

CENTRO UNIVERSITÁRIO TIRADENTES - UNIT

CURSO BACHARELADO EM BIOMEDICINA

LEYLA MARIA ARAÚJO LIMA

WIKNISLÂNDIA SAMILIS LOURENÇO DA SILVA

**A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR NA ELIMINAÇÃO
DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM ÁREA DE BAIXA
ENDEMICIDADE.**

Maceió-AL

2017

LEYLA MARIA ARAÚJO LIMA

WIKNISLÂNDIA SAMILIS LOURENÇO DA SILVA

**A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR NA ELIMINAÇÃO
DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM ÁREA DE BAIXA
ENDEMICIDADE.**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para
obtenção do Grau de Bacharel no Curso de
Biomedicina do Centro Universitário Tiradentes -
UNIT.

Orientador: Prof. Drº Rafael Vital dos Santos

Maceió-AL

2017

LEYLA MARIA ARAUJO LIMA

WIKNISLÂNDIA SAMILIS LOURENÇO DA SILVA

**A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO MOLECULAR NA ELIMINAÇÃO
DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM ÁREA DE BAIXA
ENDEMICIDADE.**

Data de defesa:

BANCA EXAMINADORA:

Profº. Msc. Wendell Alexandre Pinheiro de Almeida
Centro Universitário Tiradentes - UNIT
Avaliador

ProfºMscCristhianoSibaldo de Almeida
Centro Universitário Tiradentes - UNIT
Avaliador

Profº Dr. Rafael Vital dos Santos
Centro Universitário Tiradentes - UNIT Orientador

A importância do diagnóstico molecular na eliminação da esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade.

Wiknislândia Samilis Lourenço da Silva¹; Leyla Maria Araújo Lima¹; Rafael Vital dos Santos².

1. Graduanda em Biomedicina do Centro Universitário Tiradentes - UNIT

2. Professor Adjunto I do Centro Universitário Tiradentes - UNIT

RESUMO

A esquistossomose está distribuída em várias regiões tropicais do globo especialmente nos continentes americano e africano com prevalência mundial estimada de 207 milhões de indivíduos. No Brasil o número de casos tem sido estimado entre cinco e seis milhões de habitantes infectados, oscilando as taxas de prevalência de estado para estado com crescimento territorial, sendo observados casos em quase todos os estados brasileiros, independentemente da existência de focos de transmissão. O objetivo do presente estudo foi atualizar sobre os aspectos de diagnóstico em áreas endêmicas, com foco no diagnóstico molecular para detecção de indivíduos com baixas cargas parasitárias, colaborando para a eliminação do *Schistosoma mansoni* em áreas endêmicas. Para tal, foi realizado busca de dados nas bases de dados MEDLINE, LILACS, SCIELO e livros-textos em português, espanhol e inglês, por meio dos seguintes descritores: “esquistossomose”, “endemicidade” e diagnóstico molecular”, combinados entre si. O método de Kato-Katz apresenta limitação na execução do método em amostras diarréicas, causando baixa reprodutibilidade entre amostras tornando-se menos adequado para o controle da transmissão. O diagnóstico da esquistossomose é baseada na amplificação de uma sequência de DNA altamente repetitiva encontrada no genoma de *S. mansoni* sendo avaliada para detecção de DNA do parasito em amostra de fezes humanas e foi avaliada em áreas endêmicas, sendo capaz de detectar um fentograma de DNA de *S. mansoni*. O diagnóstico molecular é a forma mais eficaz para a detecção do *Schistosoma mansoni* em áreas endêmicas com a presença de baixa carga parasitária devido a alta sensibilidade e especificidade, sendo relevante para o combate da esquistossomose no contexto da saúde pública.

Palavras-chave: Esquistossomose, endemicidade e molecular.

