 226 thousand notified cases contracted the disease in the State and there was a predominance of cases originally from Minas Gerais, Bahia and Pernambuco (Glasser 1995).

Besides low sensitivity of parasitological, other factors also contribute towards discrepancies in parasitological and serological prevalence. The IgM-IFT test, used in parallel with IgG-IFT in this study, detecting recent infections of low intensity, even before the eggs appear in the feces, makes it a valuable method in the study of the dynamics of schistosomiasis transmission in areas of low endemicity and low parasitic loads (Kanamura *et al.* 1998).

Another factor that produces differences in prevalence is that due to the effective endemic control, since 1980, there are individuals in the area being studied who were exposed to the parasite, induced an immune response but did not develop the disease

or were cured after chemotherapy and still present circulating antibodies. It is a well known fact that immediately after chemotherapy, the levels of specific antibodies rise stimulated by the death of the parasites and fall soon after. They may disappear within 6 to 12 months or after a period 5 years, depending on the technique and antigen used (Noya *et al.* 1992; Kanamura *et al.* 1997). Only 14 individuals out of 198 residents positive for IgM-IFT were identified as having been previously treated with oxamniquine. Only one had received treatment for a year, while the rest had been put on treatment before 1992. None of the individuals presented eggs in the feces. Probably, the 13 individuals treated for more than 5 years no longer had any specific circulating antibodies. Therefore, positive serology detects failure in the treatment or a re-exposure of these individuals to trematoda cercariae but without any infection.

Contacts with free living cercariae or other parasites should not be discarded. The occurrence of cross reactions with antigens of other helminthes does not seem probable (Kanamura *et al.* 1998). The results of serological tests in areas with no schistosoma residents in areas demonstrated that there was no interference between specificity of the serological reactions and the antigens of other parasitic species.

The constant reduction of the prevalence indices demonstrates the effectiveness of the control measures. However, the parasitological method confirmed residual transmission with the presence of eggs in the stools of 1.6% of the individuals examined, limiting the impact of the control measures. If the true prevalence is calculated, the rate rises to 4.9%. This residual becomes even more evident if the prevalence for both serological methods is 29.8%, which demonstrates contact with the cercariae and active transmission of the parasite.

The snail population in Pedro de Toledo continues eliminating cercariae despite the control measures. The *B. tenagophila* infection rates are very low, less than 1,0% (Dias *et al.* 1989). The detection of thirteen individuals previously treated with positive serology indicates re-exposure to *S. mansoni* cercariae and suggest active transmission. These cases cannot be classified as reinfection however without a previous confirmation of cure.

The reinfection is other factor that may also explain the presence of the residue observed. Most of the reinfected individuals presented a reduced number of eggs in the stools, making it hard to be a diagnosis using conventional methods. Hence, carriers who are not diagnosed and consequently go untreated are partially responsible for maintaining transmission.

Residual prevalence is also due to the failure in the treatment. About 15 to 20% of the individuals who are treated continue eliminating eggs as a result of some live worms in the mesenteric veins (Dias *et al.* 1982). In this cases the treatment prevent elevated parasitic loads but does not stop transmission. Chemotherapy is relevant with regard to prevention of morbidity and reduction of prevalence. However the prolonged use of oxamniquine for many years may lead the *S. mansoni* population to developed tolerance or resistance. It is a well known fact that *S. mansoni* has a high capacity for developing resistance to certain therapeutic drugs such as oxamniquine or praziquantel, especially when the parasitic population is under continuous pressure from schistosomicides (Bonesso-Sabadini & Dias 2002).

In Brazil, schistosomiasis can be characterized as a zoonosis because some few mammalian species have the capacity of developing infection and permitting the parasite to complete its biological cycle in a natural environment. Some rodents participate in the *S. mansoni* cycle but are unable to maintain an infection independent of man (Dias *et al.* 1978). Studies should be conducted to investigate the participation of small wild rodents as an aggravating factor for maintenance of residue transmission.

In spite of the advances in diagnosis, the safe use of drugs without adverse reaction and despite the fact of the area in question being of low endemicity, schistosomiasis as a complex parasitosis has proved hard to control. A multidisciplinary effort in sanitary education is very important, as well as the execution of measures that impede the contamination of water collections with human feces for a definitive control of endemy.

In order to amplify the control measures adopted, we made the following suggestions: a) inclusion of the control programme in the local health services b) promote local sanitary surveillance c) re-initiation of active detection of autochthonous and imported

cases, which will contribute towards increased knowledge of the epidemiology of transmission d) planning each action in accordance with the focus characteristic e) extension of the basic sanitation - water supply and sewage treatment according to local resources f) integration of sanitary education with the local education system in order to introduce information and health practices in the regular school curriculum so that there is a clear understanding of the disease, its relationship with defecation habits and the care required with water and hygiene g) intermediary host control by selective and careful use of molluscicides or biological control h) constant assessment of control measures i) diagnostic results of parasitological findings should be complemented by serological tests with good sensitivity - specificity so that prevalence indices obtained are closer to reality in areas of low endemicity j) treatment of infected individuals based on serological results. Since 1987, the treatment used in Venezuela is based on the utilization of serology as a diagnostic method. One of the main objectives achieved over the last few years in this country, which is characterized as a low endemic area with an epidemiological situation similar to that of the State of Sao Paulo, was the introduction of serology in the control program (Noya *et al.* 1999).

Further studies are necessary to establish a diagnosis and chemotherapy criteria based on serology, adequate to specific clinical - epidemiological conditions of low endemic areas, such as Pedro de Toledo, where the use of parasitological methods is inappropriate.

Treatment of false-negative individuals by parasitological methods would reduce potential infection foci and undoubtedly contribute towards the reduction of residue transmission in Pedro de Toledo. This procedure could also be extended to other areas in the State of Sao Paulo with similar epidemiological characteristics or even be included in a national program for the control of schistosomiasis mansoni.

The results demonstrated that serological tests with good specificity - sensitivity should be incorporated to provide prevalence indices that are closer to reality and necessary in low endemic areas. As observed in this study, the results of the serological reactions together with the parasitological results can help establishing control and vigilance programs for schistosomiasis mansoni, especially in low endemic areas.

REFERENCES

- Bonesso-Sabadini PI, Dias LCS 2002. Altered response of strain of *Schistosoma mansoni* to oxamniquine and praziquantel. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97(3): 381-385.
- Cerqueira FL 1988. Coprotest[®]: Metodologia confiável para o exame parasitológico de fezes. *Laes & Laes* 9: 5-12.
- Dean AG, Dean JA, Colulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, Dicker RC, Sullivan KM, Fargan RF, Arner TG 1995. Epi Info, version 6: a word processing database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputer. *Center of Disease Control on Prevention*, Atlanta, Georgia, U.S.A.
- Deelder AM, Kornelis D 1981. Immunodiagnosis of recently acquired *S. mansoni* infection. A comparison of various immunological techniques. *Trop Geog Med* 33(1): 36-41.
- De Vlas SJ, Gryscels B 1992. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalence. *Parasitol Today* 8(4): 274-277.
- Dias LCS, Ávila-Pires FD, Pinto ACM 1978. Parasitological and ecological aspects of schistosomiasis mansoni in the valley of the Paraíba do Sul river (Sao Paulo State, Brazil) I. Natural infection of small mammals with *Schistosoma mansoni*. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 72: 496-500.
- Dias LCS, Glasser CM, Marçal Jr O, Bonesso PIP 1994. Epidemiologia da esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade. *Cad Saúde Publica*, 10 (Suppl. II): 254-260.
- Dias LCS, Kanamura HY, Hoshino-Shimizu S, Glasser CM, Carvalho JF, Silva LC 1992a. Field trials for immunodiagnosis with reference to *Schistosoma mansoni*. In: Bergquist NR, *Immunodiagnostic Approches in Schistosomiasis*. John Wiley & Sons, England. p. 39-47.
- Dias LCS, Kawazoe U, Glasser CM, Hoshino-Shimizu S, Kanamura HY, Cordeiro JA, Guarata OF, Ishirata GJ 1989. Schistosomiasis mansoni in the municipality of Pedro de Toledo (Sao Paulo, Brazil) where the *Biomphalaria tenagophila* is the snail host: I. Prevalence in human population. *Rev Inst Med Trop* 31: 110 -118.

Dias LCS, Marçal Jr O; Glasser CM, Kanamura HY, Hotta LC 1992b. Control of schistosomiasis mansoni in a low transmission area. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87 (Suppl. IV): 233-239.

Dias LCS, Pedro RJ, Deberalini ER 1982. Use of PZQ in patients with schistosomiasis mansoni previously treated with OXA and/or hycantone: resistance of *Schistosoma mansoni* to schistosomicidal agents. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 76: 652-659.

El-Morshedy H, Kinosen B, Barakat R, Omer E, Khamis N, Deelder AM, Phillips M 1996. Circulating anodic antigen for detection of *Schistosoma mansoni* infection in Egyptian patients. *Am J Trop Med Hyg* 54(2): 149-153.

Ferreira CS, Carvalho ME 1982. Padronização de uso de papel-filtro como suporte de material para reações sorológicas. *Rev Bras Malariol*, 34: 82-86.

Glasser CM 1995. Schistosomiasis Control in the State of Sao Paulo. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90(2): 307-309.

Hoshino-Shimizu S, Camargo MC, Kawada HYK, Silva LC, Dias LCS 1986. Aspectos sorológicos e soroepidemiológicos da esquistossomose mansônica, p. 67-89. IN Reis FA, Faria I, Katz N (eds). Modernos Conhecimentos sobre Esquistossomose mansônica. *Suplemento dos Anais de 1983 e 1984*, Academia Mineira de Medicina 14: 67-89.

Kanamura HY, Dias LCS, Glasser CM, Silva RM, Patucci RMJ, Chiodelli SG, Addis DG 1998. Detection of IgM antibodies to *Schistosoma mansoni* gut – associated antigens for the study of the dynamics of schistosomiasis transmission in an endemic area with low worm burden. *Rev Inst Med Trop* 40(4): 225-231.

Kanamura HY, Hoshino-Shimizu S, Camargo ME, Silva LC 1979. Class specific antibodies and fluorescent staining patterns in acute and chronic forms of schistosomiasis mansoni. *Am J Trop Med Hyg* 28: 242-248.

Kanamura HY, Hoshino-Shimizu S, Kimura RT, Matsumoto TK, Silva LC, Lima DMC, Abrantes-Lemos CP 1997. Decay of antibody isotypes against early developmental stages of *Schistosoma mansoni* after treatment of schistosomiasis patients. *Rev Inst Med Trop* 39: 271-277.

- Lima DM, Abrantes-Lemos CP, Hoshino-Shimizu S, Valli LCP, Kanamura HY, Da Silva LC, Velloso AS 1996. Imunodiagnóstico da esquistossomose mansônica com baixa carga parasitária. *Rev Soc Bras Med Trop* 29(2): 145-152.
- Marçal Jr O, Dias LCS, Kanamura HY, Soares LCB, Oliveira EJ 1999. *Evaluation of a schistosomiasis mansoni control programme in an area of low endemicity, in Brazil*. In: VII International Symposium on Schistosomiasis, Rio de Janeiro, p79.
- Marçal Jr, Patucci RMJ, Dias LCS, Hotta LK, Etzel A 1991. Schistosomiasis mansoni in area of transmission. I. Impact of control measures. *Rev Inst Med Trop* 33(2): 83-90.
- Noya BA, Balzan C, Artega C, Cesari I, Noya O 1999. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: Features and Evolution. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 136-146.
- Noya BA, Spencer L, Noya O 1992. Pre-and post treatment Immunodiagnostic evaluation in human schistosomiasis mansoni. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87(Suppl. IV): 271-276.
- Passos ADC, Amaral RS 1998. Esquistossomose mansônica; aspectos epidemiológicos e de controle. *Rev Soc Bras Med Trop* 31(Suppl. II): 61-74.
- SEADE – Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados 1998. Anuário Estatístico do Estado de São Paulo.
- Silva RM, Silva MIPG, Velloso SAG, Kanamura HY 1992. Pesquisa de anticorpos IgM contra o tubo digestivo do verme para o diagnóstico da esquistossomose mansônica. *Rev Bras Pat Clin* 28(2): 39 - 42.
- Silva RM, Kanamura HY, Camargo E, Chiodelli SG, Nakamura PM, Gargioni C, Velloso SAG, Antunes JLF 1998. A comparative study on IgG-ELISA, IgM-IFT and Kato-Katz methods for epidemiological purposes in a low endemic area for schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93(Suppl. I): 279-282.
- WHO - World Health Organization 1993. The control of schistosomiasis. *Technical Report Series* 830, Geneva. 86pp.

