

## Utilização de método sorológico como ferramenta diagnóstica para implementação da vigilância e controle da esquistossomose no Município de Holambra, São Paulo, Brasil

Serology as a diagnostic tool for surveillance and control of schistosomiasis in Holambra, São Paulo State, Brazil

Cybele Gargioni <sup>1</sup>

Rita Maria da Silva <sup>1</sup>

Célia Maria Thomé <sup>2</sup>

Celma Maria da Silva Quadros <sup>1</sup>

Hermínia Yohko Kanamura <sup>3</sup>

### Abstract

*The present study aimed to evaluate the incorporation of the immunofluorescence test (IFT) with adult parasite paraffin sections as antigen substrate for the detection of IgM antibodies (IgM-IFT), as a diagnostic method in the schistosomiasis control program in the county (municipality) of Holambra, São Paulo State, Brazil. This city was selected for this study based on its low endemicity for schistosomiasis, the first cases having been reported in 1993, and because of the need to implement a control program with more sensitive diagnostic techniques. 202 individuals underwent IgM-IFT, with 48 serologically positive cases; of these, 28 were tested with the Kato-Katz technique, using three stool samples. Schistosoma mansoni eggs were found in 14 individuals, with egg counts varying from 2.7 to 224 per gram of stool. The results indicate the potential usefulness of IgM-IFT as a screening test, subject to subsequent confirmation using a parasitological method, in low-endemic areas for schistosomiasis.*

*Schistosomiasis; Serology; Communicable Disease Control*

### Introdução

Desde os primórdios da civilização, a espécie humana convive com a infecção pelo trematódeo *Schistosoma mansoni*, agente causal da esquistossomose. Apesar de sua atual baixa morbidade no Brasil, esta parasitose continua a constituir importante problema de saúde pública, tendo em vista seu potencial de expansão. Observa-se ampliação de sua área de transmissão, com o surgimento de focos de esquistossomose em áreas antes consideradas indenes, como os descritos na área metropolitana de Porto Alegre, no Estado do Rio Grande do Sul <sup>1</sup>. Nos últimos anos, tem-se relatado a urbanização da doença, com surgimento de casos autóctones nas regiões periurbanas das grandes cidades brasileiras <sup>2</sup>. No Estado de São Paulo, a esquistossomose se constituiu em problema de saúde pública, principalmente nas regiões do Vale do Rio Paraíba do Sul, Vale do Rio Ribeira de Iguape, Baixada Santista, Litoral Sul, Vale do Rio Paranapanema, Grande São Paulo e região de Campinas <sup>3</sup>.

O diagnóstico laboratorial da doença pode ser feito através do exame parasitológico de fezes, biópsia retal, determinação e identificação de antígenos e anticorpos e determinação de indicadores bioquímicos e patológicos, que estão associados à infecção pelo *S. mansoni*. As técnicas parasitológicas de fezes variam consideravelmente quanto à sensibilidade, dependendo da quantidade de fezes examinadas, do número

<sup>1</sup> Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Saúde do Município de Holambra, Holambra, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade de Taubaté, Taubaté, Brasil.

#### Correspondência

C. Gargioni

Serviço de Parasitologia, Instituto Adolfo Lutz.

Av. Dr. Arnaldo 351, 8º andar, São Paulo, SP 01246-902, Brasil. cgargion@ial.sp.gov.br

de ovos excretados e de fatores inerentes à perda intrínseca durante a realização do procedimento. Logo, a dificuldade do diagnóstico por meio de um único exame de fezes torna essas metodologias parasitológicas pouco práticas, tendo em vista sua baixa sensibilidade diagnóstica, principalmente em inquéritos epidemiológicos, mas também no diagnóstico individual de paciente com baixa carga parasitária <sup>4</sup>.

Apesar da comprovada vantagem das técnicas sorológicas sobre as técnicas parasitológicas no diagnóstico da esquistossomose <sup>5,6,7,8</sup>, aquelas ainda não fazem parte da rotina diagnóstica dos laboratórios privados, nem dos laboratórios de saúde pública, e seu uso não é parte integrante da maioria dos programas de controle de esquistossomose. Esse fato se deve à falta de reagentes imunodiagnósticos comerciais, de aplicação prática na esquistossomose.