ABSTRACT

Schistosomiasis is distributed in several tropical regions of the globe especially in the American and African continents with an estimated global prevalence of 207 million individuals. In Brazil, the number of cases has been estimated between five and six million infected inhabitants, ranging from prevalence rates from state to state with territorial growth, being observed cases in almost all Brazilian states, regardless of the existence of transmission foci. In this rationale, the objective of the present study was to update the diagnostic aspects in endemic areas, focusing on molecular diagnostics for the detection of individuals with low parasitic loads, corroborating the elimination of *S. mansoni* in endemic areas. To do this, we searched the MEDLINE, LILACS, SCIELO and textbooks databases in Portuguese, Spanish and English using the following descriptors: "schistosomiasis", "endemicity" and "molecular diagnosis", combined with each other. The Kato-Katz method presents other limitations of method execution in diarrheal samples, non-detection of protozoan cysts and helminth larvae, low reproducibility between samples and applied in a single stool sample, being less suitable for the control of streaming. The PCR reaction for the diagnosis of schistosomiasis is based on the amplification of a highly repetitive DNA sequence found in the *S. mansoni* genome being evaluated for DNA detection of the parasite in a human faecal sample and evaluated in endemic areas, being able to detect a femtogram of *S. mansoni* DNA. Molecular diagnosis is the most effective way for the detection of *S. mansoni* in endemic areas with low parasite load due to high sensitivity and specificity, being relevant for the fight against schistosomiasis in the context of public health.

Key words: Schistosomiasis, endemicity and molecular.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	06
2 METODOLOGIA	08
3 RESULTADO	09
3.1 Impacto da doença no mundo	09
3.2 Impacto da doença no Brasil	09
3.3 Histórico da doença.....	11
3.4 Endemicidade da doença	11
3.5 Controle epidemiológico da doença	12
3.6 Tratamentoemmassa	13
3.7 Diagnostico versus problema na detecção.....	13
3.8 Especificidade e sensibilidadehpjkatokatz e pcr.....	14
3.9 Diagnostico molecular para a doença	15
4 PONTOS NEGATIVOS DA PCR FRENTE AO KATO KATZ	17
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
6 REFERENCIAS.....	19

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose mansônica (EM) é uma enfermidade parasitária causada pelo helminto *Schistosoma mansoni*, sendo uma doença relevante no contexto da saúde pública atual, uma vez que populações pobres e de periferias são os grupos com maior prevalência da doença na população geral.

A ocorrência da EM é bastante significativa no mundo, distribuída em várias regiões tropicais do globo especialmente nos continentes Americano e Africano totalizando mais de 74 países, com prevalência mundial estimada de 207 milhões de indivíduos. Na América Latina é encontrada no Brasil, Venezuela, Porto Rico, Antilhas e Suriname a EM encontra-se distribuída em várias regiões tropicais do globo (CARVALHO et al., 2008;).

No Brasil o número de casos tem sido estimado entre cinco e seis milhões de habitantes infectados, oscilando as taxas de prevalência de estado para estado. A EM continua em seu crescimento territorial, em função das extensões das zonas agrícolas e das áreas irrigadas. Em vista da mobilidade das populações das zonas endêmicas, a presença de pessoas portadoras do parasito é observada em quase todos os estados brasileiros, independentemente da existência de focos de transmissão (REY, 2008).

Em Alagoas, os primeiros registros de sua ocorrência foram efetuados na cidade de Penedo, onde foi encontrado planorbídeos infectados. Posteriormente, a espécie foi descoberta em mais 23 municípios do Estado. Mais recentemente, a presença de *Biophalaria glabrata* foi constatada em municípios do norte do Estado, situados nas bacias hidrográficas dos rios Coruripe, Traípu, Mundaú e Paraíba, onde sucede alta endemicidade da esquistossomose, e ao sul, em Penedo (COUTO, 2005).

A confirmação diagnóstica da esquistossomose é feita, principalmente, pela simples análise de amostras fecais. As técnicas de concentração apresentam maior sensibilidade e, conseqüentemente, são mais utilizadas para confirmação de esquistossomose e outras parasitoses, sendo assim o método

de diagnostico mais usado é a técnica de Kato-kartz, por apresentar baixo custo em relação a técnica PCR e mais conveniente, porém essa técnica tem baixa sensibilidade em relação às áreas de baixa endemicidade (SIQUEIRA et al., 2017).