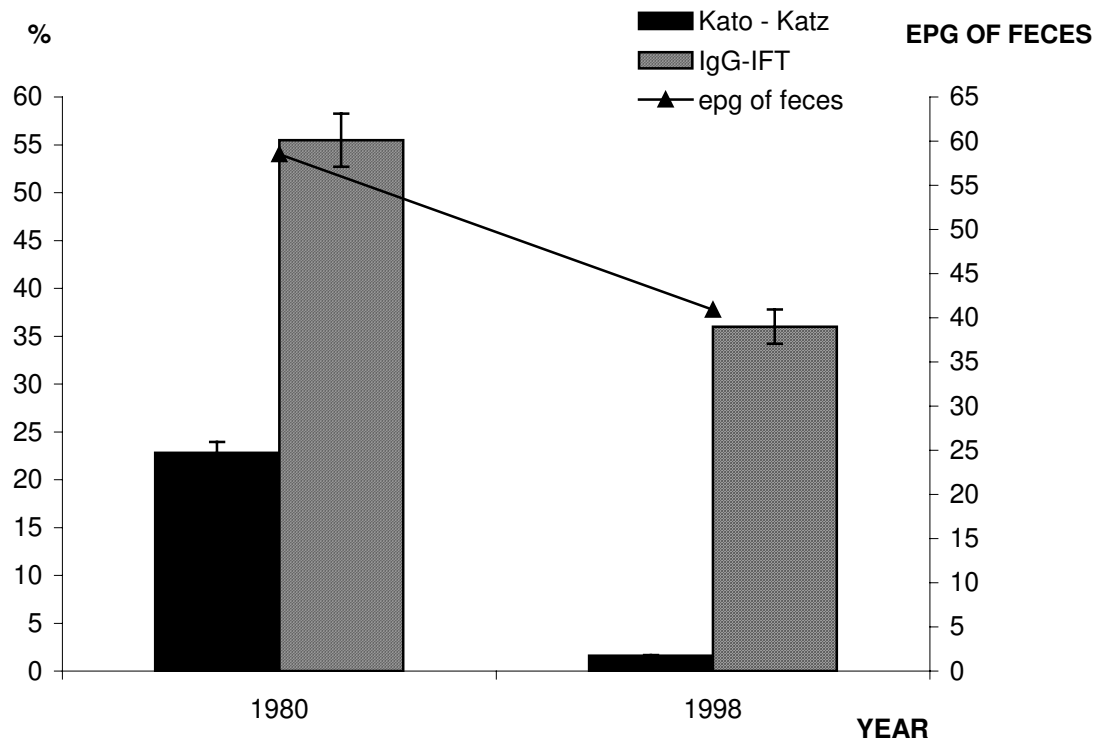


Fig. 1 – Prevalence rates of schistosomiasis mansoni by imunofluorescence test (IgG-IFT), Kato-Katz method and intensity of infection (epg – geometric mean of the number the eggs per gram of feces), in 1980 and 1998, in municipality of Pedro de Toledo, Sao Paulo, Brazil.

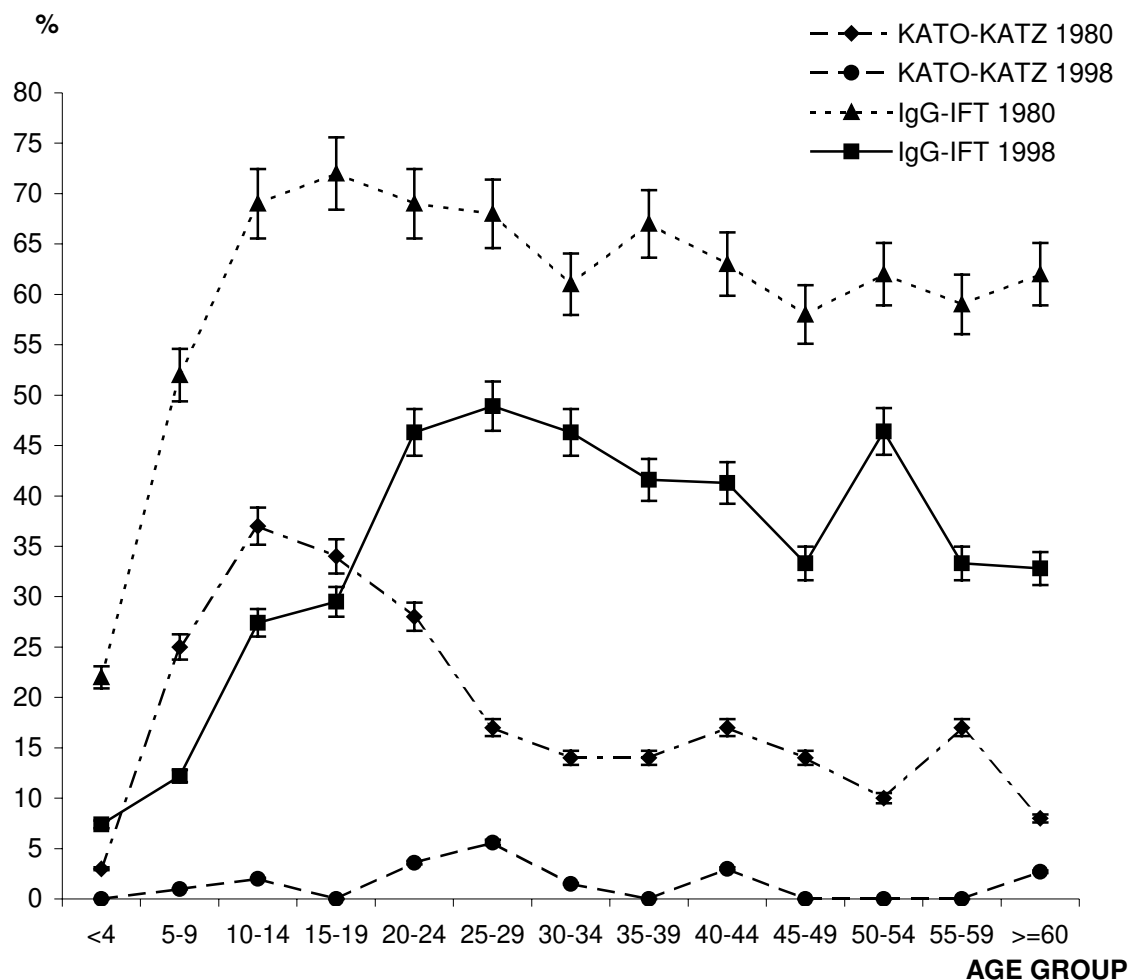


Fig. 2 – Prevalence rates of schistosomiasis mansoni by imunofluorescence test (IgG-IFT, IgM-IFT) and Kato-Katz method, in 1980 and 1998, according to age group, in municipality of Pedro de Toledo, Sao Paulo, Brazil.

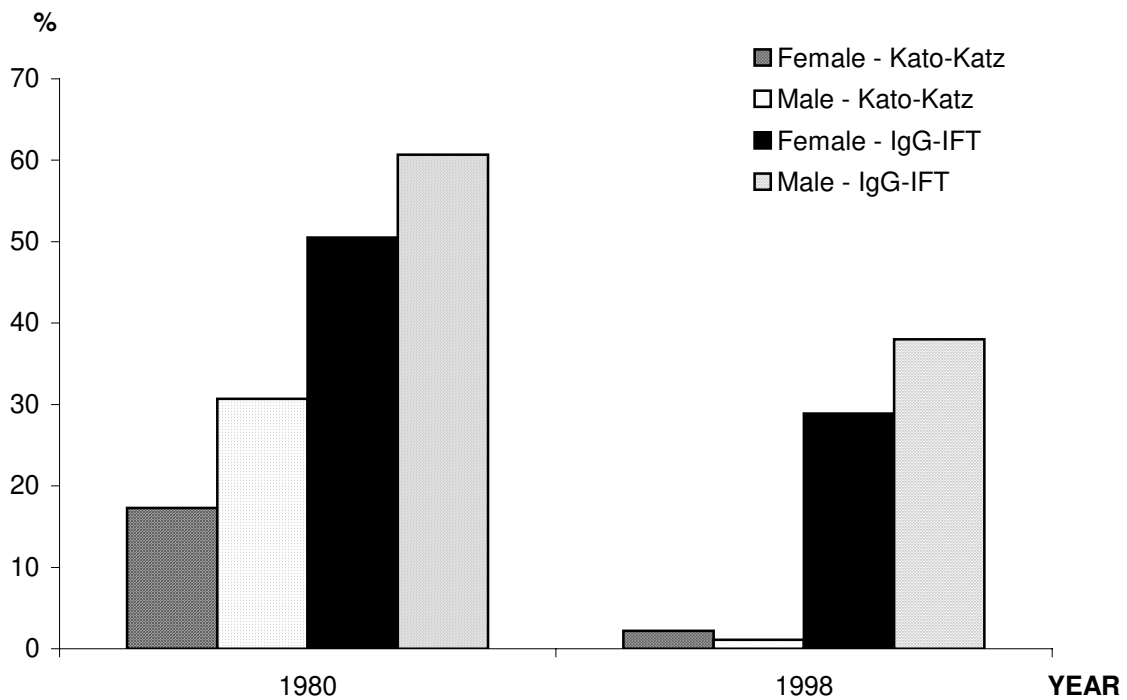
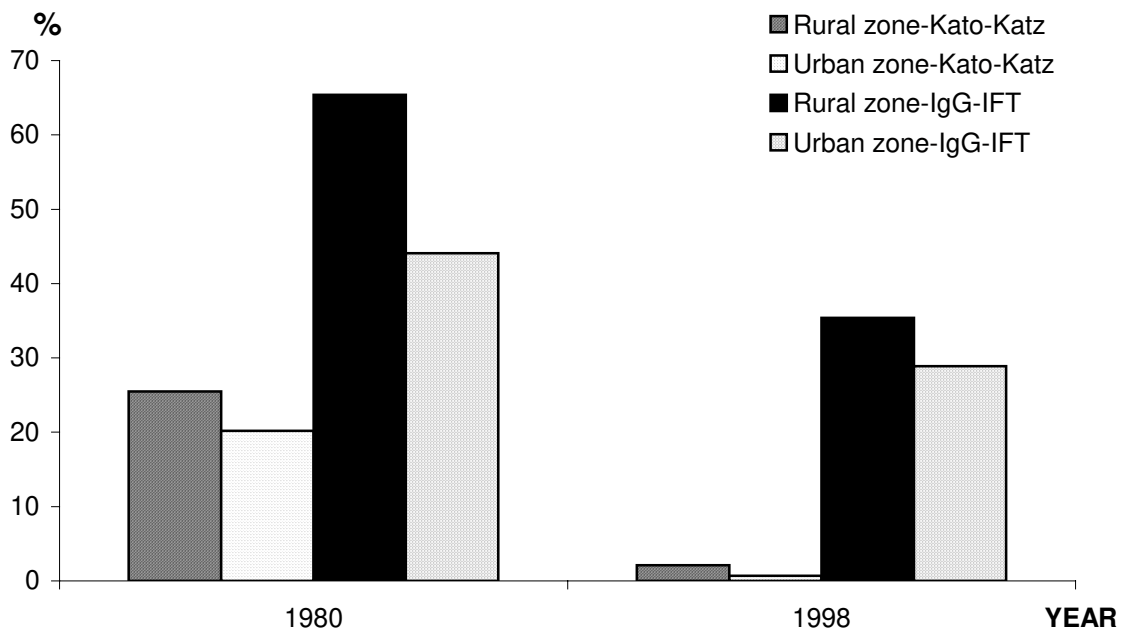


Fig. 3 - Prevalence rates of schistosomiasis mansoni by imunofluorescence test (IgG-IFT) and Kato-Katz method, according to zone (rural and urban) and sex (female and male), in 1980 and 1998, in municipality of Pedro de Toledo, Sao Paulo, Brazil.

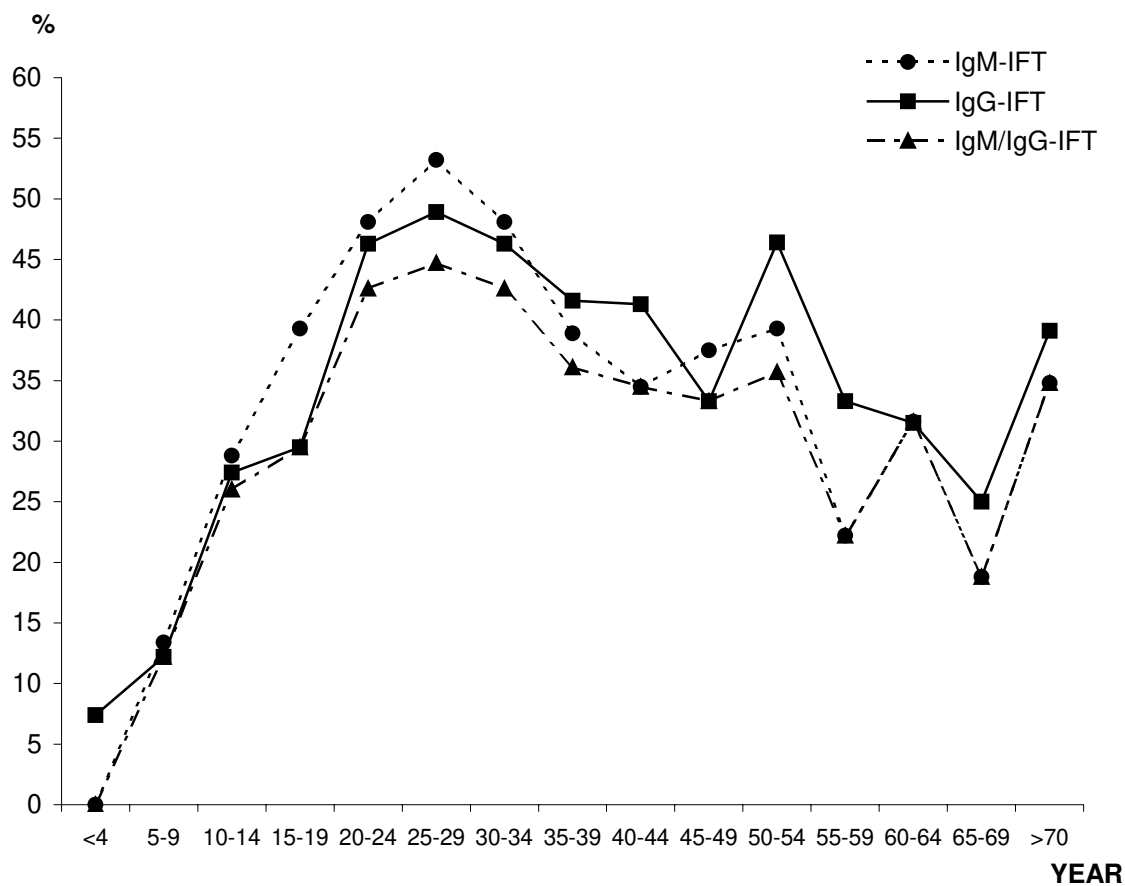


Fig. 4 – Prevalence rates of schistosomiasis mansoni by imunofluorescence test (IgG-IF, IgM-IFT), in 1998, according to age group, in 581 inhabitants from municipality of Pedro de Toledo, Sao Paulo.

