



**Universidade Nova de Lisboa**

**Instituto de Higiene e Medicina Tropical**

Controlo pós-terapêutico da schistosomose e das parasitoses intestinais e atualização da situação malacológica nos distritos de Quelimane e Gurué, na província da Zambézia - Moçambique.

**Célio Alfredo**

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM  
PARASITOLOGIA MÉDICA**

**(outubro, 2016)**



**Universidade Nova de Lisboa**

**Instituto de Higiene e Medicina Tropical**

Controlo pós-terapêutico da schistosomose e das parasitoses intestinais e atualização da situação malacológica nos distritos de Quelimane e Gurué, na província da Zambézia - Moçambique.

**Autor:** Célio Alfredo

**Orientador:** Professora Doutora Silvana Maria Duarte Belo

**Coorientador:** Professora Doutora Maria Manuela Palmeiro Calado

Dissertação apresentada como requisito necessário à obtenção do grau de Mestre em Parasitologia Médica, de acordo com o regulamento presente nos Artigos 15º a 27º do Decreto-Lei n.º 107/2008 de 25 de junho.

Auxílio financeiro do Fundo de Apoio à Pesquisa e Extensão (FAPE), Universidade Pedagógica de Moçambique-UP.

## **Dedicatória**

A todas as crianças das escolas do Projecto, Moneia, Icídua e Manhaua-Zambézia



**"As crianças são flores que nunca murcham"**

Samora Moisés Machel

### Agradecimentos

Em primeiro lugar a Deus, pela sua presença constante na minha vida, pelo entendimento concedido, saúde para obter conquistas e coragem para enfrentar as adversidades,

Agradeço em especial a minha Orientadora, Professora Doutora Silvana Maria Duarte Belo pelas sugestões e críticas que contribuíram para a realização deste trabalho, que confiou e acreditou em mim. As suas qualidades profissionais e humanas serão para mim fonte de inspiração,

À minha Coorientadora, Professora Doutora Maria Manuela Palmeiro Calado que me encorajou e me deu apoio constante durante todo o processo de análise molecular, pelo carinho e compreensão em todas as dificuldades, o meu muito obrigado,

Ao Doutor Pedro Ferreira, pela sua disponibilidade em ajudar sempre que foi necessário,

Aos meus pais pela assistência, educação, pelo encorajamento e afeto dentro de todas as dificuldades que enfrentaram,

Aos meus colegas do XIV Mestrado em Parasitologia Médica, pela conveniência e amizade,

À minha amada Nilza Máximo pela coragem e carinho prestado durante os dois anos da minha formação,

Ao corpo docente do Instituto de Higiene e Medicina Tropical, pela transmissão do conhecimento, dedicação e profissionalismo,

À Universidade Pedagógica de Moçambique pela conceção da bolsa para a realização do mestrado,

Aos professores, pais e encarregados de educação das escolas em que se fez o estudo, pelo acolhimento, carinho e compreensão,

E a todas as crianças que participaram neste estudo, que Deus vos abençoe ricamente.

**Resumo**

A schistosomose e as helmintoses intestinais são endêmicas em Moçambique, afetando sobretudo crianças e jovens dos meios suburbanos e rurais. O presente estudo foi realizado nos distritos de Quelimane e Gurué, na província de Zambézia-Moçambique, envolvendo 357 crianças escolares entre os cinco e os 15 anos de idade, com o objetivo de avaliar a situação epidemiológica da schistosomose e das parasitoses intestinais após as medidas de intervenção efetuadas em 2009. Foram obtidas amostras de urina de 350 crianças e amostras de fezes de 234 crianças. A pesquisa dos ovos de *Schistosoma haematobium* foi efetuada pela técnica de filtração de urina, sendo a detecção do DNA do parasita na urina realizada pela técnica de PCR. Para a pesquisa de ovos de geohelminas, empregou-se o método de Kato-Katz. As prevalências globais de infecção por helmintas foram de 38.4% para *S. haematobium*, 32.1% para *Ascaris lumbricoides*, 35.5% para *Trichuris trichiura* e 5.1% para Ancilostomídeos. Ao aplicar a técnica de filtração e PCR de forma conjunta, obteve-se uma prevalência de *S. haematobium* igual a 73.4%. Entre os distritos, Gurué foi o que teve maior prevalência de infecção por *S. haematobium* (47.1%) do que Quelimane (30%). Em relação aos geohelminas, Quelimane foi onde se observaram as maiores prevalências de infecção, com 54% para *A. lumbricoides* e 66.1% para *T. trichiura*, em comparação com Gurué com 7.3% para *A. lumbricoides*, 0.9% para *T. trichiura* e 5.1% para Ancilostomídeos. A análise univariada revelou que o contacto com fontes de água doce para fins de higiene pessoal e de lazer foram os fatores determinantes para a ocorrência de infecção por *S. haematobium* (OR=3.69, IC 95% 1.51- 8.87 e OR=3.33, IC 95% 1.76- 6.28) respetivamente, sendo a idade  $\leq 10$  anos e a falta de saneamento nas habitações os principais fatores associados à infecção por geohelminas. O inquérito malacológico revelou abundância de hospedeiros intermediários de *S. haematobium* (*Bulinus* spp) na Zambézia. Foram colhidos 594 moluscos em quatro habitats (três em Gurué e um em Quelimane); apenas se verificou infecção, através da eliminação de cercárias, nos moluscos coletados em Gurué, com taxas de infecção entre 5.7% e 9.5%. Ao compararmos os resultados obtidos neste estudo com os do inquérito realizado em 2009 na província, com base no exame parasitológico, observa-se uma aparente diminuição da prevalência global de *S. haematobium* de 60.1% para 38.4%; no entanto, ao associar as duas técnicas (filtração da urina e PCR), a prevalência torna-se elevada (73.4%), mantendo-se inalterada a prevalência das geohelmintoses (50.3% em 2009 e 50.4% no estudo atual). Este estudo indica que as infecções por *S. haematobium* e geohelminas continuam a ter uma prevalência expressiva nesta província, o que reforça a necessidade de medidas de controlo adicionais, principalmente a nível do saneamento básico e educação para a saúde, bem como na maior abrangência populacional do tratamento antiparasitário.

**Palavras chave:** *Schistosoma haematobium*; geohelminas; PCR; Zambézia; Moçambique

**Abstract**

Schistosomiasis and intestinal helminths are known to be endemic in Mozambique, affecting mainly children and young people living in the suburban and rural areas. This study aimed to evaluate the epidemiological status of those parasitic infections after the control measures implemented in 2009. The study was conducted in the districts of Quelimane and Gurué, located in the Zambézia province, involving 357 schoolchildren aged from five to 15 years old. Urine and faecal samples were collected from 350 and 234 children, respectively. For parasitological detection of *Schistosoma haematobium*, urine samples were processed by urine filtration while the PCR test was used to detect parasite DNA in urine. The Kato-Katz method was employed for the diagnosis of soil-transmitted helminths (STH). Based on the parasitological method, the prevalence found for *S. haematobium* was 38.4%, however an estimated prevalence of 73.4% was found when both urine filtration and DNA methods were used. For STH prevalence's, we found 32.1% for *Ascaris lumbricoides*, 35.5% for *Trichuris trichiura* and 5.1% for hookworms. Amongst the two districts, *S. haematobium* was prevalent in Gurué (47.1%) as compared to Quelimane (30%) whereas the reverse pattern was observed for STH, with higher prevalence's of *A. lumbricoides* (54%), *T. trichiura* (66.1%) seen in Quelimane comparing with Gurué: 7.3% for *A. lumbricoides*, 0.9% for *T. trichiura* and 5.1% for hookworms. The logistic regression analysis suggested that contact with water bodies for hygiene and leisure's purposes were the main risk factors associated to *S. haematobium* infections (OR=3.69, 95% CI: 1.51- 8.87 and OR=3.33, 95% CI: 1.76- 6.28) respectively; the main risk factors associated to STH infections were age ( $\leq 10$  years old) and inappropriate sanitation. Malacological studies in the neighbouring water bodies commonly used by local communities, confirmed the presence of abundant *Bulinus* spp, intermediate host snails of *S. haematobium* in Zambézia province. A total of 594 snails were collected in four habitats (three in Gurué and one in Quelimane); infected snails, assessed by shedding of cercariae, were detected only in Gurué habitats, with infection rates ranging from 5.7% to 9.5%. Results of this study, based on urine filtration method, suggest an apparent reduction of *S. haematobium* (38.4%) as compared with those from the epidemiological study performed in 2009 (60.1%); however, the prevalence remains high (73.4%) when both parasitological and PCR techniques were employed. For STH, prevalence remains the same (50.3% in 2009 and 50.4% in the present survey). This study indicates that *S. haematobium* and STH infections remain high in these areas, highlighting the need of additional control measures for their reduction, namely by improving water supply and appropriate sanitation, health education programs, as well as larger inclusiveness of vulnerable people for anti-schistosome and anti-STH treatments.