Em estudos epidemiológicos no Estado de São Paulo, diferentes antígenos têm sido usados na reação de imunofluorescência (RIF): antígeno particulado de verme adulto <sup>9</sup>, cortes congelados de verme adulto <sup>5</sup> e cortes parafinados de verme adulto para pesquisa de IgM contra antígenos presentes no tubo digestivo do parasita <sup>10</sup>. Em estudo de acompanhamento sorológico de babuínos <sup>11</sup>, anticorpos IgM contra antígenos presentes no tubo digestivo do verme foram detectados pela RIF a partir da segunda semana de infecção, enquanto anticorpos IgG, usando a técnica ELISA, a partir da quarta semana. Ao contrário do que ocorre nas infecções causadas por vírus e protozoários, em que a presença de anticorpos IgM é considerada marcador sorológico de fase aguda, na esquistossomose, anticorpos IgM podem ser encontrados tanto na infecção recente como na crônica <sup>12</sup>.

A estância turística de Holambra, município onde este estudo foi realizado, localiza-se na área de abrangência da regional de Campinas, uma das áreas do Estado de São Paulo conhecida como sendo de transmissão ativa de esquistossomose. Entre 1993 e 2002, foram diagnosticados 119 casos de esquistossomose no município, e moluscos infectados pelo *S. mansoni* foram encontrados em uma localidade rural do município. Este achado constituiu-se em um fato preocupante, pois em Holambra a agricultura tem mantido uma intrincada rede de coleções hídricas, o que favoreceria fortemente a transmissão da esquistossomose. Na época, a análise da situação epidemiológica da esquistossomose na cidade sugeria a possibilidade de ter havido subestimação do número de casos notificados, pois o diagnóstico tinha sido feito pelo método de Kato-Katz, a partir do resultado de apenas uma amostra de fezes, uma combinação sabidamente

insuficiente para detecção de grande parte dos casos, em uma área de baixa endemicidade para esquistossomose.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a incorporação da reação de imunofluorescência, utilizando como substrato antigênico cortes parafinados de vermes adultos para pesquisa de anticorpos IgM (RIF-IgM), no programa de controle da esquistossomose do Município de Holambra. O município foi selecionado para este estudo em virtude de ser caracteristicamente área de baixa endemicidade para esquistossomose, onde a maioria dos indivíduos infectados apresenta baixa carga parasitária, e de ter a necessidade de implementar o programa com técnicas diagnósticas mais sensíveis.

## Material e métodos

### Área de estudo

A estância turística de Holambra situa-se na região centro-leste do Estado de São Paulo, a 145km da capital do estado, a 22°37'59" de latitude sul e 47°03'20" de longitude oeste, na área de abrangência da regional de Campinas. O território, de aproximadamente 65km<sup>2</sup>, é banhado pelos rios Jaguari, Camanducaia e Pirapitingui, além de diversos córregos e riachos, que se estendem num relevo relativamente plano, com uma altitude média de 600m. Com uma população de cerca de 10 mil habitantes, a economia do município é baseada na agropecuária, cujas atividades têm proporcionado a criação e manutenção de uma intrincada rede de coleções hídricas, favorável à transmissão da esquistossomose. Entre 1993 e 2002, foram diagnosticados 119 casos de esquistossomose no município, incluindo oito moradores de municípios vizinhos que trabalham em empresas holambrenses. Moluscos infectados por *S. mansoni* foram encontrados na localidade rural do Fundão, após trabalho de rotina, dentro do Programa de Controle da Esquistossomose, desenvolvido pela Superintendência do Controle de Endemias (SUCEN) da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

### Coleta de material

As amostras de fezes e de sangue venoso foram coletadas pela equipe de campo do Departamento de Saúde do Município de Holambra. A cada participante da pesquisa foi entregue o *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido* para ser lido e assinado. Lâminas com esfregaços fecais foram preparadas pela equipe de campo, de acordo com a técnica de Kato-Katz <sup>13</sup>, e en-

caminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Instituto Adolfo Lutz para exame. Amostras de soro foram encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz e submetidas à RIF-IgM. Um total de 202 amostras de soro foi coletado de: (a) indivíduos residentes em áreas com risco de transmissão de esquistossomose; (b) familiares de pacientes com diagnóstico confirmado e (c) indivíduos com história de contato com coleções hídricas com risco potencial de transmissão de esquistossomose. Amostras de fezes foram coletadas de 48 indivíduos identificados como positivos pela RIF-IgM, tendo sido solicitadas três amostras de cada indivíduo.