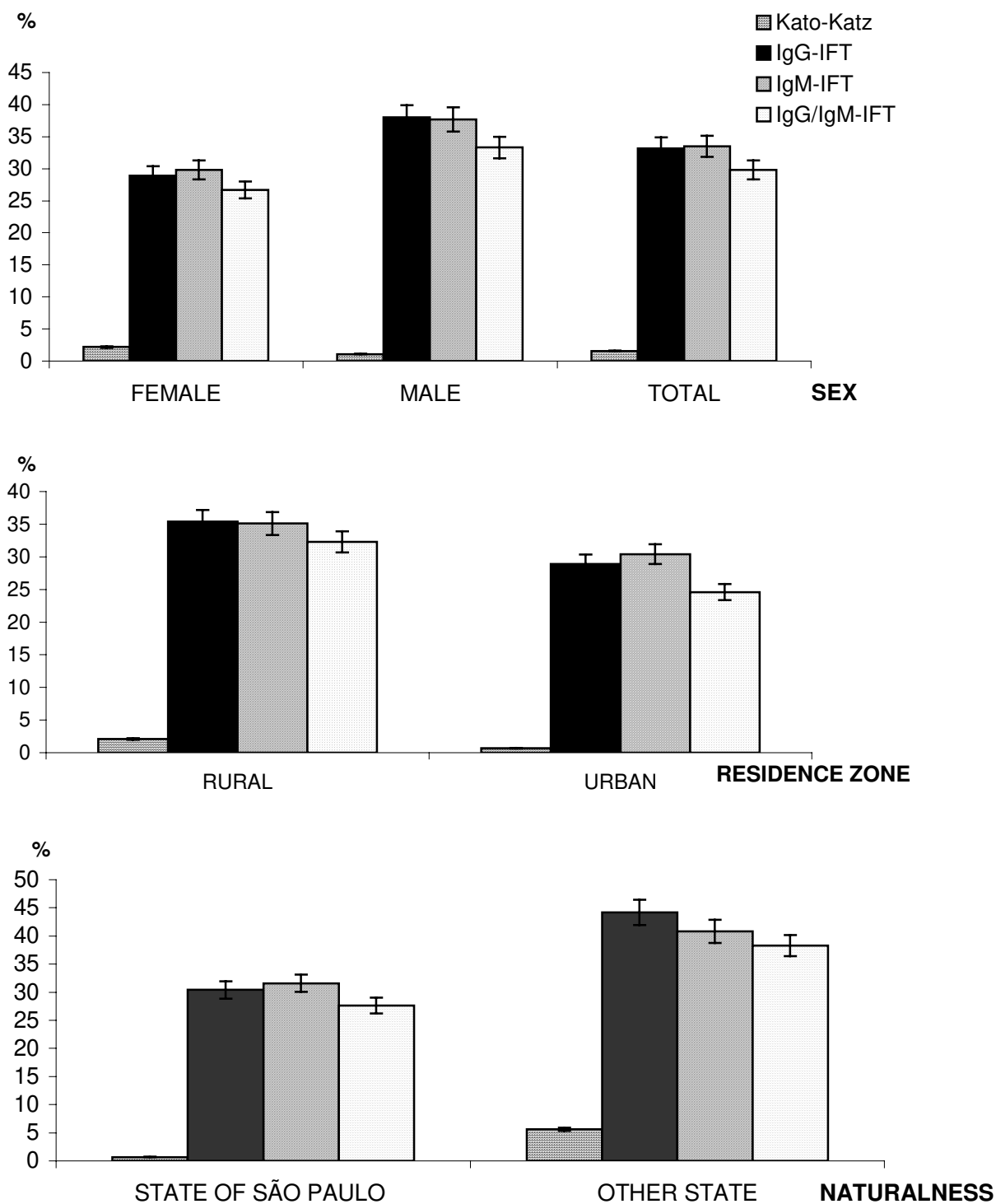


Fig 5. Prevalence rates of schistosomiasis mansoni by imunofluorescence test (IFT-IgG, IFT-IgM) and Kato-Katz method, in 1998, according to sex, residence zone and naturalness, in municipality of Pedro de Toledo, Sao Paulo, Brazil.



DISCUSSÃO

Nas áreas de alta e média endemicidades para esquistossomose mansoni, no Brasil, localizadas na região Nordeste e no Estado de Minas Gerais, o diagnóstico baseado no exame de fezes é seguro pois a intensidade de infecção é alta. Já no Estado de São Paulo, as características da transmissão são diferentes. Por se tratar de área de baixa endemicidade, a prevalência da parasitose é inferior a 15% e a maioria das pessoas apresenta baixa carga parasitária, eliminando menos de 100 opg (DIAS *et al.*, 1992b).

Nos programas de vigilância e controle da esquistossomose em nosso país, o método de Kato-Katz é praticamente o único método parasitológico utilizado. Isso se deve a sua simplicidade na execução e baixo custo. É comparável ao método de Lutz, com a vantagem de estimar a carga parasitária (RABELLO *et al.*, 1992). No entanto, mostrou ser pouco eficiente no diagnóstico de indivíduos com pequeno número de ovos nas fezes. Quando a carga parasitária é inferior a 50 ovos por grama de fezes (opg), torna-se necessário repetir o exame de fezes (REY, 1992). A aplicação de métodos mais sensíveis ou a repetição do exame de fezes, mesmo com a leitura de mais de uma lâmina, demonstrou que as infecções leves podem ser perdidas gerando resultados falso-negativos (DE VLAS e GRYSEELS, 1992). Vale ressaltar que embora a sensibilidade do método parasitológico aumente com a repetição sistemática de amostras sucessivas, freqüentemente não é viável em condições de campo, onde é grande o número de pessoas envolvidas. Em inquéritos coprológicos é comum o uso de amostra única de fezes.

Em determinadas condições, alguns testes sorológicos estimam melhor a prevalência real desta parasitose que os clássicos exames de fezes (NOYA *et al.*, 1992b). Os métodos parasitológicos subestimam a prevalência não só em indivíduos com baixa intensidade de infecção como também em populações que vivem em áreas endêmicas, onde o programa de controle da esquistossomose está sob avaliação (YOGORE *et al.*, 1983; TEESDALE *et al.*, 1985), impedindo que as medidas de controle sejam corretamente analisadas (DIAS *et al.*, 1992b; NOYA *et al.*, 1999). Fica claro que o método de Kato-Katz, não deve ser utilizado como única metodologia e que os métodos sorológicos são as únicas estratégias viáveis no objetivo de se determinar o impacto do controle, visto que podem ser muito úteis para se estimar índices de prevalência próximos do real (DIAS *et al.*, 1992a; DIAS *et al.*, 1992b).

As técnicas imunológicas para detecção de antígenos circulantes, também não têm demonstrado sensibilidade suficiente para diagnóstico de indivíduos com baixos níveis de infecção (EL-MORSHEDY *et al.*, 1996; HANGARD *et al.*, 1996). Assim, as técnicas de detecção de anticorpos continuam a ser instrumento de grande valia em estudos populacionais. Entre os vários métodos sorológicos utilizados para fins epidemiológicos, a reação de imunofluorescência indireta, usando como antígeno cortes de vermes parafinados ou congelados, tem apresentado resultados satisfatórios quanto aos graus de sensibilidade e especificidade (DEELDER e KORNELIS, 1980; KANAMURA *et al.*, 1979). Ainda outros métodos imunológicos como o teste de ELISA podem também ser utilizados como importante ferramenta diagnóstica (NOYA *et al.*, 1999; OLIVEIRA, 2001).

A seleção adequada de um teste para estudos soroepidemiológicos deve obedecer a alguns critérios, tais como: ser sensível e específico; prático e econômico no campo; ter resultados de fácil interpretação; coleta das amostras de sangue realizada por meio de procedimento simples; reagentes usados no teste devem ser estáveis, permitindo reproduzir os resultados (DIAS *et al.* 1994).

O uso de amostras de sangue coletadas em papel de filtro, para reações sorológicas, tem se mostrado uma metodologia eficiente e prática em estudos epidemiológicos. Sendo um procedimento simples e pouco invasivo, não oferece risco ao paciente, e com isso, um número maior de indivíduos pode ser envolvido na pesquisa. Além disso, as amostras podem ser armazenadas por longos períodos, dispensa a etapa de centrifugação do material clínico e seu transporte sob condições de refrigeração para o laboratório. As amostras assim colhidas para realização da RIF-IgG e RIF-IgM, apresentaram boa sensibilidade e especificidade, ao serem comparadas com amostras coletadas por punção venosa (KANAMURA *et al.*, 1997).

O município de Pedro de Toledo, com focos ativos da esquistossomose, onde este estudo foi realizado, vem sendo uma das áreas do Estado de São Paulo, mais ativamente pesquisadas e controladas (DIAS *et al.*, 1989; DIAS *et al.*, 1992b; MARÇAL JUNIOR *et al.*, 1991). A prevalência parasitológica encontrada no município em 1970, foi de 4%, subindo para 12% em 1978. Em 1980, após a realização de estudos parasitológicos, epidemiológicos e imunológicos, houve intensificação do programa de controle da endemia

com ênfase no tratamento específico, educação sanitária e melhoria do saneamento básico (rede de abastecimento de água e esgoto) (DIAS *et al.*, 1992b). Estas medidas vêm sendo mantidas até hoje.

Nosso objetivo foi avaliar o programa de controle, desenvolvido neste município nestes quase 20 anos, por meio da comparação dos resultados deste estudo com os obtidos em 1980. Realizamos as técnicas de Kato-Katz e RIF-IgG, também utilizadas em 1980, e acrescentamos a RIF-IgM, uma metodologia que tem se mostrado mais sensível e específica que RIF-IgG para fins diagnósticos das fases aguda e crônica da esquistossomose mansoni. A RIF-IgM tem sido muito útil em inquéritos epidemiológicos, principalmente no Estado de São Paulo (KANAMURA *et al.*, 1998b) e sem dúvida contribuiu na avaliação do perfil epidemiológico da população em estudo.

Os coeficientes de prevalência encontrados nas provas sorológicas são freqüentemente mais altos do que aqueles obtidos pelo exame parasitológico das fezes (DIAS *et al.*, 1971; DIAS *et al.*, 1992a; KAWAZOE *et al.*, 1981; DOENHOFF *et al.*, 1993; HANGARD *et al.*, 1996). Inquéritos populacionais realizados em diferentes áreas de baixa endemicidade, demonstraram coeficientes de prevalência sorológica 2 a 5 vezes mais elevados (DIAS *et al.*, 1992a; KAWAZOE *et al.*, 1981; NOYA *et al.*, 1992b). Em 1980, a prevalência sorológica pela RIF-IgG foi 2,6 vezes maior que a parasitológica. O coeficiente de prevalência pelo Kato-Katz foi de 22,8% com média geométrica da intensidade de infecção de 58,5 opg e pela RIF-IgG foi de 55,5% (Figura 1). Todos os portadores da parasitose eram assintomáticos (DIAS *et al.*, 1992a). Utilizando-se as sensibilidades e especificidades dos métodos aplicados, a prevalência verdadeira foi estimada em 44,3%, por meio da equação de GART e BUCK (1966).

Essa discrepância de sensibilidade entre os exames de fezes e testes sorológicos em população de baixa carga parasitária, ficou também caracterizada neste trabalho, quando encontramos uma prevalência de 1,6% pelo Kato-Katz e de 33,2% pela RIF-IgG, com intensidade de infecção de 40,9 opg (Figura 1). A prevalência sorológica foi cerca de 20 vezes maior que a parasitológica e o coeficiente Kappa de 0,083, confirma a pequena concordância dos resultados (Tabela 1). Embora menos evidentes, os valores das

prevalências verdadeiras, de 4,9% para o Kato-Katz e 15,4% para a RIF-IgG, refletem também esta diferença.

Em nossa amostragem observamos que 75% dos indivíduos com ovos nas fezes, apresentaram infecção leve, com excreção de menos de 100 opg. Se considerarmos apenas estes indivíduos, a média geométrica da carga parasitária cai quase para a metade (22,6 opg). Sabe-se que o exame de amostra única de fezes, não abrange satisfatoriamente indivíduos com menos de 23 opg, que é o limite inferior de sensibilidade da técnica de Kato-Katz (NOYA *et al.*, 1992a), demonstrando que a prevalência parasitológica está subestimada pelo fato da maioria dos infectados ter excretado um número de ovos inferior à sensibilidade do método.

A maior carga parasitária (856 opg) foi constatada em um migrante da região Nordeste. Embora não se saiba a origem exata da infecção, este morador procedente de Pernambuco, foi o responsável por cerca de 60% dos ovos detectados nas fezes de todos os indivíduos infectados, contribuindo bastante para elevar a carga parasitária da população infectada. Segundo o fenômeno de agregação descrito por Bradley (BRADLEY e MAY, 1978), a distribuição dos vermes em populações humanas faz-se de maneira agregada, em que um pequeno número de indivíduos alberga a maioria dos parasitos, eliminando assim, a maioria dos ovos (DIAS *et al.*, 1994). O restante da população está infectada por um pequeno número de vermes. Nesta mesma população, MARÇAL JUNIOR *et al.*, (1991), observaram resultados semelhantes, onde apenas 9% dos infectados eram os responsáveis por mais da metade dos ovos de *S. mansoni* eliminados nas fezes e conseqüentemente uma importante fonte de transmissão.