**Key-words:** *Schistosoma haematobium*; soil-transmitted helminths; PCR; Zambézia; Mozambique

**Índice**

Índice de Figuras.....	viii
Índice de Tabelas .....	ix
Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas.....	x
1.Introdução .....	1
1. Breve descrição sobre Moçambique .....	2
1.1 Localização geográfica.....	2
1.1.1 Características climáticas .....	2
1.1.2 Bacias hidrográficas .....	3
1.1.3 População .....	6
1.1.4 Divisão administrativa e situação sociodemográfica .....	6
1.2 Província da Zambézia.....	7
1.2.1 Localização geográfica .....	7
1.2.2 Situação socioeconómica.....	7
1.3 Distrito de Quelimane .....	7
1.3.1 Localização geográfica e população.....	7
1.3.3 Condições sociodemográficas .....	8
1.3.4 Educação e saúde.....	8
1.4 Distrito de Gurué.....	9
1.4.1 Localização geográfica .....	9
1.4.2 Características climáticas .....	9
1.4.3 Educação e saúde.....	9
1.4.4 Rede de abastecimento de água e habitações .....	10
1.5 Schistosomose: situação global.....	10
1.5.1 Transmissão e ciclo de vida de <i>Schistosoma</i> spp .....	12
1.5.2 Imunologia e patogénese .....	15
1.5.3 Diagnóstico laboratorial .....	17
1.5.4 Métodos diretos .....	17
1.5.5 Pesquisa de ovos nos tecidos .....	17

1.5.6 Métodos imunológicos ou indiretos .....	18
1.5.7 Métodos moleculares .....	18
1.5.8 Tratamento.....	19
1.5.9 Prevenção e controlo .....	19
1.6 Situação global das parasitoses intestinais .....	19
1.6.1 Sintomatologia.....	20
1.6.2 Diagnóstico.....	20
1.6.3 Tratamento.....	21
1.6.4 Prevenção e controlo .....	21
1.7 Situação da schistosomose e parasitoses intestinais em Moçambique.....	21
2. Objetivos.....	24
2.1 Justificação .....	25
2.2 Objectivo geral .....	26
2.3 Objectivos específicos.....	26
3. Material e Métodos .....	27
3.1 Autorização do estudo.....	28
3.1.1 Áreas de estudo e população examinada .....	28
3.1.2 Sensibilização da população .....	29
3.1.3 Recolha das amostras de fezes e urina .....	29
3.2 Técnicas usadas .....	30
3.2.1 Pesquisa de <i>Schistosoma haematobium</i> na urina.....	30
3.2.2 Deteção de DNA de <i>S. haematobium</i> na urina .....	30
3.2.3 Extração de DNA na urina .....	30
3.2.4 Reação de PCR .....	30
3.2.5 Pesquisa de helmintas intestinais nas fezes .....	31
3.2.6 Colheita de moluscos.....	31
3.2.8 Tratamento.....	32
3.2.9 Análise estatística .....	32
4. Resultados.....	33
4.1 População e condições sociodemográficas .....	34

4.2 Prevalência de <i>Schistosoma haematobium</i> pela técnica de filtração da urina .....	35
4.3 Prevalência de <i>S. haematobium</i> pela técnica de PCR .....	37
4.4 Prevalência de helmintas intestinais.....	39
4.5 Coinfecção de <i>S. haematobium</i> e geohelmintas .....	41
4.6 Condições sociodemográficas associadas ao estado parasitológico. ....	42
4.7 Fatores de risco associados a infecção por <i>S. haematobium</i> e geohelmintas.....	44
4.8 Inquérito malacológico.....	46
5. Discussão .....	48
6. Conclusões e Recomendações .....	58
7. Referências Bibliográficas .....	61
8. Anexos .....	72
8.1. Anexo I.....	73
8.2. Anexo II .....	74
8.3. Anexo III .....	75
8.4. Anexo IV .....	76
8.5 Anexo V .....	77
8.6. Anexo VI.....	79
8.7. Anexo VII.....	81
8.8. Anexo VIII .....	82
8.9. Anexo IX.....	84
8.10. Anexo X .....	86
8.11. Anexo XI.....	87
8.12. Anexo XII.....	88

### Índice de Figuras

Figura 1: Mapa de localização de Moçambique, com províncias e principais cidades....	3
Figura 2: Principais bacias hidrográficas de Moçambique.....	5
Figura 3: Mapa de distribuição mundial da schistosomose.....	11
Figura 4: Ciclo de vida de <i>Schistosoma</i> spp.....	14
Figura 5: Mapas de distribuição de <i>S. haematobium</i> (A) e parasitoses intestinais (B) em Moçambique.....	23
Figura 6: Mapa de Moçambique destacando a província de Zambézia e os distritos de Quelimane e Gurué.....	28
Figura 7: Sensibilização das crianças das escolas.....	29
Figura 8: Prevalência de <i>S. haematobium</i> em função do distrito.....	35
Figura 9: Prevalência de <i>S. haematobium</i> em função do sexo.....	36
Figura 10: Prevalência de <i>S. haematobium</i> em função do grupo etário.....	37
Figura 11: Detecção do DNA de <i>S. haematobium</i> na faixa dos 121pb.....	38
Figura 12: Padrão de distribuição do parasitismo na população estudada.....	41
Figura 13: Moluscos ( <i>Bulinus</i> spp) colhidos nos quatro habitats.....	47
Figura 14: Espaço usado para eliminação dos excreta no bairro Icídua.....	86
Figura 15: Comercialização do peixe ao relento e no chão em Icídua.....	87
Figura 16: Hábito das crianças em brincar nas valas de drenagem na época chuvosa....	88

### Índice de Tabelas

Tabela 1: Condições socio demográficas da população estudada.....	34
Tabela 2: Distribuição geral da intensidade de infecção por <i>S. haematobium</i> em função das escolas estudadas.....	36
Tabela 3: Prevalência de <i>S. haematobium</i> com a aplicação dos dois métodos (PCR e filtração da urina).....	38
Tabela 4: Prevalência de parasitas intestinais em função do distrito, sexo e idade.....	40
Tabela 5: Intensidade de infecção por helmintas intestinais na população estudada.....	40
Tabela 6: Condições sociodemográficas e estado da infecção por <i>S. haematobium</i> .....	43
Tabela 7: Condições sociodemográficas associadas à infecção por geohelmintas.....	44
Tabela 8: Fatores de risco associados à infecção por <i>S. haematobium</i> e geohelmintas....	46
Tabela 9: Número e taxa de infecção (%) dos caracóis por habitat.....	47

**Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas**

% - Percentagem

> - Maior

≈ - Aproximadamente

≤ - Menor ou igual

μl - Microlitro

ADCC – “Citotoxicidade Celular Dependente de Anticorpos”

ART - Artemisina

CNBS - Comité Nacional de Bioética para a Saúde

CTAB - Brometo de hexadeciltrimetilamonio

DNA - Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)

dNTP - Desoxirribonucleotídeos fosfatados

DP - Desvio Padrão

DPSZ - Direção Provincial de Saúde de Zambézia

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay

Fig - Figura

GMS - Gabinete do Ministro da Saúde

IC - Intervalo de Confiança

IFN $\gamma$  - Interferão gama

IHMT - Instituto de Higiene e Medicina Tropical

IL - Interleucina

INE - Instituto Nacional de Estatística

IOF - Inquérito sobre Orçamento Familiar

Km<sup>2</sup> - Quilómetro quadrado

Km - Quilómetro

MAE - Ministério da Administração Estatal

mg/kg - Miligramas por quilograma

MgCl<sub>2</sub> - Cloreto de Magnésio

## Lista de abreviaturas, acrónimos e siglas

MINED - Ministério da Educação

MISAU - Ministério da Saúde

ml - Mililitros

M - Marcador de peso molecular

mm - Milímetro

MuniSAM - Monitoria de Responsabilização Social ao Nível dos Municípios

OMS - Organização Mundial da Saúde

opg - Ovos por grama

Pb - Pares de bases

PCR - Reação de polimerização em cadeia

PZQ - Praziquantel

SNC - Sistema Nervoso Central

TE - Tris-EDTA

Th - Linfócitos T auxiliares

TNF - Fator de Necrose Tumoral

UNICEF - Fundo das Nações Unidas para a Infância

UNL - Universidade Nova de Lisboa

WHO - World Health Organization

# **1.Introdução**

### I. Introdução geral

#### 1. Breve descrição sobre Moçambique

##### 1.1 Localização geográfica

Moçambique é um país da costa oriental da África Austral (Figura 1), localizado entre os paralelos 10°-27' e 26°-52' de latitude Sul, e entre os meridianos 30°-12' e 42°-51' de longitude Este, tendo como limites: a Norte, a Tanzânia; a Noroeste o Malawi e a Zâmbia; a Oeste o Zimbabué e a Suazilândia; a Sul a África do Sul e a Leste, a secção do Oceano Índico designada também por Canal de Moçambique. Possui uma área de 799.380 quilómetros quadrados (km<sup>2</sup>), dos quais 13.000 km<sup>2</sup>, são de águas interiores (CESO CI-Portugal, 2011).

##### 1.1.1 Características climáticas

O clima de Moçambique é fortemente determinado pela sua localização na zona de baixas pressões equatoriais, pela corrente quente do Oceano Índico e pelos correspondentes ventos dominantes marítimos do quadrante Leste (Muchangos, 1999). Assim, o clima do país é do tipo tropical húmido com duas estações, uma quente e chuvosa e outra seca e fresca. A estação quente e chuvosa tem início no mês de outubro e termina em março, sendo que a estação seca e fresca vai de abril a setembro. O carácter predominantemente tropical do clima moçambicano exprime-se sobretudo pela coincidência entre o período de chuvas e o período quente e pela amplitude térmica anual. Segundo o mesmo autor, a temperatura média anual é sempre superior a 20<sup>0</sup>C, com exceção das regiões montanhosas das Províncias de Niassa, Zambézia, Tete e Manica, onde ocorrem temperaturas inferiores a 16<sup>0</sup>C, condicionadas pela altitude.

As temperaturas mais elevadas registam-se entre os meses de dezembro e fevereiro, podendo as máximas atingir 38<sup>0</sup>C e até mesmo 43<sup>0</sup>C. Os meses mais frios são os de junho e julho. O período das chuvas, que tem início em outubro, é mais curto que o período seco, exceto em algumas regiões costeiras onde as chuvas duram aproximadamente seis meses. A influência oceânica contribui para uma certa uniformização do clima de toda a zona litoral, onde a temperatura é da ordem de 24<sup>0</sup>C e a pluviosidade varia entre 800 e 1.400 milímetros (Muchangos,1999).



**Figura 1:** Mapa de localização de Moçambique, com províncias e principais cidades.

Fonte: <http://pt.mapsofworld.com/mozambique/>

### 1.1.2 Bacias hidrográficas

A disposição geográfica de Moçambique, associando-se ao clima tropical, faz com que numerosos rios do país corram em direção ao Oceano Índico. Sendo assim, do Norte para o Sul, as principais bacias hidrográficas que drenam o país são: Lúrio, Rovuma, Zambeze, Save, Limpopo e Incomáti (Figura 2). Grande parte destes rios corre de oeste

para leste, devido à influência da topografia do relevo e atravessam de forma sucessiva montanhas, planaltos e planícies. Geralmente estes rios têm as suas nascentes nos países vizinhos, sendo as oscilações do caudal dos mesmos condicionadas por fatores climáticos, resultando num aumento do caudal na época das chuvas e diminuição na estação seca (Muchangos, 1999).

Nas terras altas do país, os rios possuem grande capacidade erosiva e formam grandes cascatas, o que de certa forma limita a sua navegabilidade, enquanto que nas planícies, formam meandros e depositam aluviões ou formam lagoas e pântanos. Na parte norte do país, devido à melhor distribuição e frequência das chuvas, maior dispersão de rochas magmáticas e metamórficas, as bacias hidrográficas apresentam predominantemente um padrão dendrítico (Hoguane, 2007).

