



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA PROGRAMA DE
PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DANIEL LIMA MENEZES

DESEMPENHO DOS MÉTODOS DE KATO-KATZ E HELMINTEX PARA
O DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA
ENDÊMICA NO ESTADO DE SERGIPE

São Cristóvão -
Sergipe 2023

DANIEL LIMA MENEZES

**DESEMPENHO DOS MÉTODOS DE KATO-KATZ E HELMINTEX PARA
O DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA
ENDÊMICA NO ESTADO DE SERGIPE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Silvio Santana Dolabella

São Cristóvão - Sergipe

2023

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

M543d Menezes, Daniel Lima.
Desempenho dos métodos de Kato-Katz e Helmintex para o diagnóstico da esquistossomose mansoni em área endêmica no Estado de Sergipe / Daniel Lima Menezes; orientador Sílvio Santana Dolabella. – São Cristóvão, SE, 2024.
49 f.: il.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, 2024.

1. Esquistossomose. 2. Saúde pública - Sergipe. 3. Diagnóstico parasitológico. 4. Schistosoma mansoni. I. Dolabella, Sílvio Santana, orient.
II. Título.

CDU 616.993.122

DANIEL LIMA MENEZES

**DESEMPENHO DOS MÉTODOS DE KATO-KATZ E HELMINTEX
PARA O DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM
ÁREA ENDÊMICA NO ESTADO DE SERGIPE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Sergipe, como parte das exigências para a obtenção
do título de mestre.

São Cristóvão, 22 de setembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Silvio Santana Dolabella
Universidade Federal de Sergipe - UFS

Prof. Dr. Tiago Pinheiro Vaz de Carvalho
Universidade Federal de Sergipe - UFS

Prof. Dr. Israel Gomes de Amorim Santos
Universidade Estadual de Alagoas - UNEAL

AGRADECIMENTOS

Após uma intensa jornada e o encerramento deste ciclo eu não poderia deixar de agradecer a algumas pessoas que fizeram parte desta emocionante trajetória. Inicialmente a Deus, pela orientação nas decisões difíceis que tive de realizar e cumprir este objetivo. As experiências adquiridas transcenderam do profissional para a vida.

Dedico essa conquista à minha família, que me deu suporte e contribuiu para a realização do mestrado. Principalmente a minha mãe Aidê e meu pai José Fabiano, que mesmo sem ter chegado ao ensino superior, não desistiram de me incentivar até verem seu filho com o título de mestre. Essa vitória é nossa! Às minhas sobrinhas Yasmim Victória e Maria Eduarda, ao qual desejo que sejam tão curiosas quanto o tio e tenham sucesso nos estudos e na profissão que escolherem. À minha irmã Paula Gabriela, que me inspira a ser perseverante e não desistir dos sonhos. Obrigado por tudo!

Aos meus amigos, que conhecem o melhor e o pior de mim. Que emanam energias aos quatro cantos do Brasil e fora dele para o meu sucesso. Sempre sou grato às pessoas maravilhosas que encontrei na vida e que, de alguma forma, continuam caminhando junto ao meu coração.

Aos colegas de profissão e à equipe do LEPaT, que foi um lugar de acolhimento e aprendizado, dos (as) professores (as) aos (as) estudantes de graduação e pós-graduação. Aos pacientes que permitiram a conclusão deste projeto, ao qual pratico meu conhecimento para auxiliar no cuidado da população, principalmente àquela que mais sofre com a falta de políticas públicas em saúde.

Eu tenho imenso orgulho de fazer parte da AMOSERTRANS (Associação e Movimento Sergipano de Transexuais e Travestis) e compreender que os atravessamentos da minha vida junto às travestis, mulheres e homens trans contribuíram para a formação do profissional que sou hoje.

Expresso imensa gratidão ao meu orientador, o professor Dr. Silvio Santana Dolabella, que além do conhecimento científico compartilhado, incentivou a perseverança, a determinação, a confiança e a resiliência que uma pessoa pode ter para lidar com as adversidades da vida. Que a serenidade, a benevolência e a austeridade permaneçam constantes em sua vida, pois são algumas das características admiráveis em ti.

Por último e não menos importante, quero agradecer a mim mesmo, por não ter desistido dos meus planos e visto o quão potente posso ser quando reconheço o meu potencial.

RESUMO

DESEMPENHO DOS MÉTODOS DE KATO-KATZ E HELMINTEX PARA O DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM ÁREA ENDÊMICA NO ESTADO DE SERGIPE. DANIEL LIMA MENEZES, SÃO CRISTÓVÃO/SE, 2023.

A esquistossomose é uma infecção parasitária causada pelo helminto *Schistosoma mansoni* e que representa grave problema de saúde pública nas regiões tropicais, afetando mais de 250 milhões de pessoas no mundo. Em Sergipe a doença é endêmica e atinge mais de 65% dos municípios do estado. O Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) utiliza o método de Kato-Katz (KK) para triagem populacional, como recomendado pela Organização Mundial da Saúde, mas há evidências crescentes para as limitações de sensibilidade associado ao KK, especialmente em áreas com baixas cargas parasitárias. O Helmintex (HTX) é um método sensível para a detecção de ovos, baseado nas propriedades magnéticas dos ovos de *S. mansoni* e em seu isolamento em um campo magnético. O objetivo deste estudo foi avaliar tanto o KK quanto o HTX em uma área endêmica para esquistossomose em Sergipe, em Areia Branca, localizada no município de Pacatuba. Participaram do estudo indivíduos a partir de seis anos de idade que assinaram o termo de consentimento e/ou assentimento livre e esclarecido e que forneceram amostras fecais em quantidade suficiente para a realização dos testes. Após a análise, os resultados foram entregues à população e todos os indivíduos positivos foram tratados. Um total de 234 amostras fecais individuais foram entregues e dois esfregaços espessos de KK foram preparados e avaliados para cada amostra. Um total de 30g de cada amostra fecal foi processado pelo método HTX. Os ovos foram detectados em 80 (34,18%) dos participantes. Vinte e três (9,83%) amostras foram positivas pelo método KK e 77 (32,91%) pelo HTX. Um total de 95,7% (22/23) das amostras positivas no método KK apresentaram infecções leves e um indivíduo apenas (4,3%) apresentou infecção moderada (108 OPG, ovos por grama de fezes). A idade da população amostrada variou de 6 a 97 anos, com média de $35,5 \pm 18,1$ anos. Não houve relação estatística entre a infecção e a idade (KK vs. IDADE -0.442; HTX vs. IDADE - 0.543). Mais da metade dos participantes foram do gênero feminino (56,98%). A variável gênero demonstrou que os homens foram mais propensos a se infectar, conforme os dados de KK (RP: 2,91) e HTX (RP: 1,79). A sensibilidade do KK foi de 28,8% enquanto a do HTX foi de 96,2%. A curva ROC demonstrou que a probabilidade de detecção da esquistossomose é maior no Helmintex (0,98) em relação ao Kato-Katz (0,64). O HTX detectou 3,3x vezes mais VPP e 25% a mais VPN. Políticas públicas são necessárias para a mudança do panorama das doenças negligenciadas, sobretudo no controle da esquistossomose nas áreas endêmicas.

Descritores: *Schistosoma mansoni*, Kato-Katz, Helmintex, diagnóstico, sensibilidade.

ABSTRACT

PERFORMANCE OF THE KATO-KATZ AND HELMINTEX METHODS FOR THE DIAGNOSIS OF SCHISTOSOMIASIS MANSONI IN AN ENDEMIC AREA IN SERGIPE STATE.

DANIEL LIMA MENEZES, SÃO CRISTÓVÃO/SE, 2023.

Schistosomiasis is a parasitic infection caused by the helminth *Schistosoma mansoni* and represents a serious public health problem in tropical regions, affecting more than 250 million people worldwide. In Sergipe, the disease is endemic and affects more than 65% of the state's municipalities. The Schistosomiasis Control Program (SCP) uses the Kato-Katz (KK) method for population screening, as recommended by the World Health Organization, but there is growing evidence for the sensitivity limitations associated with KK, especially in areas with low parasite loads. Helmintex (HTX) is a sensitive egg detection method based on the magnetic properties of *S. mansoni* eggs and their isolation in a magnetic field. The aim of this study is to evaluate both KK and HTX in an endemic area for schistosomiasis in Sergipe, Areia Branca, located in the municipality of Pacatuba. Individuals from six years older who signed the term of consent and/or free and informed assent and who provided fecal samples in sufficient quantity to carry out the tests participated in the project. At the end, the results were delivered to the population and all positive individuals were treated. A total of 234 individual fecal samples were delivered and two KK thick smears were prepared and evaluated for each sample. A total of 30g of each fecal sample was processed by the HTX method. Eggs were detected in 80 (34.18%) of the participants. Twenty-three (9.83%) samples were positive by the KK method and 77 (32.91%) by the HTX method. A total of 95.7% (22/23) of the positive samples in the KK method had mild infections and only one individual (4.3%) had a moderate infection (108 OPG, eggs per gram of feces). The age of the sampled population ranged from six to 97 years, with a mean of 35.5 ± 18.1 years. There was no statistical relationship between infection and age (KK vs. AGE -0.442; HTX vs. AGE - 0.543). More than half of the participants were female (56.98%). The gender variable showed that men were more likely to become infected, according to KK (PR: 2.91) and HTX (PR: 1.79) data. The sensitivity of KK was 28.8% while that of HTX was 96.2%. The ROC curve showed that the probability of detecting schistosomiasis is higher with Helmintex (0.98) than with Kato-Katz (0.64). A HTX detects 3.3x more PPV and 25% more NPV. Public policies are necessary to change the panorama of neglected diseases, especially in the control of schistosomiasis in endemic areas. Descriptors: *Schistosoma mansoni*, Kato-Katz, Helmintex, diagnosis, sensitivity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo biológico do <i>Schistosoma mansoni</i>	14
Figura 2 - Distribuição global da esquistossomose.....	15
Figura 3 - Distribuição da esquistossomose no Brasil segundo a média do percentual de positividade por município entre 2009-2020.....	16
Figura 4 - Mapa do percentual de positividade para <i>Schistosoma mansoni</i> no estado de Sergipe em 2011 e 2017	17
Figura 5 - Método Kato-Katz	22
Figura 6 - Método Helmintex modificado.....	24
Figura 7 - Estrutura molecular dos dois enantiômeros de praziquantel (PZQ).....	26
Figura 8 - A) Mapa do Brasil. B) Mapa do estado de Sergipe. C) Município de Pacatuba.	29

LISTA DE ABREVIATURAS

AUC – *Area Under the Curve*, em português: Área sob a Curva

CCA – *Circulating Cathodic Antigen*, em português: Antígeno Catódico Circulante

Cm – Centímetros

DALY – *Disability-adjusted life years*, em português: Anos de vida perdidos ajustados por invalidez

DNA – *Deoxyribonucleic acid*, em português: Ácido desoxirribonucleico

DOS – Divisão de Organização Sanitária

ELISA – *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio Imunoenzimático)

EPF – Exame Parasitológico de Fezes

G – Grama

HTX – Helmintex

IF – Imunofluorescência

INPEG – Inquérito Nacional de Prevalência de Esquistossomose e Geohelmintoses

Kg – Quilograma

Km – Quilômetros

Km² – Quilômetros quadrados

KK – Kato-Katz

LAMP – *Loop-mediated Isothermal Amplification*

mg – Miligrama

mL – Mililitro

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPG – Ovos Por Grama

PCE – Programa de Controle da Esquistossomose

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

PCR – Padrão de Referência Consolidado

PUCRS – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

PECE – Programa Especial de Controle da Esquistossomose

POC-CCA – *Point-Of-Care Circulating Cathodic Antigen*

PPGCF – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

PZQ – Praziquantel

ROC – *Receiver Operating Characteristic*

RPOV – reação periovular

rpm – *rotation per minute*, em português: rotações por minuto

S – *South*

SISPCE – Sistema de Informação do Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose

SINAN – Sistema de Informação de Agravos e Notificação

SUS – Sistema Único de Saúde

SUCAM – Superintendência de Campanhas da Saúde Pública

TALE – Termo de Assentimento Livre Esclarecido

TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

VPN – Valores Preditivos Negativos

VPP – Valores Preditivos Positivos W

– *West*

WHO – *World Human Organization*

μm – micrômetro

μL – microlitro

°C – Graus Celsius

% – percentagem

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	13
	2.1. Schistosoma mansoni e o ciclo evolutivo	13
	2.2. Epidemiologia da esquistossomose	14
	2.3. O controle da doença	18
	2.4. Diagnóstico	21
	2.4.1. Método Kato-Katz	22
	2.4.2. Helmintex	23
	2.5. Tratamento	25
3.	OBJETIVOS	27
	3.1. Objetivo geral	27
	3.2. Objetivos específicos	27
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	28
	4.1. Delineamento do estudo e caracterização da área estudada	28
	4.2. Coleta de amostras e exames laboratoriais	29
	4.3. Análises estatísticas	30
	4.4. Aspectos éticos da pesquisa	30
5.	ARTIGO CIENTÍFICO	31
	CAPÍTULO I. Accuracy Study of Kato-Katz and Helmintex Methods for Diagnosis of Schistosomiasis Mansoni in a Moderate Endemicity Area in Sergipe, Northeastern Brazil	32
6.	CONCLUSÕES	42
7.	REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma infecção parasitária causada pelo trematódeo *Schistosoma mansoni*. É conhecida como barriga d'água, xistose ou doença do caramujo, sendo sua evolução dividida clinicamente em fases aguda e crônica, sem período de tempo específico preciso para a diferenciação das mesmas. A fase aguda é caracterizada por febre, dores de cabeça, mal-estar geral, fadiga, dores abdominais e urticária, na maioria dos casos. A fase crônica, geralmente entre 10- 12 semanas após a infecção, é marcada pela presença de vermes adultos vivendo no plexo venoso mesentérico, ovipondo dezenas de ovos diariamente, que podem ser eliminados junto às fezes ou ficarem retidos nos tecidos. A retenção de ovos nos tecidos estimula uma resposta inflamatória crônica e granulomatosa, ocasionando lesões teciduais, hipertensão portal e hepatoesplenomegalia, entre outras alterações. Em crianças a infecção também compromete o desenvolvimento físico-intelectual, gerando prejuízos ao aprendizado (GOBBI et al., 2020; SANTOS et al., 2021; BRITO et al., 2023).

Sua transmissão ocorre em ambientes aquáticos contaminados com fezes humanas contendo ovos de *Schistosoma sp.* e a presença de caramujos suscetíveis do gênero *Biomphalaria*. Estima-se que mais de 250 milhões de pessoas estejam infectadas no mundo por esquistossomoses, com 1,9 milhão incapacitadas pelas manifestações clínicas da doença. No Brasil, somente a esquistossomose mansoni é encontrada, considerada um grave problema de saúde pública, tendo sido responsável, em 2016, por 102.259 DALY's (anos de vida perdidos ajustados por invalidez) a cada 100.000 habitantes (MARTINS-MELO et al., 2018; FAVERO et al., 2020).

O Nordeste permanece sendo a maior área endêmica do Brasil, abrangendo 80% dos casos da doença, os quais estão diretamente ligados às precárias condições de vida. Em Sergipe a esquistossomose está presente em 51 dos 75 municípios. Essa alta distribuição pode ser atribuída à presença das espécies de moluscos *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria straminea* na região. Entre 2005 e 2014 foram realizados 896.373 exames de fezes em indivíduos de municípios endêmicos do estado, sendo 2008 o ano de maior prevalência da doença (10,4%) e o menor em 2014 (6,4%) (SANTOS et al., 2016).

O Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) foi elaborado para controlar a infecção em áreas endêmicas, tendo como foco o diagnóstico e o tratamento das pessoas infectadas. O diagnóstico é realizado pelo método de Kato-Katz (KK), exame parasitológico de fezes recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Esta técnica é eficaz e sensível para áreas com moderada a alta prevalência da infecção, com indivíduos

apresentando alta carga parasitária. Após a confirmação da infecção as pessoas são tratadas com praziquantel, um medicamento seguro (efetivo) e utilizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2018; DOS SANTOS SOUSA et al., 2021).