A técnica de Kato-kartz é um método quantitativo realizado através de observação de lâminas microscópicas. Em indivíduos que possuem baixa carga parasitaria ocasionada pelo número pequeno de ovos eliminado nas fezes há uma maior dificuldade para a realização do diagnóstico pela pouca quantidade de amostra que é examinada 41,7 mg de fezes (KONG et al.,2001).

Muitos programas que fazem o controle da doença utilizam essa técnica o que mascara o índice verdadeiro da doença, principalmente em áreas de indivíduos com baixa carga, portanto aumentando as possibilidades dos falsos negativos, pela baixa quantidade de fezes utilizada para diagnostico. É comprovado cientificamente que a quantidade de ovos de *Schistosoma mansoni* em uma amostra fecal varia mais em dias do que em várias laminas, significando que seria necessária uma quantidade maior de fezes para fazer um diagnóstico mais preciso e avaliar melhor a prevalência da doença (ENKAT et al., 2008; UTZINGER et al., 2001). Neste caso a saúde pública requer o uso de técnicas mais eficazes para que haja um diagnóstico que permita taxas e estimativas da doença que chegue mais próximo da realidade.

As utilizações dos métodos moleculares para a detecção de baixas cargas parasitárias são de alta sensibilidade ao diagnóstico das doenças parasitarias infecciosas, os ensaios de detecção de DNA recentes ganharam destaques por sua eficácia no diagnostico tanto comunitário como também individual da esquistossomose mansônica (HAMBURGUER et al, 1991).

Com base nestas premissas objetivou-se, no presente estudo atualizar sobre os aspectos de diagnóstico em áreas endêmicas, com foco no diagnostico molecular para detecção de indivíduos com baixas cargas parasitárias,colaborando para a eliminação da esquistossomose mansônica em áreas endêmicas.

2. METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada através da busca dos dados nas bases de dados MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Scientific Electronic Library Online (SCIELO), em português, espanhol e inglês, por meio dos seguintes descritores: “esquistossomose”, “endemicidade” e “diagnostico molecular”, combinados entre si. Foram usados também livros-textos, considerando a relevância e o valor informativo do material e alguns artigos-chave selecionados a partir de citações em outros artigos nos últimos 10 anos.

3. RESULTADO

3.1 IMPACTO DA DOENÇA NO MUNDO

A esquistossomose mansônica é originária da África, onde os maiores focos encontram-se no Delta do Nilo e na faixa intertropical ao Sul do Saara. Os países mais atingidos são o Egito, o Sudão, a República Centro-Africana e a República Malgaxe (Madagáscar). Na Ásia, apenas a Arábia Saudita, o Iêmen e Oman apresentam focos de EM (REY, 2008).

Mais de 200 milhões de pessoas no mundo estão infectadas por *Schistosoma mansoni* e em torno de 120 milhões desses infectados são assintomáticos, outros 20 milhões desenvolveram a forma grave da doença, dentre esses foram assinalados a prevalência em 76 países de três continentes: América, África e Ásia. Há em torno de 779 milhões de pessoas em risco de contrair a doença (STEINMANN et al., 2006) e aproximadamente 280 mil mortes por ano são ocasionadas pela doença e suas complicações (WERF et al., 2003).

3.2 IMPACTO DA DOENÇA NO BRASIL

A princípio podemos entender que o clima tropical na maioria dos estados brasileiros oferecem as condições ideais e necessárias para a transmissão da doença, as altas temperaturas e luminosidade intensa estimulam o crescimento das microalgas ou fitoplâncton, principal alimento dos moluscos hospedeiros. A condição fundamental para o estabelecimento de um foco de transmissão seria a contaminação do criadouro de caramujos suscetíveis com fezes contendo ovos viáveis (COUTO 2005).

No Brasil, a dominância de *Bionphalaria glabrata* abrange a Região Nordeste, ao longo da faixa costeira e áreas interiores adjacentes dos Estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, até o sudeste da Bahia. Na Região Sudeste, atinge a parte de Minas Gerais, a leste do rio São Francisco, e o norte do Espírito Santo; existem, ainda, focos

periféricos isolados deste molusco no Maranhão, Pará, Goiás, São Paulo e Paraná, e recentemente no Rio Grande do Sul(COUTO, 2005).