Dos principais rios citados, incidiremos sobre o rio Zambeze devido ao seu contexto do presente estudo. Pelas suas características hidrológicas, é o maior e o mais importante rio que atravessa o território moçambicano. Com cerca de 2.600 km de comprimento, é o 26º rio mais comprido do mundo e o 4º em África depois do Nilo (6.700 km), Zaire (4.600 km) e Níger (4.200 km). Tem a sua nascente na Zâmbia a cerca de 1.700 m de altitude (Figura 2) e atravessa as províncias de Tete, Manica, Sofala e Zambézia. A barragem de Cahora Bassa, que é a maior do país, resulta do represamento das águas do rio Zambeze em Songo, na província de Tete. Este desagua num amplo delta de cerca de 7.000 km<sup>2</sup> de superfície. O caudal médio do rio é estimado em cerca de 16.000 m<sup>3</sup>/s, transportando e depositando anualmente um volume de aluviões de mais de 500.000.000 de toneladas. O principal braço do delta do Zambeze é o rio Cuama que, sendo retilíneo, presta-se à navegação fluvial. Entre as bacias dos rios Zambeze e Save, devido ao grande desnível que se verifica entre as terras altas e as planícies num espaço relativamente curto, os cursos de água condicionam, nas suas secções superiores, intensa erosão e grande capacidade de transporte de materiais. Nesta região também se localizam os rios Púnguè e o Búzi, nascendo nas terras altas do Zimbabwe e indo desaguar na baía de Mazanzane no Oceano Índico (Muchangos, 1999).



### 1.1.3 População

De acordo com o *African Statistical Yearbook* (2011), Moçambique possui uma população de aproximadamente 21,4 milhões de habitantes. Ainda segundo o mesmo anuário, a população urbana totalizava 31,9% do total, sendo a taxa da população feminina de 51,6%. Cerca de 9.909.100 milhões da população tem menos de 15 anos, necessitando consequentemente de provisão de serviços sociais básicos, como a educação e a saúde, ao ritmo de crescimento específico deste grupo populacional.

A densidade populacional é em geral baixa, com aproximadamente 26 habitantes/Km<sup>2</sup>, o que torna mais complexa a estruturação e provimento de serviços e infraestrutura adequados. No entanto, importa referir que aproximadamente 40% da população moçambicana está concentrada em duas províncias que são densamente povoadas, as de Nampula e Zambézia, na região norte e centro do país, respetivamente. O país é constituído predominantemente por grupos étnicos possuindo diferentes línguas e culturas, sendo os principais os *Macua* localizados na parte Norte do país, os *Sena*, *N'dau* e *Lomwé* que ocupam a região Centro e finalmente os *Changana* no Sul (UNICEF, 2011).

### 1.1.4 Divisão administrativa e situação sociodemográfica

O país está dividido administrativamente em onze províncias - Cabo Delgado, Niassa, Nampula, Zambézia, Tete, Sofala, Manica, Inhambane, Gaza, Maputo Cidade e Maputo Província -, tendo no seu total 144 distritos. Moçambique possui um dos mais baixos índices de esperança média de vida (52 anos). Economicamente, o produto interno bruto nacional é um dos mais baixos a nível mundial, estimando-se que 52% da população esteja abaixo do limiar de pobreza (Central Intelligence Agency, 2013).

Existem desigualdades socioeconómicas consideráveis a nível geográfico, com desvantagem para as zonas rurais e para as províncias do Centro e do Norte do país. Dados administrativos apontam para disparidades também consideráveis entre distritos de uma mesma província. Por exemplo, uma criança nascida nas províncias do Norte é duas vezes mais suscetível de sofrer desnutrição do que uma que nasça nas províncias do Sul. De um modo geral, a utilização de unidades sanitárias é também mais baixa no Centro e no Norte, em comparação com o Sul, embora com diferenças bastante nítidas entre províncias

dentro destas regiões. Estas desigualdades manifestam-se também no acesso à água e ao saneamento sendo a percentagem da população das zonas rurais que utiliza tanto fontes melhoradas de água potável como infraestruturas de saneamento melhoradas de 13% no Sul decrescendo para 11% no Centro e apenas 4% no Norte (UNICEF, 2014).

### **1.2 Província da Zambézia**

#### **1.2.1 Localização geográfica**

A província da Zambézia, alvo do presente estudo, (Figura 6) localiza-se no centro do país e tem como limites a Norte as Províncias de Nampula e Niassa, a Sul a província de Sofala, a Oeste o Malawi e a Província de Tete e a Leste o Oceano Índico. É composta por 22 distritos (Quelimane, Namacurra, Nicoadala, Inhassunge, Chinde, Mopeia, Morrumbala, Maganja da Costa, Pebane, Mocuba, Milange, Lugela, Ile, Gilé, Namarroi, Alto Molocué Gurué, Derre, Mocubela, Molumbo, Mulevala e Luabo).

#### **1.2.2 Situação socioeconómica**

A província da Zambézia detém a mais alta incidência de pobreza, cerca de 70,5%, possuindo uma população bastante numerosa, quase um quinto do total nacional. A província tem as taxas mais elevadas de mortalidade em menores de 5 anos, e de desnutrição aguda (9,4%), perto do limiar crítico definido pela WHO (2009). Quanto à natalidade, as taxas mais baixas de partos em unidades sanitárias institucionais e de partos assistidos por pessoal especializado (28% e 26%, respetivamente); também em relação à vacinação, é a província com as taxas mais baixas, com apenas 47% de crianças entre os 12 e os 23 meses de idade totalmente vacinadas (UNICEF, 2014). Por sua vez, é a que apresenta a percentagem mais baixa de população que utiliza fontes melhoradas de água potável (apenas 26%) bem como de frequência do ensino secundário (11%).

### **1.3 Distrito de Quelimane**

#### **1.3.1 Localização geográfica e população**

A cidade de Quelimane é a capital da Zambézia e a maior cidade da província, está localizada junto do rio dos Bons Sinais, a cerca de 20 km do Oceano Índico e é limitada a norte, sul, este e oeste pelo distrito de Nicoadala, possuindo uma superfície de 122 km<sup>2</sup> e uma população de aproximadamente 193,343 habitantes. O distrito conta com um porto fluvial com cais e infraestruturas adaptadas à navegação marítima de grande tonelagem. O porto é um dos principais impulsionadores de suas atividades económicas,

sendo, portanto, um importante centro de uma indústria pesqueira; posicionando se em quarto lugar a nível do país (INE, 2011 e MuniSAM, 2013).

### **1.3.2 Clima**

O clima é do tipo tropical húmido, a temperatura média do distrito é de 25,7°C, podendo registar temperaturas máximas de 42,1°C e mínimas de 10,3°C. A precipitação média mensal é de 72,1 mm. Estando na região costeira, nela encontram-se de forma predominante barras costeiras, zonas muito depressionárias (baixas), mangais e uma extensa planície ao lado do rio Mucelo. Os solos da planície consistem de argila pesada com propriedades de dilatação e contração, sendo mal drenados e, conseqüentemente, durante a estação das chuvas grande parte das planícies ficam alagadas (Scholten, 1987 e INE, 2011).

### **1.3.3 Condições sociodemográficas**

Em relação as condições sociodemográficas, dos 41.804 agregados familiares do distrito, 20.965 (50,2%) não possuem latrina na habitação. No que tange a utilização de água potável, 27.635 (66,1%) tem acesso a água do fontanário, 4.489 (10,7%) utilizam água dos poços a céu aberto e os restantes recorrem aos rios, furos protegidos e água canalizada dentro da habitação. Cerca de 26.379 (63,1%) dos agregados têm suas habitações feitas a base de paus maticados designados localmente por “pau-a-pique”. Em relação ao tipo de cobertura das habitações, 18.299 (43,8%) têm sua cobertura a base de capim, colmo ou palmeira (“Macubar”), sendo pavimentadas com adobe (INE, 2011).

### **1.3.4 Educação e saúde**

O distrito de Quelimane possui 166 escolas, das quais 135 são do ensino primário do primeiro grau, 18 do segundo grau, 12 do ensino secundário e uma escola técnico-profissional. No entanto, importa salientar que apesar disso, neste distrito, aproximadamente 6.096 crianças dos seis a treze anos não frequentam a escola, tendo o distrito uma taxa de analfabetismo igual a 20,7%. Quanto a rede de saúde, o distrito conta com um hospital provincial e 10 centros de saúde, tendo um total de 448 camas gerais e 88 da maternidade, estimando se que duas camas estejam para 1000 habitantes (INE, 2011).

### 1.4 Distrito de Gurué

#### 1.4.1 Localização geográfica

O distrito de Gurué localiza-se a Norte da província de Zambézia, concretamente na região da alta Zambézia, e faz limite com os distritos de Milange, Namarroi, Errego e Alto Mólocué, sendo que a norte se encontra limitado pelos distritos de Malema, na província de Nampula e de Mecanhelas na província de Niassa. Tendo uma superfície de 5.688 km<sup>2</sup> e uma população de 241.303 habitantes, este distrito tem como língua materna o Lomwé. Estima-se que possua uma densidade populacional de cerca de 42,6 habitantes por km<sup>2</sup>, com uma população jovem (46 %) abaixo dos 15 anos de idade, sendo maioritariamente do sexo feminino (MAE, 2005).

#### 1.4.2 Características climáticas

O clima deste distrito é do tipo tropical húmido, sendo que a precipitação anual é de cerca de 1.995,7 mm. O período chuvoso tem o seu início nos finais do mês de outubro, sendo a temperatura média anual de 21.9°C. Este distrito é caracterizado pelas suas formações planálticas, cuja altitude varia entre 500 a 1000 metros e pelas zonas montanhosas, dando assim a designação do nome “Alta Zambézia”, nome comumente atribuído a este distrito. A região abrange áreas que se apresentam com grandes maciços montanhosos separados por áreas pene-planálticas mais ou menos acidentadas, o que impossibilita a ocorrência de grandes extensões planas. Aqui também ocorrem números cursos de água doce que desaguam no oceano Índico. Os solos são vermelhos ou castanho-avermelhados, de textura arenosa ou argilosa, profundos, bem drenados, com muita fertilidade e com risco de erosão (MAE, 2005).