### Reação de imunofluorescência

Vermes adultos foram obtidos de hamsters por técnica de perfusão, após seis a sete semanas de infecção com cercárias de *S. mansoni*. Depois de lavagem com solução salina fisiológica, os vermes adultos machos foram fixados em solução de Rossman por duas horas e desidratados, segundo metodologia convencional, e incluídos em Paraplast (Monoject Scientific, St. Louis, Estados Unidos), para obtenção de cortes histológicos, segundo metodologia já descrita<sup>6,14</sup>. As amostras de soro, diluídas a 1/10 com solução salina tamponada com fosfatos, foram adicionadas sobre os cortes de vermes e incubadas por 45 minutos a 37°C. O conjugado anti-IgM foi diluído em solução salina tamponada com fosfatos contendo 2mg% de azul de Evans, de acordo com seu título ótimo, previamente determinado. As leituras foram feitas no microscópio de fluorescência, em aumento de cem vezes. Somente a fluorescência do tubo digestivo foi considerada como positiva. Para cada lâmina foram adicionados soros padrões negativo e positivo.

### Exame de fezes

Foi realizado segundo técnica de Kato-Katz, preparando-se três lâminas por amostra, três amostras por paciente, apenas naqueles com sorologia positiva para esquistossomose. A carga parasitária foi avaliada determinando-se o número de ovos por grama de fezes. As mesmas amostras fecais foram também submetidas à técnica de Ritchie<sup>15</sup>, examinando-se duas lâminas do sedimento por amostra, totalizando seis lâminas por indivíduo.

### Análise dos resultados

A intensidade de infecção para ovos de *S. mansoni*, nos casos positivos pela técnica de Kato-Katz, foi estimada por meio do número de ovos por

grama de fezes, multiplicando-se o número de ovos encontrados em cada lâmina por 24, como descrito por Katz et al.<sup>13</sup>, calculando-se a média aritmética obtida em cada amostra e, a seguir, a média aritmética das três amostras avaliadas de cada indivíduo. A intensidade de infecção na população estudada foi avaliada calculando-se a média geométrica das contagens de ovos dos pacientes positivos.

### Aspectos éticos

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz.

### **Resultados**

Das 202 amostras submetidas à RIF-IgM, 48 apresentaram resultado positivo para anticorpos IgM anti-*S. mansoni*. Destes 48, para os quais foram solicitadas três amostras de fezes coletadas em dias alternados, apenas 28 entregaram as três amostras fecais e foram submetidos à técnica de Kato-Katz, examinando-se uma a três lâminas por amostra. Os demais vinte casos com sorologia positiva não entregaram as três amostras de fezes e, embora alguns deles tenham encaminhado para exame uma ou duas amostras fecais, foram negativos para ovos de *S. mansoni* e os resultados não foram incluídos neste estudo.

Dos 28 indivíduos avaliados pela técnica de Kato-Katz, ovos de *S. mansoni* foram encontrados em 14, com média geométrica de 11,1 ovos por grama (Tabela 1). Apenas três indivíduos, entre os 28 avaliados, apresentaram carga parasitária média acima de 100 ovos por grama (casos 4, 5 e 12, respectivamente com 136, 147 e 224 ovos por grama), destacando-se dos demais que apresentaram cargas parasitárias extremamente baixas; nestes, a carga parasitária variou de 2,7 a 24 ovos por grama, com média geométrica de 5,3 ovos por grama.