Nos últimos anos as medidas de controle e eliminação da esquistossomose reduziram sua transmissão e diminuíram a carga parasitária da população, dificultando a detecção de infecções leves pelo KK, que se mostrou menos sensível nessa situação. Como alternativa, o método Helmintex (HTX) consiste na interação entre partículas paramagnéticas e ovos de *S. mansoni* num campo magnético, que podem ser utilizadas para deslocar e concentrar esses ovos numa determinada região deste campo. Esse comportamento magnético confere alta sensibilidade ao método, podendo ser uma opção viável às técnicas clássicas utilizadas (LINDHOLZ et al., 2018).

Seguindo o propósito de melhorar a sensibilidade dos exames parasitológicos no diagnóstico da esquistossomose mansoni no Estado, oferecendo aos programas de controle estimativas apuradas da prevalência epidemiológica, esse trabalho tem como objetivo comparar as técnicas de diagnóstico KK e HTX em área endêmica para a doença no estado de Sergipe.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. *Schistosoma mansoni* e o ciclo evolutivo

Os parasitos do gênero *Schistosoma* são trematódeos digenéticos pertencentes ao filo Platyhelminthes, classe Trematoda, ordem Strigeiforme, superfamília Schistosomatoidea e família Schistosomatidae. Sete espécies são agentes etiológicos em humanos, a saber: *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma guineenses*, *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma malayensis* e *S. mansoni*, sendo essa última espécie a única encontrada no Brasil. Possuem dimorfismo sexual e ciclo evolutivo heteroxênico, necessitando de dois hospedeiros (intermediário e definitivo) (MELO; COELHO, 2016; GORDON et al., 2019; MAWA et al., 2021).

Os hospedeiros intermediários do *S. mansoni* são invertebrados pertencentes ao filo Mollusca, classe Gastropoda, ordem Basommatophora, família Planorbidae e gênero *Biomphalaria*. No Brasil, as espécies naturalmente infectadas são *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria straminea*, distribuídas em diferentes regiões no território brasileiro (MCMANUS, et al., 2018).

O ciclo (Figura 1) se inicia com a deposição de fezes humanas contendo ovos do parasito no meio ambiente. Em contato com ambientes aquáticos, as larvas ciliadas denominadas miracídios eclodem dos ovos e nadam até encontrar o caramujo do gênero *Biomphalaria*, onde penetram pelas partes moles do molusco. Neste movimento, os miracídios perdem os cílios e se transformam em esporocistos primários, que se desenvolvem posteriormente em esporocistos secundários e terciários. Durante as fases de desenvolvimento, as células germinativas sofrem diferenciação, dando origem a larvas com cauda bifurcada, denominadas cercárias. Um molusco infectado do gênero *Biomphalaria* pode eliminar cerca de 250 a 600 cercárias diariamente (NELWAN, 2019; PAZ, 2021).

Cerca de trinta dias após a infecção, as cercárias saem do molusco e nadam ativamente até encontrar o hospedeiro humano. Ao encontrá-lo, penetram na pele e/ou mucosa, perdendo a cauda e passando a ser chamada de esquistossômulo. Os esquistossômulos atingem então a via sanguínea ou linfática, sendo levados aos pulmões e coração, alcançando então a circulação do sistema porta, onde se desenvolvem, dando origem aos vermes adultos machos e fêmeas. Após a cópula, os vermes migram acasalados para as vênulas do plexo hemorroidário superior e ramificações mais finas das veias mesentéricas, onde ocorre a oviposição. Cerca de trezentos ovos imaturos são eliminados pelas fêmeas diariamente no interior das veias

mesentéricas. Os ovos de *S. mansoni* medem cerca de 150µm de comprimento e 65µm de largura, possuem formato ovóide, com porção posterior volumosa e presença de um espinho lateral característico. Parte destes ovos são levados pela circulação portal e ficam retidos nos tecidos do hospedeiro, principalmente fígado, onde induzem a formação de granulomas hepáticos e intestinais, evoluindo para hepatoesplenomegalia e fibrose periportal. Outra parte dos ovos atravessa a mucosa do intestino até o lúmen, se mistura nas fezes e é evacuado no meio ambiente, dando continuidade ao ciclo da doença (NELWAN, 2019; MAWA et al., 2021).

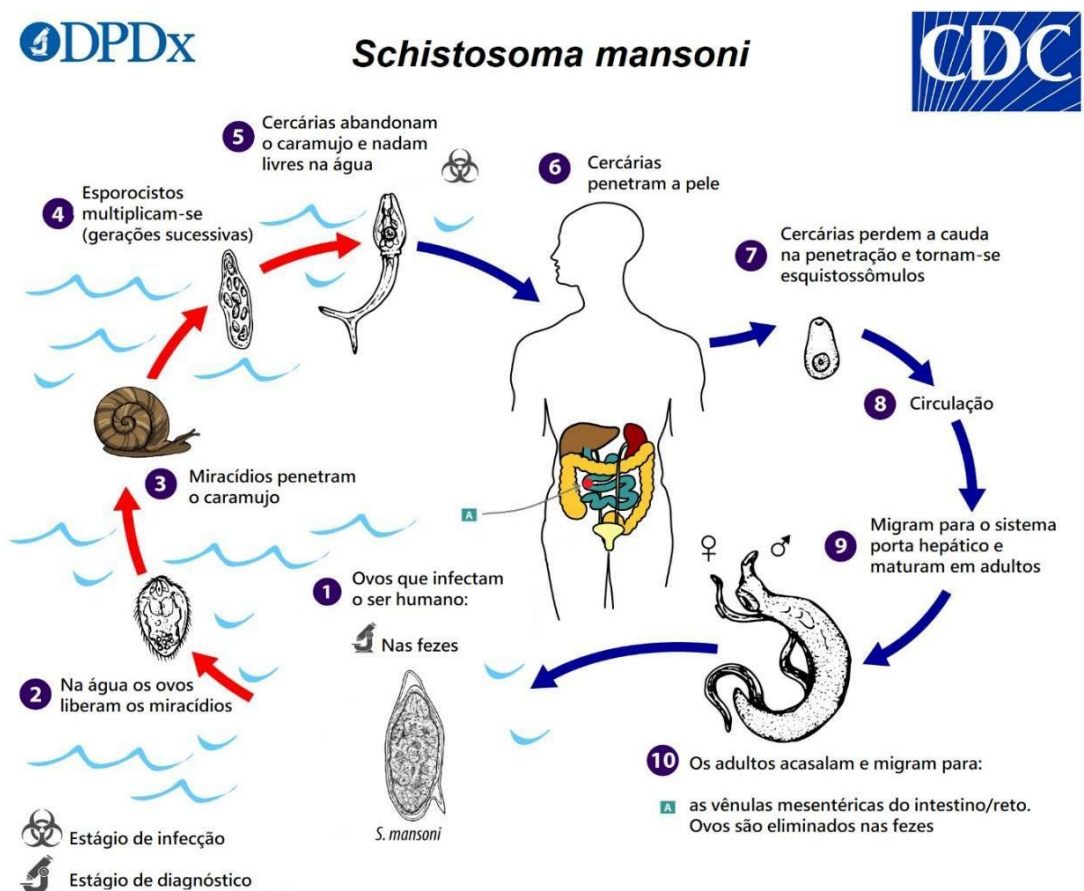


Figura 1 – Ciclo biológico do *Schistosoma mansoni* (adaptado de CDC - Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>).

2.2. Epidemiologia da esquistossomose

A esquistossomose é uma das doenças negligenciadas mais prevalentes no mundo, acometendo principalmente populações mais pobres (GRAEFF-TEIXEIRA et al., 2021). Estima-se que o caso mais antigo identificado de esquistossomose foi em uma múmia egípcia infectada por *S. haematobium* há mais de cinco mil anos. Há também registros de ovos da

mesma espécie em vísceras de múmias egípcias datadas de três mil anos (GORDON et al., 2019). Dentre as espécies que podem contaminar o ser humano, as mais prevalentes são *S. mansoni*, localizada na América do Sul, África e Caribe; *S. haematobium*, identificada na África e Oriente Médio e *S. japonicum*, localizada na Indonésia, China e Sudeste Asiático (Figura 2).

As espécies *S. mekongi* e *S. malayensis* são encontradas no sudeste da Ásia e *S. intercalatum* no centro-oeste da África, sendo menos relevantes mundialmente (PIMENTA, 2017; GORDON, 2019). Atualmente, estima-se que 250 milhões de pessoas estejam infectadas no mundo pelo *S. mansoni* e mais de 709 milhões residam em áreas endêmicas em 78 países e territórios, sob o risco de contrair a doença (WHO, 2020). As espécies de *Schistosoma* distribuem-se principalmente pela África, América Latina, Oriente Médio e Sudeste Asiático, em áreas rurais e urbanas precarizadas, com saneamento básico deficiente e pouco acesso à água potável, atrelado à pobreza e baixos níveis de educação. Tais condições ambientais, associadas a fatores políticos, socioeconômicos e culturais facilitam a transmissão da doença pela contaminação de ambientes aquáticos por esgotos domésticos, ocasionando a formação de áreas endêmicas (SOARES et al., 2020).

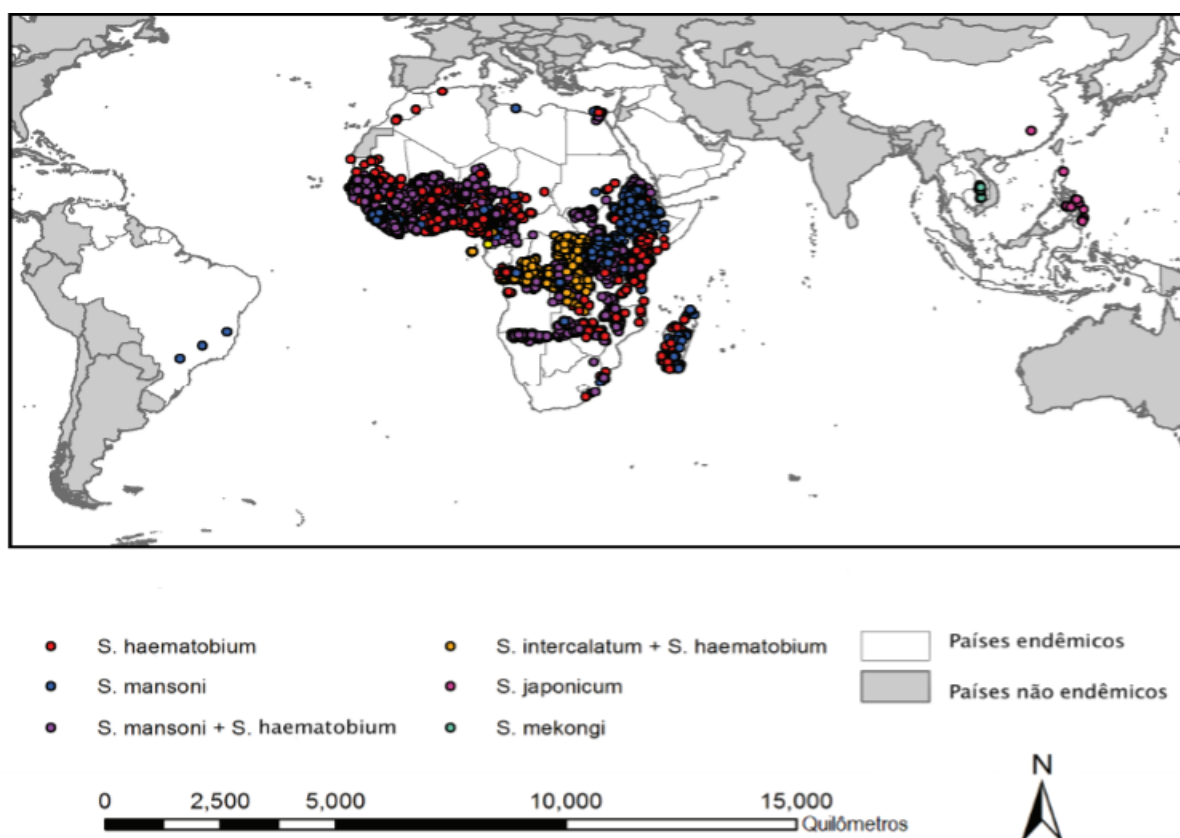


Figura 2– Distribuição global das espécies de *Schistosoma* (adaptado de PIMENTA, 2017).

O aparecimento da esquistossomose no Brasil ocorreu mediante o tráfico de pessoas do continente africano, utilizadas como mão de obra em atividades laborais, principalmente na região Nordeste. Devido às condições favoráveis do clima tropical, a presença de ambientes hídricos e de hospedeiros intermediários adequados como moluscos do gênero *Biomphalaria*, a espécie *S. mansoni* se instalou, infectando a população e migrando para outras regiões do país (BRASIL, 2018). Presente em 19 estados, as áreas endêmicas englobam os estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais, com destaque para o Nordeste (Figura 3). As regiões Norte, Centro Oeste e Sul possuem casos de transmissão focal (BRASIL, 2021).

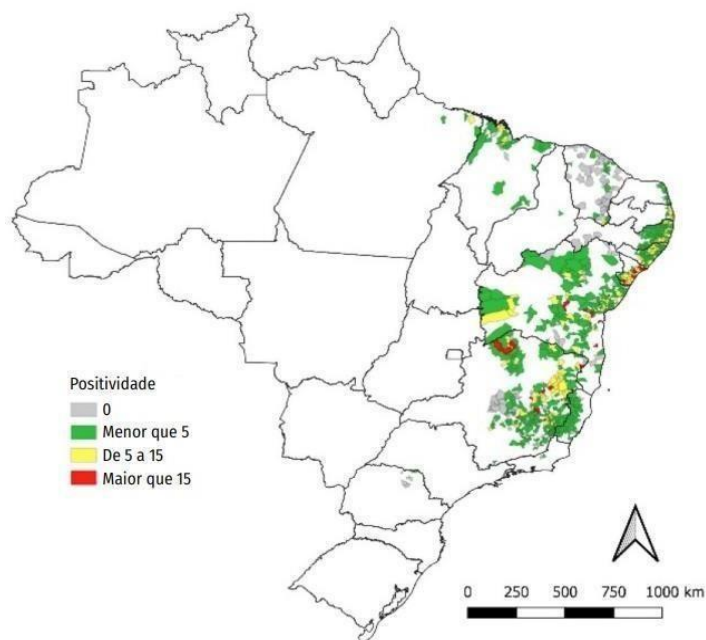


Figura 3 - Distribuição da esquistossomose no Brasil segundo a média do percentual de positividade por município entre 2009-2020 (BRASIL, 2021).

O impacto econômico da esquistossomose gerado aos serviços de saúde é de extrema relevância. Uma vez que, somente em 2015, 26.499 casos de infecções foram registrados, sendo 77,9% no Sistema de Informação do Programa de Controle da Esquistossomose (SISPCE) e 22,1% no Sistema de Informação de Agravos e Notificação (SINAN). Os gastos públicos no mesmo ano foram estimados em US\$ 41.706.337,35, sendo US\$ 2,1 milhões direcionados ao diagnóstico, suas principais complicações e US\$ 147.513,24 relacionados ao tratamento de complicações hepatointestinais e neurológicas. Mais de 94% dos recursos totais são de custos indiretos (licenças, auxílio-doença e morte prematura). Acredita-se que os valores possam ser maiores devido aos casos subnotificados (NASCIMENTO et al., 2018).