As prevalências atuais comparadas às obtidas no início do programa de controle em Pedro de Toledo, em 1980, indicam que houve diminuição na transmissão da endemia certamente devido às medidas profiláticas adotadas. No entanto, fica evidente a persistência de infecção ativa, com transmissão de *S. mansoni*, com a presença de 4 casos autóctones (uma criança, dois adultos e um idoso), entre os 12 indivíduos parasitologicamente positivos. Os demais, sete são migrantes da região nordeste do país (Pernambuco, Bahia e Alagoas) e apenas um da região sul (Paraná). Estes dados confirmam resultado de estudo anterior realizado em Pedro de Toledo, nos anos de 1980 a 1991, onde se constatou

aumento no número de casos importados de outros estados brasileiros, contrapondo queda do número de casos autóctones (DIAS *et al.*, 1994). No Estado de São Paulo, entre 1981 e 1992, constatou-se a predominância de casos positivos para esquistossomose mansoni, procedentes de outros estados brasileiros endêmicos, principalmente Minas Gerais, Bahia e Pernambuco. Apenas 11% dos 226 mil casos notificados, contraíram a doença no estado (GLASSER, 1995). Ressalta-se a importância dos deslocamentos humanos internos, como uma das principais causas da introdução e disseminação da esquistossomose em São Paulo, justificando a necessidade da busca de portadores entre migrantes.

Em 1980, o programa de controle priorizou a educação sanitária entre os escolares (7 a 14 anos). Na época, este grupo foi o que apresentou as maiores prevalências pelo Kato-Katz e pela RIF-IgG, ao redor de 31% e 61% respectivamente (Figura 2). Em 1987, se observou que as medidas de controle provocaram um forte impacto inicial sobre as taxas de prevalência parasitológica em todos os grupos etários, principalmente entre os escolares, que apresentaram prevalência de apenas 8%. Com isso, jovens com mais de 14 anos e adultos, foram também envolvidos na educação sanitária, principalmente por meio de palestras periódicas (MARÇAL JUNIOR *et al.*, 1991). Ao analisarmos a prevalência que obtivemos em 116 escolares, de 24,1% pela RIF-IgG, percebemos uma redução em relação à prevalência geral, de 33,2% pelo mesmo método, confirmando o efeito positivo das medidas de controle entre os escolares (Figura 2).

Na maioria das regiões endêmicas para esquistossomose no Brasil, é comum observar-se diferença nos índices de prevalência entre a zona rural e urbana, com maior prevalência na rural. Os indivíduos da zona rural e do sexo masculino, têm maior tendência à exposição a cercárias do trematódeo (MARÇAL JUNIOR *et al.*, 1991). Em 1980, dos 1083 positivos para Kato-Katz, 56% moravam na zona rural e cerca de 67% eram do sexo masculino. Em 1998, 83,3% dos 12 infectados residiam na zona rural do município e 33,3% dos infectados eram homens. A prevalência parasitológica indica que os moradores da zona rural continuam mais expostos e que o número de indivíduos do sexo masculino com ovos nas fezes foi menor, ao contrário do que se esperava. Deve-se considerar o pequeno número de indivíduos com ovos nas fezes (Figura 3). Dos 4 casos autóctones de Pedro de Toledo, 3 eram do sexo feminino e residiam na zona rural e um do sexo masculino e morador da zona urbana.

É interessante notar uma queda abrupta do coeficiente de prevalência da parasitose no segundo ano após a intensificação do controle de 22,8% em 1980 para 7,5%, em 1982 (MARÇAL JUNIOR, 1995). Essa tendência foi observada também nos anos seguintes com coeficiente parasitológico de 4,8% em 1987 e intensidade de infecção de 35,1 opg (MARÇAL JUNIOR *et al.*, 1991). A primeira intervenção de controle sempre leva a uma acentuada redução da prevalência. Resultados semelhantes foram observados em vários municípios na região da Bacia do Rio São Francisco, em Minas Gerais (LIMA e COSTA *et al.*, 1996). O declínio do coeficiente de prevalência também foi evidente em Peri-Peri, outro município do estado mineiro, de 43,5% em 1974, para 27,5% no ano seguinte, à primeira intervenção (COURA FILHO *et al.*, 1992). Atribui-se ao tratamento específico, a responsabilidade por esta rápida queda. A sucessão de tratamentos em pequenos intervalos de tempo é efetiva para manter a baixa prevalência da infecção por *S. mansoni* (KATZ *et al.*, 1980). Entretanto, na medida em que o intervalo entre os tratamentos aumenta, a reinfecção ocorre e a incidência da parasitose aumenta (COURA FILHO *et al.*, 1992). Em Pedro de Toledo, desde 1980, vem ocorrendo tratamento específico anual em indivíduos com ovos nas fezes. Até 1990 a população da área de risco de infecção foi examinada anualmente. A partir desta data, houve uma descontinuidade das ações programadas, pela emergência de atender outras doenças endêmicas e epidêmicas, como a dengue, e apenas uma amostra da população passou a ser examinada e tratada anualmente. Mesmo assim, não se observou aumento da prevalência parasitológica.

A realização do método de Kato-Katz, tem como vantagem permitir que outras helmintíases sejam diagnosticadas, beneficiando a população, que recebe tratamento medicamentoso seletivo. Da população pesquisada, 23,2% estava parasitada por *Ascaris lumbricoides*. Dos 172 positivos para a presença de ovos deste helminto, detectou-se infecção leve em 51,2% e infecção intensa em 33,7% dos pesquisados (Tabela 2). A presença de ovos de *Trichuris trichiura* foi constatada em 13,0% dos examinados. A maior parte dos indivíduos parasitados por *T. trichiura* apresentou infecção leve (89,7%) e nenhum apresentou infecção intensa (Tabela 2). Não foi possível realizar a leitura em tempo hábil para se detectar ancilostomatídeos. Em 1980, foi maior o coeficiente de prevalência observado para estas infecções, com 40,4% dos indivíduos parasitados por *A. lumbricoides* e 42,3% com *T. trichiura* (DIAS *et al.*, 1989). A queda no número de

infectados, ocorreu provavelmente como consequência da melhoria no saneamento básico, uma das medidas do programa de controle da esquistossomose.

Quando comparamos as prevalências que encontramos pelas técnicas imunológicas, não observamos diferença significativa ($p \leq 0,05$) (Figura 4). Para a RIF-IgG o coeficiente registrado foi de 33,2%, para a RIF-IgM de 33,5% e para ambas as reações o coeficiente de prevalência foi de 29,8% (Tabela 3). O coeficiente Kappa de 0,84, indica também boa concordância dos resultados (Tabela 1), o que era esperado, pois as duas reações têm se mostrado úteis no diagnóstico das infecções agudas e crônicas da esquistossomose. Entre os 591 examinados, 176 indivíduos são positivos para ambos os métodos, 20 são positivos apenas para a RIF-IgG e 22 positivos somente para a RIF-IgM. Contribui para esta discordância o fato de que os anticorpos IgM reconhecem melhor os antígenos de natureza polissacarídica e induzem uma resposta imune humoral bastante precoce ao redor da 2ª semana de infecção (KANAMURA *et al.*, 1979; DEELDER *et al.*, 1989). Os anticorpos IgG contra antígeno total de natureza protéica de verme adulto, aparecem ao redor da quarta semana de infecção e permanecem por mais tempo circulantes (KANAMURA *et al.*, 1997).

A RIF-IgM demonstrou ser um teste diagnóstico seguro e um importante instrumento na avaliação do perfil epidemiológico da população na complementação de achados parasitológicos, em áreas de baixa endemicidade para esquistossomose mansoni. Sabe-se que a RIF-IgM, contra antígeno polissacarídico de tubo digestivo, é uma técnica diagnóstica mais sensível e específica do que a pesquisa de anticorpos IgG, para fins diagnósticos das fases aguda e crônica da esquistossomose mansoni, e sem dúvida mais prática. Esta metodologia mostrou-se sensível no diagnóstico de indivíduos com baixa carga parasitária (KANAMURA *et al.*, 1998a) e específica em amostras de soros normais em áreas não endêmicas para a esquistossomose mansoni (LIMA *et al.*, 1998). A RIF-IgG, embora sensível e específica, apresenta limitações quanto ao transporte e armazenamento dos cortes de vermes, que devem ser congelados para que haja manutenção de sua atividade antigênica, (DIAS *et al.*, 1992a). Ao contrário das lâminas congeladas obtidas em criostato e mantidas à -20°C, os cortes de vermes parafinados e fixados em solução de Rossman, utilizados na RIF-IgM, são facilmente preparados, têm alta estabilidade à temperatura

ambiente e podem ser mantidos por vários meses sem perda da antigenicidade (KANAMURA *et al.*, 1998a).

O grande potencial de expansão da esquistossomose mansoni e a possibilidade de introdução da endemia a áreas antes indenes, deve ser considerado como prioridade dentro do programa de controle da parasitose. A vigilância epidemiológica, é muito importante para se avaliar a expansão da endemia e a utilização de métodos sorológicos, como a RIF-IgM, sem dúvida contribuiria na detecção precoce da infecção, antes do aparecimento de ovos nas fezes. Recentemente, no Rio Grande do Sul, área antes indene, foram descritos na cidade de Esteio, casos autóctones de esquistossomose (GRAEFF-TEIXEIRA *et al.*, 1999). Hoje, nestas áreas a vigilância e identificação dos focos com transmissão são prioridade, para que indivíduos infectados por *S. mansoni* sejam identificados o mais rápido possível. Estudos recentes concluíram também, que a RIF-IgM pode se constituir útil na caracterização dos riscos de transmissão de *S. mansoni* para aprimorar o programa de controle e vigilância da esquistossomose (KANAMURA *et al.*, 2001).

Além da baixa sensibilidade dos métodos parasitológicos, quando aplicados em levantamentos epidemiológicos, em área de baixa endemicidade, outros fatores contribuem para a discrepância da prevalência parasitológica em relação à sorológica. A sensibilidade da RIF-IgM, permite captar infecções de baixa intensidade na fase inicial da infecção, onde a eliminação dos ovos é pequena. Detecta também, infecções recentes, mesmo antes do aparecimento de ovos nas fezes. A possibilidade da infecção por *S. mansoni* ser detectada pouco tempo após o contato com as cercárias, faz da RIF-IgM um método valioso no estudo da dinâmica da transmissão da esquistossomose em áreas endêmicas com baixa carga parasitária (KANAMURA *et al.*, 1998b).

Outro fator que influi para a diferença das prevalências é que na área em estudo há controle efetivo da endemia, desde 1980, e sem dúvida existem indivíduos que se expuseram ao parasito, induziram resposta imune mas não desenvolveram a doença, ou foram curados após a quimioterapia e persistem com anticorpos circulantes. Sabe-se que de 6 a 12 meses após tratamento específico, com hycanthone, oxamniquine ou praziquantel, existe uma acentuada queda no número de casos eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes

(KATZ, 1992). É bem conhecido também, o fato de que logo após a quimioterapia os níveis de anticorpos específicos aumentam, estimulados pela morte dos parasitos, e caem em seguida. Dependendo do nível inicial de anticorpos, tipo de técnica e antígeno usados, estes podem desaparecer dentro de 6 a 12 meses ou após 5 anos (NOYA *et al.*, 1992a; KANAMURA *et al.*, 1997).

Identificamos em nossa amostragem, apenas 14 indivíduos (7,1%) dos 198 moradores positivos para RIF-IgM, tratados anteriormente com oxamniquine. Um foi tratado há um ano e os demais receberam tratamento antes de 1992. Na pesquisa parasitológica, nenhum deles apresentou ovos nas fezes. Podemos dizer, que provavelmente esses 13 indivíduos tratados há mais de 5 anos, não possuem mais anticorpos específicos circulantes. Assim, a sorologia positiva nos indica, que houve reexposição destes indivíduos a cercárias do trematódeo, sem necessariamente ter havido infecção, ou houve falha no tratamento.

Não devem ser descartados também, contatos com cercárias de vida livre ou de outros parasitas. No entanto, as reações cruzadas com estas cercárias, praticamente não interferem na especificidade da reação (PELLEGRINO, 1963). Parece improvável a ocorrência de reações cruzadas com antígenos de outros helmintos, como já descrito por KANAMURA *et al.* (1998b).

As reações sorológicas, RIF-IgM e RIF-IgG, demonstraram boa especificidade em moradores da Vila São Lourenço, área indene do município. Cinquenta indivíduos de ambos os sexos e de todas as idades constituíram nosso grupo controle. Amostras de sangue foram colhidas de todos os envolvidos e se constatou apenas um indivíduo positivo para ambas as reações sorológicas e um para a RIF-IgM (Tabela 3). Amostras de fezes foram, coletadas de 37 dos 50 indivíduos do grupo controle e cerca de 32,4% dos examinados pela metodologia do Coprotest® apresentaram infecções parasitárias. Embora composto de indivíduos que apresentaram infecção por outros parasitas como: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Strongiloides stercoralis* e *Entamoeba coli*, somente o indivíduo positivo pelas duas reações apresentou ovos de *A. lumbricoides* nas fezes. Os resultados reforçam o fato de que não houve interferência na especificidade das reações sorológicas, com antígenos de outras espécies de parasitas.

As prevalências sorológicas indicam que o sexo masculino é mais exposto a infecção (Figura 5), confirmando os dados de DIAS *et al.* (1989), no município de Pedro de Toledo. MARÇAL JUNIOR *et al.* (1993), em estudo na mesma área, concluíram que o sexo masculino é mais exposto à infecção e que as atividades recreativas são os principais fatores de risco da esquistossomose.