#### 1.4.3 Educação e saúde

O distrito possui 128 escolas das quais 115 são do ensino primário. Apesar disso, Gurué apresenta uma taxa de cerca de 74% da população analfabeta, na sua maioria mulheres. A taxa de escolaridade no distrito é relativamente baixa, constatando-se que somente 41% dos habitantes frequentam ou já frequentaram a escola. Das mulheres do distrito com mais de cinco anos de idade, 69% nunca frequentaram a escola e somente 6% concluíram o ensino primário. A maior taxa de escolarização feminina ocorre no grupo etário dos 10 aos 14 anos de idade em que 44% das raparigas frequentam a escola. Este indicador evidencia o baixo nível escolar e a entrada tardia na escola na maioria das

raparigas, sobretudo nas zonas rurais. A população é assistida por 12 unidades sanitárias que possibilitam o seu acesso progressivo aos serviços do Sistema Nacional de Saúde. Estima-se que neste distrito exista uma unidade sanitária para cerca de 22 mil pessoas, sendo uma cama por 1.400 habitantes e um profissional técnico para cada 3.300 residentes, situação esta que é bastante preocupante (MAE, 2005).

### 1.4.4 Rede de abastecimento de água e habitações

No que se refere às fontes de abastecimento de água, importa mencionar que a maior parte da população deste distrito é abastecida por poços e furos (57%) ou recorre diretamente aos rios ou lagos (40%), sendo que os restantes 2% e 1% da população possuem água canalizada dentro e fora de casa respetivamente. O tipo de habitação modal neste distrito é a palhota, com pavimento de terra batida, com teto de capim ou colmo e paredes de caniço ou paus. Em relação a outras utilidades, o padrão dominante é o de famílias sem rádio e eletricidade, dispondo de cinco bicicletas em cada seis famílias (INE, 1997).

### 1.5 Schistosomose: situação global

A schistosomose é uma doença parasitária causada por helmintas do género *Schistosoma* envolvendo no seu ciclo de vida moluscos de água doce. A doença é um dos maiores problemas de saúde humana nos países tropicais e subtropicais de África, Ásia e América Latina (Figura: 3). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que haja no mundo cerca de 200 milhões de casos da schistosomose e cerca de 700 milhões de pessoas em risco, dos quais 93% ocorrem na África subsaariana (WHO, 2006, Gryseels *et al.*, 2006).

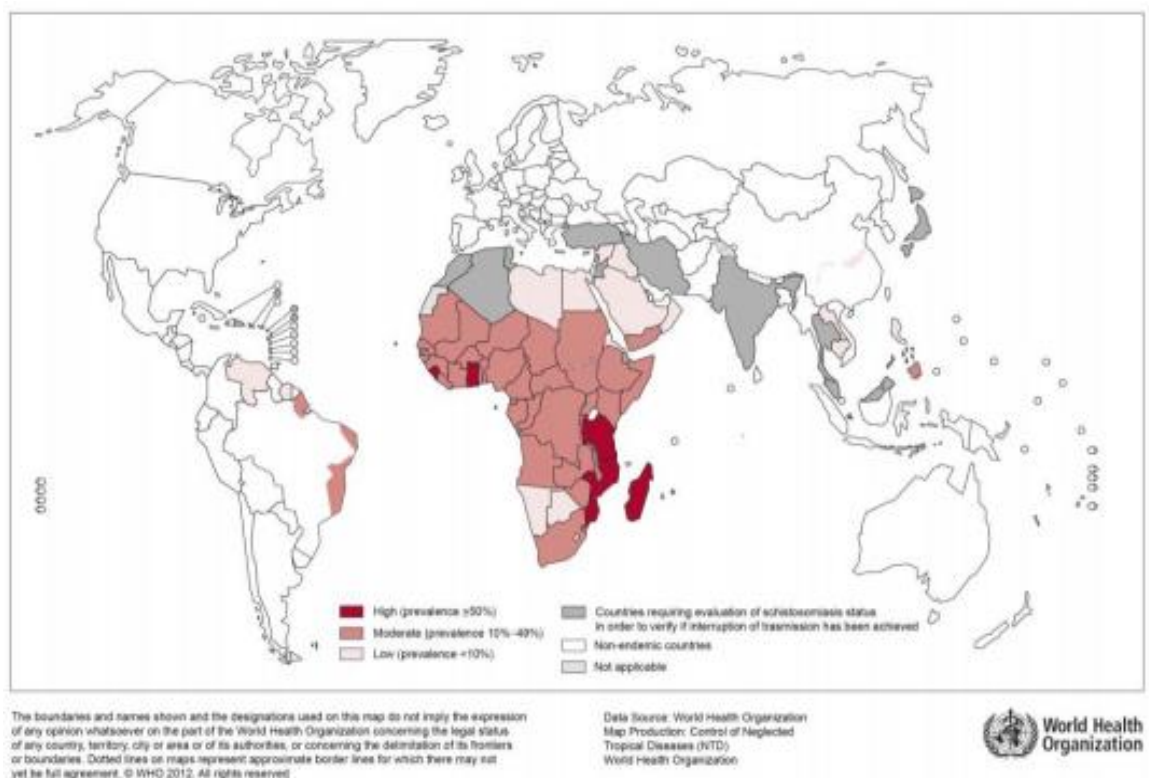
Por meio da implementação de programas de controlo efetivos baseados na quimioterapia em larga escala, medidas sanitárias e controlo de moluscos (uso de moluscidas e alterações físicas dos habitats), a prevalência da schistosomose foi consideravelmente reduzida em áreas endémicas da América Latina e Ásia. No entanto, esta não tem sido a situação na África subsaariana onde a prevalência e a morbilidade continuam elevadas (WHO, 2005).

São conhecidas seis espécies do género *Schistosoma* que causam doença nos seres humanos, sendo as mais importantes *Schistosoma haematobium*, *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. intercalatum* e *S. mekongi*. Em África, a schistosomose é causada por três

espécies: *S. haematobium*, agente etiológico da schistosomose urogenital, sendo também a espécie mais predominante e *S. mansoni* e *S. intercalatum*, responsáveis pela forma intestinal da doença (Gryseels *et al.*, 2006, WHO, 2012).

Estima-se que a schistosomose urogenital seja endêmica em 53 países, sobretudo nos países subsaarianos, no Mediterrâneo ocidental, Médio Oriente, algumas ilhas do Oceano Índico e Índia. Já a infecção por *S. mansoni* é endêmica em 55 países e territórios da América do Sul, do Caribe, da África e do Mediterrâneo. Importa salientar o fato de que tanto *S. haematobium* assim como *S. mansoni*, ocorrem de forma simultânea e coincidem em 41 países da África e do Mediterrâneo (Rey, 2001).

A infecção por *S. intercalatum* em coendemicidade com *S. mansoni*, ocorre em 10 países da África Central e Ocidental, nomeadamente nos Camarões, Guiné Equatorial, Mali, República Centro Africana, Chade, Congo, República Democrática do Congo, Gabão, Nigéria e São Tomé e Príncipe (Belo *et al.*, 2005).



**Figura 3:** Mapa de distribuição mundial da schistosomose (WHO, 2012)

### 1.5.1 Transmissão e ciclo de vida de *Schistosoma* spp

Durante o seu ciclo de desenvolvimento (Figura 4), o parasita passa por uma alternância de fases de reprodução sexuada (no hospedeiro definitivo) e assexuada nos moluscos hospedeiros intermediários. Possui um ciclo heteroxénico (requere mais do que um hospedeiro para completar o seu ciclo evolutivo).

O ciclo da schistosomose desencadeia-se pela eliminação dos ovos de *S. haematobium* na urina ou pelas fezes, para as outras espécies de *Schistosoma*. Quando os ovos atingem a água doce, tendo condições adequadas, eclodem e libertam para o exterior formas designadas miracídios, que se caracterizam por apresentar cílios que auxiliam o seu movimento até ao hospedeiro intermediário.

Uma vez libertado o miracídio, nada até ao encontro do molusco específico (do género *Bulinus* para *S. haematobium* e *intercalatum*, *Biomphalaria* para *S. mansoni* e *Oncomelania* para *S. japonicum*) em cerca 8 horas, sendo que após este período se não tiver encontrado o seu hospedeiro intermediário o miracídio morre. Ao entrar em contacto com o molusco, o miracídio penetra nas partes moles do caracol e, seguidamente perde os cílios locomotores, transformando-se em esporocisto da primeira geração, aproximadamente 24 horas após a penetração. Por sua vez, os esporocistos da primeira geração multiplicam-se dando origem a esporocistos da segunda geração que por sua vez vão migrar para os órgãos digestivo e sexual do molusco, onde se desenvolvem e sofrem rápidas divisões, dando origem a formas denominadas cercárias, que são comumente eliminadas para a água na presença de luz intensa e temperatura em torno dos 28°C (Rey, 2001).

O tempo de sobrevivência das cercárias na água é limitado a pouco mais de dois dias, sendo que após este tempo morrem. Na água, nadam de forma ativa até serem atraídas por um hospedeiro definitivo. Assim que atingem a superfície da pele do homem, fixam-se entre os folículos pilosos com auxílio de suas duas ventosas e penetram ativamente graças aos seus movimentos ativos (Rey, 2002). O processo de penetração dá-se em aproximadamente 15 minutos, causando de imediato uma irritação da pele. As cercárias podem também penetrar através das mucosas e, quando ingeridas com a água as que chegam no estômago são destruídas de imediato, e as que penetram na mucosa bucal desenvolvem-se normalmente. Após a penetração, as cercárias transformam se em

formas denominadas schistosómulos, que são mais vulneráveis aos anticorpos do hospedeiro definitivo nas primeiras três horas, podendo resultar na sua destruição. Ao atingirem os capilares venosos da derme, são rapidamente arrastados pela corrente sanguínea. Cerca de três a sete dias após a infecção, chegam ao pulmão através das artérias pulmonares e por intermédio de movimentos de contração e extensão, passam das arteríolas para as vénulas pulmonares.