A prevalência da doença no Brasil justifica a necessidade de atualização da distribuição dos moluscos vetores nas localidades de risco. A distribuição real das espécies, todavia, não está bem esclarecida, dificultada pela grande extensão territorial e pela carência de recursos humanos(COUTO, 2005).

Segundo dados da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), através do Programa de Controle da Esquistossomose em Alagoas, há um recrudescimento da endemia. De acordo com esses dados, 60% do território alagoano seria área endêmica e mais de dois milhões de indivíduos estariam expostos à infecção. A presente pesquisa, que abrange 40 dos 102 municípios alagoanos, teve por objetivo a identificação de *Bionphalaria glabrata* em duas mesorregiões do estado de Alagoas, o exame dos moluscos capturados para detecção de cercárias do *Schistosoma mansoni* e o levantamento da prevalência da esquistossomose nessas áreas (COUTO, 2005).

O ano de 2015 teve menor índice de incidência, tendo uma queda de aproximadamente 61% em relação ao ano de 2013 (ano com maior incidência), ainda assim, no ano de 2015, Alagoas se caracterizou por ter a maior incidência de casos positivos, totalizando 7757 casos positivos, ficando apenas atrás de Pernambuco, com 7024 casos. No ano de 2015, Alagoas representou aproximadamente 38% dos casos totais no Brasil. Juntos, Alagoas e Pernambuco, representam cerca de 52% dos casos positivos em 2015(DIVERSITAS JOURNAL. Santana do Ipanema/AL., et AL., 2016).

3.3 HISTÓRICO DA DOENÇA

A esquistossomose é doença que interage com a população humana há milhares de anos. Foram encontradas em múmias egípcias da XX dinastia (>3.000 anos de idade), lesões típicas da doença como também antígenos do parasito detectados por anticorpos monoclonais em eluato de tecido. Sendo o homem o principal hospedeiro vertebrado para a manutenção do *S. mansoni* na natureza, é permitido supor que esta relação homem/*S. mansoni* se situe em tempos ainda remotos (NEVES, 2010).

A introdução do *Schistosoma mansoni* no Continente Americano teve início, provavelmente, no começo do século XVI, quando começaram a chegar no Brasil os primeiros escravos africanos, para trabalhar na cultura da cana e, depois, na do fumo, do café ou nas minas. Calcula-se em 15 milhões o número de escravos aqui chegados até meados do século XIX, vindos das mais diversas regiões da África (REY, 2008).

3.4 ENDEMICIDADE DA DOENÇA

Acredita-se que as infecções humanas causada pelo gênero *Schistosoma* teve um alto índice de disseminação em áreas endêmicas, onde foram implantados projetos de irrigações agrícolas, hidrelétricas e controle de água em grande escala, onde novos criadouros de caramujos surgem facilmente nesses locais. A infecção humana ocorre logo após a penetração da cercária na pele, assim podem ocorrer às complicações como: severas reações alérgicas, e infecções bacterianas secundárias. O parasitismo isolado de tipo acidental pode aparecer em qualquer circunstância. O homem, por si só, dificilmente pode manter a endemicidade da parasitose em uma região (NEVES 2010).

3.5 CONTROLE EPIDEMIOLÓGICO DA DOENÇA

Cada foco de transmissão possui características próprias e é baseado nessa informação que se devem adotar estratégias no controle dessa doença. Há vários métodos a empregar que variam segundo cada circunstância, através de um programa integrado e adaptado as condições de cada objetivo. Apesar do amplo conhecimento sobre a doença e toda a experiência acumulada sobre o controle, somente poucos países endêmicos foram capazes de eliminar totalmente a transmissão (WHO, 2005).