Não houve diferença significativa entre as prevalências sorológicas nas zonas urbana e rural (Figura 5), ao contrário do que se observou em 1980. Confirmamos tendência na redução da taxa de prevalência da zona rural em relação à urbana. Em 1987, atribuiu-se ao saneamento básico precário, o maior índice de infecção na zona rural de Pedro de Toledo (MARÇAL JUNIOR *et al.* 1991). Considerada inicialmente uma doença tipicamente rural, hoje a transmissão da esquistossomose ocorre também na periferia das grandes cidades, onde reside a população de baixa renda e as más condições de saneamento possibilitam a instalação de novos focos. Nas regiões rurais ou nas pequenas comunidades, estas condições se assemelham (KATZ e PEIXOTO, 2000).

É interessante observar um deslocamento do maior coeficiente de prevalência, tanto parasitológica como sorológica, para grupo de maior idade. Em 1980, o maior coeficiente de positividade foi dos indivíduos de 10 a 19 anos, ao redor de 36% pelo exame de fezes e de 71% pela RIF-IgG (Figura 2). Em 1987, por apresentarem altos coeficientes de prevalência pelo Kato-Katz, os adultos foram incluídos também na educação sanitária. Nossos resultados demonstram que hoje, a faixa etária de 25 a 29 anos tem o maior coeficiente de prevalência sorológica de 5,7% pelo Kato-Katz, entre 53 examinados, de 48,9% pela RIF-IgG e 44,7% para a RIF-IgM. Embora a educação sanitária tenha atingido também os adultos, este grupo é hoje, o maior responsável pela manutenção da endemia. Os hábitos da população adulta sofrem influência do nível socioeconômico que é um determinante na transmissão da esquistossomose. A ausência de opções de lazer leva as populações mais carentes à procura de córregos ou lagoas para diversão, aumentando o risco de serem infectados por *S. mansoni*. Detecta-se então, uma maior dificuldade da população adulta na mudança de hábitos, reiterando a importância do envolvimento dos adultos nas estratégias de controle.

Os que nasceram a partir de 1980, no início do controle, hoje estão na faixa etária de 15 a 19 anos e têm um coeficiente de prevalência de 29,5% para a RIF-IgG, 39,3% para a RIF-IgM e nenhum positivo pelo método de Kato-Katz. O coeficiente de prevalência deste grupo em relação ao grupo de 25 a 29 anos, onde foram constatados os maiores coeficientes de prevalência, é significativamente menor (Figura 2). Portanto, a queda no coeficiente de prevalência observado hoje no grupo de 15 a 19 anos expressa sem dúvida, a efetividade das ações de controle.

Apesar de não se observar erradicação da endemia, em Pedro de Toledo, os coeficientes de prevalência cada vez menores, indicam efetividade das medidas de controle, embora exista um residual de transmissão, sendo confirmado pelo parasitológico, com a presença de ovos nas fezes em 1,6% dos indivíduos examinados. Se considerarmos o cálculo de prevalência verdadeira que corrige os dados encontrados, este coeficiente subiria para 4,9%. Este residual se torna ainda mais evidente se observarmos a prevalência de 29,8% para ambas as reações sorológicas, demonstrando o contato com cercárias e transmissão ativa do parasito.

Alguns outros fatores podem também explicar a presença do residual observado. Em Pedro de Toledo, as populações de moluscos apesar de controladas, continuam eliminando cercárias. Os índices de infecção pela *B. tenagophila* são baixos, inferiores a 1,0% (DIAS *et al.*, 1989). A transmissão está presente e pôde também ser confirmada neste estudo, com a detecção de 13 indivíduos que sofreram reexposição a cercárias de *S. mansoni*. Estes casos não podem ser classificados como reinfecção, pelo fato de não ter havido confirmação de cura. A reinfecção, que também contribui para a manter a endemia, está diretamente relacionada à prevalência inicial e às condições epidemiológicas favoráveis à transmissão da área afetada (KATZ, 1992). No início da década de 80, os coeficientes gerais de incidência apresentaram valores próximos a 6,0% e se estabilizaram abaixo dos 2,0% nos períodos finais da década, registrando um índice de 1,7% em 90/91 (MARÇAL JUNIOR, 1995). Nas crianças, o grau de reinfecção é 3 a 5 vezes maior que nos adultos e a maioria dos indivíduos reinfetados apresentam redução no número de ovos nas fezes (KATZ, 1992), dificultando o diagnóstico por meio dos métodos convencionais. Assim, portadores não diagnosticados e conseqüentemente não tratados podem ser parcialmente responsáveis pela manutenção da transmissão.

A entrada constante de imigrantes e os deslocamentos internos de portadores têm também um papel importante, e foram uma das principais causas da introdução e da disseminação da parasitose em São Paulo (GLASSER, 1995). Como já mencionado anteriormente, a maioria dos indivíduos parasitologicamente positivos neste estudo, são migrantes de outras regiões do país. Pela sorologia, a grande maioria dos indivíduos positivos são naturais da região do Vale do Ribeira, embora a prevalência sorológica dos indivíduos procedentes de outros estados seja maior.

Outro fator que explicaria a prevalência residual é a falha no tratamento dos portadores. Estima-se que cerca de 15 a 20% dos indivíduos tratados, continuam eliminando ovos, devido à permanência de alguns vermes vivos nas veias mesentéricas inferiores. O tratamento dificulta o aparecimento de cargas mais elevadas mas não inviabiliza a transmissão. Em Pedro de Toledo a quimioterapia teve início nos anos 50 com o niridazole, substituído na década seguinte pelo hycantone e a partir de 1970, foi introduzido o oxamniquine. Com o surgimento desta droga, o tratamento dos portadores ganhou relevância como medida de controle da esquistossomose porque é eficaz, segura e de fácil administração (AMARAL e PORTO, 1994).

Embora a quimioterapia seja relevante na prevenção da morbidade e na redução da prevalência, a pressão prolongada do uso de anti - esquistossomicidas sobre a população de *S. mansoni*, utilizado há mais de 30 anos, pode levar a uma tolerância ou resistência às drogas. Sabe-se que *S. mansoni* tem uma grande capacidade de desenvolver resistência a doses terapêuticas de determinadas drogas, como oxamniquine (DIAS *et al.*, 1992b), e praziquantel (ARAÚJO *et al.*, 1996), especialmente quando a população de parasitos está sobre contínua pressão de esquistossomicidas (COLES e BRUCE, 1990). Em Pedro de Toledo, seria interessante avaliar a susceptibilidade da linhagem de *S. mansoni* ao oxaminiquine e praziquantel.

No Brasil, a esquistossomose se caracteriza como zoonose pelo fato de algumas poucas espécies de mamíferos se mostrarem capazes de desenvolver infecção e permitirem que o parasito complete seu ciclo biológico no ambiente natural. No Vale do Paraíba do Sul, no Estado de São Paulo, algumas espécies de roedores participam do ciclo de *S. mansoni*. Todavia foi demonstrado que esses roedores não conseguem manter a

infecção independentemente do homem (DIAS *et al.*, 1978). Merecem ser estudadas estas populações silvestres de pequenos roedores em Pedro de Toledo, para investigar se participam como fator agravante na manutenção do residual de transmissão.

Apesar dos avanços no diagnóstico, do uso de drogas seguras e sem reações adversas, como oxamniquine e praziquantel e de se tratar de área de baixa endemicidade, a esquistossomose como uma parasitose complexa, tem se mostrado difícil de erradicar. É fundamental o esforço multidisciplinar na educação sanitária e na execução de medidas que impeçam a contaminação de coleções de água com fezes humanas, para um controle definitivo da endemia.

Para ampliar as medidas de controle já adotadas, visando o residual, sugerimos:

- a) incluir o programa de controle nas ações básicas de saúde do município;
- b) promover vigilância epidemiológica sanitária local;
- c) retomada na busca ativa na identificação de casos autóctones e importados, contribuindo para aprofundamento dos conhecimentos sobre a epidemiologia dos focos de transmissão;
- d) planejamento de cada ação conforme as características do foco;
- e) expansão do saneamento básico, fornecendo água e tratamento de esgoto à população;
- f) na educação sanitária, integrar o sistema de ensino local, com o objetivo de introduzir conhecimentos e práticas de saúde no currículo escolar, fazendo que haja clara compreensão da doença e suas relações com hábitos de defecação, uso da água e cuidados higiênicos;
- g) controle do hospedeiro intermediário por meio do uso de moluscocida de forma seletiva e criteriosa, ou pela competição de qualquer natureza, como o controle biológico;
- h) avaliação constante das medidas de controle;
- i) diagnóstico com inclusão da sorologia na complementação dos achados parasitológicos;
- j) tratamento dos infectados baseado também no resultado sorológico.

Desde 1987, a Venezuela, introduziu o tratamento baseado na sorologia. Entre os principais objetivos alcançados nos últimos anos naquele país, caracterizado como área de baixa endemicidade e com situação epidemiológica semelhante à observada no Estado de São Paulo, a introdução da sorologia no programa de controle foi considerada uma das mais importantes conquistas (NOYA *et al.*, 1999).

Estudos são necessários para que se estabeleça um critério de diagnóstico e quimioterapia, baseado na sorologia, adequado às condições clínico - epidemiológicas específicas das áreas de baixa endemicidade, como em Pedro de Toledo, onde a utilização apenas de métodos parasitológicos não é apropriada. O diagnóstico e tratamento clínico dos indivíduos falso-negativos pelo parasitológico, diminuiriam fontes de infecção em potencial e sem dúvida, contribuiria para redução do residual de transmissão observado neste município. Este procedimento poderia também se estender a outras áreas do Estado de São Paulo, com características epidemiológicas semelhantes, ou até mesmo, ser incluído no programa de controle da esquistossomose mansoni a nível nacional.

Diante dos resultados observados, concluímos que se faz necessário, a incorporação de testes sorológicos de boa sensibilidade e especificidade, que permitam a obtenção de coeficientes de prevalência mais próximos do real, no programa de controle da esquistossomose mansoni, principalmente em áreas de baixa endemicidade. Os resultados das reações sorológicas associados aos parasitológicos, como observado neste estudo, permitem avaliar mais adequadamente os programas de controle e de vigilância epidemiológica da esquistossomose mansoni.



CONCLUSÃO

A prevalência parasitológica pelo método de Kato-Katz de 1,6%, com intensidade de infecção média de 40,9 opg, confirma que o município de Pedro de Toledo é área de baixa endemicidade para esquistossomose mansoni.

Há uma discrepância acentuada entre os coeficientes de prevalência parasitológica e sorológica, com prevalência sorológica cerca de 20 vezes maior que a parasitológica.

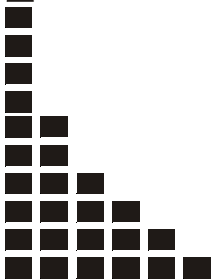
A concordância da RIF-IgG com o método de Kato-Katz foi fraca, resultando num índice Kappa de 0,083 e a concordância da RIF-IgM em relação a RIF-IgG foi ótima de 0,84.

Houve um deslocamento da maior prevalência em relação à faixa etária durante os anos de controle. Em 1980, as maiores prevalências parasitológicas e sorológicas ocorreram na faixa etária de 10 a 19 anos e neste estudo (1998), os maiores coeficientes de prevalência são dos indivíduos de 25 a 29 anos, indicando a importância do envolvimento dos adultos no programa de controle da esquistossomose.

Os altos coeficientes de prevalência sorológica em relação à parasitológica sugerem a importância da inclusão dos métodos sorológicos em inquéritos epidemiológicos da esquistossomose mansoni, na complementação dos achados parasitológicos no diagnóstico e tratamento da parasitose.

Houve uma queda significativa nos coeficientes de prevalência durante quase 20 anos de controle (1980-1998). A prevalência parasitológica caiu de 22,8% para 1,6%, a intensidade de infecção de 58,5 opg para 40,9 opg e pela RIF-IgG a redução foi de 55,5% para 33,2%.

Existe transmissão ativa, em Pedro de Toledo, embora sem dúvida o programa de controle realizado no município tenha contribuído bastante na redução da transmissão da parasitose. Os coeficientes de prevalência obtidos indicam que deve haver um esforço conjunto para que as medidas de controle e vigilância da esquistossomose mansoni sejam ampliadas.



***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

AMARAL, R. S.; PORTO, M. A. S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 27: 73-90, 1994.

ARAÚJO, N.; SOUZA, S. P.; PASSOS, L. K. J. SIMPSON, A. J. G.; DIAS NETO, E. PEREIRA, T. R. et al. Suscetibilidade aos agentes quimioterápicos de isolados de *Schistosoma mansoni* oriundos de pacientes tratados com oxamniquine e praziquantel e não curados. **Rev Soc Bras Med Trop**, 29: 467-476, 1996.

BARAKAT, R. M.; EL-GASSIM, E. E.; AWADALLA, H. N.; EL-MOLLA, A.; OMER, E. A. Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) as a diagnostic tool for schistosomiasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 77(1): 109-111, 1983.

BERGQUIST, N.R. In: John Wiley & Sons (Ed.), **Immunodiagnostic aproches in schistosomiasis**. England, 1992.

BRADLEY, D. J.; MAY, R. M. Consequence of helminth aggregation for the dynamics of schistosomiasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 72: 262-273, 1978.

BUCK, A. A.; ANDERSON, R. I. Validation of the complement fixation and slide flocculation tests for schistosomiasis. **Am J Trop Med Hyg**, 93(3): 205-14, 1972.

CERQUEIRA, F.L. Coprotest®: Metodologia confiável para o exame parasitológico de fezes. Laes & Laes 9: 5-12, 1988.

COLES, G. C.; BRUCE, J. I. Resistance in *Schistosoma*. Round Table conference. VII International Congress of Parasitology. Paris. p. 1-12, 1990.