Das 25 amostras de fezes também submetidas à técnica de Ritchie, apenas sete foram positivas para ovos de *S. mansoni*, contra 11 pela técnica de Kato-Katz. Com relação a outras espécies de helmintos, uma amostra foi positiva para *Strongyloides stercoralis* e uma para *Hymenolepis nana*; quanto a protozoários, foram detectados *Blastocystis hominis* (16 casos), *Endolimax nana* (4 casos), *Entamoeba coli* (3 casos), *Entamoeba histolytica* (1 caso) e *Iodamoeba butschlii* (1 caso).

Tabela 1

Número de ovos de *Schistosoma mansoni* encontrados por lâmina examinada (L1, L2, L3), média aritmética do número de ovos por grama em cada amostra fecal, média aritmética das três amostras de fezes (A, B, C) de cada paciente e média geométrica do número de ovos por grama de fezes dos 14 casos positivos pela técnica de Kato-Katz.

Caso	Amostra de fezes												Ovos por grama	Idade
	A			B			C							
L1	L2	L3	Ovos por grama	L1	L2	L3	Ovos por grama	L1	L2	L3	Ovos por grama	Ovos por grama		
1	N	N	N	0	N	N	N	0	1	N	N	8	2,7	46
2	N	N	N	0	N	N	N	0	3	2	4	72	24,0	20
3	N	N	1	8	N	N	1	8	N	N	N	0	5,3	14
4	3	4	11	144	2	1	5	64	1	5	19	200	136,0	27
5	2	4	15	168	2	2	14	144	N	N	16	128	146,7	20
6	N	N	N	0	N	N	N	0	N	N	1	8	2,7	11
7	N	N	N	0	N	N	N	0	N	N	1	8	2,7	10
8	N	N	N	0	N	N	1	8	N	N	3	24	10,7	24
9	N	N	1	8	N	N	1	8	1	N	N	8	8,0	24
10	1	1	N	16	N	1	N	8	N	N	N	0	8,0	21
11	N	N	N	0	1	N	N	8	1	N	N	8	5,3	8
12	8	NR	NR	192	11	NR	NR	264	9	NR	NR	216	224,0	14
13	N	NR	NR	0	N	N	N	0	1	N	N	8	2,7	45
14	1	N	NR	12	N	N	NR	0	N	N	NR	0	4,0	44
Média geométrica												11,1		

N: negativo para ovos de *S. mansoni*; NR: não realizado.

## Discussão

No Estado de São Paulo, a esquistossomose mansônica é uma doença de notificação compulsória, cujas ações de controle iniciaram-se oficialmente em 1968, com a criação da CACESQ (Campanha de Combate à Esquistossomose), passando posteriormente a ser coordenadas pela SUCEN, que constitui um órgão autárquico da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. O Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose do Estado de São Paulo (PCE-SP), revisado em 1989 pela SUCEN, encontra-se hoje em processo de reformulação, sob coordenação da Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar do Centro de Vigilância Epidemiológica (DTHA/CVE) da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo<sup>3</sup>.

Em geral, nos programas de controle da esquistossomose no Brasil, o exame parasitológico de fezes vem sendo utilizado como método único para selecionar os indivíduos a serem submetidos à quimioterapia. No entanto, nas áreas onde a doença é de pouca gravidade, com manifestações leves e pouco específicas, como acontece nas áreas endêmicas do Estado de São Paulo, a maioria dos portadores elimina pequeno número

de ovos do parasito, ou seja, menos de cem ovos por grama de fezes. Assim, quando se emprega somente o método parasitológico de fezes para diagnosticar a esquistossomose, a prevalência real da doença fica subestimada, tendo em vista a baixa eficiência desse método para detectar casos com pequeno número de ovos<sup>5,16,17</sup>. Isso ocorre por causa da baixa sensibilidade dos métodos parasitológicos, que dependem diretamente da quantidade de fezes examinadas e do número de ovos eliminados pelo portador<sup>4,16,18</sup>.