O controle da esquistossomose tem progredido nos últimos 20 anos e o mapa epidemiológico está mudando. A eliminação e/ou erradicação da esquistossomose está sendo alcançada nas ilhas do Caribe, Japão e Tunísia. O controle da morbidade e mortalidade tem sido alcançado no Brasil, Camboja, China, Egito, Laos e Filipinas. O controle tem obtido sucesso no Irã, Iraque e Marrocos onde a prevalência da infecção é baixa, embora a transmissão continue (CHITSULO et al., 2000; ENGELS et al., 2002).

Os métodos de prevenção de esquistossomose incluem o destino adequado dos dejetos humanos e o controle da população de caramujos, o diagnóstico rápido e o tratamento das pessoas infectadas, evitar contato com águas potencialmente contaminadas e instituir programas educacionais para os habitantes de áreas endêmicas. Atualmente o foco também é voltado para quimioterapia anti-helmíntica com praziquantel, pois ela tem baixo custo e resultados rápidos (ZEIBIG, 2014).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda as seguintes medidas: tratamento em massa de todos da comunidade onde há elevada prevalência e/ou alto risco de esquistossomose (7 de cada 15 ou mais crianças positivas), tratamento de todas as crianças, em áreas moderadamente prevalentes (2 de cada 15 crianças positivas) e o tratamento apenas dos casos com diagnóstico positivo nas áreas de baixa prevalência. Programas nacionais de controle da esquistossomose são frequentemente relacionados com o

controle de outras doenças parasitárias em áreas endêmicas, em especial na África subsaariana (ZEIBIG, 2014).

3.6 TRATAMENTO EM MASSA

O praziquantel é o fármaco de eleição no tratamento das infecções esquistossômicas sendo a oxamniquina o mais eficaz nos casos de infecção por *S. Mansoni*. Os antimaláricos artemisininas, artemeter e artesunato provaram serem eficazes nas infecções esquistossômicas, mas em áreas endêmicas para malária as preocupações com a resistência pelo *Plasmodium* podem limitar sua utilidade. Cirurgia pode ser necessária em pacientes nos quais ocorreu obstrução das mesentéricas (ZEIBIG, 2014).

O tratamento por si não é capaz de afetar os níveis locais de transmissão em longo prazo, devido principalmente a grande extensão das áreas endêmicas, a possibilidade do surgimento de resistência do parasito aos fármacos, as constantes reinfecções dos indivíduos e a carência de saneamento básico (KING et al., 2006).

3.7 DIAGNÓSTICO VERSUS PROBLEMAS NA DETECÇÃO

O diagnóstico laboratorial de *S.mansoni* é feito por meio da detecção de ovos em amostras de fezes ou biopsia retal. A amostra de eleição para a detecção de *S. haematobium* é a urina concentrada. Além disso, técnicas imunodiagnósticas, incluindo ELISA, também estão disponíveis (ZEIBIG, 2014).

As causas da baixa sensibilidade do diagnóstico microscópico estão relacionadas em parte com a biologia do parasito e em parte com o hospedeiro. O parasito apresenta uma oviposição de cerca 400 ovos/dia, dos quais somente metade é eliminada nas fezes, e o hospedeiro apresenta uma variação diária da eliminação dos ovos nas fezes. Considerando que a média de excreção fecal de um adulto é cerca de 200 g de fezes, na menor carga parasitária possível, isto é, um casal de vermes, seria eliminado um ovo por

grama de fezes. Como a técnica de Kato-Katz examina 41,7 mg de fezes, na situação mencionada a probabilidade de se detectar esta infecção seria de aproximadamente 1 em 24 (NEVES, 2010).

O método de Kato-Katz apresenta outras limitações, dentre elas a impossibilidade de execução do método em amostras diarréicas, a não detecção de cistos de protozoários e larvas de helmintos, a baixa reprodutibilidade entre amostras e entre lâminas diferentes de um mesmo indivíduo e entre leituras de examinadores diferentes (KONGSet al., 2001). Aplicado em uma única amostra de fezes, este método é mais adequado para o controle de morbidade, mas menos adequado para o controle da transmissão (ENGELS et al.,1996).