Segundo o Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintíases, realizado entre 2010 e 2015, a proporção de casos positivos em Sergipe (8,19%) foi maior que em outros estados da região, como Alagoas (2,31%), Bahia (2,19%) e Pernambuco (2,14%). Sergipe possui um histórico de elevadas taxas de positividade para a esquistossomose, estando presente em 51 de seus 75 municípios. A elevada prevalência está associada à presença das espécies *B. glabrata* e *B. straminea* no estado (KATZ, 2018). A endemicidade de uma região é definida pela percentagem de prevalência da doença em uma determinada área. Os municípios que apresentam prevalência acima de 25% são considerados de alta endemicidade. Regiões com prevalência entre 5% e 25% são considerados de média endemicidade e abaixo de 5% de baixa endemicidade. De acordo com o Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) de Sergipe, em 2017 os municípios de Ilha das Flores, Itabaianinha, São Cristóvão e Siriri destacaram-se por possuir alta endemicidade, enquanto os outros municípios considerados endêmicos não registraram suas ações (Figura 4) (CRUZ et al., 2020; PAZ, 2021).

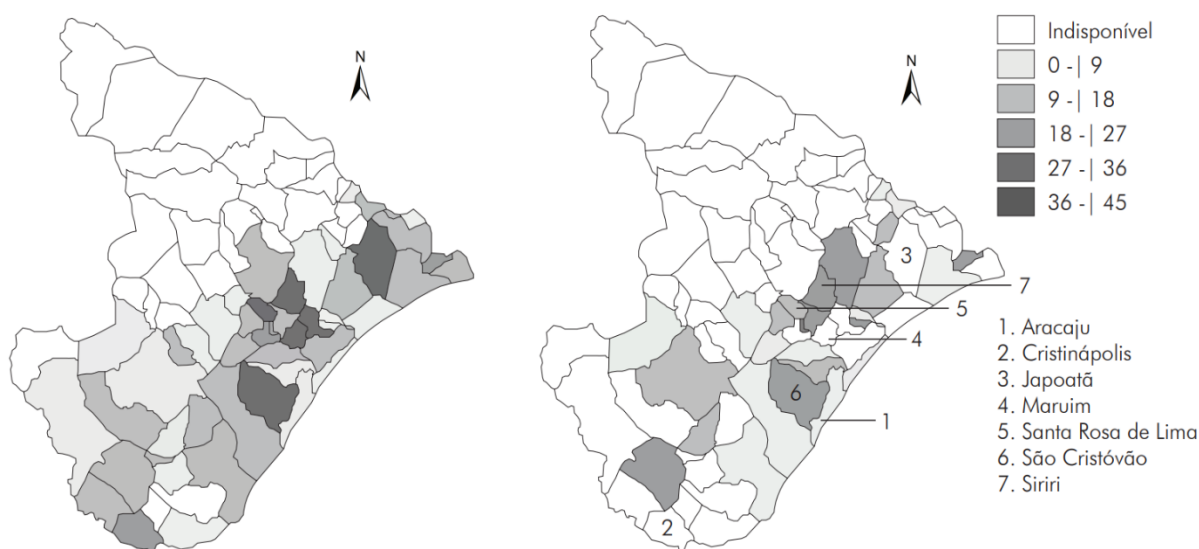


Figura 4 - Percentual de positividade para *Schistosoma mansoni* no estado de Sergipe em 2011 e 2017 (CRUZ et al., 2020).

A diminuição das atividades do PCE em municípios endêmicos de Sergipe implica em menor número de exames realizados (tendência de queda de 9,6% por ano entre 2008 e 2017) e possíveis subnotificações dos casos, além de interpretações confusas do panorama da doença. Apesar das baixas condições socioeconômicas e sanitárias serem os fatores para o aumento da prevalência da esquistossomose, a deficiência nos programas de controle também

contribui para o aumento da doença, uma vez que dificulta o diagnóstico precoce e o trabalho de controle epidemiológico (CRUZ et al., 2020).

2.3. O controle da doença

O trabalho do médico baiano Pirajá da Silva em 1908 revelou a importância do mapeamento da esquistossomose mansoni no país. Foi então realizado o primeiro inquérito coproparasitológico entre 1947 e 1952, organizado pelos médicos sanitaristas Pellon e Teixeira da Divisão de Organização Sanitária (DOS) do Ministério da Educação e Saúde. Os estudos contemplaram 877 locais nas regiões do Nordeste a Minas Gerais, dos quais 612 apresentavam indivíduos positivos para a esquistossomose. Foram examinadas crianças entre sete e 14 anos em áreas acima de 1.500 habitantes. A revelação destas áreas proporcionou a identificação da distribuição territorial da doença. Em 1975, com a criação do Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PECE) dentro da Superintendência de Campanhas da Saúde Pública (SUCAM), a esquistossomose tornou-se relevante no contexto da saúde pública e na sociedade. Em 1977 o segundo inquérito nacional foi realizado, examinando em torno de 220 mil amostras aleatórias de escolares, de sete a 17 anos, contemplando 26 estados e o Distrito Federal, alcançando 541 municípios. O projeto foi financiado pela Secretaria de Vigilância da Saúde do Ministério da Saúde e coordenado pela Fundação Oswaldo Cruz (BRASIL, 2014).

Em 1980 o PECE foi substituído pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), que passou pela descentralização governamental de suas atividades em 1993. Os municípios tornaram-se responsáveis por diagnosticar os indivíduos e tratá-los, promover ações de educação sanitária, realizar o controle dos hospedeiros intermediários e ações de vigilância epidemiológica (GOMES et al., 2017).

O terceiro inquérito nacional foi divulgado em 2018, o primeiro com abrangência em todos os estados da federação, alcançando escolares de sete a 17 anos, divididos por regiões endêmicas e não endêmicas. Foram examinados 197.564 escolares residentes em 521 municípios, alcançando 96,1% do planejado. Os resultados demonstraram que as regiões Nordeste e Sudeste apresentaram menores índices de positividade em relação ao inquérito anterior, 1,27% e 2,35%, respectivamente. Na macrorregião Norte, a positividade foi de 0,01%, na Centro-Oeste de 0,02% e na Sul nenhum caso foi diagnosticado (KATZ, 2018).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) descreve diversas ações para serem implementadas no controle da esquistossomose, utilizadas de forma integrada, destacando-se

a quimioterapia preventiva em massa da população; intervenções para o controle de moluscos com o uso de moluscicidas sintéticos e naturais, principalmente em comunidades em risco; distribuição de água potável e tratamento sanitário adequado; ampliação da educação em saúde; uso de ferramentas apuradas de diagnóstico do *S. mansoni* em humanos e de verificação da eliminação da transmissão, além da divulgação das implementações e avaliação das condutas realizadas. Para tais medidas serem eficientes é necessária a colaboração e participação do poder público, das instituições de pesquisa e ensino e da conscientização social na eliminação da doença (WHO, 2022).

As estratégias utilizadas durante os anos 2009 a 2019, como o tratamento das populações residentes em áreas de alta endemicidade surtiram efeito, demonstrando uma redução drástica na ocorrência de casos e diminuição da expansão da doença (BRASIL, 2021). Apesar do número menor de pessoas examinadas no ano de 2019, o percentual de positividade da doença aumentou em relação ao ano anterior (2018) de acordo com o mostrado na tabela 1.

Tabela 1. Número de pessoas examinadas, número de casos e percentual de positividade para a esquistossomose. Brasil, 2009 a 2019.

Ano	Número de pessoas examinadas	Número de casos	Percentual de positividade (%)
2009	1.475.659	76.719	5,20
2010	1.385.929	69.418	5,01
2011	1.270.559	59.940	4,72
2012	895.532	38.823	4,32
2013	951.832	40.752	4,28
2014	928.619	37.729	4,06
2015	882.384	30.525	3,46
2016	540.022	18.900	3,50
2017	604.128	21.962	3,64
2018	520.384	15.076	2,90
2019	412.072	13.273	3,22
Total	9.867.120	423.117	4,29

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2021.

Durante a pandemia da COVID-19 iniciada em 2020, as estratégias de saúde contra a esquistossomose em escolares (5 a 15 anos), como o diagnóstico prévio e tratamento, foram temporariamente descontinuadas ou atrasadas (LO et al., 2022). Estima-se que essa ação tenha uma repercussão maior nas áreas de alta prevalência, com ressurgimento de casos, por serem regiões com altas taxas de transmissão. Modelos matemáticos tentam prever o impacto da falta de ações na meta de eliminação da esquistossomose como problema de saúde pública para 2030, preconizado pela OMS. Estima-se um atraso de dois anos no alcance da meta proposta e quanto maior o atraso das ações, maior será o tempo para que os programas atinjam a referida meta (KURA, et al., 2021).

Pensando neste cenário e para alcançar a meta de eliminação preconizada, a OMS disponibilizou recentemente um guia com as novas recomendações para o retorno das ações contra a esquistossomose. Seis ações compõem estas diretrizes, entre elas estão 1) modificar o limiar de prevalência da esquistossomose para locais de prevalência entre 50% a 10% para somente acima de 10%. Ampliar a quimioterapia anual para crianças a partir de dois anos, adultos, gestantes acima do primeiro trimestre de gestação e lactentes; 2) em comunidades com prevalência menor que 10% sugere-se que, onde houver programa de quimioterapia preventiva, que esta seja realizada até a interrupção da transmissão da esquistossomose. Onde não houver programa preventivo, utilizar abordagem clínica, com testagem e tratamento dos indivíduos.

Em ambas as opções, com a redução da quimioterapia, o monitoramento epidemiológico deve ser frequentemente realizado; 3) em locais endêmicos com prevalência igual ou superior a 10% que não apresentem resposta à quimioterapia preventiva anual, mesmo com cobertura acima de 75% da população, sugere-se o aumento da quimioterapia para duas vezes ao ano, com mínimo de dois anos em tratamento; 4) recomenda-se que todas as unidades de saúde forneçam acesso ao tratamento para todas as pessoas infectadas, independentemente da idade, incluindo gestantes acima do primeiro trimestre de gestação, lactentes e crianças menores de dois anos, com formulação pediátrica e acompanhamento clínico; 5) concentrar esforços na aplicação de moluscidas e controle ambiental de moluscos juntamente com a quimioterapia em massa para reduzir a carga parasitária no ambiente e minimizar a exposição de pessoas à água doce contaminada, diminuindo as chances de exposição; 6) testagem da infecção por *Schistosoma* em humanos, testagem para infecção por *Schistosoma* em caramujos e testagem para infecção por *Schistosoma* em hospedeiros mamíferos não humanos, todos com alta sensibilidade e especificidade (LO, et al., 2022).

2.4. Diagnóstico

O diagnóstico direto da esquistossomose é confirmado mediante a visualização direta de ovos do parasito em amostras fecais. O exame parasitológico de fezes (EPF) é um método convencional, utilizado na rotina laboratorial devido à sua fácil realização, menor custo em comparação aos métodos sorológicos e moleculares e por poder ser executado em campo. As técnicas de concentração por sedimentação, centrifugação, filtração ou interação de microesferas magnéticas com ovos têm sido aprimoradas para a análise microscópica de amostras fecais. Apesar dessas técnicas conseguirem detectar a infecção por esquistossomose mansoni, nenhuma delas é específica e suficientemente adequada ao seu diagnóstico. Em ambientes endêmicos e com cargas parasitárias baixas estas técnicas se tornam ainda mais limitadas (LINDHOLZ et al., 2018; CHALA, 2023).

Métodos sorológicos estão disponíveis para diagnóstico do *S. mansoni*, como POC-CCA (*Point-Of-Care Circulating Cathodic Antigen*) para a detecção direta de antígenos do parasito no soro e na urina; técnicas moleculares como PCR (*Polymerase Chain Reaction*), suas variações (*Real-Time PCR and Quantitative PCR*) e LAMP (*Loop-mediated Isothermal Amplification*) detecta a presença de DNA do parasito nas fezes do hospedeiro, além de testes imunológicos como ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência (IF) e reação periovular (RPOV) (DOS SANTOS SOUSA et al., 2021). No entanto, além de serem onerosos, alguns testes possuem problemas com a validade de seus kits e também não informam a intensidade da infecção do indivíduo. Outro fator limitante para seu uso é a resposta imunológica adquirida após a infecção, pois mesmo em indivíduos tratados e curados os métodos imunológicos podem produzir resultados falso-positivos (PIERI; BEZERRA; COELHO et al., 2023).

A busca por novos métodos diagnósticos e o aperfeiçoamento dos remanescentes devem ser a chave para o controle da esquistossomose e sua eventual eliminação. Por isso, diversos estudos estão sendo realizados para o aprimoramento das técnicas coproparasitológicas, visando sua otimização e a melhoria de sua sensibilidade em ambientes onde a carga parasitária esteja reduzida pelas extensas campanhas de controle da transmissão da doença (CANDIDO et al., 2018a).

Atualmente, o diagnóstico da esquistossomose permanece dependente de métodos parasitológicos tradicionais nos países em desenvolvimento, sendo inadequado para áreas de baixa prevalência. Dessa forma, os avanços nas pesquisas dos métodos e o entendimento sobre as características dos ovos de *S. mansoni* tem permitido a utilização de novos

parâmetros para seu isolamento e quantificação. Estudos relevantes sobre as características magnéticas dos ovos exibem um potencial de técnicas altamente sensíveis, baseado em sua interação com esferas paramagnéticas em um campo magnético. Tais técnicas poderiam se tornar extensivamente utilizadas se aperfeiçoadas para a prática em campo, com fácil execução e baixo custo benefício (CANDIDO et al., 2018a; GOMES et al., 2022).

2.4.1. Método de Kato-Katz (KK)

O método de Kato-Katz (KK) é uma adaptação realizada pelo médico Naftale Katz à técnica de Kato e Miura (KATO; MIURA, 1954), substituindo a pesagem das fezes em balança pela utilização de uma placa com um orifício central de 6mm de diâmetro (Figura 5) para definir a quantidade de fezes examinadas em uma lâmina (KATZ, 1972). A técnica consiste na compressão de uma porção da amostra de fezes frescas em uma tela de nylon. A porção filtrada desta tela é inserida no orifício central da placa plástica sobre uma lâmina de vidro. Após a placa ser removida, a amostra é coberta por uma lamínula de celofane embebida em verde de malaquita. A substância clarifica a amostra e facilita a visualização e quantificação dos ovos de *S. mansoni* em microscópio ótico. O número de ovos por grama de fezes (OPG) resulta na multiplicação da quantidade de ovos encontrados pelo fator de multiplicação (LINDHOLZ et al., 2018). A quantidade de OPG auxilia na determinação da carga parasitária no hospedeiro, que é definida em baixa (até 99 OPG de fezes), moderada (100 a 500 OPG de fezes) e intensa/alta (mais de 500 OPG de fezes) no método Kato Katz, norteando as estratégias para o controle da infecção (NELWAN, 2019).

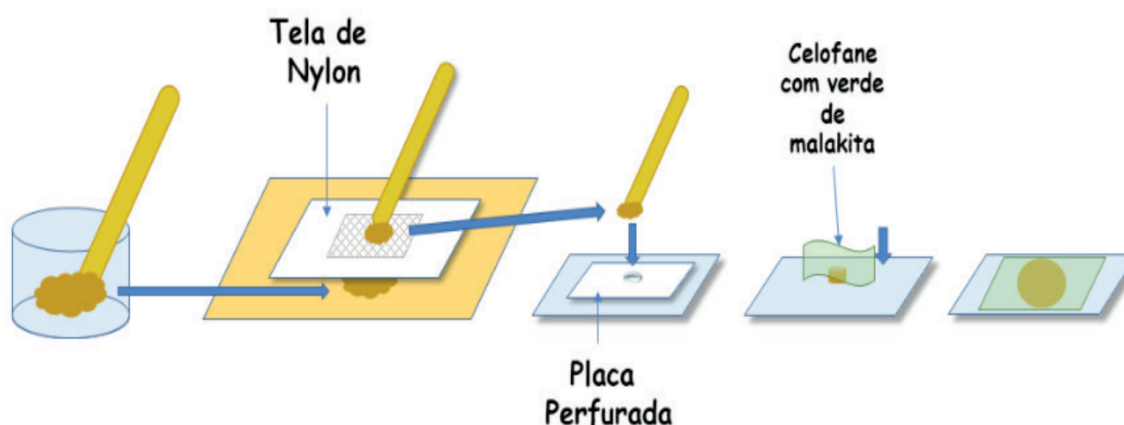


Figura 5 – Método Kato-Katz (JUNIOR; CALVÃO, 2020).

Recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), o KK é o método de

escolha para o diagnóstico da infecção por *S. mansoni* por ter baixo custo operacional e ser de alta praticidade sem a necessidade de infraestrutura laboratorial avançada. Além disso, as lâminas confeccionadas podem ser mantidas por meses em temperatura ambiente após seu preparo, mantendo o resultado inalterado (TURNER et al., 2017; NELWAN, 2019).

Porém, o KK apresenta algumas restrições, como a impossibilidade de utilização de amostras diarreicas para o seu desenvolvimento e a possibilidade dos ovos estarem distribuídos de forma desigual nas fezes, podendo não serem visualizados na análise e apresentar resultados falso-negativos se utilizado em locais de média a baixa endemicidade pela diminuição da sua sensibilidade (LINDHOLZ et al., 2018; SILVA-MORAES et al., 2019).

Em áreas onde a prevalência da esquistossomose é menor que 10% e o número de ovos por grama de fezes (OPG) é menor que 100, a detecção pelo KK possui limitações e pode informar prevalências subestimadas da realidade nos estudos epidemiológicos (SILVA-MORAES et al., 2019). Por isto, se faz necessário o desenvolvimento e execução de métodos de diagnóstico altamente sensíveis, que assegurem a precisão da condição infecciosa do indivíduo e desempenhem excelente papel para o controle da doença. Apesar da busca incessante na viabilidade destas ferramentas para o controle e a eliminação da doença, os incentivos financeiros em pesquisas permanecem tímidos. Parte do problema ocorre na estratégia quimioterápica em massa da população com intuito preventivo sem o diagnóstico prévio, pois economicamente é mais viável do que investimentos em novas ferramentas, um desafio para o controle futuro (CHALA, 2023).

2.4.2. Helmintex

Desenvolvido pelo Grupo de Parasitologia Biomédica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), o Helmintex (HTX) é um método que compreende diversas fases de concentração e adição de partículas paramagnéticas com o objetivo de isolar os ovos de *S. mansoni* em um campo magnético a fim de identificá-los e quantificá-los precisamente (FAVERO et al., 2017). O HTX foi desenvolvido com a finalidade de melhorar a sensibilidade na detecção direta de ovos do parasito, podendo atingir 100% de sensibilidade em amostras com 1,3 ovos por grama de fezes, fazendo jus a sua utilização em regiões com baixa carga parasitária por *S. mansoni*. O intuito de desenvolver um método mais acurado partiu da necessidade de examinar toda a amostra fornecida pelo paciente em regiões de alto risco epidemiológico, mas que arbitrariamente os indivíduos manifestavam resultados

negativos em seus exames (FAGUNDES TEIXEIRA et al., 2007; SOARES et al., 2020).

Apesar da elevada sensibilidade, o HTX é laborioso em sua execução, não sendo viável para uso em estudos de campo ou programas epidemiológicos. Em compensação, uma otimização foi proposta, com adição de um detergente não iônico (Tween-20) e o uso de ninidrina a 3% ao sedimento final para coloração dos ovos de *S. mansoni*. Esta coloração é realizada dentro de 15 minutos em temperatura ambiente (24°C), não trazendo prejuízos à estrutura do ovo e facilitando a leitura dos filtros de papel, reduzindo o tempo médio de preparação da amostra e de leitura ao microscópio óptico (Figura 6) (FAVERO et al., 2017; DE SOUZA et al., 2019).

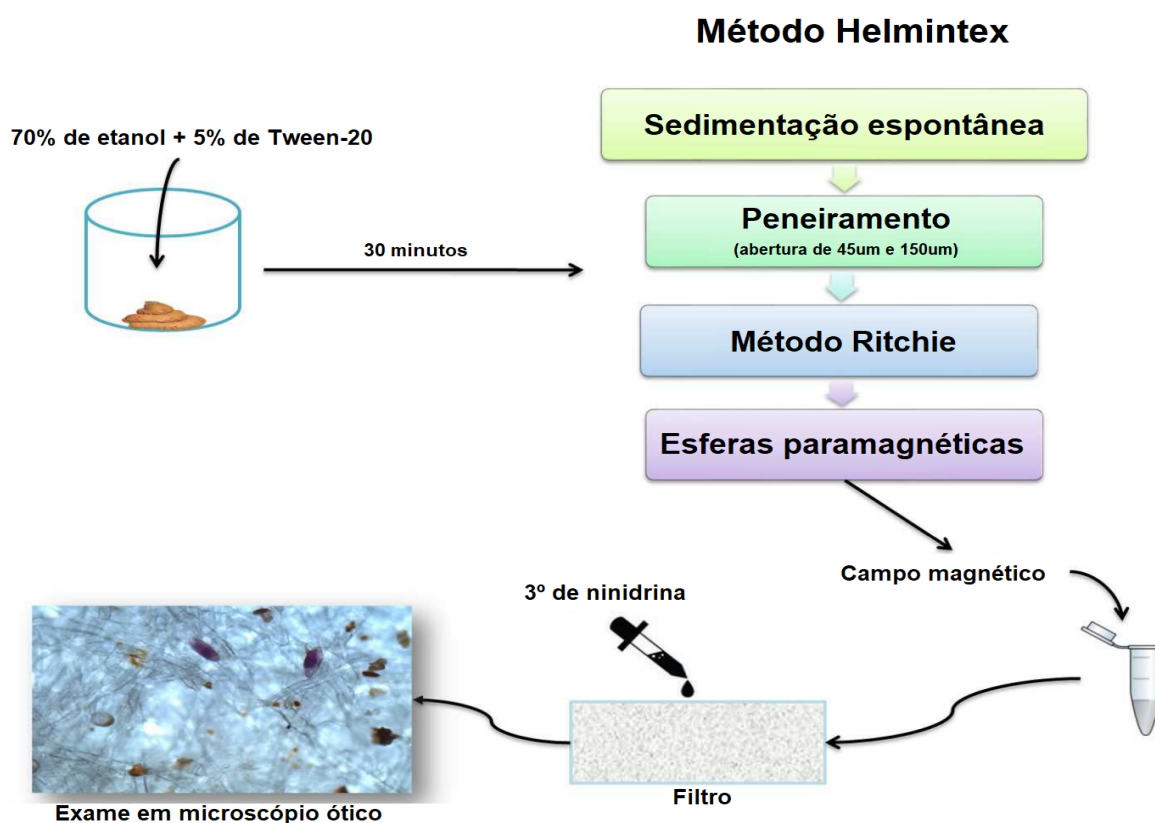


Figura 6 – Método Helmintex modificado (Fonte: traduzido de FAVERO et al., 2017).

O HTX é um método mais sensível no diagnóstico da esquistossomose quando comparado a outras ferramentas diagnósticas, sejam coproparasitológicas ou imunológicas (CANDIDO, 2018a). Entretanto, os estudos imunológicos receberam mais atenção ao longo dos anos do que os estudos morfológicos. O POC-CCA, por ser uma ferramenta prática e de baixo custo, tem sido alvo de intensas pesquisas; porém, seus resultados demonstraram sensibilidade insatisfatória em comparação ao HTX e KK em áreas de baixa endemicidade,

além de produzir alto número de amostras falso-positivas (PERALTA; CAVALCANTE, 2018; RAMÍREZ et al., 2020) e de possuir variações arbitrárias nos resultados de diversos testes de lotes distintos (VIANA et al., 2019), sendo atualmente não recomendado para o monitoramento e avaliação do controle da infecção por *S. mansoni* no Brasil (PIERI; BEZERRA; COELHO et al., 2023).

Na busca de novos métodos e marcadores diagnósticos, é importante trabalhar paralelamente na melhoria de técnicas diagnósticas já existentes, pois após o alcance da eliminação da esquistossomose como um problema de saúde pública, a meta será a interrupção e eliminação da doença (WHO, 2020). Para isto, novas pesquisas estão sendo realizadas para otimizar o HTX no diagnóstico da esquistossomose, sendo um dos poucos métodos coproparasitológicos que detém sensibilidade e especificidade suficientes para diagnosticar a doença com precisão, demonstrando resultados superiores quando comparados aos métodos convencionais, como o KK, imunológicos e sorológicos, em ambientes com infecções leves (LINDHOLZ et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; FAVERO et al., 2020; CHALA, 2023).

Os investimentos para se desenvolver uma ferramenta diagnóstica efetiva, de monitorização e baixo custo material (< US\$1,00 por exame) tem sido o alvo das agências de financiamento e laboratórios. O Helmintex possui um custo superior (US\$3,00 por exame) em relação ao POC-CCA (US\$1,00-1,75) e KK (US\$0,1-0,3). Porém, o custo total do POC-CCA e KK pode ser maior quando considerada a mão de obra, equipamentos e realizado esforço amostral em dias alternados (US\$2,67-12,48), superando o custo do HTX. A técnica PCR, apesar de altamente sensível para infecções de baixa intensidade, possui custo por exame elevado (US\$6,40 - 7,70), além de necessitar de treinamento de equipe e equipamentos sofisticados. O teste LAMP possui superioridade em comparação aos testes PCR convencionais, porém é oneroso e sua aplicabilidade está em análise (CANDIDO et al., 2018b)

Com esta perspectiva, justifica-se a avaliação do desempenho do método HTX em comparação ao KK (padrão-ouro proposto pela Organização Mundial de Saúde), mostrando-se necessária sua testagem em ambientes de média a baixa endemicidade que possuam indivíduos infectados apresentando baixas cargas parasitárias.

2.5. Tratamento

O praziquantel (PZQ) é uma mistura racêmica de proporção 1:1, composta dos

enantiômeros (*R*)-praziquantel (ou levo-praziquantel) e (*S*)-praziquantel (ou dextro-praziquantel) (figura 7), recomendado pela OMS e utilizado desde a década de 90 para o tratamento da esquistossomose. Seu mecanismo de ação é pouco descrito na literatura, porém sugere-se que o enantiômero (*R*)-PZQ desregula a homeostase dos canais iônicos de cálcio, causando contrações nos vermes adultos e danos à sua superfície. O enantiômero (*S*)-PZQ não possui ação antiesquistossomótica e contribui para algumas reações adversas do medicamento (ZDESENKO; MUTAPI, 2020; PARK et al, 2022).

No Brasil, o praziquantel é o único medicamento fornecido gratuitamente pelo Ministério da Saúde para o tratamento da esquistossomose, na apresentação de comprimidos de 600 mg e administrado por via oral, em dose única de 60 mg/kg de peso para crianças e 50 mg/kg de peso para adultos (BRASIL, 2014). De acordo com a OMS, o praziquantel na dosagem de 40 mg/kg alcançou taxas de cura de 73,6% (para *S. hematobium*), 76,4% (para *S. mansoni*) e 95,3% (para *S. japonicum*) em crianças escolares (SPANGENBERG, 2021).

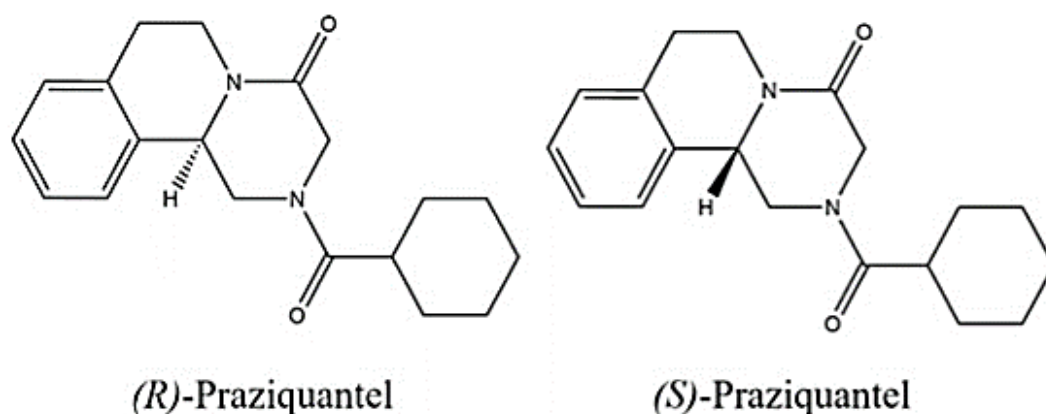


Figura 7 - Estrutura molecular dos dois enantiômeros de praziquantel. O (*R*)-praziquantel tem o átomo de hidrogênio (H) apontando para baixo do centro quiral. O (*S*)-praziquantel tem o átomo de hidrogênio (H) apontando para cima a partir do centro quiral. (Fonte: ZDESENKO; MUTAPI, 2020).

A administração de praziquantel demonstrou eficácia na redução significativa da prevalência e morbidade devido à esquistossomose em todo o mundo (GEBREYESUS et al., 2023). As evidências científicas demonstraram sua ação contra a fibrose causada tanto por *S. mansoni* quanto por *S. japonicum* (NIU et al, 2021). No entanto, a quimioterapia única pode não ser adequada para controlar a transmissão e eliminar esquistossomose, além de não prevenir o risco de reinfecção. Parte disto deve-se à sua baixa eficácia contra as fases jovens do parasito, o que representa um desafio na intervenção medicamentosa (SPANGENBERG, 2021).

A resistência ao medicamento se tornou uma preocupação futura das estratégias de controle da esquistossomose, embora haja poucas evidências relevantes sobre o assunto. Em contrapartida, o apoio ao desenvolvimento e implantação de uma vacina eficaz é uma opção que acrescentaria no tratamento a longo prazo, compensando o efeito de curto prazo da quimioterapia dentro da amplitude de controle e eliminação da doença (MCMANUS et al., 2020; LO et al., 2022).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Analisar o desempenho do método coproparasitológico Helmintex em relação ao método Kato-Katz para o diagnóstico da esquistossomose em área endêmica na cidade de Pacatuba, Sergipe.

3.2. Objetivos Específicos

- Rastrear os indivíduos infectados por *S. mansoni* utilizando os métodos KK e HTX em área endêmica de média endemicidade;
- Avaliar comparativamente o desempenho dos métodos parasitológicos HTX e KK na determinação do percentual de positividade para esquistossomose na região estudada;
- Determinar comparativamente os Valores Preditivos Positivos (VPP) e Valores Preditivos Negativos (VPN) dos métodos aplicados na população, levando em consideração os parâmetros de sensibilidade e especificidade das técnicas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento do estudo e caracterização da área e população estudada

Trata-se de um estudo de acurácia e validação de métodos para o diagnóstico do *S. mansoni*. As coletas foram realizadas no povoado de Areia Branca, localizado no município de Pacatuba (Figura 8), a 95 quilômetros de Aracaju, capital do estado de Sergipe (10°28'04.7"S, 36°38'00.6"W). O município de Pacatuba possui aproximadamente 14.650 habitantes, com área total de 381,428 km². O clima do município é tropical, com médias anuais de temperatura em torno dos 30° C. O povoado de Areia Branca foi reconhecido recentemente, composto por 441 moradores, localizado às margens do Rio Betume e da rodovia federal BR 204, próximo do Pantanal Nordestino (IBGE, 2021).

Os requisitos para inclusão no estudo foram: i) idade > 6 anos e ii) coleta de amostra fecal > 30 g. As estimativas anteriores de prevalência do Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helmintoses (INPEG) indicaram que o município de Pacatuba é uma área endêmica com prevalência moderada (KATZ, 2018), enquanto a localidade de Areia Branca possui prevalência de 12,98%, de acordo com os dados do Programa Nacional de Controle da Esquistossomose (BRASIL, 2022).