Entre os métodos parasitológicos já empregados em estudos populacionais, destaca-se a técnica de Kato-Katz<sup>13</sup>, que tem sido muito utilizada em inquéritos epidemiológicos, por apresentar facilidades operacionais e por possibilitar a estimativa das cargas parasitárias; outro método também preconizado para utilização em trabalhos de campo, tendo demonstrado bons níveis de sensibilidade, facilidade de manuseio em campo e baixo custo, dispensando a utilização do microscópio, é a técnica de eclosão de mirácidos, que tem sido também recomendada para avaliação de cura após tratamento, em estudos clínicos<sup>19,20,21</sup>. No presente estudo, optou-se por utilizar concomitantemente os métodos de Kato-Katz<sup>13</sup> e o de Ritchie<sup>15</sup>, este último por possibili-

tar a detecção também de cistos de protozoários e larvas de helmintos.

A baixa eficiência diagnóstica dos métodos parasitológicos, quando aplicados em indivíduos com carga parasitária pequena, estimulou a pesquisa de metodologias alternativas de diagnóstico, de execução simples e rápida, que sirvam de apoio confiável a programa de vigilância epidemiológica em áreas onde, apesar dos esforços no controle, ainda continua havendo transmissão de novos casos de esquistossomose, de autoctonia comprovada.

Como o objetivo do presente estudo não era o de determinar a prevalência da doença no município, e sim o de identificar o maior número possível de indivíduos infectados, o método sorológico foi aplicado de forma a contemplar a população residente nas áreas de risco de transmissão ou expostas ao risco de infecção, principalmente por atividades de lazer na água. O método sorológico possibilitaria detectar os casos que não seriam identificados com a metodologia hoje preconizada para o programa de controle da esquistossomose, qual seja o exame parasitológico em uma única amostra de fezes por indivíduo, duas lâminas de Kato-Katz por amostra. Assim, em vez de executar exames de fezes em apenas uma amostra fecal dos 202 indivíduos envolvidos neste estudo, 48 foram previamente identificados como positivos por método sorológico e posteriormente submetidos a exame parasitológico; este foi realizado de forma exaustiva nos 28 indivíduos, que entregaram as três amostras fecais, procurando-se examinar três lâminas de Kato-Katz por amostra, portanto nove lâminas por paciente.

A escolha da reação de imunofluorescência indireta em cortes parafinados de vermes adultos para pesquisa de anticorpos IgM (RIF-IgM), como teste sorológico para triagem dos casos a serem submetidos a exames parasitológicos de fezes, foi baseada nos bons índices de sensibilidade e especificidade demonstrados por esta reação em trabalhos anteriores, em diferentes áreas de baixa endemicidade para esquistossomose no Estado de São Paulo<sup>6,8,10</sup>, inclusive quando avaliada em grupos de crianças em idade escolar, na região de Campinas<sup>22</sup>.

Como mostra a Tabela 1, dos 14 casos detectados pela técnica de Kato-Katz, 11 apresentaram cargas parasitárias extremamente baixas, de difícil detecção nos inquéritos epidemiológicos realizados com apenas uma amostra de fezes. Em quatro casos, ovos de *S. mansoni* foram encontrados apenas em uma das amostras fecais, e em três deles, apenas uma lâmina das nove avaliadas apresentou um único ovo do parasito, confir-

mando a dificuldade de se efetuar o diagnóstico por método parasitológico de fezes em pacientes de áreas endêmicas semelhantes à de Holambra.

Vinte e cinco pacientes foram também submetidos ao método de Ritchie, examinando-se duas lâminas por amostra, portanto seis lâminas por paciente, tendo sido identificados sete indivíduos infectados por *S. mansoni*. Neste grupo, o método de Kato-Katz detectou 11 casos de esquistossomose, demonstrando boa eficiência diagnóstica para detecção de ovos de *S. mansoni*, mas a comparação entre os dois métodos fica prejudicada, pois neste último foram examinadas nove lâminas por paciente, contra seis pelo método de Ritchie. Entretanto, vale salientar a importância de se incluir no presente estudo este segundo método parasitológico de fezes, que permitiu a detecção de espécies parasitárias não detectadas pelo método de Kato-Katz, como os helmintos *S. stercoralis* e *H. nana*, além dos protozoários em geral.