3.8 ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE DO KATO-KATZ

O método de Kato & Miura (1954), tornou-se internacionalmente conhecido em 1966 e foi posteriormente modificado por (KATZ et al., 1972). Estes autores modificaram o método original simplificando a realização da técnica quantitativa, substituindo a pesagem das fezes com balança por um cartão com um orifício central de 6 mm de diâmetro, definindo a quantidade de fezes a ser examinada. As lâminas confeccionadas podem ser mantidas a temperatura ambiente por vários meses após a preparação sem prejuízo dos resultados. Este método é amplamente utilizado principalmente por seu baixo custo operacional e sua praticidade em situações de infra-estrutura laboratorial precária (RABELLO, 1997). Entretanto em indivíduos com baixa carga parasitária, situações de baixa prevalência e após o tratamento específico este se torna menos sensível (LIN et al., 2008; ZHANG et al., 2009; FERRARI et al., 2003; ENKet al., 2008). Como a técnica de Kato-Katz examina 41,7 mg de fezes, na situação mencionada a probabilidade de se detectar esta infecção seria de aproximadamente 1 em 24.

Estudo realizado por ENK et al.,2008, demonstrou que a prevalência de 13,8% obtida com uma lâmina de Kato-Katz de uma única amostra, aumenta para 27,2%, com 10 lâminas em três amostras, e chega a 35,4%, pela combinação de exames denominada “Padrão Ouro”.

3.9 DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA DOENÇA

A PCR (Polymerase Chain Reaction) é uma técnica de amplificação extremamente sensível, podendo detectar uma pequena quantidade de DNA em uma amostra. A PCR baseia-se em ciclos que se repetem na forma de três etapas: desnaturação, anelamento e amplificação. Estas etapas ocorrem em diferentes temperaturas de incubação, em um mesmo tubo, na presença de reagentes termo-estáveis, e seqüências específicas de DNA a serem amplificadas. Os reagentes usados são: (1) dois pequenos iniciadores (primers), sintetizados para serem complementares às seqüências conhecidas do DNA alvo, (2) grande quantidade dos quatro desoxirribonucleotídeoestrifosfatados (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) e (3) a enzima termoestável DNA-polimerase, isolada da bactéria termofílica *Thermus aquaticus*, bem como seu tampão específico (EISENSTEIN, 1990).

A reação da PCR para o diagnóstico da esquistossomose é baseada na amplificação de uma seqüência de DNA do parasito altamente repetitiva encontrada no genoma de *S. mansoni* (HAMBURGUERet al., 1991). Esta técnica foi primeiramente descrita por Pontes et al. (2002) para detecção de DNA do parasito em amostra de fezes humanas e foi avaliada em áreas endêmicas, sendo capaz de detectar um fentograma de DNA de *S. mansoni* (PONTES et al., 2003). A especificidade deste teste foi demonstrada pela ausência da amplificação de DNA de outros helmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Taenia solium* e *Trichiuris trichiura*) que comumente infectam pessoas das áreas endêmicas. Esta técnica demanda infra-estrutura laboratorial e empenho operacional mais complexo, embora seja mais sensível que as técnicas de Kato-Katz. É indicada para o diagnóstico de *Schistosoma* sp. em situações especiais onde alta sensibilidade e especificidade são requeridas e infra-estrutura é disponível (RABELLO et al., 2002). Alguns estudos têm demonstrado também o uso da PCR em amostras de urina (SANDOVAL et al., 2006).

A técnica da PCR-ELISA em amostras de fezes humanas está em fase de validação, é uma abordagem diagnóstica nova que combina a especificidade de um método molecular a um método imunológico (GOMES et al., 2010).

A PCR-enzyme-linked immunosorbent assay (PCR-ELISA) consiste em um processo alternativo de visualização do produto amplificado que permite uma análise semi-quantitativa para o diagnóstico da esquistossomose. Esta técnica combina um método imunológico para quantificar o produto da PCR diretamente após a ligação do DNA marcado com biotina em uma microplaca sensibilizada com estreptoavidina. A vantagem da PCR-ELISA quando comparada com PCR convencional é que a primeira faz uso de um equipamento padronizado amplamente usado para o processamento de ELISAs, e os reagentes usados são fáceis de obter comercialmente (GOMES et al., 2010). Além disso, a PCR convencional requer várias etapas após a amplificação do DNA, incluindo eletroforese e hibridização. A eletroforese é limitada pelo número de amostras que podem ser analisadas.