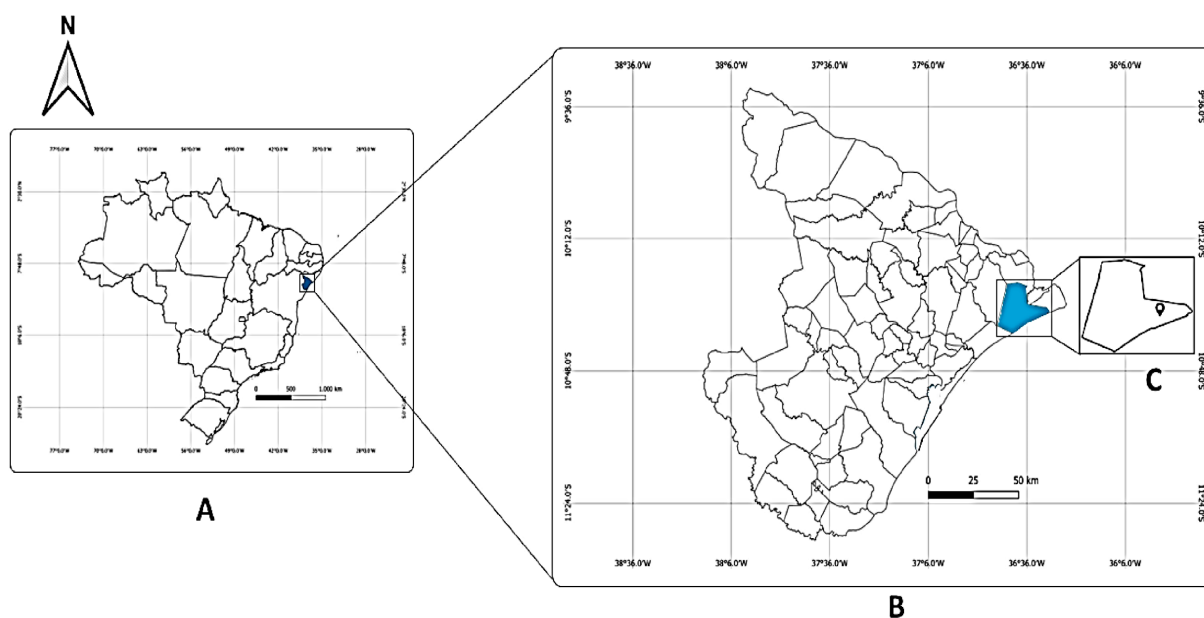


Figura 8 – A) Mapa do Brasil. B) Mapa do estado de Sergipe. C) município de Pacatuba. Fonte: Adaptado de base cartográfica do IBGE, 2022.

4.2. Coleta de amostras e exames laboratoriais

Coletores plásticos de um litro foram distribuídos à população para a coleta de material fecal total de cada indivíduo. Para o método KK (KATZ, 1972), o material foi processado utilizando o kit comercial HelmTest (Biomanguinhos/Fiocruz, Brasil). Os casos positivos para a esquistossomose mansoni foram documentados pela presença de um ou mais ovos do parasito nas fezes; a carga parasitária foi calculada como a média aritmética da quantidade de ovos de duas lâminas multiplicado pelo fator de correção (24) e apresentada como a média de ovos por grama de fezes (OPG) (WHO, 2022).

Para o HTX foram utilizados 30 gramas de fezes para a realização do procedimento, conforme descrito inicialmente por Fagundes Teixeira et al. (2007) e aprimorado por Favero et al. (2017). As fezes foram dissolvidas e fixadas em solução contendo 10% de Tween-20 em etanol 70% por 30 minutos. Cada amostra foi tamisada em malha metálica com poros de 500 μm e transferida para frasco cônico, onde foi lavada até a obtenção de sobrenadante límpido. Após esta etapa, a amostra foi ressuspensa e tamisada através de malhas metálicas com poros de 150 μm e 45 μm , respectivamente. A fração retida pela última malha foi suspensa em solução aquosa de acetato de etila em tubo cônico de 15 mL, homogeneizada e centrifugada por 10 minutos a 1500 rpm. Após o descarte do sobrenadante, o *pellet* da amostra foi transferido para microtubo e acrescido de 19 μL de partículas paramagnéticas de óxido de ferro (Bangs Labs, EUA), sendo homogeneizado por 30 minutos em rotação orbital. Os microtubos foram colocados em rack magnético (Bangs Labs, EUA) por 3 minutos. O material não ligado foi descartado antes de cada microtubo ser removido do suporte. A amostra retida por magnetismo na parede de cada microtubo foi ressuspensa em solução aquosa de NaCl a 0,9% na proporção de 1:1 e armazenada a 4°C até serem analisadas.

Para a etapa de análise microscópica, cada amostra sedimentou em posição vertical por 30 minutos; em seguida, foi retirado o sobrenadante; adicionado 400 μL de ninidrina a 3% (Sigma-Aldrich, EUA) e homogeneizada por inversão. Cada suspensão foi espalhada uniformemente em papéis de filtro de 5 $\times$ 2,5 cm (poro de 24 μm) (UNIFIL, Brasil) previamente identificados e examinados por microscopia ótica em ampliação de 100x. No momento da microscopia, os filtros foram umedecidos com etanol 70% e foi realizada a observação da presença de ovos. Após a leitura, os papéis de filtro foram armazenados separadamente em envelopes de papel para evitar contaminação cruzada entre as amostras.

4.3. Análises estatísticas

Um Padrão de Referência Consolidado (PRC) foi estabelecido usando a identificação positiva de ovos pelos métodos de KK e HTX (FAVERO et al., 2017). As análises e estimativas foram obtidas utilizando o programa RStudio 4.2.2 (Boston, Massachusetts, EUA). As proporções de resultados positivos e negativos foram comparadas com o teste de McNemar, considerando o PRC, KK e HTX. A análise de variáveis discretas (idade e sexo dos indivíduos) foram analisadas pelo teste de Wilcoxon.

As estimativas de sensibilidade, especificidade, Valores Preditivos Positivo (VPP), Negativo (VPN), acurácia e curva característica de operação do receptor (ROC) foram calculadas no software RStudio. As equações obedeceram aos parâmetros relacionado ao padrão PRC, seguindo as razões: sensibilidade = $a/(a+c)$; especificidade = $d/(b+d)$; VPP = $a/(a+b)$; VPN = $d/(c+d)$; acurácia = $(a+d)/(a+b+c+d)$, onde: a) verdadeiro positivo; b) falso positivo; c) falso negativo; d) verdadeiro negativo (MOREIRA, 2012).

4.4. Aspectos éticos da pesquisa

Todos os procedimentos utilizados para este estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Sergipe (CAAE: 66074017.6.1001.5546) e da Universidade de Minas Gerais (CAAE nº 55239522.3.0000.5149). Os pais/responsáveis e as crianças participantes foram informados sobre o objetivo e procedimento do estudo. O consentimento foi obtido por escrito dos pais/responsáveis das crianças concordando na participação do estudo. Todas as amostras de fezes humanas obtidas neste estudo foram codificadas e tratadas anonimamente.

Os participantes receberam os resultados dos exames de fezes e as pessoas infectadas por *S. mansoni* foram tratadas com praziquantel. A dosagem utilizada foi de 50 mg/Kg para adultos e 60 mg/Kg para crianças, conforme regulamentação técnica brasileira (BRASIL, 2018). Os indivíduos infectados com *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos foram tratados com dose única de 400mg de albendazol.

Aos participantes do projeto foram disponibilizadas informações a respeito da doença, sua forma de infecção, os sinais e sintomas mais comuns, além de cuidados na prevenção de ocorrência da doença.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Conforme instrução normativa (PPGCF nº 01/2018) que regulamenta os formatos dos trabalhos de qualificação e de defesa de dissertação e de tese para os cursos de Mestrado e Doutorado do PPGCF/UFS, o formato padrão do exame de qualificação para o curso de Mestrado poderá ser substituído por texto escrito contendo fundamentação teórica seguida por um artigo publicado em revista científica qualificada.

CAPÍTULO I

Accuracy Study of Kato-Katz and Helmintex Methods for Diagnosis of Schistosomiasis Mansoni in a Moderate Endemicity Area in Sergipe, Northeastern Brazil.

Artigo publicado no periódico *Diagnostics*

Fator de impacto 3.6 (2022).

Article

Accuracy Study of Kato-Katz and Helmintex Methods for Diagnosis of Schistosomiasis Mansoni in a Moderate Endemicity Area in Sergipe, Northeastern Brazil

Daniel Lima Menezes ¹, Carlos Thailan de Jesus Santos ², Yvanna Louise Di Christine Oliveira ¹ , Vinícius Torres Castro Campos ³, Deborah Aparecida Negrão-Corrêa ⁴, Stefan Michael Geiger ⁴, José Rodrigo Santos Silva ² , Sona Jain ⁵, Luciana Maria Oliveira ², Ricardo Toshio Fujiwara ^{2,4}, Carlos Graeff-Teixeira ⁶ and Silvio Santana Dolabella ^{1,2,*} 

¹ Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Sergipe, São Cristóvão 49100-000, SE, Brazil

² Postgraduate Program in Parasite Biology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão 49100-000, SE, Brazil

³ Department of Morphology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão 49100-000, SE, Brazil

⁴ Department of Parasitology, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, MG, Brazil

⁵ Postgraduate Program in Industrial Biotechnology, Tiradentes University, Aracaju 49032-490, SE, Brazil

⁶ Infectious Diseases Unit, Department of Pathology, Federal University of Espírito Santo, Vitória 29047-105, ES, Brazil

* Correspondence: dolabellaufs@gmail.com



Citation: Menezes, D.L.; Santos, C.T.d.J.; Oliveira, Y.L.D.C.; Campos, V.T.C.; Negrão-Corrêa, D.A.; Geiger, S.M.; Silva, J.R.S.; Jain, S.; Oliveira, L.M.; Fujiwara, R.T.; et al. Accuracy Study of Kato-Katz and Helmintex Methods for Diagnosis of Schistosomiasis Mansoni in a Moderate Endemicity Area in Sergipe, Northeastern Brazil. *Diagnostics* **2023**, *13*, 527. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13030527>

Academic Editor: Franco H. Falcone

Received: 19 December 2022

Revised: 24 January 2023

Accepted: 29 January 2023

Published: 31 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Schistosomiasis is a neglected tropical disease (NTD) caused by blood flukes from the genus *Schistosoma*. Brazil hosts the main endemic area in the Americas, where *Schistosoma mansoni* is the only species causing the disease. Kato-Katz (KK) thick smear is the WHO recommended screening test for populational studies, but there is growing evidence for the sensitivity limitations associated with KK, especially in areas with low parasite loads. Helmintex (HTX) is another highly sensitive egg-detection method, based on the magnetic properties of *S. mansoni* eggs and their isolation in a magnetic field. The objective of this study is to evaluate both KK and HTX in a moderate endemic locality, Areia Branca, located in the municipality of Pacatuba, in the state of Sergipe in northeastern Brazil. From 234 individual fecal samples, two KK thick smears were prepared and evaluated for each sample. Similarly, 30 g of each fecal sample was processed by HTX protocol. Eggs were detected in 80 (34.18%) residents. Twenty-three (9.83%) samples were positive for eggs (only by KK), and 77 (32.91%) samples showed positive for eggs (only by HTX). Sensitivity, specificity, and accuracy estimates gave values of 28.75%, 100% and 75.64%, respectively, for KK, and 96.25%, 100% and 98.72% respectively, for HTX. The positive predictive value was 100% for both methods, while the negative predictive value was 72.99% for KK and 98.09% for HTX. Overall, HTX presented a superior performance compared to the one sample, two slides KK examination. The study confirms the role of HTX as a reference method for the definition of true-positive samples in comparative accuracy studies and its potential role in the late stages when the certification of schistosomiasis transmission interruption is required. Diagnostic tests are important tools for the elimination of this NTD, besides the effective implementation of safe water, basic sanitation, snail control, and the treatment of infected populations.

Keywords: *Schistosoma mansoni*; diagnostic; Kato-Katz; Helmintex; sensitivity; accuracy

1. Introduction

Schistosomiasis is a parasitic infection caused by trematodes from the genus *Schistosoma*. Transmission takes place in aquatic environments contaminated with human feces containing schistosome eggs [1]. It is a neglected tropical disease that mainly affects populations struggling with poverty and the lack of adequate water, basic sanitation, and education. The expansion of transmission areas have recently been detected in urban and peri-urban areas, especially those with rapid and unplanned populational booms [2,3].

Schistosoma species are distributed mainly in Africa, Latin America, the Middle East and Southeastern Asia [4,5]. It is estimated that 252 million people are infected and more than 709 million from 78 countries and territories live under the risk of infection [6]. In Brazil, *Schistosoma mansoni* is the only species causing infections and schistosomiasis is still a public health concern considering the 102.259 DALY's per 10⁵ inhabitants (Disability Adjusted Life Years) documented in 2016 [7]. Schistosomiasis is mainly endemic in the northeastern and southeastern regions [8].

Among the most susceptible groups are young men and adults between the ages of 16 and 25, mainly due to their greater exposure to contaminated water, living in housing in locations without basic sanitation and access to treated water, and recreational and work activities such as bathing and fishing [9].

Egg detection in fecal samples is required for confirmed diagnosis of schistosomiasis. The Kato-Katz (KK) thick smear method has been the recommended screening method because of its lower complexity and minimal operational costs [10]. Moreover, the prepared slides are easy to store at room temperature for months for a later examination by microscope [11–13]. Its disadvantages include the inability to analyze watery stools and the uneven distribution of eggs in fecal material, leading to false-negative outcomes [14,15]. Furthermore, especially in low endemic settings, KK lacks sensitivity and may underestimate the prevalence with prejudice for adequate guidance for control measures [15].

Helmintex (HTX) involves several concentration steps with the isolation of *S. mansoni* eggs from 30 g of feces, through their interaction with paramagnetic beads in a magnetic field. Seeding experiments in the laboratory have demonstrated that HTX is 100% sensitive for egg burdens higher than 1.3 eggs per gram of feces (EPG) [16,17]. As HTX includes a laborious and complex set of procedures, it is not adequate for the routine screening of populations in low endemicity areas, but it is a valuable reference method for comparative studies of diagnostic tests [18,19].

Our objective was to evaluate KK and HTX methods in moderate and low endemicity settings, especially in samples with low egg burden and where monitoring programs suggest a reduction in transmission. Moreover, we compared the potential of both tests to detect the infection at different ages and sex, since these variables may affect the results from diagnostic tests, especially due to variable risk for infection and successive reinfections. The results were further compared to a consolidated reference standard (CRS) composed of egg detection by either of the two methods.

2. Materials and Methods

2.1. Ethics Statement

All procedures used for this study were approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Sergipe (CAAE: 66074017.6.1001.5546) and the Federal University of Minas Gerais (CAAE no. 55239522.3.0000.5149). Parents/guardians and participating children were informed about the purpose and procedure of the study. Written informed consent was obtained from the parents/guardians of the children agreeing to participate in the study prior to enrolment. All human stool samples obtained in this study were coded and treated anonymously.

The participants were informed of their stool test results, and all of the infections were treated with praziquantel. The dosing utilized included 40 mg/kg for adults and 60 mg/kg for children, according to Brazilian technical regulations [20]. Individuals infected with *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* and hookworms were treated with a single dose of 400 mg albendazole.

2.2. Study Area and Population

The survey was conducted in Areia Branca in the municipality of Pacatuba, Sergipe, Brazil (10°28'04.7" S, 36°38'00.6" W), located at a distance of 95 Km from Aracaju, the state capital (Figure 1). Situated next to the Betume River [21], the surveyed locality included 441 inhabitants [22]. Requirements for inclusion in the study were: (i) age > 6 years-old

and (ii) collection of a fecal sample >30 g. Previous prevalence estimates from a national survey (Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helmintoses, INPEG) indicated that the municipality of Pacatuba is an endemic area with moderate prevalence [23], while the locality of Areia Branca showed a positivity index of 12.98% (positive egg results from KK examinations), according to data from the Brazilian National Schistosomiasis Control Program [23]. The age of the studied population varied from between six and 97 years, with an average of 35.5 ± 18.1 years. Among the 234 selected participants, 52 (22.2%) were between six and 20 years old, 160 (68.4%) were between 21 and 60 years old, and 22 (9.4%) were over 60 years old. A higher number of the volunteers were women (56.98%).