Através destas veias pulmonares, deixam o pulmão, passam para o coração esquerdo, e seguem na circulação sistémica. Parte deles é levada para o fígado, passam pelos capilares do sistema porta onde em 21 dias se desenvolvem e se diferenciam morfológicamente em formas adultas e outra parte deles são destruídos noutros órgãos (Rey, 2001). Entre o 29º e 31º dia ocorre o acasalamento e o par de vermes dirige-se para os respetivos locais anatómicos onde decorrerá a oviposição. Durante a migração, a fêmea é transportada pelo macho que, com o auxílio da ventosa oral e dos tubérculos ou espinhos da cutícula externa adere ao endotélio vascular. A migração termina nas vénulas e capilares dos plexos mesentéricos, para *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. intercalatum* e *S. mekongi*. No caso de *S. haematobium* os vermes adultos migram para os vasos do plexo vesical que drenam o sistema urinário e, entre 4 a 6 semanas após à infecção, as fêmeas começam a eliminar cerca de 50 a 550 ovos (Siqueira-Baptista *et al.*, 1998).

Os ovos depositados pela fêmea têm três destinos, uns permanecem nos vasos, sendo transportados para a circulação de retorno (quer pelo sistema porta quer pelo sistema cava) dando origem à formação posterior de granulomas nos órgãos onde embolizam, nomeadamente órgãos do sistema urinário e genital, fígado, reto, sistema nervoso central (SNC) e pulmão (Argemi *et al.*, 2009); outros atravessam o endotélio vascular e sob a ação do esporão, do peristaltismo da musculatura lisa dos vasos e das enzimas proteolíticas secretadas pelo miracídio no interior do ovo, transpõem a parede dos órgãos e ficam retidos entre a mucosa e submucosa, dando origem à formação de granulomas, responsáveis pela patogénese da infecção schistosómica (Mesquita *et al.*, 2004 e Silva *et al.*, 2008).

Outros, ainda que atravessam as paredes dos vasos, as estruturas tecidulares dos órgãos ocos e são drenados por esses vasos e eliminados para o exterior juntamente com os excreta do hospedeiro, eclodindo em contacto com a água doce (Rey, 2001 e Cook e Zumla, 2009).

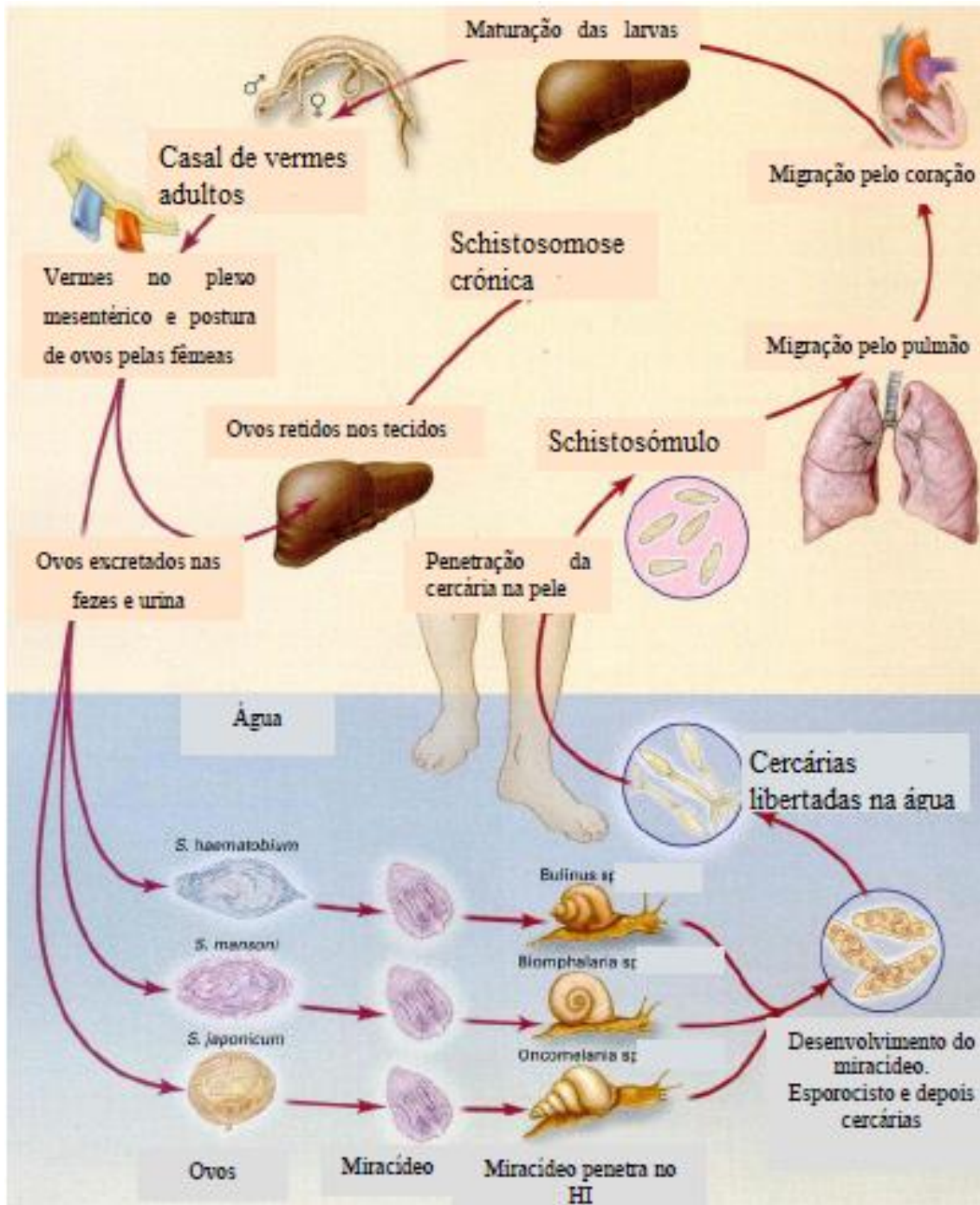


Figura 4: Ciclo de vida de *Schistosoma* spp. Adaptado de (Ross *et al.*, 2002).

### 1.5.2 Imunologia e patogênese

Em relação à patogenicidade da schistosomose, importa mencionar que esta doença depende da interação entre o ser humano e o parasita helminta. Entre os fatores que determinam o sucesso da infecção, destacam-se a constituição genética, o estado nutricional, tratamento específico, infecções associadas (*Enterobacteriaceae*, vírus das hepatites B e C), o perfil imunitário antes, durante e após a infecção, sendo este provavelmente o fator mais importante na determinação e evolução das formas anatomoclínicas (Pearce e MacDonald, 2002).

No decorrer das fases do ciclo biológico nos diferentes tecidos, o parasita passa por diversas alterações morfológicas e bioquímicas que funcionam como mecanismos de “escape” contra o sistema imunológico do hospedeiro. Cada estágio desse processo conduz à ativação de inúmeros mecanismos imunológicos. Nas primeiras 12 horas após a penetração das cercárias, observa-se importante reação inflamatória dérmica e subdérmica, originando a dermatite cercariana, a qual é capaz de destruir um número significativo de cercárias e schistosómulos ainda na pele, sendo, portanto, a primeira “linha de defesa” perante a infecção (Lichtenbergova *et al.*, 2008).

Esta reação inflamatória é maioritariamente constituída por células mononucleares e polimorfonucleares, e apresenta-se clinicamente como um exantema maculopapular pruriginoso, cuja intensidade depende do número e duração das exposições e o estado imunológico do hospedeiro. Durante a passagem pela epiderme e derme, verifica-se importante reação de hipersensibilidade com ativação de vários componentes da resposta imune inata. Dois dias depois, verifica-se o recrutamento de um infiltrado de células polimorfonucleares, mononucleares e células de Langerhans, além de produção local de quimiocinas CCL3/ MIP-1a e citocinas IL-1b, IL-6, IL-12p40, IL-10 (Hogg *et al.*, 2003).

Depois de quatro a cinco dias, observa-se o influxo de linfócitos T CD4+ e produção de IL-12p40, IFN- $\gamma$  (interferão-gama) e IL-4, ocorrendo a sua redução na segunda semana (Hogg *et al.*, 2003 e Kourilová *et al.*, 2004). Aquando da passagem dos schistosómulos pelos pulmões, pode haver focos de arteriolite e necrose. A transformação dos schistosómulos em vermes adultos ocorre entre 30 e 60 dias após a infecção, coincidindo com o início das manifestações clínicas da schistosomose aguda. Esta fase

aguda está dividida em dois períodos evolutivos: o pré-patente, antes da oviposição e o pós-patente, após a oviposição. Apesar dos mecanismos imunológicos envolvidos na resposta da infecção aguda ainda não estarem completamente claros, estudos em modelos murinos têm demonstrado que inicialmente há um predomínio de uma resposta imune tipo Th1 que posteriormente é substituída por Th2 na fase pós-patente; no entanto, há a salientar que durante a fase pré-patente são detetados níveis plasmáticos consideráveis de fator de necrose tumoral (TNF), de IL-2 e IL-6 produzidos pelas células (linfócitos T e macrófagos) (Pearce e MacDonald, 2002).

Acredita-se que a resposta imune do tipo Th1 seja responsável pelas lesões tecidulares e manifestações clínicas da fase aguda. Outro aspecto interessante é a citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC), com ação efetora sobre schistosómulos, mas aparentemente inócua para os helmintas adultos. O evento patogénico mais importante na schistosomose é a formação do granuloma hepático e a fibrose hepática peri-portal ou, no caso da schistosomose urogenital, as lesões do trato urinário que podem evoluir para formas neoplásicas na bexiga e outros órgãos (Shiff *et al.*, 2006, Carvalho *et al.*, 2008). Esta alteração é mediada por várias subpopulações linfocitárias, induzindo resposta inflamatória e fibrose em torno dos ovos alojados nos diferentes tecidos. Por ocasião da oviposição, cerca de 60% dos ovos alcançam a luz intestinal e o sistema urinário, sendo que os restantes se mantêm “presos” nos capilares, sobrevivendo a morte do miracídio. Alguns ovos aí permanecem, ao passo que outros vão sendo transportados pela circulação mesentérica até o fígado ou plexo vesical, onde embolizam. A libertação de antígenos solúveis a partir dos ovos induz a mobilização de macrófagos, eosinófilos, linfócitos e plasmócitos, havendo neste processo a mediação por TNF, células CD4<sup>+</sup> Th1 e Th2 e linfócitos T CD8<sup>+</sup>. Os macrófagos colocam-se em contato com o ovo, formando massas de células sinciciais multinucleadas; algumas destas células transformam-se em fibroblastos, orientando a organização de camadas concêntricas em toda a espessura do granuloma, com ampla produção de colagénio (Lenzi *et al.*, 1998). A formação dos granulomas nos diferentes órgãos e tecidos explica as manifestações da doença, destacando-se (1) a hipertensão portal (granulomas hepáticos com a desorganização da arquitetura sinusoidal hepática), (2) a formação de pseudotumores (granulomas na parede intestinal), (3) as disfunções neurológicas (granulomas no sistema nervoso central, principalmente na medula) e (4) as lesões vasculares pulmonares

(granulomas nos vasos pulmonares) (Warren, 1972 e Carvalho *et al.*, 2008). Já para o caso da schistosomose urogenital, para além da hematúria, esta pode evoluir para quadros como uropatia obstrutiva com calcificação da bexiga bem como na etiologia do carcinoma da bexiga (Rambau *et al.*, 2013).