COURA FILHO, P.; ROCHA, R. S.; LIMA E COSTA, M. F. F.; KATZ, N. A municipal level approach to the management of schistosomiasis control in Peri-Peri, MG, Brazil. **Rev Inst Med Trop**, 34(6): 543-8, 1992.

DEELDER, A. M.; KORNELIS, D. A comparison of the IFA and the ELISA for the demonstration of antibodies against schistosoma gut-associated polysaccharide antigens in Schistosomiasis. **Zeitschrift fur Parasitenkunde Parasitenk**, 64: 65-75, 1980.

DEELDER, A. M.; ZEYLVAR, R. J. M.; FILLIE, Y. E.; ROTMANS, J. P.; DUCHENNE, W. Recognition of gut-associated antigens by immunoglobulin M in the indirect test for schistosomiasis mansoni. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 83: 364-7, 1989.

DE VLAS, S.J.; GRYCELS, B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. **Parasitology Today**, 8(8): 274-7, 1992.

DIAS, L. C. S.; CAMARGO, M. E.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; RAMOS, A. S.; TOLEDO PIZA, J.; SILVA, L. C. Inquéritos populacionais de esquistossomose mansoni por técnicas sorológicas de imunofluorescência e de hemaglutinação. **Rev Inst Med Trop**, 13: 37-44, 1971.

DIAS, L. C. S.; GLASSER, C. M.; MARÇAL Jr, O.; BONESSO, P. I. P. Epidemiologia da esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade. **Cad Saúde Públ**, 10 (supl. II): 254-60, 1994.

DIAS, L. C. S.; KANAMURA, H. Y.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; GLASSER, C. M.; CARVALHO, J. F.; SILVA, L. C. Field trials for immunodiagnosis with reference to *Schistosoma mansoni*. In: John Wiley & Sons (Ed.) **Immunodiagnostic Approches in Schistosomiasis**. England, 1992a. p. 39-47.

DIAS, L. C. S.; KAWAZOE, U.; GLASSER, C. M.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; KANAMURA, H. Y.; CORDEIRO, J. A. et al. Schistosomiasis mansoni in the municipality of Pedro de Toledo (São Paulo, Brazil) where the *Biomphalaria tenagophila* is the snail host. I - Prevalence in human population. **Rev Inst Med Trop**, 31: 110 –8, 1989.

DIAS L. C. S.; MARÇAL JUNIOR, O.; GLASSER, C. M.; KANAMURA H. Y.; HOTTA L. C. Control of schistosomiasis mansoni in a low transmission area. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 87(IV): 233- 9, 1992b.

DIAS, L. C. S.; ÁVILA-PIRES, F. D.; PINTO, A. C. M. Parasitological and ecological aspects of schistosomiasis mansoni in the Valley of the Paraíba do Sul River (São Paulo State, Brazil). I - Natural infection of small mammals with *Schistosoma mansoni*. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 72: 496-500, 1978.

DOENHOFF, M. J.; BUTTERWORTH, A. E.; HAYES, R. J.; STURROCK, R. F.; OUMA, J. H.; KOECH, D. et al. Seroepidemiology and serodiagnosis in Kenya using crude and purified egg antigens of *Schistosoma mansoni* in ELISA. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 87: 42-8, 1993.

EL-MORSHEDY, H.; KINOSIEN, B.; BARAKAT, R.; OMER, E.; KHAMIS, N.; DEELDER, A. M. et al. Circulating anodic antigen for detection of *Schistosoma mansoni* infection in Egyptian patients. **Am J Trop Med Hyg** 54(2): 149-53, 1996.

ENDERS, B.; ECONOMY, D.; HUNGERER, K. D.; ZWISLER, O. Evaluation of a purified *Schistosoma*-skin test-antigen for diagnosis of human bilharzia infection. **Rev. Inst Med Trop São Paulo**, 16(6): 305-16, 1974.

ENGVAL, D.; PERLMANN, P. ELISA: quantitative assay of immunoglobulin G. **Immunochemistry**, 8: 871-4, 1971.

GART, J.J.; BUCK, A.A. **Am J Epidemiol**, 83: 593-602, 1966.

GLASSER, C. M. Schistosomiasis control in the State of São Paulo. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 90(2): 307-9, 1995.

GRAEFF-TEIXEIRA, C.; ANJOS, C. B.; OLIVEIRA, V. C.; VELLOSO, C. F. P.; FONSECA, M. B. S.; VALAR, C. et al. Identification of a transmission focus of *Schistosoma mansoni* in the southernmost Brazilian State, Rio Grande do Sul. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 94(1): 9-10, 1999.

HAMILTON, J. V.; KLINKERT, M.; DOENHOFF, M. J. Diagnosis of schistosomiasis: antibody detection, whit notes on parasitological and antigen detection methods. **Parasitology**, 117(1): 41-57, 1998.

HANGARD, C.; DEELDER, A. M.; GABONE, R. M.; NILSON, L. A.; OUCHTERLONY, O. A comparative study on specific antibodies and circulating antigen (CAA) in serum and parasitological findings for diagnostic of schistosomiasis mansoni in an endemic area in Tanzania. **Acta Trop**, 61: 213-22, 1996.

HILLYER G. V.; RUIZ-TIBEN E.; KNIGHT, B. W.; GOMES DE RIOS, I.; PELLEY, R. P. Immunodiagnosis of infection with *Schistosoma mansoni*: Comparison of ELISA, radioimmunoassay, and precipitation test performed with antigens from eggs. **Am J Trop Med Hyg**, 28(4): 661-69, 1979.

OFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis investigation. **U. S Publ Helth**, 9: 283-90, 1934.

HOSHINO-SHIMIZU, S.; KIMURA, R. T.; CHIEFFI, P. P. Esquistossomose mansônica. In: FERREIRA, A. W., ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 185-93.

KANAMURA, H. Y. **Antígenos de diferentes formas evolutivas do *S. mansoni* para diagnóstico e acompanhamento sorológico de pacientes submetidos à quimioterapia**. São Paulo. 1983. (Tese – Doutorado – Universidade de São Paulo).

KANAMURA, H. Y. Esquistossomose mansônica: diagnóstico laboratorial em áreas de baixa endemicidade. **Rev Soc Bras Med Trop**, 27(IV): 83-6, 1994.

KANAMURA, H. Y.; DIAS, L. C. S.; SILVA, R. M.; GLASSER, C. M.; PATUCCI, R. M. J.; VELLOSA, S. A. G. et al. A comparative epidemiologic study of specific antibodies (IgM and IgA) and parasitological findings in an endemic area of low transmission of *Schistosoma mansoni*. **Rev Inst Med Trop**, 40(2): 85-91, 1998a.

KANAMURA, H. Y.; DIAS, L. C. S.; GLASSER, C. M.; SILVA, R. M.; CAMARGO-NEVES, V. L. F.; VELLOSA, S. A. G. et al. Estudo de anticorpos IgM para vigilância epidemiológica da esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 60(1): 1-10, 2001

KANAMURA, H. Y.; DIAS, L. C. S.; GLASSER, C. M.; SILVA, R. M.; PATUCCI, R. M. J.; CHIODELLI, S. G. et al. Detection of IgM antibodies to *Schistosoma mansoni* gut – associated antigens for the study of the dynamics of schistosomiasis transmission in an endemic area with low worm burden. **Rev Inst Med Trop**, 40(4): 225-31, 1998b.

KANAMURA, H. Y.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; CAMARGO, M. E.; SILVA, L. C. Class specific antibodies and fluorescent staining patterns in acute and chronic forms of schistosomiasis mansoni. **Am J Trop Med Hyg**, 28: 242-8, 1979.

KANAMURA, H. Y.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; KIMURA, R. T.; MATSUMOTO, T. K.; SILVA, L. C.; LIMA, D. M. C. et al. Decay of antibody isotypes against early developmental stages of *Schistosoma mansoni* after treatment of schistosomiasis patients. **Rev Inst Med Trop**, 39: 271-7, 1997.

KATZ, N. Brazilian contributions to epidemiological aspects of schistosomiasis mansoni. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 87(IV): 1-9, 1992.

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

KATZ, N.; DIAS, L. C. S. Esquistossomose mansoni. In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 212-21.

KATZ, N.; PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 33(3): 303-8, 2000.

KAWAZOE, U.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; CORREA, N. S.; SILVA, L. C.; PINTO, A. C. M.; CAMARGO, M. E. An immunoepidemiological study of schistosomiasis mansoni in Paraíba's Valley, São Paulo, Brasil. **Rev Inst Med Trop**, 23(1): 36-40, 1981.

LIMA, D. M. C.; ABRANTES-LEMOS, C. P.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; VALLI, L. P. C.; KANAMURA, H. Y.; SILVA, L. C. et al. Imunodiagnósticos da esquistossomose mansônica com baixa carga parasitária. **Rev Soc Bras Med Trop**, 29(2): 145-52, 1996.

LIMA, V. L. C.; GUERCIO, V. M. F.; RANGEL, O.; KANAMURA, H. Y.; DIAS, L. C. S. Immunofluorescence test on schistosomiasis transmission in Campinas, São Paulo, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 93(1): 283-8, 1998.

LIMA E COSTA, M. F.; GUERRA, H. L.; PIMENTA Jr, F. G.; FIRMO, J. O. A.; UCHOA, E. 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): 117-26, 1996.

LUTZ, A. O. *Schistosoma mansoni* e a schistosomose, segundo observações no Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 11: 121-55, 1919.

MARÇAL JUNIOR, O. **Impacto do controle da esquistossomose mansônica sobre o hospedeiro humano em área de baixa endemicidade (Pedro de Toledo , São Paulo, 1980-1992)**. Campinas. 1995. (Tese – Doutorado – Universidade Estadual de Campinas).

MARÇAL JUNIOR, O.; DIAS, L. C. S.; KANAMURA, H. Y.; SOARES, L. C. B.; OLIVEIRA, E. J. Evaluation of a schistosomiasis mansoni control programme in an area of low endemicity, in Brazil. In: VII INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SCHISTOSOMIASIS, 1999, Rio de Janeiro. **Anais ST04.37**. Rio de Janeiro, 1999. p.79.

MARÇAL JUNIOR, O.; HOTTA, L. K.; PATUCCI, R. M. J.; DIAS, L. C. S. Schistosomiasis mansoni in area of transmission low transmission. II. Risk factors for infection. **Rev Inst Med Trop**, 35(4): 331-5, 1993.

MARÇAL JUNIOR O.; PATUCCI, R. M. J.; DIAS, L. C. S.; HOTTA, L. K.; ETZEL, A. Schistosomiasis mansoni in area of transmission. I. Impact of control measures. **Rev Inst Med Trop**, 33(2): 83-90, 1991.

MACCARTEN, W. G.; NZELIBE, F. K.; SIMONTON, L. A.; FIFE Jr, E. H. Schistosomiasis: Evaluation of the indirect fluorescent antibody, complement fixation, and slide flocculation tests en screening for schistosomiasis. **Exp Parasitol**, 37(2): 239-50, 1975.

NASH, T. E. Antibody response to a polysaccharide antigen present in the schistosome gut. **Am J Trop Med Hyg**, 27: 930-43, 1978.

NOYA, B. A.; BALZAN, C.; ARTEGA, C.; CESARI, I.; NOYA, O. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: Features and Evolution. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 94: 136-46, 1999.

NOYA, B. A.; SPENCER, L.; NOYA, O. Pre-and post treatment Immunodiagnostic evaluation in human schistosomiasis mansoni. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 87(IV): 271-6, 1992a.

NOYA, B. A.; NOYA, O.; BALZAN, C.; CESARI, I. M. New approaches for the control and eradication of schistosomiasis in Venezuela. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 87(IV): 227-31, 1992b.

OLIVEIRA, E. J. **Avaliação de método imunoenzimático para detecção de anticorpos IgM contra antígenos circulantes de *Schistosoma mansoni* para fins epidemiológicos em área de baixa endemicidade para esquistossomose.** São Paulo. 2001. (Dissertação - Mestrado – Universidade de São Paulo).

PASSOS, A. D. C.; AMARAL, R. S. Esquistossomose mansônica; aspectos epidemiológicos e de controle. **Rev Soc Bras Med Trop**, 31(II): 61-74, 1998.

PELLEGRINO, J. Diagnóstico de laboratório da esquistossomose mansoni. Métodos imunológicos. **Rev Bras Malariol D Trop**, 9: 507-51, 1959.

PELLEGRINO, J.; BIOCCA, E. Diagnóstico sorológico da esquistossomose mansônica. II Reação de imunofluorescência com cercárias de *Schistosoma bovis* e *Cercaria caratinguensis*. **Rev Inst Med Trop**, 5: 257-60, 1963.

PIZA, J. T.; RAMOS, A. S. Os focos autóctones de esquistossomose no Estado de São Paulo. **Arq Hig São Paulo**, 25: 261-70, 1960.

RABELLO, A. L. T.; RODIA, R. S.; OLIVEIRA, J. O.; KATZ, N.; KIMBERTUCCI J. R. Stool examination and rectal biopsy and evaluation of chemotherapy of schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop**, 34: 601-8, 1992.

REY, L. **Parasitologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 731p.

- REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 349p.
- RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations - **Bull U.S Army Med Dept**, 8: 326, 1948.
- SILVA, L.J. Crescimento urbano doença: a esquistossomose no município de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública**, 19: 1-7, 1985.
- SILVA, L. J. Sobre a antiguidade de alguns focos de esquistossomose do Estado de São Paulo. **Rev Bras Malariol D Trop**, 35: 73-8, 1983.
- SILVA, L. J. **A esquistossomose Mansônica no Estado de São Paulo: Origens, Distribuição e Controle**. Campinas. 1992. (Tese – Livre Docência – Universidade Estadual de Campinas).
- SILVA, R. M.; SILVA, M. I. P. G.; VELLOSA, S. A. G.; KANAMURA, H, Y. Pesquisa de anticorpos IgM contra o tubo digestivo do verme para o diagnóstico da esquistossomose mansônica. **Rev Bras Pat Clin**, 28(2): 39 – 42, 1992.
- SILVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, M. F. B.; MELO, J. E. M. Mortalidade por esquistossomose no Brasil, 1977-1986. **Rev Soc Bras Med Trop**, 23: 133-40, 1990.
- SLEIGH, A.; HOFF, R.; MOTT, K. E.; BARRETO, M.; MAISK DE PAIVA, T.; SONZA PEDROSA, E.; SHERLOCK, I. Comparison of filtration staining (Bell) and thick smear (Kato) for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* eggs in faeces. **Trans. Roy Soc Trop Med Hyg**, 76: 403-6, 1982.
- SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS. **Relatório**: Situação da esquistossomose no Estado de São Paulo. II Encontro sobre Esquistossomose. São Paulo: SUCEN, 1982.
- SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS. **50 Anos de Luta**. São Paulo: SUCEN, 1984. 27p.

TEESDALE, C. H.; FAHRINGER, K.; CHITSULO, L. Egg count variability and sensitivity of a thin smear technique for the diagnosis of *Schistosoma mansoni*. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg**, 79: 369-73, 1985.

VIANA, I. R. C.; CORREA-OLIVEIRA, R.; CARVALHO, O. S.; MASSARA, C. L.; COLOSIMO, E.; COLLEY, D. G. et al. Comparison of antibody isotype responses to *Schistosoma mansoni* antigen by infected and putative resistant individual living in an endemic area. **Parasite Immunology**, 17: 297-304, 1995.

WARREN, K.S.; KELLERMEYER, R.W.; JORDAN, P.; LITELL, A. S.; COOK, J. A.; KAGAN, I. G. Immunologic diagnosis of schistosomiasis I. A controlled study of intradermal (immediate and delayed) and serologic tests in St. Lucians infected with *Schistosoma mansoni* and uninfected St. Vincentians. **Am J Trop Med Hyg**, 22(2): 189-99, 1973.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The control of schistosomiasis**. Geneva: WHO, 1993, 86p. (WHO Technical Report Series, 830).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Thirteenth programme report of the UNDP/ World Bank/ WHO Special Programme for Research and Training Diseases**. Geneva: WHO, 1997, 5: 62-73.

YGORE, M. G.; LEWERT, R. M.; BLAS, B. L. Schistosomiasis japonica in Barrio San Antonio, Basey, Samar in the Philipines. II. Quantitative fecal examination and circumoval precipitin tests. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, 9: 344-55, 1978



ANEXOS

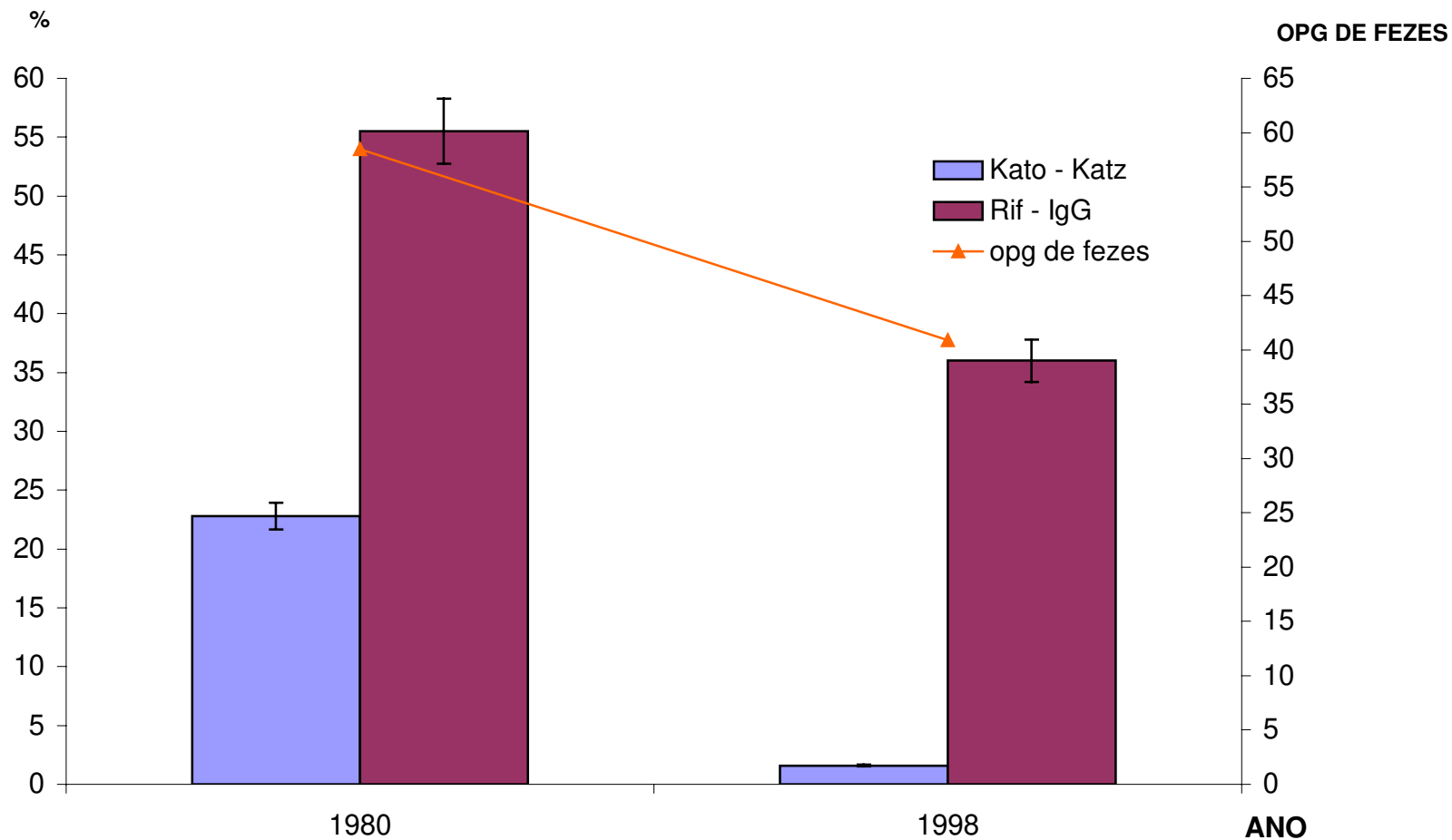


Figura 1 - Coeficiente de prevalência para esquistossomose mansoni pelos métodos de imunofluorescência indireta (RIF-IgG) e Kato-Katz e intensidade de infecção (opg - média geométrica de ovos por grama de fezes), em 1980 e 1998, em Pedro de Toledo, São Paulo.

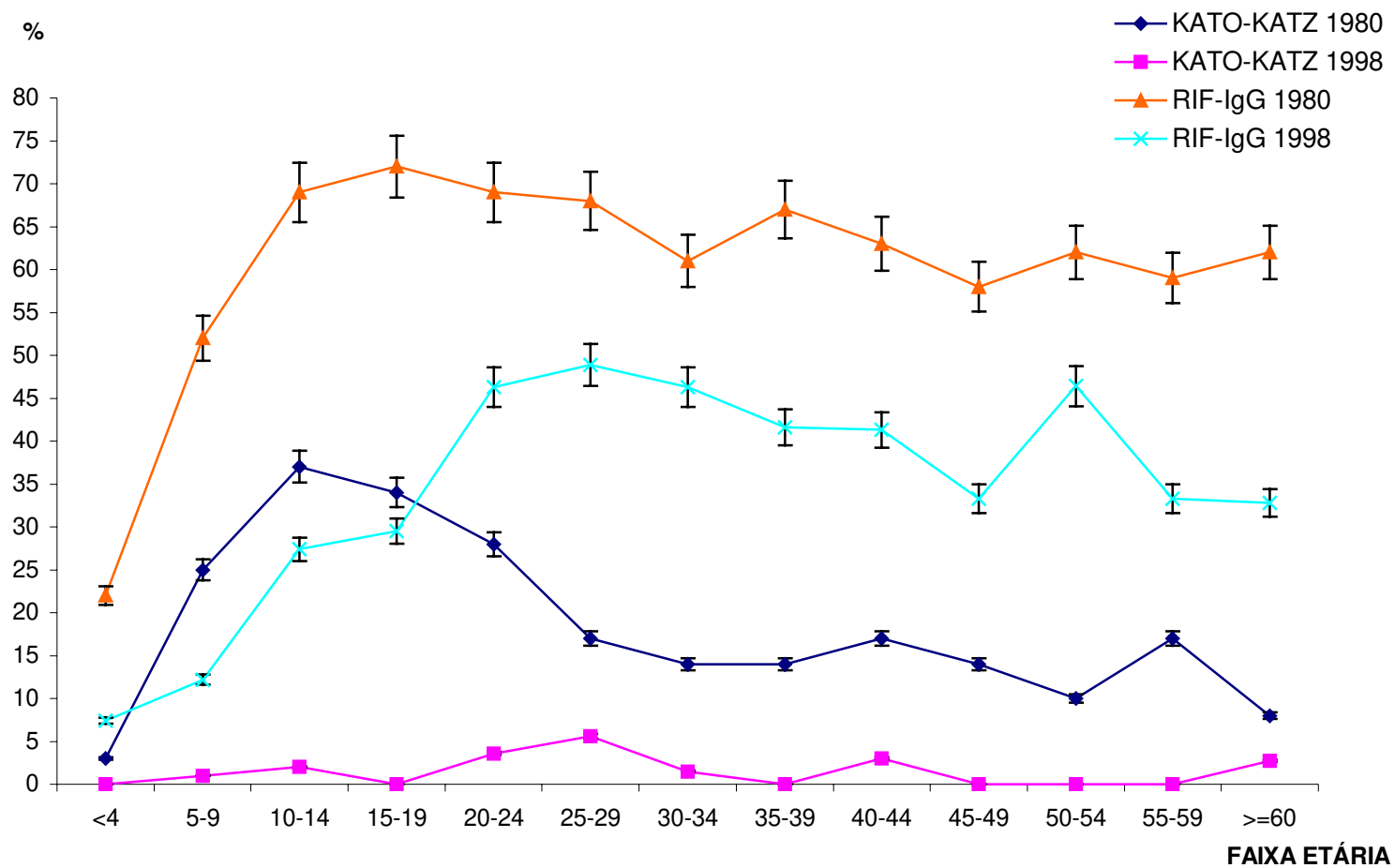


Figura 2 - Coeficiente de prevalência para esquistossomose mansoni pelos métodos de Kato-Katz e imunofluorescência indireta (RIF-IgG), em 1980 e 1998, de acordo com a faixa etária, no município de Pedro de Toledo, São Paulo.

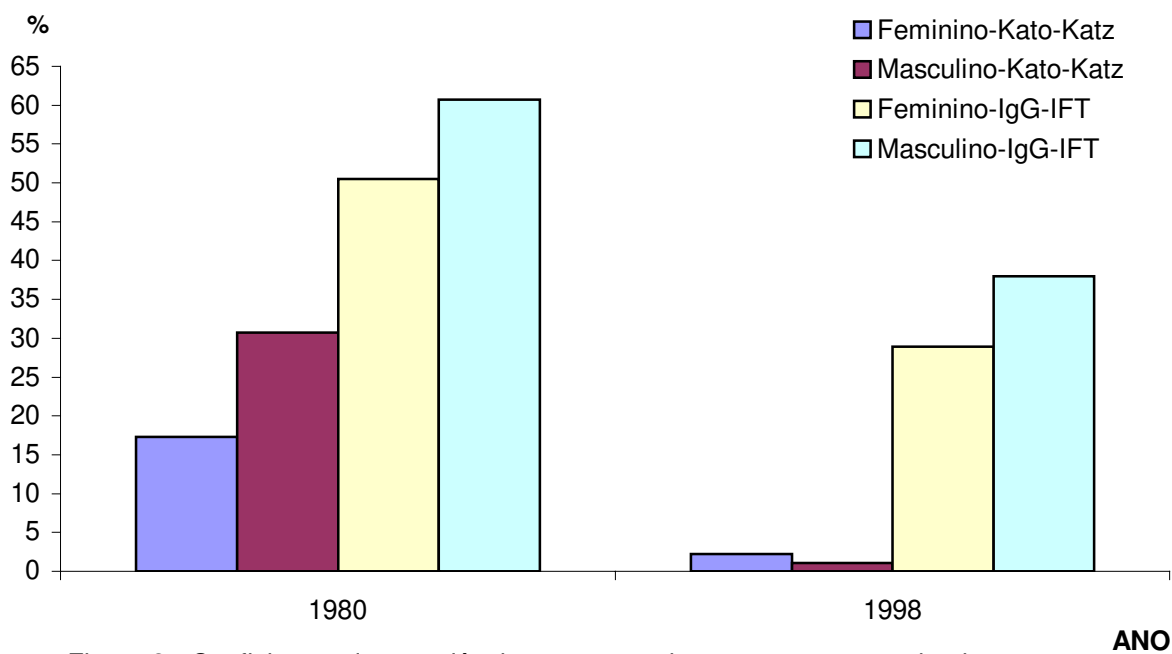
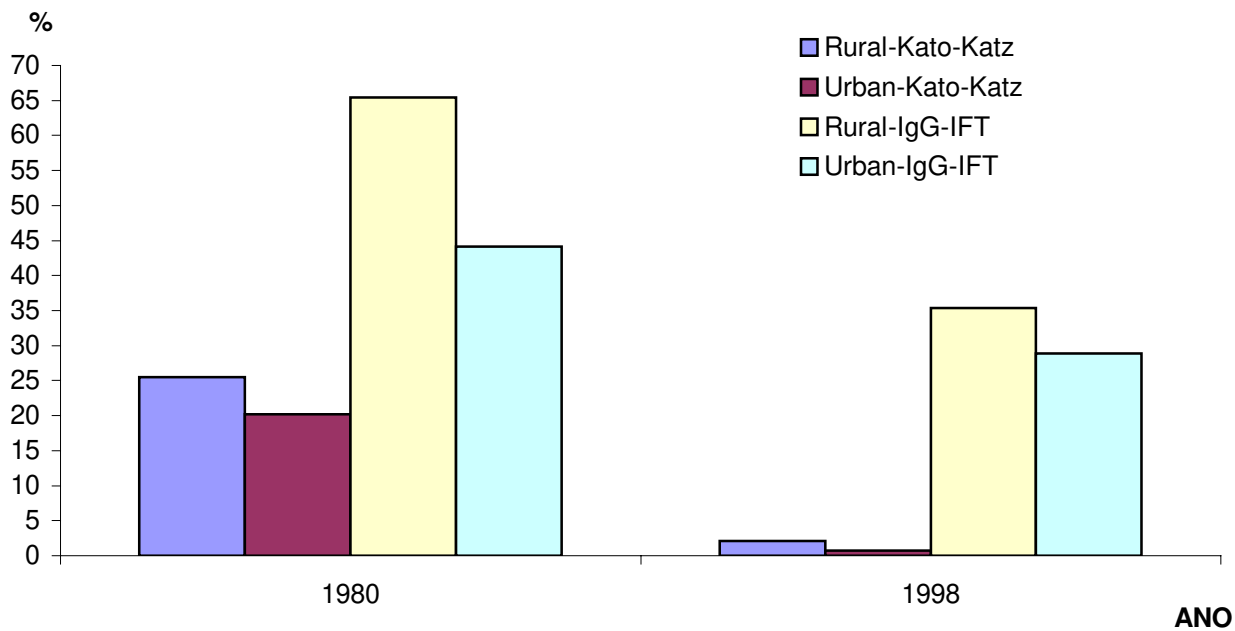