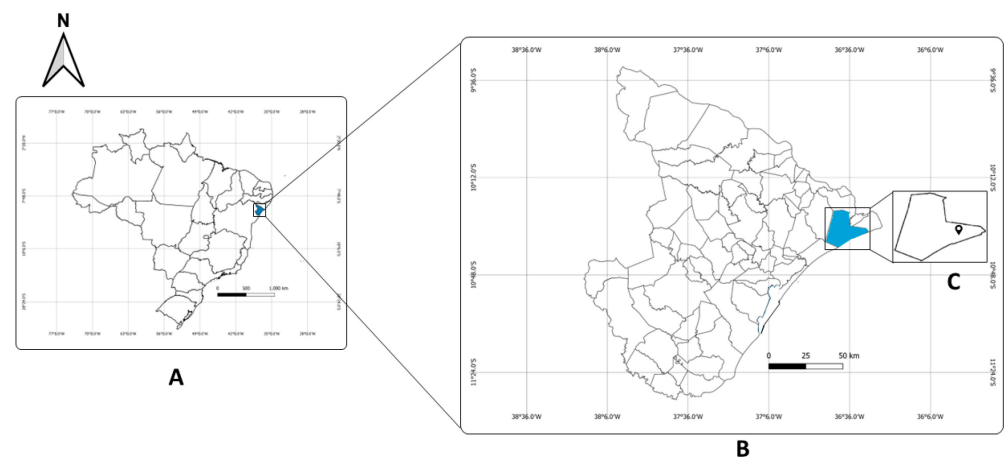


Figure 1. (A) Map of Brazil; (B) Map of the State of Sergipe (Brazil) showing Pacatuba municipality (C).

2.3. Collection of Biological Samples and Laboratory Procedures

Large (1 L) plastic containers were distributed for sample collection and samples were processed in the laboratory by the KK and HTX methods (see flow chart, Figure 2). From a total of 441 residents, 320 individual fecal samples were collected, and 234 (73.1%) of these samples weighed >30 g. Results were individually reported back to the population together with treatment options and information on preventive measures.

A commercial KK kit, HelmTest[®] (Biomanguinhos/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil) was used, and two slides were prepared from each sample, as recommended by the World Health Organization [13] and many other authors [23,24]. A small portion of the stool sample to be examined was placed on a piece of toilet paper and pressed with a metal mesh [25]. The sieved fecal material was transferred to fill a 6 mm orifice on a plastic card placed on a glass slide made to contain approximately 42 mg of the sieved feces. After removing the card, the small amount of feces was covered with cellophane impregnated with malachite green and glycerin. The thick smear was obtained by pressing the slide with one finger. The screening of the smear under the microscope (100× magnification) was performed after 1 to 2 h. The number of EPG for each sample was established by the average egg counting from two slides, multiplied by 24.

HTX was performed according to the revised protocol as reported by Favero et al. [26] Briefly, 30 g of feces was fixed in 10% of Tween-20 with 70% ethanol (*v/v*) and filtered through a sieve with an aperture of 500 µm. After consecutive washing and sedimentation, the pellet was passed through two different sieves (apertures of 150 and 45 µm). The material retained on the last sieve (45 µm) was processed by the Ritchie method (1948), and 19 µL of paramagnetic particles (Bangs Labs, Fishers, IN, USA) was added to the final sediment. After incubation for 30 min, the microtubes containing the final sediment were placed on a magnet rack (Bangs Labs, Fishers, IN, USA) for 3 min, and the material that did not adhere to the wall of the microtube was discarded. The final pellet was stained with 3% ninhydrin for 15 min at 24 °C, placed on rectangular filter paper, and screened under a microscope at 100× magnification.

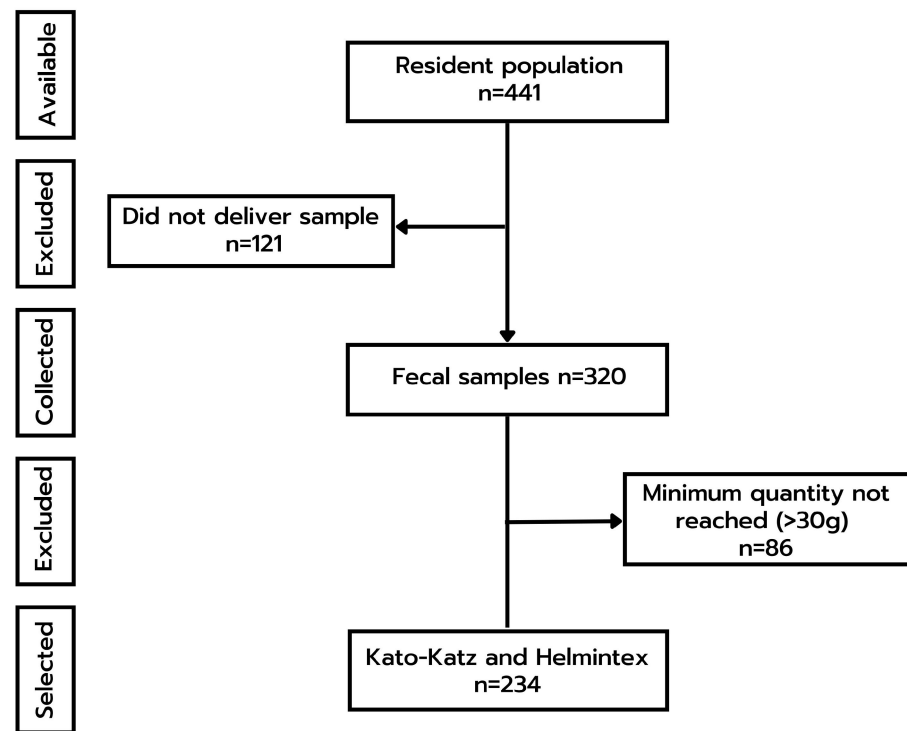


Figure 2. Flow chart showing the sample inclusion and exclusion criteria utilized in this study.

2.4. Statistical Analysis

A CRS was established using the positive egg identification by the KK and HTX methods [27]. The normality of distributions was verified with a Shapiro-Wilk test. The proportions of positive and negative results were compared with a McNemar test, considering CRS, and prevalence ratios were estimated from each of the test results. Positive (PPV) and negative (NPV) predictive values, sensitivity, specificity, and the receiver operating characteristic curve (ROC) were also calculated to assess the accuracy of the diagnostic tests. The variation of discrete variables (age of individuals) was analyzed by the Wilcoxon test. Analysis and estimations were obtained by using RStudio 4.2.2 (Boston, MA, USA, EUA).

3. Results

Eggs were detected in 23 and 77 individual samples, by KK and HTX methods, respectively (Table 1). The analysis of the distribution of positive outcomes according to sex demonstrated that a higher probability for infection is associated with the male condition, as estimated from both KK (RP: 2.91) and HTX (RP: 1.79) data. No significant increased risk was associated with age group.

Table 1. Distribution of positive results by Kato-Katz and Helmintex according to sex and age.

Category	Variable	P (%)	N (%)	PR (CI 95%)	p-Value
KK vs. SEX	men	16 (15.5)	87 (84.5)	2.91 (1.24–6.80) 1	0.017
	women	7 (5.3)	124 (94.7)		
HTX vs. SEX	men	45 (43.7)	58 (56.3)	1.79 (1.23–2.60) 1	0.003
	women	32 (24.4)	99 (75.6)		
KK vs. AGE		42.0 ± 25.0	34.0 ± 27.0	-	0.442 *
HTX vs. AGE		35.0 ± 18.0	34.0 ± 35.0	-	0.543 *

Positive (P), Negative (N), Prevalence Ratio (PR), Confidence Intervals (CI), Kato-Katz (KK), Helmintex (HTX). Considered significant p-value: $p \leq 0.05$. * No significant increased risk was associated with different ages.

3.1. Performance of the Parasitological Methods for Schistosomiasis Diagnosis

The proportion of positive outcomes, as established by the CRS, was 34.2% (80/234), while it was 9.8% and 32.9%, respectively, when considering KK and HTX individually. Thus, 80 out of 234 individuals, as defined by CRS, were the “true positive samples” or “positive controls” (+C).

While only 23 out of 80 +C were detected by KK (28.8% sensitivity), HTX detected 77 out of 80 +C (96.2% sensitivity), resulting in accuracy estimations of 75.6% and 98.7% for KK and HTX, respectively (Table 2). Based on an analysis of ROC, there is a higher probability for detection of schistosomiasis for HTX (0.98) as compared to KK (0.64).

Table 2. Performance indicators for the Kato-Katz and Helminex methods.

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC
KK	28.8	100.00	75.6	100.00	7.9	0.64
HTX	96.2	100.00	98.7	100.00	98.1	0.98

Kato-Katz (KK), Helminex (HTX), Positive Predictive Value (PPV), Negative Predictive Value (NPV), Area Under the Curve (AUC), CI = 95%.

3.2. Classification According to Egg Burdens

According to the WHO, the egg burden should be accessed by KK to classify the infection intensity as light (from 1 to 99 EPG); moderate (100 to 399 EPG) and heavy (≥ 400 EPG) [13]. In Areia Branca, 95.7% (22/23) of positive samples presented light infections and only one resident (4.3%) presented higher EPG (108, average). The distribution and comparison of egg counts from KK and HTX is shown in Figure 3.

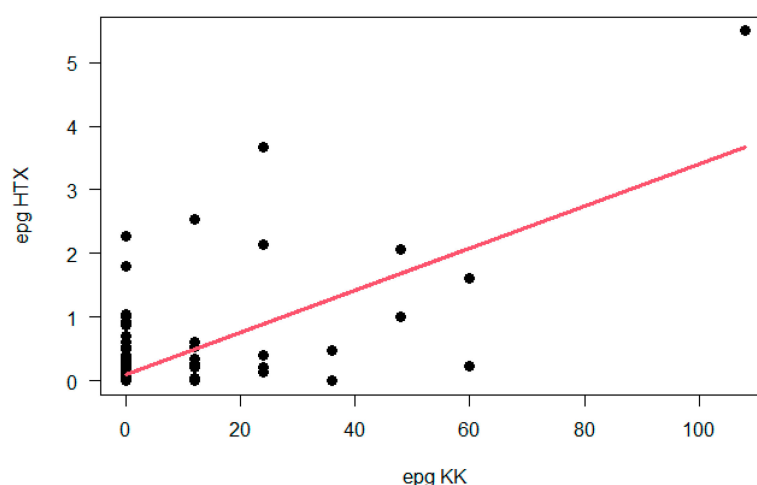


Figure 3. Case-to-case comparisons of the egg burden values estimated by the Kato-Katz and Helminex methods. The correlation coefficient is 0.4336829.

4. Discussion

Since the implementation of the Brazilian Schistosomiasis Control Program (*Programa de Controle da Esquistossomose*, PCE) there have been indications of decreased morbidity, reduced infection intensity and low prevalence [28,29]. Although most of the Brazilian endemic localities are close to achieving the goal of less than 1% of heavy infections (>400 EPG), there is still plenty of work to be carried out [13].

The many challenges to effectively reach the advanced stages of schistosomiasis morbidity and transmission control include the lack of sensitive diagnostic tests able to detect light asymptomatic infections [4,30]. These residual undetected and untreated infections keep contributing the eggs that are being eliminated into the environment. The test-treat strategy is essential for successful schistosomiasis control, especially in settings with low endemicity [31]. Moreover, the reduction of egg sources has an even more

important role when we consider the low feasibility of sustained population control and the eradication of the snail hosts. Therefore, the development and adequate evaluation of diagnostic tests are essential for successful schistosomiasis control.

The history of exposure to water bodies for leisure or work activities has been well documented as risk determinants for schistosomiasis [32]. The present data shows an increased risk of infection for male individuals, who are more involved with fishing and agricultural activities in Areia Branca [33–35]. The absence of significant risk associated with age is also noteworthy, suggesting that all age groups are equally exposed to infection.

The distribution of egg burdens in the studied population shows that most individuals were eliminating very low egg numbers, except for a single participant with 108 EPG, which explains the large difference of positivity between results obtained by KK and HTX [18,36,37]. HTX was clearly superior to KK for detecting infections in Areia Branca.

Among other strategies to improve the accuracy of KK in low endemicity settings, increased numbers of thick smears have been used, but the few studies with direct KK-HTX comparison have failed to demonstrate that a bigger sampling can result in KK positivity equivalent to HTX positivity [19,38]. After comparing 14 KK smears (one fecal sample) with HTX, Oliveira and collaborators estimated KK sensitivity to be approximately 60% lower than HTX sensitivity for samples with less than 12 EPG [18]. Increasing the number of samples per individual to three, with two smears for each sample, KK was able to detect 40% of the positive samples, while HTX detected 84% of them [18].

Large numbers of slides were screened using a microscope, both resulting from an extended number of KK thick smears or from HTX, which are too laborious for routine examinations at the populational level. The sensitivity advantage of HTX over KK comes from an initial fecal volume that is 714 times larger in the case of HTX (30 g), when compared to KK (0.042 g). However, larger fecal volumes (in case of HTX) are associated with laborious and time-consuming procedures. There are indications that smaller amounts of feces may not be associated with a significant reduction in HTX sensitivity, even at low intensity areas [14], but modifications in the standard protocol require further standardization experiments [26].

Other diagnostic methods for *S. mansoni* are being tested (one of them is the detection of circulating cathode antigen in urine samples (POC-CCA)) as an alternative to the KK method. The POC-CCA is easy to use, of low cost, and has a shorter execution time and greater patient adherence in addition to having greater sensitivity compared to KK (29.1 vs. 3.6%, when trace observations were considered as positive) [39]. Despite the advantages, the POC-CCA can present false-positive results [40] and not present reproducibility with different batches used [38], and thus is not being recommended as a reliable diagnostic tool in areas of low endemicity [41].

In our study, the accuracy, sensitivity and specificity estimated from the present data demonstrate a superior performance of HTX, as compared to KK. HTX successfully detected 96.25% of CRS-true-positive samples, a positivity ratio 3.3 times higher than that obtained with KK (28.8%). The present study corroborates similar studies carried out in low endemicity regions [14,42]. It is also interesting to highlight that HTX showed greater sensitivity even when compared to polymerase chain reaction (PCR) [43].

Better accuracy was also indicated by ROC analysis. Similar large differences of sensitivity estimates for HTX as compared to KK were also reported by Oliveira and collaborators (84.4%) [18] and Magalhães and collaborators (63.8%) [19].

HTX yielded negative results in 3 KK-positive samples, resulting in a negative predictive value (NPV) of 98.09% for HTX vs. 72.9% for KK. Lindholz and collaborators reported similar differences with NPV of 100% for HTX vs. 67.2% for KK. The authors also found similar KK estimates for accuracy (71.1 vs. 75.64 in present study) and sensitivity (29.3% vs. 28.75%) [14].

As previously highlighted by other authors [14], egg counts are overestimated by KK as compared to HTX (Figure 3). It is also interesting to note that the endemicity setting in Areia Branca shows a dissociation between the prevalence (32.9%) and intensity of

infections, with most egg burdens lower than 1 EPG. This dissociation may result from continuous but less than adequate control measures, which prevent more severe infections but does not effectively contribute to transmission elimination.

Moderate and low endemicity settings are defined by the WHO as areas with a prevalence between 10% and 50% and lower than 10%, respectively [13]. Areia Branca would be classified as a low endemicity area if the prevalence is based on KK results (9.82%) from this study. However, a more accurate prevalence is provided by HTX at 32.9%, upgrading Areia Branca as a moderate endemicity area. These discrepant findings highlight the limitations of the KK method for guiding late stages of schistosomiasis control with predominant light infections. Official 2021 data from the Pacatuba municipality registered prevalence estimates of 12.63% [22], which is close to the KK estimate of 9.82% in the present study, but also much lower than the HTX estimate of 32.9%. It is noteworthy that in Pacatuba, routine examinations are performed with only one thick smear, and not the two slides recommended by the WHO (as performed in the study), which poses further limitations to current screening protocols.