Dentre as principais vantagens da PCR-ELISA, está o fato de esta ser uma técnica semi-quantitativa com potencial para estimar a carga parasitária, permite um processamento de maior número de amostras em relação à eletroforese e uma interpretação objetiva dos resultados, sendo indicada em situações epidemiológicas de baixa carga parasitária, onde a técnica de Kato-Katz e HPJ apresenta sensibilidade limitada. Outra aplicação da técnica será na avaliação de novas drogas terapêuticas e de focos epidemiológicos restritos e situações individuais de controle de cura (SIQUEIRA, 2011).

4. PONTOS NEGATIVOS DA PCR FRENTE AO KATO-KATZ

O principal ponto negativo da PCR é o custo relativamente alto, tornando assim inviável para o controle e tratamento em massa, pois nenhum projeto relacionado a essa técnica foi aprovado pelos órgãos públicos responsáveis. Portanto é primordial superar as limitações técnicas da Kato-Katz, pois o teste de diagnóstico ideal deve ser sensível, aplicável ao campo, de baixo custo e envolver procedimentos não invasivos para obter amostras.

Existem técnicas complementares ao exame parasitológico como os ensaios para localização de anticorpos e antígenos, são métodos que podem definir a resposta terapêutica da infecção, por ser de alto custo necessitando de uma infra-estrutura sofisticada esse método de ensaio não é utilizado em pesquisas populacionais (CAVALCANTI et al., 2013).

As utilizações dos métodos moleculares para a detecção de baixas cargas parasitárias são de alta sensibilidade ao diagnóstico de doenças infecciosas, os ensaios de detecção de DNA recentes ganharam destaques por sua eficácia no diagnóstico tanto comunitário como também individual da esquistossomose. A (PCR) reação em cadeia da polimerase é a amplificação de uma sequência de DNA com repetições para que haja o diagnóstico de *Schistosoma mansoni* em caracóis (HAMBURGUER et al., 1991) essa técnica foi reformulada e adaptada para que o diagnóstico também fosse possível em fezes humanas por (PONTES et al., 2002).

Foi comprovada a alta especificidade dessa técnica por não haver em áreas endêmicas nos portadores da parasitose o DNA de outros helmintos como *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, (*Taenia solium* e *Trichuris trichiura*) que também fazem parte das infecções em áreas endêmicas. Porém requer umas fases após a amplificação do DNA como eletroforese em gel, limitando assim o número de amostras que podem ser analisadas (PINHEIRO et al., 2012)

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico molecular é a forma mais eficaz e completa para a detecção do *S.mansoni* em áreas endêmicas com a presença de baixa carga parasitária devido á alta sensibilidade e especificidade, podendo detectar uma pequena quantidade de DNA em uma amostra, sendo relevante para o combate da esquistossomose no contexto da saúde pública.

A busca pela erradicação através das estratégias de controle epidemiológico da doença é uma das formas mais utilizadas no mundo, com ações em massa para neutralizar as diversas formas de transmissão do parasito, é extremamente válido, entretanto se faz necessário investir em pesquisas acadêmicas no desenvolvimento de técnicas laboratoriais, incentivo na busca de tornar a PCR um procedimento com financiamento proporcionando melhor qualidade de vida do paciente.