A possibilidade de selecionar previamente os indivíduos a serem submetidos ao exame de fezes, pela utilização de uma técnica sorológica comprovadamente mais sensível, permite confirmar a infecção através da insistência do exame parasitológico em mais de uma amostra fecal e determinar uma taxa de prevalência mais próxima da realidade. Entretanto, continua ainda o problema de como proceder com os indivíduos sorologicamente positivos, mas que não apresentaram ovos nas fezes, mesmo com o exame de três amostras. Incluídos entre estes casos estariam os indivíduos anteriormente infectados por *S. mansoni*, mas devidamente tratados e curados, ou ainda aqueles que se expuseram a cargas de cercária muito pequenas ou unissexuadas, suficientes para indução de resposta imunológica contra os antígenos do parasito, mas não para produzir infecção ativa com presença de ovos nas fezes. Assim, recomenda-se o tratamento dos indivíduos positivos no teste sorológico apenas após confirmação da infecção por exame parasitológico, tendo em vista persistência de anticorpos circulantes em indivíduos com infecção passada, possibilidade de reações cruzadas com antígenos de cercárias de vida livre ou que infectam outros animais, ou mesmo com antígenos de espécies parasitárias, filogeneticamente próximas a *S. mansoni*.

Os resultados observados no presente estudo indicam a potencialidade da RIF-IgM como método de triagem, para posterior confirmação exaustiva por método parasitológico, e recomendam sua possível incorporação nos programas de controle da esquistossomose em áreas de baixa endemicidade.

## Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar a incorporação da reação de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos IgM (RIF-IgM) como método diagnóstico no programa de controle da esquistossomose do Município de Holambra, Estado de São Paulo, Brasil. O município foi selecionado para este estudo considerando-se a notificação dos primeiros casos de esquistossomose a partir de 1993 e a necessidade do município de implementar o programa com técnicas diagnósticas mais sensíveis, tendo em vista ser caracteristicamente área de baixa endemicidade. Duzentos e dois indivíduos foram submetidos à RIF-IgM, dos quais 48 apresentaram-se positivos, sendo 28 destes submetidos à técnica de Kato-Katz, examinando-se três amostras de fezes. Ovos de *Schistosoma mansoni* foram encontrados em 14, com carga parasitária variando de 2,7 a 224,0 ovos por grama de fezes. Os resultados indicam a potencialidade da RIF-IgM como método de triagem, para posterior confirmação exaustiva por método parasitológico, em áreas de baixa endemicidade.

*Esquistossomose; Sorologia; Controle de Doenças Transmissíveis*

## Colaboradores

Todos os autores participaram da concepção e delineamento do estudo. C. M. Thomé contribuiu no planejamento do trabalho de campo, coordenando a coleta de material. C. M. S. Quadros colaborou na execução dos testes laboratoriais. C. Gargioni e R. M. Silva coordenaram a execução e interpretação dos testes laboratoriais e revisão do texto. H. Y. Kanamura teve participação na interpretação e discussão dos resultados, revisão do texto e a elaboração da versão final para publicação.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Dra. Marisa S. Soares do Departamento de Biologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, pelas inestimáveis sugestões; a Sílvia G. Chiodelli, Jefferson Sabino Rodrigues, Jane Aparecida Scopin Batista e Sumaia Abdalla Buchidid, pelo apoio técnico na execução dos testes sorológicos e dos exames parasitológicos de fezes, e a equipe da Secretaria de Saúde do Município de Holambra, pela coleta de material no campo.