5. Conclusions

The evaluation of two diagnostic tests in a moderate endemicity area in Areia Branca, Pacatuba, Sergipe, northeastern Brazil has confirmed the limitations of KK and the potential contribution of HTX as a reference method to define true-positive samples. The development and adequate evaluation of diagnostic tests are pivotal for eliminating schistosomiasis as a public health problem, its transmission at a late stage, and the certification of the absence of transmission. The HTX method is currently under revision (by our research group) for improvements that will eventually decrease its laborious character, without reducing its striking sensitivity. Among the improvements, a more efficient sieving procedure may significantly decrease the time required for the detection of eggs.

Author Contributions: Conceptualization, S.M.G., R.T.F., C.G.-T. and S.S.D.; methodology, D.L.M., C.T.d.J.S., Y.L.D.C.O. and L.M.O.; investigation, D.L.M., C.T.d.J.S., Y.L.D.C.O. and V.T.C.C.; writing—original draft preparation, D.L.M., C.T.d.J.S. and Y.L.D.C.O.; writing—review and editing, D.A.N.-C., S.M.G., J.R.S.S., S.J., R.T.F., C.G.-T. and S.S.D.; supervision, S.S.D.; funding acquisition, R.T.F. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development and the Brazilian Ministry of Health (Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Especiais), grant number CNPq/MS-SCTIE-Dicit No 22/2019, processo CNPq #442994/2019-2.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Federal University of Sergipe (CAAE: 66074017.6.1001.5546) and Federal University of Minas Gerais (CAAE: 55239522.3.0000.5149).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: We would like to thank the Central Laboratory of Instituto Parreiras Horta for providing the Kato-Katz kits, and the Municipal Secretary of Health of Pacatuba, Secretary Rosivânia Batista Montes Lemos and Community Health Agents Roberto, Maria and Marisa for their support in the field. We also thank Yrna Lorena Matos de Oliveira for her help with the field work.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Maier, T.; Wheeler, N.J.; Namigai, E.K.O.; Tycko, J.; Grewelle, R.E.; Woldeamanuel, Y.; Klohe, K.; Perez-Saez, J.; Sokolow, S.H.; De Leo, G.A.; et al. Gene drives for schistosomiasis transmission control. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, *13*, e0007833. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Klohe, K.; Koudou, B.G.; Fenwick, A.; Fleming, F.; Garba, A.; Gouvras, A.; Harding-Esch, E.M.; Knopp, S.; Molyneux, D.; D'Souza, S.; et al. A systematic literature review of schistosomiasis in urban and peri-urban settings. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2021**, *15*, e0008995. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

3. World Health Organization. Schistosomiasis. 2022. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis> (accessed on 10 December 2022).
4. Van G-Young Onasanya, A.; Van Engelen, J.; Oladepo, O.; Diehl, J.C. Improving Access to Diagnostics for Schistosomiasis Case Management in Oyo State, Nigeria: Barriers and Opportunities. *Diagnostics* **2020**, *10*, 328.
5. World Health Organization. Schistosomiasis. Status of Schistosomiasis Endemic Countries: 2021. 2022. Available online: https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/sch/sch.html (accessed on 10 December 2022).
6. World Health Organization. *Schistosomiasis. Ending the Neglect to Attain the Sustainable Development Goals: A Road Map for Neglected Tropical Diseases 2021–2030*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2020.
7. Martins-Melo, F.R.; Carneiro, M.; Ramos, A.N., Jr.; Heukelbach, J.; Ribeiro, A.L.P.; Werneck, G.L. The burden of Neglected Tropical Diseases in Brazil, 1990–2016: A subnational analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2018**, *12*, e0006559. [CrossRef]
8. Ministério da Saúde (Brasil). *Boletim Epidemiológico. Doenças Tropicais Negligenciadas*; Secretaria de Vigilância em Saúde: Brasília, Brazil, 2021; p. 76. (In Portuguese)
9. Faust, C.L.; Osakunor, D.N.; Downs, J.A.; Kayuni, S.; Stothard, J.R.; Lamberton, P.H.; Reinhard-Rupp, J.; Rollinson, D. Schistosomiasis Control: Leave No Age Group Behind. *Trends Parasitol.* **2020**, *36*, 582–591. [CrossRef]
10. World Health Organization. The Control of Schistosomiasis: Report of a WHO Expert Committee. 1985. Available online: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39529/1/WHO_TRS_728.pdf (accessed on 15 December 2022).
11. Turner, H.C.; Bettis, A.A.; Dunn, J.C.; Whitton, J.M.; Hollingsworth, T.D.; Fleming, F.M.; Anderson, R.M. Economic Considerations for Moving beyond the Kato-Katz Technique for Diagnosing Intestinal Parasites as We Move Towards Elimination. *Trends Parasitol.* **2017**, *33*, 435–443. [CrossRef]
12. Nelwan, M.L. Schistosomiasis: Life Cycle, Diagnosis, and Control. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* **2019**, *91*, 5–9. [CrossRef]
13. World Health Organization. *WHO Guideline on Control and Elimination of Human Schistosomiasis*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2022.
14. Lindholz, C.G.; Favero, V.; Verissimo, C.D.M.; Candido, R.R.F.; De Souza, R.P.; Dos Santos, R.R.; Morassutti, A.L.; Bittencourt, H.R.; Jones, M.K.; St. Pierre, T.G.; et al. Study of diagnostic accuracy of Helmintex, Kato-Katz, and POC-CCA methods for diagnosing intestinal schistosomiasis in Candeal, a low intensity transmission area in northeastern Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2018**, *12*, e0006274. [CrossRef]
15. Silva-Moraes, V.; Shollenberger, L.M.; Siqueira, L.M.V.; Castro-Borges, W.; Harn, D.A.; Grenfell, R.F.Q.E.; Rabello, A.L.T.; Coelho, P.M.Z. Diagnosis of *Schistosoma mansoni* infections: What are the choices in Brazilian low-endemic areas? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2019**, *114*, e180478. [CrossRef]
16. Fagundes Teixeira, C.; Neuhauss, E.; Ben, R.; Romanzini, J.; Graeff-Teixeira, C. Detection of *Schistosoma mansoni* eggs in feces through their interaction with paramagnetic beads in a magnetic field. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2007**, *1*, e73. [CrossRef]
17. Soares, F.A.; Benitez, A.D.N.; Dos Santos, B.M.; Loiola, S.H.N.; Rosa, S.L.; Nagata, W.B.; Inácio, S.V.; Suzuki, C.T.N.; Bresciani, K.D.S.; Falcão, A.X.; et al. A historical review of the techniques of recovery of parasites for their detection in human stools. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2020**, *53*, e20190535. [CrossRef]
18. Oliveira, W.J.; Magalhães, F.D.C.; Elias, A.M.S.; De Castro, V.N.; Favero, V.; Lindholz, C.G.; Oliveira, A.; Barbosa, F.S.; Gil, F.; Gomes, M.A.; et al. Evaluation of diagnostic methods for the detection of intestinal schistosomiasis in endemic areas with low parasite loads: Saline gradient, Helmintex, Kato-Katz and rapid urine test. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2018**, *12*, e0006232. [CrossRef]
19. Magalhães, F.D.C.; Resende, S.D.; Senra, C.; Graeff-Teixeira, C.; Enk, M.J.; Coelho, P.M.Z.; Oliveira, E.; Negrão-Corrêa, D.A.; Geiger, S.M.; Carneiro, M. Accuracy of real-time polymerase chain reaction to detect *Schistosoma mansoni*—Infected individuals from an endemic area with low parasite loads. *Parasitology* **2020**, *147*, 1140–1148. [CrossRef]
20. Ministério da Saúde (Brasil). *Educação em Saúde para o Controle da Esquistossomose*; Secretaria de Vigilância em Saúde: Brasília, Brazil, 2018; p. 40. (In Portuguese)
21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Município de Pacatuba, Sergipe. 2021. Available online: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/se/pacatuba.html> (accessed on 28 May 2022). (In Portuguese)
22. Ministério da Saúde (Brasil). *Programa de Controle da Esquistossomose (PCE)*; Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde: Brasília, Brazil, 2022. Available online: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinan/pce/cnv/pcese.def> (accessed on 13 October 2022). (In Portuguese)
23. Al-Shehri, H.; Koukounari, A.; Stanton, M.C.; Adriko, M.; Arinaitwe, M.; Atuhaire, A.; Kabatereine, N.B.; Stothard, J.R. Surveillance of intestinal schistosomiasis during control: A comparison of four diagnostic tests across five Ugandan primary schools in the Lake Albert region. *Parasitology* **2018**, *145*, 1715–1722. [CrossRef]
24. Ng'Etich, A.I.; Rawago, F.O.; Jura, W.G.Z.O.; Mwinzi, P.N.; Won, K.Y.; Odiere, M.R. A cross-sectional study on schistosomiasis and soil-transmitted helminths in Mbita district, western Kenya using different copromicroscopic techniques. *Parasit. Vectors* **2016**, *9*, 1–9. [CrossRef]
25. Katz, N.; Chaves, A.; Pellegrino, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop.* **1972**, *14*, 397–400.
26. Favero, V.; Frasca Candido, R.R.; De Marco Verissimo, C.; Jones, M.K.; St Pierre, T.G.; Lindholz, C.G.; Da Silva, V.D.; Morassutti, A.L.; Graeff-Teixeira, C. Optimization of the Helmintex method for schistosomiasis diagnosis. *Exp. Parasitol.* **2017**, *177*, 28–34. [CrossRef]

27. Banoo, S.; Bell, D.; Bossuyt, P.; Herring, A.; Mabey, D.; Poole, F.; Smith, P.G.; Sriram, N.; Wongsrichanalai, C.; Linke, R.; et al. Evaluation of diagnostic tests for infectious diseases: General principles. *Nat. Rev. Microbiol.* **2006**, *4*, S21–S31. [\[CrossRef\]](#)
28. Katz, N. *Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose Mansonii e Geo-Helminthoses*; CPqRR: Belo Horizonte, Brazil, 2018; p. 76. Available online: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/25662> (accessed on 5 March 2022). (In Portuguese)
29. Kokaliaris, C.; Garba, A.; Matuska, M.; Bronzan, R.N.; Colley, D.G.; Dorkenoo, A.M.; Ekpo, U.F.; Fleming, F.M.; French, M.D.; Kabore, A.; et al. Effect of preventive chemotherapy with praziquantel on schistosomiasis among school-aged children in sub-Saharan Africa: A spatiotemporal modelling study. *Lancet Infect. Dis.* **2021**, *22*, 136–149. [\[CrossRef\]](#)
30. Hoekstra, P.T.; Chernet, A.; de Dood, C.J.; Brienens, E.A.T.; Corstjens, P.L.A.M.; Labhardt, N.D.; Nickel, B.; Wammes, L.J.; van Dam, G.J.; Neumayr, A.; et al. Sensitive Diagnosis and Post-Treatment Follow-up of *Schistosoma mansoni* Infections in Asymptomatic Eritrean Refugees by Circulating Anodic Antigen Detection and Polymerase Chain Reaction. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2022**, *106*, 1240–1246. [\[CrossRef\]](#)
31. Lo, N.C.; Bezerra, F.S.M.; Colley, D.G.; Fleming, F.M.; Homeida, M.; Kabatereine, N.; Kabole, F.M.; King, C.H.; Mafe, M.A.; Midzi, N.; et al. Review of 2022 WHO guidelines on the control and elimination of schistosomiasis. *Lancet Infect. Dis.* **2022**, *22*, e327–e335. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Liu, Z.Y.-C.; Chamberlin, A.J.; Tallam, K.; Jones, I.J.; Lamore, L.L.; Bauer, J.; Bresciani, M.; Wolfe, C.M.; Casagrandi, R.; Mari, L.; et al. Deep Learning Segmentation of Satellite Imagery Identifies Aquatic Vegetation Associated with Snail Intermediate Hosts of Schistosomiasis in Senegal, Africa. *Remote Sens.* **2022**, *14*, 1345. [\[CrossRef\]](#)
33. Mang’Ara, R.J.L.; Ngasala, B.; John, W. Prevalence of *Schistosoma mansoni* infection among fishermen in Busega district, Tanzania. *PLoS ONE* **2022**, *17*, e0276395. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Guan, Z.; Dai, S.-M.; Zhou, J.; Ren, X.-B.; Qin, Z.-Q.; Li, Y.-L.; Lv, S.; Li, S.-Z.; Zhou, X.-N.; Xu, J. Assessment of knowledge, attitude and practices and the analysis of risk factors regarding schistosomiasis among fishermen and boatmen in the Dongting Lake Basin, the People’s Republic of China. *Parasit. Vectors* **2020**, *13*, 273. [\[CrossRef\]](#)
35. Ozretich, R.W.; Wood, C.L.; Allan, F.; Koumi, A.R.; Norman, R.; Brierley, A.S.; De Leo, G.A.; Little, D.C. The Potential for Aquaculture to Reduce Poverty and Control Schistosomiasis in Côte d’Ivoire (Ivory Coast) during an Era of Climate Change: A Systematic Review. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* **2022**, *30*, 467–497. [\[CrossRef\]](#)
36. Bärenbold, O.; Raso, G.; Coulibaly, J.T.; N’Goran, E.K.; Utzinger, J.; Vounatsou, P. Estimating sensitivity of the Kato-Katz technique for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* and hookworm in relation to infection intensity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2017**, *11*, e0005953. [\[CrossRef\]](#)
37. Okoyo, C.; Simiyu, E.; Njenga, S.M.; Mwandawiro, C. Comparing the performance of circulating cathodic antigen and Kato-Katz techniques in evaluating *Schistosoma mansoni* infection in areas with low prevalence in selected counties of Kenya: A cross-sectional study. *BMC Public Health* **2018**, *18*, 478. [\[CrossRef\]](#)
38. Favre, T.C.; Beck, L.C.N.H.; Bezerra, F.S.M.; Graeff-Teixeira, C.; Coelho, P.M.Z.; Enk, M.J.; Katz, N.; Oliveira, R.R.; dos Reis, M.G.; Pieri, O.S. Reliability of point-of-care circulating cathodic antigen assay for diagnosing schistosomiasis mansoni in urine samples from an endemic area of Brazil after one year of storage at -20 degrees Celsius. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2022**, *55*, e0389. [\[CrossRef\]](#)
39. Sousa, M.S.; van Dam, G.J.; Pinheiro, M.C.C.; de Dood, C.J.; Peralta, J.M.; Peralta, R.H.S.; Daher, E.D.F.; Corstjens, P.L.A.M.; Bezerra, F.S.M. Performance of an Ultra-Sensitive Assay Targeting the Circulating Anodic Antigen (CAA) for Detection of *Schistosoma mansoni* Infection in a Low Endemic Area in Brazil. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 682. [\[CrossRef\]](#)
40. Bezerra, F.S.M.; Leal, J.K.F.; Sousa, M.S.; Pinheiro, M.C.C.; Ramos, A.N.; Silva-Moraes, V., Jr.; Katz, N. Evaluating a point-of-care circulating cathodic antigen test (POC-CCA) to detect *Schistosoma mansoni* infections in a low endemic area in north-eastern Brazil. *Acta Trop.* **2018**, *182*, 264–270. [\[CrossRef\]](#)
41. Graeff-Teixeira, C.; Favero, V.; Pascoal, V.F.; de Souza, R.P.; Rigo, F.V.; Agnese, L.H.D.; Bezerra, F.S.M.; Coelho, P.M.Z.; Enk, M.J.; Favre, T.C.; et al. Low specificity of point-of-care circulating cathodic antigen (POCCCA) diagnostic test in a non-endemic area for schistosomiasis mansoni in Brazil. *Acta Trop.* **2021**, *217*, 105863. [\[CrossRef\]](#)
42. Pinheiro, M.C.C.; Carneiro, T.R.; Hanemann, A.L.D.P.; De Oliveira, S.M.; Bezerra, F.S.M. The combination of three faecal parasitological methods to improve the diagnosis of schistosomiasis mansoni in a low endemic setting in the state of Ceará, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2012**, *107*, 873–876. [\[CrossRef\]](#)
43. Carneiro, T.R.; Peralta, R.H.S.; Pinheiro, M.C.C.; De Oliveira, S.M.; Peralta, J.M.; Bezerra, F.S.M. A conventional polymerase chain reaction-based method for the diagnosis of human schistosomiasis in stool samples from individuals in a low-endemicity area. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2013**, *108*, 1037–1044. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

6. CONCLUSÕES

A comparação entre os métodos KK e HTX em uma área moderadamente endêmica em Areia Branca, Pacatuba, Sergipe, Brasil ratificou o HTX como uma ferramenta de referência para a confirmação de amostras verdadeiramente positivas, enquanto o KK permanece limitado nas condições regionais analisadas.