6. REFERÊNCIAS

1. CAVALCANTI MG, Silva LF, Peralta RHS, Barreto MGM, Peralta JM. **Esquistossomose em áreas de baixa endemicidade**: uma nova era no diagnóstico. *Tendências Parasitol.* 2013; 29: 75-82.
2. COELHO, Carlos. **Manual de Parasitologia Humana**. 2ª Edição. Canoas/RS. Ed. Ulbra, 2005. P.137-144.
3. COUTO, Janira Lúcia Assumpção. **Esquistossomose mansoni em duas mesorregiões do Estado de Alagoas**. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* vol.38 nº4 Uberaba Jul/Ago. 2005.
4. Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL, (editores). **Schistosoma mansoni e esquistossomose**: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2008.
5. Comité OMS d'experts de la lutte contre la schistosomiase. **Impact de la schistosomiase sur la sante publique**: morbidité et mortalité. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé* 1994;72(1):5-11.
6. DIVERSITAS JOURNAL. Santana do Ipanema/AL., 2016.
7. ENK MJ, Lustosa Lima AC, Drummond SC, Schall VT, Coelho PMZ. **O impacto do número de amostras de fezes na prevalência, a intensidade da infecção e a distribuição da infecção com *Schistosoma mansoni* entre uma população em uma área de baixa transmissão**. *Acta Trop* 2008; 108: 222-228.
8. HAMBURGER J, Turetski T, Kapeller I, Deresiewicz R. **Seqüências de DNA curtas altamente repetidas no genoma de *Schistosoma mansoni* reconhecido por uma sonda específica da espécie**. *Mol Biochem Parasitol.* 1991; 44: 73-80.
9. KONGS A, Marks G, Verlé P, Van der Stuyft P. **Limitações da técnica de Kato-Katz para avaliar infecções por *S. mansoni***. *Trop Med Int Health.* 2001; 6: 163-169.

10. NEVES, David Pereira. **Parasitologia Humana**. 11ª Edição. São Paulo. Ed. Atheneu, 2010. P.193-212.
11. PONTES LA, Dias E, Neto, Rabello A. **Deteção por reação em cadeia da polimerase do DNA de Schistosoma mansoni em soro e fezes humanos**. Am J Trop Med Hyg. 2002; 66: 157-162.
12. REY, Luís. **Bases da Parasitologia Médica**. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan, 2008. P.153-182.
13. SIQUEIRA, Liliane Maria Vidal; COUTO, Flavia Fernanda Bubula; TABOADA, Diana; OLIVEIRA, Áureo Almeida de; CARNEIRO, Nidia Francisca de Figueiredo; OLIVEIRA, Edward; COELHO, Paulo Marcos Zech; KATZ, Naftale. **Desempenho de POC-CCA® no diagnóstico de esquistossomose mansoni em indivíduos com baixa carga parasitária**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. vol.49 no.3 Uberaba maio / junho 2016.
14. SIQUEIRA, Liliane Maria Vidal; GOMES, Luciana Inácia; OLIVEIRA, Eduardo; OLIVEIRA, Eduardo Ribeiro de; OLIVEIRA, Áureo Almeida de; ENK, Martin Johannes; CARNEIRO, Nidia Figueiredo; RABELLO, Ana; COELHO, Paulo Marcos Zech. **Avaliação de técnicas parasitológicas e moleculares para o diagnóstico e avaliação da cura da esquistossomose mansônica em baixa área de transmissão**. Memória Instituto Oswaldo Cruz. 2015 Abr; 110 (2): 209-214.
15. STEINMANN P, Keizer J, Bos R, Tanner M, Utzinger J. **Schistosomiasis e desenvolvimento de recursos hídricos**: revisão sistemática, meta-análise e estimativas de pessoas em risco. Lancet Infect Dis. 2006; 6: 411-425.
16. VAN der Werf MJ, Vlas SJ, Brooker S, Looman CW, Nagelkerke NJ, Habbema JD, Engels D. **Quantificação da morbidade clínica associada à infecção pelo esquistossoma na África subsaariana**. Acta Trop. 2003; 89: 125-139.

17. UTZINGER J, N'GORAN EK, CAFFREY CR, KEIZER J. **Da inovação à aplicação**: contexto socioeconômico, diagnóstico, drogas e controle integrado da esquistossomose. *Acta Tropica* 2011; 120: S121-S137.
18. ZEIBIG, Elizabeth **A Parasitologia Clínica**: Uma Abordagem Clínico-Laboratorial. 2ª Edição. Rio de Janeiro. Ed. Elsevier, 2014. P. 279-283.