### 1.5.3 Diagnóstico laboratorial

Existem vários métodos usados atualmente no diagnóstico da schistosomose, dos quais se destacam os métodos diretos, a realização de biópsias, os testes imunológicos e a aplicação da biologia molecular para a deteção do DNA do parasita (Neves, 2005).

### 1.5.4 Métodos diretos

O diagnóstico laboratorial da infeção por *Schistosoma* spp é feito comumente pela observação direta dos ovos nos produtos de excreção, nomeadamente urina e fezes. Para a pesquisa de ovos de *S. haematobium* aplica-se a técnica de filtração da urina em filtros nucleopore, permitindo não só a observação dos ovos, mas também a sua posterior quantificação sendo a infeção categorizada em leve, em doentes que eliminam diariamente 1 a 10 ovos/10 ml de urina, moderada nos que eliminam de 11 a 50 ovos/10 ml e intensas quando há eliminação de mais de 50 ovos/10 ml de urina (WHO, 1991). Além do método de filtração de urina, pode ser usada a técnica de sedimentação em tubos cónicos, assim como fitas ou tiras reativas para observação de microhematúria e albuminúria, estas últimas aplicadas em diversos estudos epidemiológicos, sobretudo na população infantil, sendo considerados indicadores específicos da infeção (Rollinson *et al.*, 2005).

O exame direto das fezes pela técnica de Kato-Katz (Katz *et al.*, 1972) permite a identificação e quantificação dos ovos das espécies de *Schistosoma* que causam schistosomose intestinal. É uma técnica muito usada em estudos clínicos e epidemiológicos, por ser económica, sensível e simples de executar, para além de ser útil na determinação da carga parasitária.

### 1.5.5 Pesquisa de ovos nos tecidos

A biópsia retal é uma técnica bastante útil no diagnóstico da schistosomose, consiste na colheita de fragmentos da mucosa retal em diferentes pontos das válvulas de Houston e seu exame ao microscópio, para a deteção de ovos em seus diferentes estágios

evolutivos. O resultado é expresso em ovos por grama de tecido retal biopsado. Os ovos são classificados em vivos (imaturos ou maduros) ou mortos (mortos recentemente, calcificados ou granulomas). A biópsia com retosigmoidoscopia, sendo uma técnica invasiva e muito incômoda para os doentes, não costuma ser muito recomendada para o diagnóstico da schistosomose. Já a biópsia hepática é um recurso que pode ser utilizado somente quando a doença se apresenta clinicamente num estágio complicado e os meios de diagnóstico já mencionados não permitirem a confirmação da schistosomose ou diferenciação de outras hepatopatias (Vranjac, 2007).

### **1.5.6 Métodos imunológicos ou indiretos**

As técnicas imunológicas avaliam a resposta do organismo do hospedeiro (reações alérgicas, produção de anticorpos etc.) frente a antígenos do parasita. Estas técnicas não permitem a certeza absoluta do parasitismo, a exemplo do encontro de ovos na biópsia ou no exame de fezes/urina, pois podem ocorrer reações cruzadas dando resultados falso-positivos. Da mesma forma, os resultados negativos não permitem a certeza de ausência do parasitismo, já que ocorrem também reações falso-negativas. Diversas técnicas foram descritas para o diagnóstico imunológico da schistosomose, entre elas, destacam-se o método de Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), a Imunofluorescência e a Reação Periovular, aplicadas tanto em estudos clínicos como epidemiológicos (Vranjac, 2007).

### **1.5.7 Métodos moleculares**

As limitações do diagnóstico parasitológico da schistosomose, como por exemplo, a baixa sensibilidade dos métodos diretos em indivíduos com baixa carga parasitária, têm contribuído para subestimar a real prevalência da infecção nas áreas endêmicas. Atualmente têm sido implementadas outras técnicas que têm mostrado ser mais eficientes, como as de biologia molecular, baseadas na detecção do ADN (ácido desoxirribonucleico) do parasita nas amostras de fezes e urina. A sua aplicação na identificação de potenciais áreas endêmicas, através da detecção do parasita nos moluscos hospedeiros intermediários, tem-se revelado bastante promissora. Estes métodos têm apresentado resultados satisfatórios na detecção e caracterização do parasita, devido à sua extrema sensibilidade uma vez que permitem a geração de cópias de sequências específicas a partir de uma cadeia de ADN molde (Souza, 2005).

A alta sensibilidade e especificidade das técnicas moleculares permitem não só um diagnóstico precoce dos agentes infecciosos como também monitorizar a progressão da doença e a resposta terapêutica (Souza, 2005). Uma das técnicas mais usada atualmente para a deteção da infeção é a de Nested-PCR, destinada a aumentar a sensibilidade e especificidade (Melo *et al.*, 2006).

### 1.5.8 Tratamento

O Praziquantel (PZQ) é o medicamento de escolha no tratamento contra todas as espécies de *Schistosoma*, afetando diretamente os parasitas adultos em pouco tempo, mas tendo pouca ação contra as formas larvares do parasita. O período ideal para o seguimento dos indivíduos tratados é entre 4 a 6 semanas após o tratamento com uma dose única de 40 mg/kg (ECDC, 2014).

Os efeitos colaterais são de um modo geral pouco intensos e passageiros, sendo a dor abdominal, cefaleia e sonolência as mais importantes. O PZQ apresenta ainda forte dependência com a resposta imune específica no processo de eliminação dos vermes, atuando principalmente a nível do tegumento do parasita, expondo assim antigénios-alvo da resposta imune.

### 1.5.9 Prevenção e controlo

As estratégias de prevenção e controlo da schistosomose na população é feita através da quimioterapia em massa (Koukounari *et al.*, 2007), associada ao controlo dos moluscos, com modificações ambientais desfavoráveis dos seus criadouros, educação sanitária e saneamento do meio (Rey, 1987, King *et al.*, 2006).

## 1.6 Situação global das parasitoses intestinais

As parasitoses intestinais causadas pelos helmintas e protozoários, afetam cerca de 3,5 mil milhões de pessoas, causando patologia em aproximadamente 450 milhões de indivíduos em todo mundo, principalmente em crianças, estimando-se que estas sejam responsáveis pela morte de aproximadamente 200 mil pessoas, anualmente (WHO, 2001).

O grau de infeção por parasitoses intestinais é um dos indicadores mais importantes do nível socioeconómico de uma comunidade (Astal, 2004), podendo estar relacionado a diversos fatores como condições sanitárias inadequadas ou ausência de

saneamento básico, contaminação fecal da água e de alimentos consumidos (Gamboa *et al.*, 2003).

As parasitoses intestinais constituem um problema de saúde pública uma vez que, para além dos seus efeitos patológicos sobretudo em crianças, causam perdas económicas consideráveis com elevados custos de assistência médica e medicamentosa. Tal como a infeção por schistosomas, estes parasitas afetam de forma negativa o estado cognitivo e nutricional deste grupo, numa fase em que se encontram em intenso crescimento físico e intelectual, (Rey, 2001, Bethony *et al.*, 2006). Globalmente, as espécies de helmintas intestinais encontradas com mais frequência são as transmitidas pelo solo, como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, Ancilostomídeos, *Strongyloides stercoralis* e o helminta *Enterobius vermicularis* de transmissão direta auto ou inter-humana.

### 1.6.1 Sintomatologia

Os sintomas resultantes da infeção pelas parasitoses intestinais variam desde casos assintomáticos a leves. Geralmente os sintomas não são específicos, podendo ocorrer anorexia, irritabilidade, náuseas, vômitos ocasionais, dor abdominal e diarreia. Os quadros graves ocorrem em indivíduos com elevada carga parasitária, imunodeprimidos e desnutridos (Andrade *et al.*, 2010).

Os ancilostomídeos podem ainda provocar a síndrome de larva migrante visceral na fase tecidular (Rey, 2001), sendo também responsáveis pela deficiência de ferro no organismo (devido a espoliação das reservas orgânicas) e por lesões traumáticas decorrentes da ação das placas cortantes (*Necator americanus*) e dos dentes (*Ancylostoma duodenale*).

### 1.6.2 Diagnóstico

À semelhança da schistosomose intestinal, o diagnóstico das infeções por helmintas intestinais é feito pela pesquisa e identificação dos ovos nas fezes. As técnicas mais utilizadas são a de Kato-Katz, Stoll, e a de Ritchie (Katz *et al.*, 1972 e Araújo *et al.*, 2003).

### 1.6.3 Tratamento

Os principais medicamentos usados no tratamento das parasitoses intestinais (*A. lumbricoides*, *T. trichiura*, Ancilostomídeos, *S. stercoralis* e *E. vermicularis*) são o Albendazol e o Mebendazol. O Albendazol é pouco absorvido, portanto a sua ação ocorre diretamente no trato gastrointestinal. Possui ação vermícida, larvívica e ovívica. Na ascariíose e enterobiose, este medicamento mostra níveis de cura e de redução de ovos de até 96,4% (Saathoff, 2004). Os efeitos colaterais são pouco frequentes, sendo os mais referidos tonturas, náuseas, vômitos e dores abdominais.

O Mebendazol apresenta atividade ovívica, não tendo muita ação larvívica. Geralmente tem poucos efeitos colaterais. Apresenta taxas de cura para ascariíase entre 93,8% e 100% e taxas de redução de ovos de 97,9% a 99,5% (Geerts *et al.*, 2000).

No tratamento da estrombilíose, os fármacos mais eficazes são o Tiabendazol e a Ivermectina. Esta é recomendada em dose única oral de 200 mg/Kg, com eficácia acima de 80% (Andrade *et al.*, 2010).