O HTX detectou com sucesso um percentual de positividade 3,3 vezes mais amostras verdadeiro-positivas do padrão de referência consolidado do que o obtido com KK, além da assertividade superior de mais de 25% na detecção das amostras verdadeiro-negativas, onde o cenário da intensidade das infecções, em sua maioria, eram de cargas de ovos abaixo de 1 ovo por grama de fezes. Estes dados revelam a eficácia do método HTX e seu custo-benefício por amostra (US\$3,00), levando em consideração o custo final do KK ou POC-CCA (até US\$12,00) pelo esforço amostral devido à baixa sensibilidade no diagnóstico.

Pensando no panorama atual, onde o desenvolvimento e avaliação adequada de testes diagnósticos são essenciais para o sucesso do controle da esquistossomose e sua eliminação, o método HTX está em revisão para adequações que sintetizem sua execução laboriosa, sem reduzir sua sensibilidade notável. Um procedimento de peneiramento mais eficiente está entre as modificações pretendidas, podendo diminuir significativamente o tempo necessário para a detecção dos ovos.

Para a obtenção de uma mudança no cenário das doenças tropicais negligenciadas no país é necessário ações conjuntas na implementação e financiamento de políticas públicas que visem a melhoria das condições de vida da população mais pobre. Para isto, é necessário que os gestores governamentais se responsabilizem pela manutenção das ações de vigilância epidemiológica, ações de educação em saúde, aumento de saneamento básico e distribuição de água potável, contribuindo para a redução das taxas de positividade e a extinção das doenças negligenciadas.

7. REFERÊNCIAS

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Vigilância da esquistossomose mansônica: diretrizes técnicas**. 4a ed. Brasília: Ministério da Saúde, 146p., 2014.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Educação em saúde para o controle da esquistossomose**. – Brasília: Ministério da Saúde, 40p., 2018.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim epidemiológico. Doenças tropicais negligenciadas**. Brasília, n. especial, p. 9, 2021.

_____. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde. **Programa de controle da esquistossomose (PCE)**. Brasília: Ministério da Saúde; 2022. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtm.exe?sinan/pce/cnv/pcese.def>. Acesso em: 13 out. 2022.

BRITO, M. I. B. DA S., OLIVEIRA, E. C. A. DE., BARBOSA, C. S., & GOMES, E. C. DE S. **Fatores associados às formas graves e aos óbitos por esquistossomose e aplicação do linkage probabilístico nas bases de dados, Pernambuco, 2007–2017**. Revista Brasileira de Epidemiologia, Recife-PE, v. 26, 2023.

CANDIDO, R., MORASSUTTI, A. L., GRAEFF-TEIXEIRA, C., ST PIERRE, T. G., & JONES, M. K. Exploring Structural and Physical Properties of Schistosome Eggs: Potential Pathways for Novel Diagnostics? **Advances in parasitology**, v. 100, p. 209–237, 2018a.

CANDIDO, R. R. F., ST PIERRE, T. G., MORASSUTTI, A. L., GRAEFF-TEIXEIRA, C., & JONES, M. K. Eggs and Magnetism: New Approaches for Schistosomiasis Diagnosis. **Trends in Parasitology**, v. 34, n. 4, p. 267–271, 2018b.

CHALA, B. Advances in Diagnosis of Schistosomiasis: Focus on Challenges and Future Approaches. **Int J Gen Med**. v. 16, p. 983-995, 2023.

CRUZ, J. I. N.; SALAZAR, G. O.; LA CORTE, R. **Retrocesso do Programa de Controle da Esquistossomose no estado de maior prevalência da doença no Brasil**. Ver. Pan. Amaz.

Saude, 2020.

DE SOUZA, R. P.; FAVERO, V.; PASCOAL, V.F.; LINDHOLZ, C.; BITTENCOURT, H. R.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. Criteria for identification of *Schistosoma mansoni* eggs in faecal sediments prepared with the Helmintex method and stained by ninhydrin. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 114, 2019.

DOS SANTOS SOUSA, D. G. et al. **Desafios e perspectivas do diagnóstico da esquistossomose mansônica no Brasil: revisão de literatura**. Revista Eletrônica Acervo Saúde, v. 13, n. 3, p. 1-9, 2021.

FAGUNDES TEIXEIRA C.; NEUHAUSS, E.; BEM, R.; ROMANZINI, J.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. Detection of *Schistosoma mansoni* eggs in feces through their interaction with paramagnetic beads in a magnetic field. **PLoS Negl Trop Dis**. v., n.2, e73, 2007.

FAVERO, V., FRASCA CANDIDO, R. R., DE MARCO VERISSIMO, C., JONES, M. K., S. T. PIERRE, T. G., LINDHOLZ, C. G., DA SILVA, V. D., MORASSUTTI, A. L., GRAEFF-TEIXEIRA, C. Optimization of the Helmintex method for schistosomiasis diagnosis. **Experimental Parasitology**, vol. 177, p. 28-34, 2017.

FAVERO, V. et al. A new diagnostic strategy which uses a luminol-H₂O₂ system to detect helminth eggs in fecal sediments processed by the Helmintex method. **PLoS Negl Trop Dis**. v. 14, n.7, p. 1-18, 2020.

GEBREYESUS, T. D. et al. Efficacy and safety of praziquantel preventive chemotherapy in *Schistosoma mansoni* infected school children in Southern Ethiopia: A prospective cohort study. **Frontiers in Pharmacology**. v. 14, p. 1-10, 2023.

GOBBI, F. et al. New Insights on Acute and Chronic Schistosomiasis: Do We Need a Redefinition? **Trends in parasitology**. v. 36, p.8, 2020.

GOMES, E. C. S.; DOMINGUES, A. L. C.; BARBOSA, C. S. **Esquistossomose: manejo clínico e epidemiológico na atenção básica**. Fundação Oswaldo Cruz & Instituto Aggeu Magalhães – Fiocruz-PE. p. 46, 2017.

GOMES, E. C. S.; BARBOSA JUNIOR, W. L.; MELO, F. L. Evaluation of SmITS1-LAMP

performance to diagnosis schistosomiasis in human stool samples from an endemic area in Brazil. **Experimental parasitology**, v. 242, 2022.

GORDON, C.A.; KURSCHEID, J.; WILLIAMS, G.M.; CLEMENTE, A.C.A.; LI, Y.; ZHOU, X.-N.; UTZINGER, J.; OLIVEIRA, D.P.; GRAY, D.J. Asian Schistosomiasis: current status and prospects for control leading to elimination. **Trop. Med. Infect.** v4, n40, 2019.

GRAEFF-TEIXEIRA, C. et al. "Low specificity of point-of-care circulating cathodic antigen (POCCCA) diagnostic test in a non-endemic area for schistosomiasis mansoni in Brazil." **Acta tropica**, vol. 217, 2021.

IBGE, **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Município de Pacatuba, Sergipe, 2021.** Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/se/pacatuba.html>> Acesso em: 28 maio 2022.

JUNIOR, J. M. B. O.; CALVÃO, L. B. (Org). **Ciências biológicas: campo promissor em pesquisa 3.** Ponta Grossa, PR: Atena, p.65, 2020.

KATO, K.; MIURA, M. Comparative examinations. **Japanese Journal of Parasitology**, v. 3, p. 35, 1954.

KATZ, N. **Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintos.** Belo Horizonte: CPqRR, 2018. 76 p. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/25662>>. Acesso em: 05 março 2022.

KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stoolthick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.14, n. 6, p. 397-400, 1972 Nov-Dec 1972. ISSN 0036-4665. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4675644>>. Acesso em: 06 março 2022.

KURA K.; AYABINA, D.; TOOR, J.; HOLLINGSWORTH, T.D.; ANDERSON, R. M. Disruptions to schistosomiasis programmes due to COVID-19: an analysis of potential impact and mitigation strategies. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** v. 115, n.3, p.236-244, 2021.

LINDHOLZ, C. G. et al. Study of diagnostic accuracy of Helmintex, Kato-Katz, and POC-CCA methods for diagnosing intestinal schistosomiasis in Candéal, a low intensity

transmission area in northeastern Brazil. **PLoS Negl Trop Dis.** v. 12 n. 3, p. 1- 16, 2018.

LO, N. C., et al. Review of 2022 WHO guidelines on the control and elimination of schistosomiasis. **The Lancet Infectious Diseases**, ISSN 1473-3099, 2022. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00221-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00221-3)>.

MARTINS-MELO F. R. et al. The burden of Neglected Tropical Diseases in Brazil, 1990-2016: A subnational analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. **PLoS Negl Trop Dis.** v.12, n.6, p. 1-26, 2018.

MAWA P. A., KINCAID-SMITH J., TUKAHEBWA E. M., WEBSTER J. P., WILSON S. Schistosomiasis morbidity hotspots: roles of the human host, the parasite and their interface in the development of severe morbidity. **Frontiers in Immunology.** v. 12, 21p., 2021. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.635869/full>>.

MCMANUS, D.P.; DUNNE, D.W.; SACKO, M.; UTZINGER, J.; VENNERVALD, B.J.; ZHOU, X.N. Schistosomiasis. **Nature Reviews Disease Primers.** V. 4, n. 13, 2018.

MCMANUS, D. P. et al. Schistosomiasis-from immunopathology to vaccines. **Seminars in Immunopathology.** v.42, n.3, p.355-371, 2020.

MELO, A. L. de; COELHO, P. M. Z. **Schistosoma mansoni e a Esquistossomose.** In: NEVES, D. P. Parasitologia humana. 13º ed. São Paulo: Atheneu, p. 225-246, 2016. Disponível em: https://tga.blv.ifmt.edu.br/media/filer_public/31/76/3176ffaa-16bb-4615-b066-a81a5344d823/neves_-_parasitologia_humana_-_13ed_-_2016.pdf. Acesso em: 05 mar. 2022.

MOREIRA, W. B. Capítulo 5. Diretrizes sobre testes diagnósticos. In: BRANDÃO, E. C.; DA CUNHA, G. F.; SCHERRER, L. R.; PRECIVALE, M.; STRASSAMANN, P. G.; ASSIS, S. R. L. (col.) **Leitura crítica de artigos científicos.** SBOC - Sociedade Brasileira de Oncologia Clínica, Belo Horizonte, p. 83-90, 2012. Disponível em: https://www.s boc.org.br/app/webroot/leitura-critica/LEITURA-CRITICA_C5.pdf. Acesso em: 03 jul. 2023.

NASCIMENTO, G.L.; PEGADO, H.M.; DOMINGUES, A.L.C.; XIMENES, R.A.A.; ITRIA, A.; CRUZ, L.N.; OLIVEIRA, M.R.F. **The cost of disease targeted for elimination in Brazil:**

the case of schistosomiasis mansoni. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. vol. 114, 2018.

NELWAN, M.L. Schistosomiasis: Life Cycle, Diagnosis, and Control. **Current Therapeutic Research.** v. 91, p. 5–9, 2019.

NIU, X. et al. The Role of Praziquantel in the Prevention and Treatment of Fibrosis Associated with Schistosomiasis: A Review. **J. Trop. Med.**, 2022.

OLIVEIRA, W. J. et al. Evaluation of diagnostic methods for the detection of intestinal schistosomiasis in endemic areas with low parasite loads: Saline gradient, Helmintex, Kato-Katz and rapid urine test. **PLoS Negl. Trop. Dis.** v. 12, 2018.

PARK, S.K. et al. Mechanism of praziquantel action at a parasitic flatworm ion channel. **Sci Transl Med.** v. 13 n. 625, 2021.

PAZ, W. S. et al. Population-based, spatiotemporal modeling of social risk factors and mortality from schistosomiasis in Brazil between 1999 and 2018. **Acta Tropica**, v. 218, 2021.

PERALTA, J.M., CAVALCANTI, M.G. Is POC-CCA a truly reliable test for schistosomiasis diagnosis in low endemic areas? The trace results controversy. **PLoS Negl Trop Dis.** v. 12, 11, 2018.

PIERI, O. S.; BEZERRA, F. S. M.; COELHO, P. M. Z, et al. Accuracy of the urine point-of-care circulating cathodic antigen assay for diagnosing Schistosomiasis mansoni infection in Brazil: A multicenter study. **Rev Soc Bras Med Trop.** v. 56, 2023.

PIMENTA, R. N. **Aspecto da interação parasito hospedeiro na infecção com Schistosoma sp: imunidade inata em Biomphalaria sp. e oncogênese no hospedeiro vertebrado.** 91 p. Tese (Doutorado), Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2017.

RAMÍREZ, A. D. P. et al. Schistosomiasis: an epidemiological update on Brazil's southernmost low endemic area in Esteio. **Rev Soc Bras Med Trop.** V. 53, p. 4, 2020.

SANTOS, A. D. et al. **Análise espacial para identificação de áreas de risco para esquistossomose mansoni no Estado de Sergipe, Brasil, 2005-2014.** Revista da Sociedade

Brasileira de Medicina Tropical, n. 52, v.20, 2016.

SANTOS, A. H. C. et al. **Prevalência e fatores de risco associados à infecção da esquistossomose mansoni e das enteroparasitoses em área endêmica, Sergipe, Brasil.**

Research, Society and Development v.10. n. 5, p. 1-15, 2021.

SILVA-MORAES, V.; SHOLLENBERGER, L.M.; SIQUEIRA, L.M.V.; BORGES, W.C.; HARN, D.A.; GRENFELL, R.F.Q.; RABELLO, A.L.T.; COELHO, P.M.Z. **Diagnosis of Schistosoma mansoni infections: what are the choices in Brazilian low-endemic areas?**

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.Vol. 114, 2019.

SOARES, F. A. et al. A historical review of the techniques of recovery of parasites for their detection in human stools. **Rev Soc Bras Med Trop.** vol. 53, 2020.

SPANGENBERG, T. Alternatives to Praziquantel for the Prevention and Control of Schistosomiasis. **ACS Infect Dis.** v.7, n.5, 2021.

TURNER, H.C. et al. Economic Considerations for Moving beyond the Kato-Katz Technique for Diagnosing Intestinal Parasites as We Move Towards Elimination. **Trends Parasitol.** v.33, p.435–443, 2017.

VIANA A.G. et al. Discrepancy between batches and impact on the sensitivity of point-of-care circulating cathodic antigen tests for Schistosoma mansoni infection. **Acta Tropica.** v. 197, 2019.

ZDESENKO, G.; MUTAPI, F. Drug metabolism and pharmacokinetics of praziquantel: A review of variable drug exposure during schistosomiasis treatment in human hosts and experimental models. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 14 n.9, 2020.

WHO – World Health Organization. **Ending the neglect to attain the sustainable development goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030: overview.**

2020. Acesso em: 14 março 2022. Disponível em:

<<https://apps.who.int/iris/handle/10665/332094>>.

_____. World Health Organization. **WHO Guideline on Control and Elimination of Human Schistosomiasis**; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2022.