## Referências

1. Graeff-Teixeira C, Anjos CB, Oliveira VC, Velloso CFP, Fonseca MBS, 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 1999; 94:9-10.
2. Katz N, Peixoto SV. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 2000; 33:303-8.
3. Souza D, Kanamura HY, Ciaravolo RMC, Gargioni C, Falcão ACMG, Eduardo MBP, et al. Esquistossomose no Estado de São Paulo: aspectos epidemiológicos. Boletim Epidemiológico Paulista 2005; 18:2-8.
4. Engels D, Sinzinkayo E, Gryseels B. Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. Am J Trop Med Hyg 1996; 54:319-24.
5. Dias LCS, Kanamura HY, Hoshino-Shimizu S, Glasser CM, Carvalho JF, Silva LC. Field trials for immunodiagnosis with reference to *Schistosoma mansoni*. In: Bergquist NR, editor. Immunodiagnostic approaches in schistosomiasis. London: John Wiley and Sons; 1992. p. 39-47.
6. Kanamura HY, Dias LCS, Glasser CM, Silva RM, Patucci RMJ, Chiodelli SG, et al. Detection of IgM antibodies to *Schistosoma mansoni* gut-associated antigens for the study of the dynamics of schistosomiasis transmission in a low endemic area. Rev Inst Med Trop São Paulo 1998; 40:225-31.
7. Oliveira EJ, Kanamura HY, Dias LCS, Soares LCB, Lima DMC, Ciaravolo RMC. ELISA-IgM para diagnóstico da esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade. Cad Saúde Pública 2003; 19:255-61.
8. Soares LCB, Dias LCS, Kanamura HY, Oliveira EJ, Ciaravolo RMC. Schistosomiasis mansoni: follow-up of control program based on parasitologic and serologic methods in a Brazilian community of low endemicity. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98 Suppl 6:853-9.
9. Dias LCS, Camargo ME, Hoshino-Shimizu S, Ramos AA, Toledo-Piza J, Silva LC. Inquéritos populacionais de esquistossomose mansoni por técnicas sorológicas de imunofluorescência e de hemaglutinação. Rev Inst Med Trop São Paulo 1971; 13:37-44.

10. Kanamura HY, Dias LCS, Glasser CM, Silva RM, Neves VLFC, Gargioni C, et al. Estudo de anticorpos IgM para vigilância epidemiológica da esquistossomose em área de baixa endemicidade. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2001; 60 Suppl 1:1-10.
11. Kanamura HY, Silva RM, Garcia ET, Chiodelli SG, Velloso SAG, Gargioni C, et al. IgM and IgG antibody response in the primary and secondary *Schistosoma mansoni* infections in baboons. In: *Anais do 6º Simpósio Internacional sobre esquistossomose e Reunião Nacional sobre esquistossomose*. Belo Horizonte: Fundação Oswaldo Cruz; 1997. p. 95.
12. Oliveira EJ, Kanamura HY, Lima DMC. Efficacy of an enzyme-linked immunosorbent assay as a diagnostic tool for schistosomiasis mansoni in individuals with low worm burden. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100 Suppl 4:421-5.
13. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1972; 14:397-400.
14. Deelder AM, Zeylvar RJM, Fillié YE, Rotmans JP, Duchenne W. Recognition of gut-associated antigens by immunoglobulin M in the indirect fluorescent antibody test for schistosomiasis mansoni. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1989; 83:364-7.
15. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bull U S Army Med Dep* 1948; 8:326.
16. DeVlas SJ, Gryssels B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. *Parasitol Today* 1992; 8:274-7.
17. Noya BA, Balzan C, Artega C, Cesari I, Noya O. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: features and evolution. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; 94:139-46.
18. Barreto ML, Smith DH, Sleight AC. Implications of faecal egg count variation when using the Kato-Katz method to assess *Schistosoma mansoni* infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990; 84:554-5.
19. Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. Alexandre Vranjac. *Vigilância epidemiológica e controle da esquistossomose. Normas e instruções*. [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve\\_manual.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_manual.htm) (acessado em 01/Jul/2007).
20. Rey L. *Parasitologia*. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2001.
21. Siqueira JG, Reys AM, Ormino R, Azevedo AM. Eclosão de miracídeos como método diagnóstico e de avaliação terapêutica da esquistossomose mansônica. *Rev Bras Malariol Doenças Trop* 1981; 33:86-95.
22. Lima VLC, Guercio VMF, Rangel O, Kanamura HY, Dias LCS. Immunofluorescence test on *Schistosoma mansoni* worm paraffin sections (IgM-IFT) for the study of schistosomiasis transmission in Campinas, São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998; 93:283-8.

---

Recebido em 14/Dez/2006

Versão final reapresentada em 02/Jul/2007

Aprovado em 24/Jul/2007