Figura 3 - Coeficientes de prevalência para a esquistossomose mansoni pelos métodos de Kato-Katz e imunofluorescência indireta (RIF-IgG), de acordo com a zona de residência e sexo, em 1980 e 1998, no município de Pedro de Toledo, São Paulo.

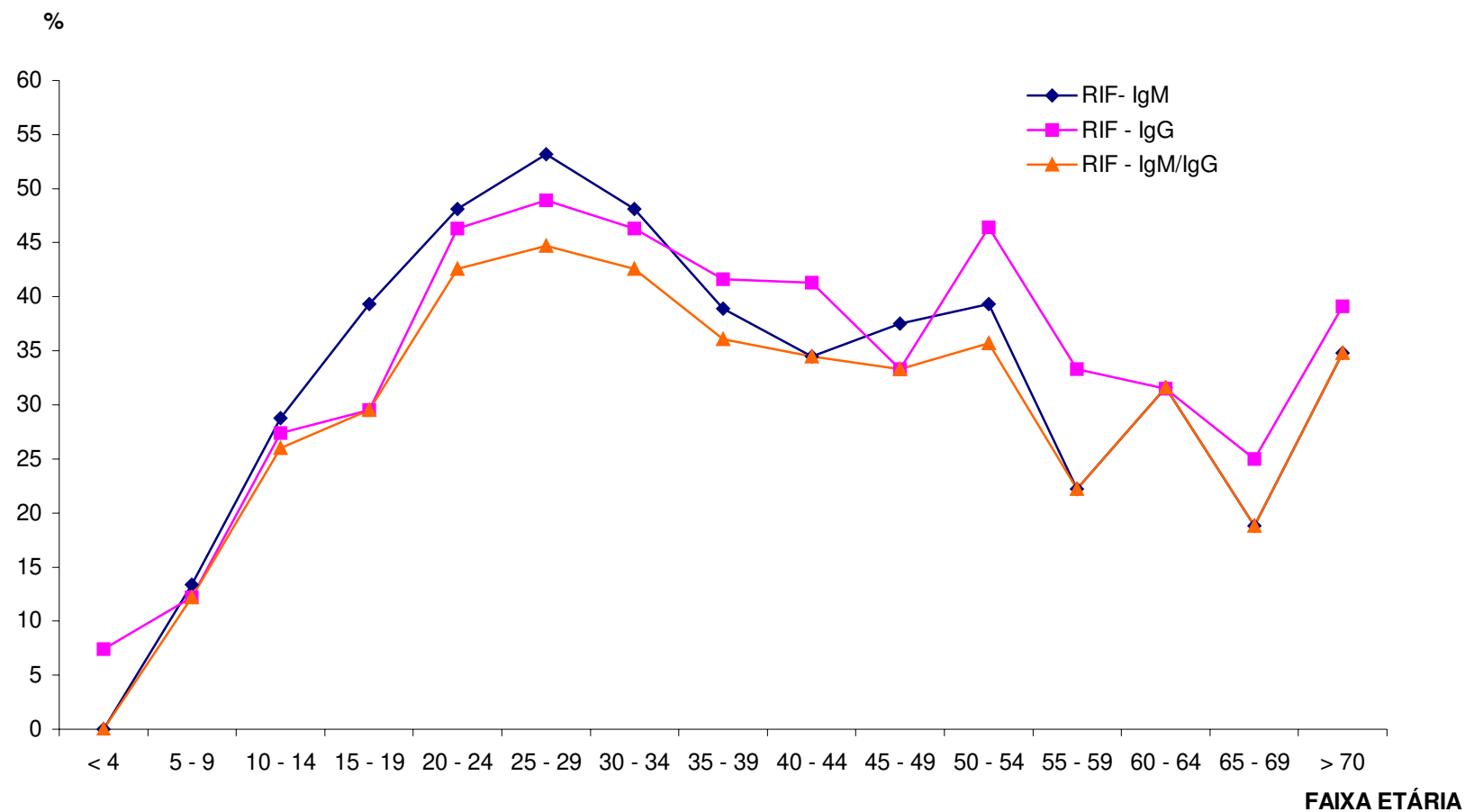


Figura 4 - Coeficientes de prevalência para esquistossomose mansoni pela imunofluorescência indireta (RIF-IgG, RIF-IgM), em 1998, de acordo com a faixa etária, em 581 habitantes do município de Pedro de Toledo, São Paulo.

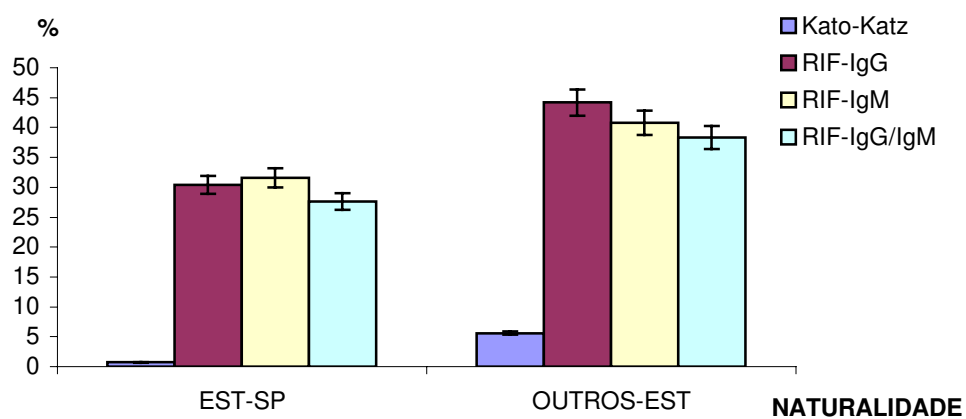
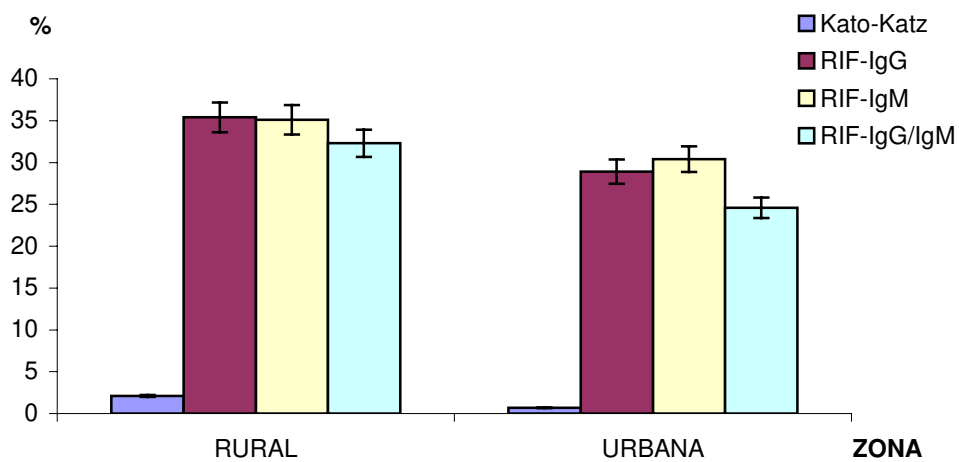
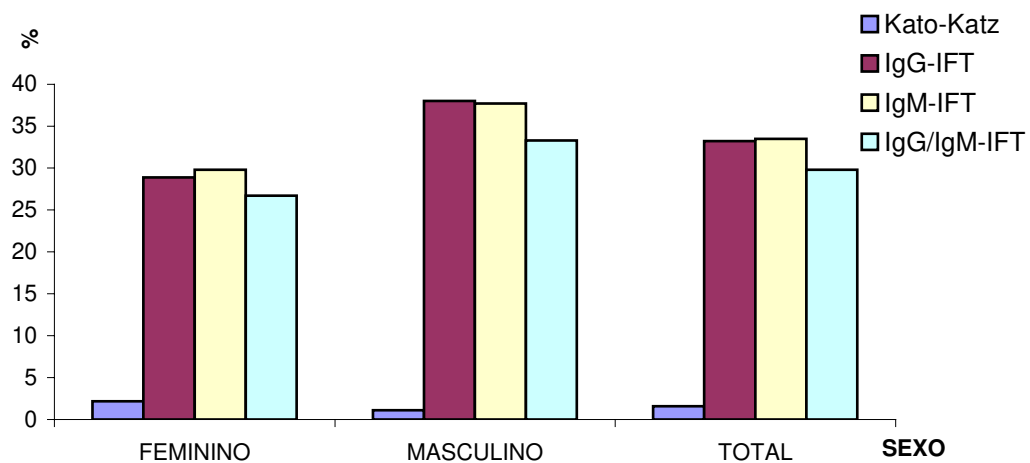


Figura 5. Coeficientes de prevalência para esquistosomose mansoni pelos métodos de Kato-Katz e imunofluorescência indireta (RIF-IgG, RIF-IgM) em 1998, de acordo com o sexo, zona de residência e naturalidade, no município de Pedro de Toledo, São Paulo.

Tabela 1. Análise comparativa dos resultados obtidos pela RIF-IgG, em relação ao Kato-Katz e RIF-IgM, em habitantes de Pedro de Toledo, 1998.

Outros Métodos		RIF-IgG			Índice Kappa
		Positivo	Negativo	Total	
Kato – Katz	Positivo	10	0	10	0,083
	Negativo	148	323	471	
RIF-IgM	Positivo	176	22	198	0,84
	Negativo	20	373	393	

OBS.: Os valores do coeficiente Kappa próximos a +1 indicam total concordância entre os métodos e valores próximos a –1 indicam total discordância. Valores de Kappa maiores que 0,75 representam ótima concordância e valores abaixo de 0,40 indicam fraca concordância. Os valores do intervalo de 0,40 a 0,75 representam uma concordância intermediária.

Tabela 2. Intensidade de infecção por *Schistosoma mansoni*, *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, pelo método de Kato-Katz, com média geométrica do número de ovos por grama de fezes (opg), em habitantes de Pedro de Toledo, 1998 (Rey 1991; WHO 1993).

Intensidade de Infecção	Helmintos								
	<i>S. mansoni</i>			<i>A. lumbricoides</i>			<i>T. trichiura</i>		
	Nº	%	opg	Nº	%	opg	Nº	%	opg
Leve	9	75,0	22,6	88	51,2	1.352	87	89,7	169
		(42,8-93,3)			(43,5-58,8)			(81,4-94,7)	
Moderada	2	16,7	128	21	12,2	7.466	10	10,3	2503
		(2,9-49,1)			(7,9-18,3)			(5,3-118,6)	
Intensa	1	8,3	856	63	36,6	10.850	0	0	0
		(0,4-40,2)			(29,5-44,3)				
Total	12	100	40,9	172	100	-	97	100	649

OBS.: (*) I.C. = intervalo de confiança com 95%.

(**) Acima de 11.040 opg não foi realizada contagem.

Tabela 3. Índices de prevalência para esquistossomose mansoni, pelos métodos de imunofluorescência indireta (RIF-IgG e RIF-IgM), em habitantes de Pedro de Toledo, São Paulo, 1998.

Método Imunológico	PREVALÊNCIA			
	População		Grupo Controle	
	Nº de examinados = 591		Nº de examinados = 50	
	Positivos	%	Positivos	%
RIF-IgG	196	33,2 (29,4 – 37,1)	2	4,0 (0,70 – 14,8)
RIF-IgM	198	33,5 (29,7 – 37,5)	1	2,0 (0,10 – 12,0)
RIF-IgM/IgG	176	29,8 (26,2 – 33,7)	1	2,0 (0,10 – 12,0)

OBS.: I.C. = intervalo de confiança com 95%.