### 1.6.4 Prevenção e controle

Para as parasitoses intestinais o controle passa por medidas que incentivem a proteção do solo e das culturas da contaminação pelos excreta humanos, através da educação sanitária das populações e implementação de saneamento básico adequado. Uma medida importante para a prevenção são as campanhas de desparasitação, pelo menos uma vez por ano, de todas as crianças em idade escolar e pré-escolar (Savioli *et al.*, 2004; Massa *et al.*, 2009).

### 1.7 Situação da schistosomose e parasitoses intestinais em Moçambique

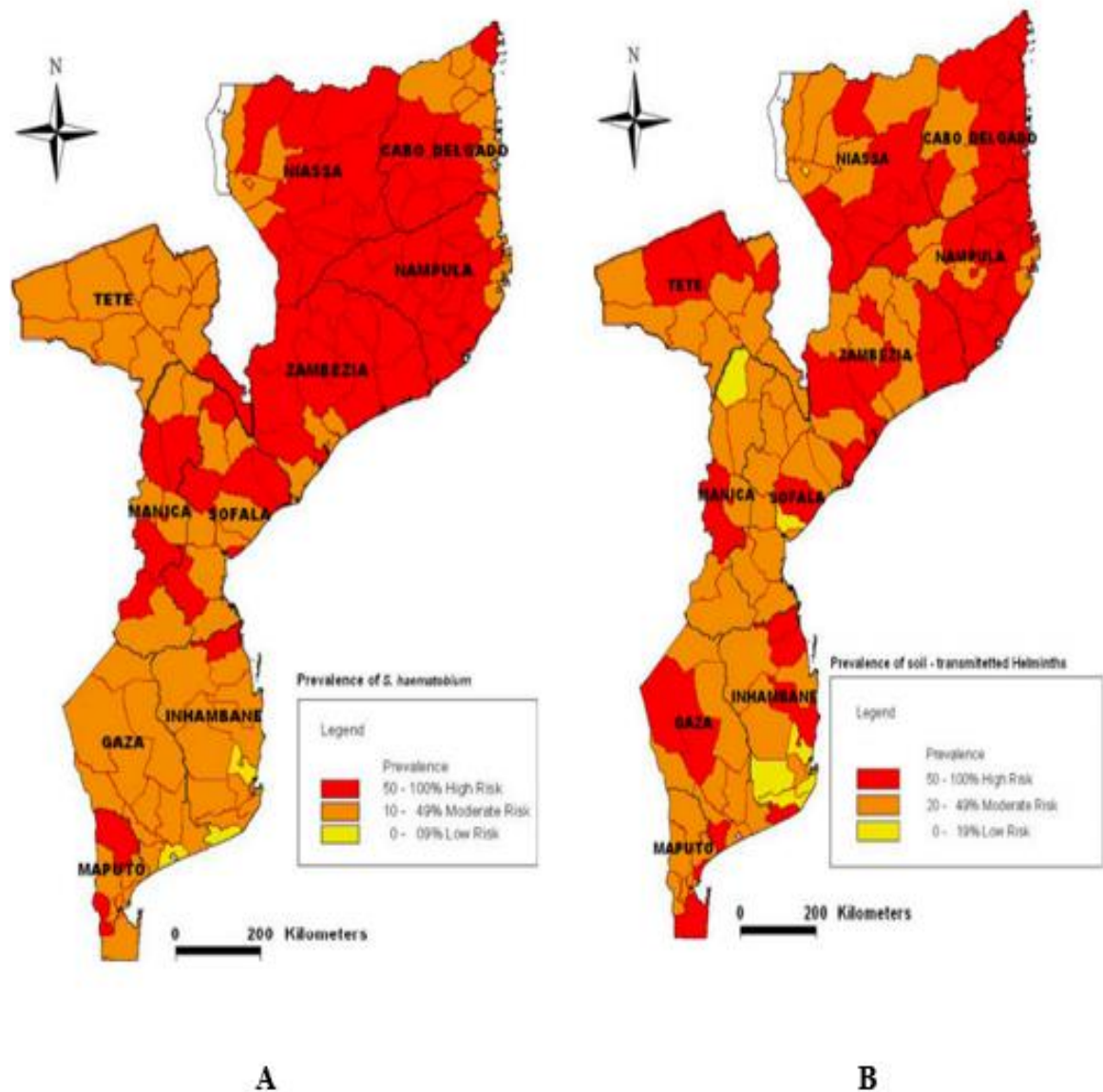
Os dados de ocorrência da schistosomose e parasitoses intestinais em Moçambique já existem desde o período que antecede a independência do país em 1975. O primeiro diagnóstico da schistosomose urinária foi constatado na província de Nampula em 1904 no distrito de Angoche (relatório dos serviços de saúde de Moçambique). Uma pesquisa levada a cabo na região Sul de Moçambique em 1952, envolvendo indivíduos da faixa etária entre os três até os 34 anos de idade, verificou-se uma prevalência de infecção por *S. haematobium* de 61,5 % (Azevedo *et al.*, 1954).

Posteriormente, Rey *et al.*, (1987) observaram uma prevalência de 19,4% numa aldeia na província de Maputo. Em 1992, Vaz, realizou uma pesquisa envolvendo prisioneiros de três cadeias também nos arredores da capital do país, tendo sido obtida uma prevalência de schistosomose urogenital equivalente a 17,4%. Mais tarde viria a ser realizado um estudo na região Norte do país, concretamente na província de Cabo Delgado, envolvendo crianças de 12 escolas, tendo-se constatado altas prevalências de *S. haematobium* em todas as escolas, sendo de 77,5% a prevalência mais elevada (Traquinho *et al.*, 1998).

Em um estudo mais recente, realizado por Augusto *et al.*, (2009), em todos os distritos de Moçambique (Figura 5), constatou-se que a prevalência geral obtida foi de 47% para *S. haematobium*, sendo 53,5% para as helmintoses intestinais e 1% para *S. mansoni*. Em termos de distribuição, de uma forma geral a schistosomose urogenital era predominante nas regiões do norte e centro do país, concretamente nas províncias de Nampula, Niassa, Zambézia e Cabo Delgado, com prevalências que atingiam os 77,7%, em comparação com as províncias do Sul, com registo de prevalências máximas de 34,2%. Em relação às parasitoses intestinais, o padrão de distribuição ao longo do país é mais ou menos idêntico, apesar de mais uma vez as províncias do norte e centro apresentarem maiores prevalências que as do sul. De acordo com a Direção Provincial de Saúde da província da Zambézia, Quelimane é o distrito mais afetado pelas parasitoses intestinais a nível de toda a província, onde a prevalência atingiu os 81% no estudo realizado em 2009. O baixo nível socioeconómico, cultural, as condições ambientais, a baixa higiene individual e coletiva, assim como a falta de políticas adequadas com vista a reduzir o impacto destas doenças, são alguns dos fatores que foram atribuídos a estas prevalências (Augusto *et al.*, 2009).

A título de exemplo, no que diz respeito às condições de habitação, somente um quinto (22%) dos agregados familiares em Moçambique utilizam instalações sanitárias melhoradas, só para uso de agregado familiar. Entre as províncias, Maputo Cidade é a que possui maior percentagem de agregados familiares que utiliza instalações sanitárias melhoradas de uso apenas do agregado familiar enquanto nas províncias de Cabo Delgado e Zambézia, mais de 90% de seus agregados familiares utilizam latrinas rudimentares de uso coletivo no exterior das habitações (INE, 2013).

Quase 90% de agregados familiares em Moçambique utilizam água sem tratamento e a percentagem é mais elevada na área rural onde aproximadamente 95% dos agregados recorrem a poços e até mesmo a rios para a sua obtenção. Por províncias, Maputo Cidade tem cerca de 23% de agregados familiares que utilizam algum método para tratamento da água antes de beber, sendo os dois mais citados a fervura da água e a adição de cloro. (INE, 2013).



**Figura 5:** Mapas de distribuição de *S. haematobium* (A) e parasitoses intestinais (B) em Moçambique. Gerito *et al.*, (2009).

## **2. Objetivos**

### 2.1 Justificação

Moçambique é um país endémico para a schistosomose (*S. haematobium* e *S. mansoni*), assim como para as parasitoses intestinais. Em 2009 foi levado a cabo um estudo epidemiológico que teve por objetivo avaliar a distribuição geográfica e prevalência da schistosomose e parasitoses intestinais em crianças escolares de todas as províncias do país, tendo revelado que os 128 distritos de Moçambique eram endémicos para *Schistosoma* spp e geohelminas, sendo a província da Zambézia uma das que apresentou maior prevalência de helmintas na população infantil.

Na sequência deste inquérito, foram recomendadas medidas com vista à redução das parasitoses a níveis aceitáveis, sendo a monitorização da eficácia das medidas de controlo implementadas fundamental para avaliar o seu impacto e, se necessário, implementar medidas adicionais com vista à redução/eliminação destas parasitoses (WHO, 2013).

Um outro aspeto é que o diagnóstico destas parasitoses se baseou somente em técnicas parasitológicas, como a filtração da urina para *S. haematobium* e de Kato-katz para *S. mansoni* e helmintas intestinais. Atualmente tem sido demonstrado que estes métodos são pouco sensíveis, principalmente em cargas parasitárias leves (Barreto *et al.*, 1990 e Engels *et al.*, 1996) facto que pode subestimar a real prevalência da infeção nalgumas áreas endémicas. Por isso, de forma a melhorar a investigação no campo do diagnóstico e para monitorizar intervenções de controlo após a terapia em massa, recomenda-se a aplicação de outros métodos complementares de maior sensibilidade, nomeadamente métodos moleculares, permitindo o diagnóstico da infeção mesmo em indivíduos que apresentem baixa carga parasitária, o que possibilita também obter indicadores mais atualizados sobre a situação epidemiológica das helmintoses.

Por outro lado, pouco se sabe sobre a situação biogeográfica, abundância, assim como a situação da infeção dos moluscos hospedeiros intermediários em Moçambique e em particular na província da Zambézia, havendo, portanto, necessidade urgente que estudos malacológicos sejam levados a cabo, contribuindo assim para a caracterização, monitorização e identificação de potenciais áreas de transmissão e assim tomar precocemente as medidas de intervenção adequadas.

### 2.2 Objetivo geral

- Avaliar a situação epidemiológica de *Schistosoma* spp e das parasitoses intestinais após as medidas de intervenção efetuadas em 2009 e atualizar a informação referente aos moluscos hospedeiros intermediários de *Schistosoma* spp nos distritos de Quelimane e Gurué, na província de Zambézia, Moçambique.

### 2.3 Objetivos específicos

- Determinar a prevalência de *Schistosoma* spp e de parasitas intestinais na população escolar (5-15 anos de idade) nos distritos de Gurué e Quelimane através de métodos parasitológicos e moleculares;
- Atualizar a informação sobre os hospedeiros intermediários de *Schistosoma* spp nas áreas de estudo, através de identificação morfológica e caracterização molecular;
- Avaliar o grau de infeção dos moluscos potenciais hospedeiros intermediários de *Schistosoma* spp nas áreas de estudo aplicando métodos convencionais (pesquisa de cercárias) e técnicas moleculares.

### **3. Material e Métodos**

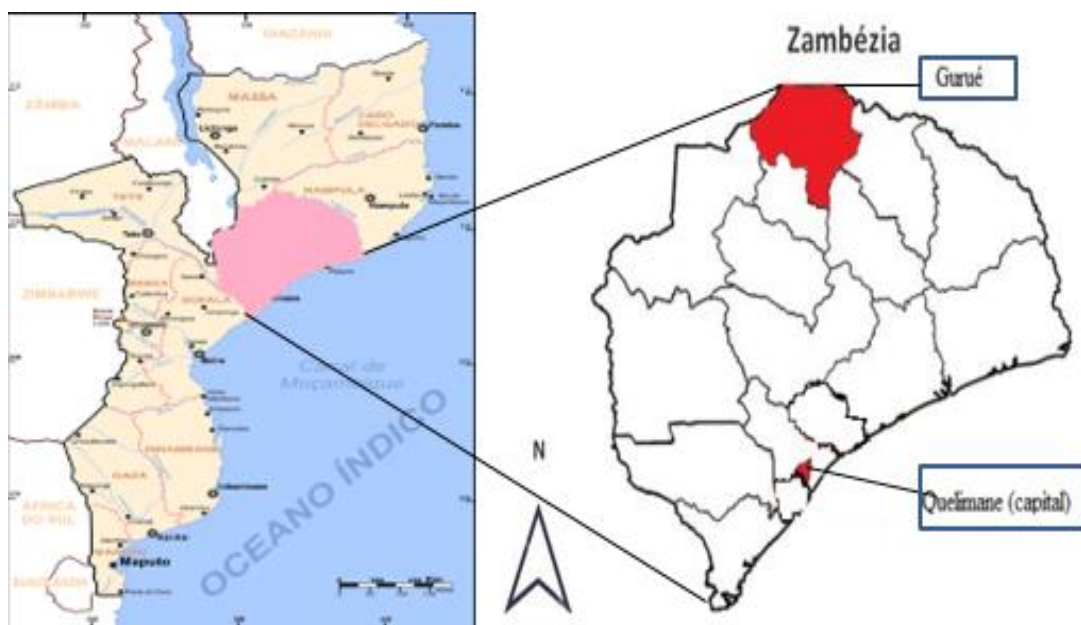
### 3. Material e Métodos

#### 3.1 Autorização do estudo

O protocolo para a realização do estudo foi aprovado pelas seguintes entidades responsáveis pela Saúde em Moçambique: Comité Nacional de Bioética para a Saúde (N<sup>o</sup> 101/CNBS/2015 e Ref: 05/CNBS/2016), autorização administrativa do Gabinete do Ministro (nota 321/GMS/002/2016), Direção Provincial de Saúde da Zambézia (Ref:2062/DPSZ/900/2015) e Direção Provincial de Educação-Zambézia (Anexos I, II, III e IV).

##### 3.1.1 Áreas de estudo e população examinada

O estudo foi realizado nos distritos de Quelimane e Gurué, na província da Zambézia, Moçambique, entre os meses de fevereiro a julho de 2016 envolvendo crianças das escolas primárias do primeiro grau (1<sup>a</sup> à 4<sup>a</sup> classe) e do segundo grau de ensino (5<sup>a</sup> à 7<sup>a</sup> classe) de Manhaua Expansão e Icídua, em Quelimane e, no distrito de Gurué, as escolas de Projecto e Moneia. A população estudada compreendeu crianças da faixa etária dos 5 aos 15 anos de idade, selecionadas de forma aleatória através das listas fornecidas pelos diretores das classes.



**Figura 6:** Mapa de Moçambique destacando a província de Zambézia e os distritos de Quelimane e Gurué.

Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mozambique\\_map\\_cities.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mozambique_map_cities.png)

### 3.1.2 Sensibilização da população

Antes do processo de recolha das amostras, fez-se uma reunião com os diretores e adjuntos pedagógicos das escolas alvos, de forma a apresentar as cartas de autorização passadas pelo Ministério da Saúde (MISAU) e seguidamente foram marcadas as datas para a realização de uma palestra (Figura 7) visando o esclarecimento dos pais e encarregados de educação e assim como as crianças a respeito dos objetivos do estudo, a importância da schistosomose e das parasitoses intestinais, as formas de transmissão, prevenção e de controlo.



**Figura 7:** Sensibilização das crianças das escolas (Original C. Alfredo, 2016).

### 3.1.3 Recolha das amostras de fezes e urina

Após o consentimento escrito dos pais e encarregados de educação, assim como a concordância dos professores das escolas, as crianças selecionadas receberam dois frascos de plástico de forma a poderem fornecer amostras de urina e de fezes; seguidamente foram informadas sobre os procedimentos de colheita, sendo que para a urina deveriam fazer um pequeno exercício “saltitar” antes da colheita, processo este que visava facilitar a eliminação dos ovos de *S. haematobium*. As amostras foram

aconditionadas em uma mala térmica e transportadas de imediato para os laboratórios de parasitologia do Hospital provincial de Quelimane e Hospital rural de Gurué para a sua posterior análise.

### 3.2 Técnicas usadas

#### 3.2.1 Pesquisa de *Schistosoma haematobium* na urina

As amostras de urina foram processadas pelo método de filtração (WHO, 1991), sendo a intensidade da infecção expressa em número de ovos de *S. haematobium* por 10 ml de urina, categorizada em leve (1-10 ovos/10 ml), moderada (11-49 ovos/10 ml) e pesada ( $\geq 50$  ovos/10 ml) (Anexo V).

#### 3.2.2 Detecção de DNA de *S. haematobium* na urina

#### 3.2.3 Extração de DNA na urina

O processo de extração de DNA nas amostras de urina foi feito com base no protocolo proposto por Stothard *et al.*, (1996) com algumas modificações (Anexo VII). Resumidamente 150  $\mu$ l de sedimento urinário foi primeiramente centrifugado durante 5 minutos a 4°C, e de seguida o *pellet* foi dissolvido pela adição de 600  $\mu$ l de CTAB e 8  $\mu$ l de proteinase K e incubado durante 90 minutos a 55°C. Após a incubação foram adicionados 750  $\mu$ l de clorofórmio isoamílico, seguido de etapas de centrifugação, remoção da camada aquosa para tubos novos e adição de 1000  $\mu$ l e 500  $\mu$ l de etanol puro e a 70% respetivamente, com vista a lavagem do *pellet*; após evaporação de todo etanol foram adicionados 50  $\mu$ l de TE para dissolver o *pellet*. O DNA extraído foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 1%, sendo posteriormente visualizado no transiluminador (Aphalmager®HP, Alpha Innotech). A quantificação e a pureza do DNA extraído foram avaliadas com o recurso ao Nanodrop e as amostras armazenadas a -20°C até à sua utilização.

#### 3.2.4 Reação de PCR

A reação de PCR foi efetuada utilizando *primers* específicos (forward: 5'-GATCTCACCTATCAGA CGAAAC - 3' e reverse: 5' - TCACAACGATACGACC AAC - 3'), desenvolvidos por Hamburger e colaboradores (2001), destinados a amplificação específica de 121 pb de *S. haematobium*. As amostras foram preparadas para

um volume de 25 µl cada, consistindo em 0,5µl de Taq polimerase, 10 µl de tampão, 4,5 µl de MgCl<sub>2</sub>, 3 µl de dNTP, 0,5 de cada um dos *primers*, 1 µl de DNA e completou-se o volume com 5 µl de água bidestilada. Um total de 30 amostras de urina, representativas de carga parasitária leve (1-10 ovos/10 ml de urina), moderada (11-49 ovos/ 10 ml de urina) e pesada ( $\geq 50$  ovos/10 ml de urina), foram usadas como controlo positivo, sendo a água bidestilada utilizada como controlo negativo.

A amplificação dos fragmentos foi realizada no termociclador (AVISO®GmbH), obedecendo ao seguinte protocolo: desnaturação a 95°C durante 10 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C durante 30 segundos, *annealing* (emparelhamento) a uma temperatura de 53°C por 90 segundos, seguido do alongamento a 72°C durante 60 segundos e a extensão final a 60°C num período de 5 minutos. Finalmente, os produtos da amplificação foram analisados em gel de agarose a 1,5 %, corado com brometo de etídio e visualizado com luz ultravioleta.

### 3.2.5 Pesquisa de helmintas intestinais nas fezes

Para a pesquisa de helmintas intestinais aplicou-se o método de Kato-Katz (Katz *et al.*, 1972), sendo a intensidade de infeção expressa em número de ovos por grama de fezes (opg) e padronizada em leve, moderada e pesada, de acordo com o recomendado pela WHO (2004) (Anexo VI).

### 3.2.6 Colheita de moluscos

A colheita dos moluscos hospedeiros intermediários de *Schistosoma* spp foi feita em quatro habitats, nomeadamente: na lagoa do Bairro Barragem, nos rios Mugui e Mutxora, no distrito de Gurué e na lagoa de Tâmega grande no distrito de Quelimane. A recolha foi efetuada por dois indivíduos, durante 20 minutos em cada habitat. A análise malacológica incluiu a recolha de dados sobre cada habitat nomeadamente, o tipo de criadouro (natural ou artificial, permanente ou temporário) e a distância dos habitats em relação às habitações. Os moluscos recolhidos foram agrupados em grupos de 5 e colocados em tubos de Wills contendo aproximadamente 10 ml de água e de seguida expostos à luz durante 30 minutos e observados no estereomicroscópio, com objetivo de verificar se havia ou não eliminação de cercárias. Após a observação, os moluscos foram

acondicionados em recipientes contendo Etanol a 70% e transportados para o laboratório de Helminologia e Malacologia Médicas do IHMT, UNL, onde fez se a respetiva identificação morfológica e separados para posterior análise molecular.

### 3.2.7 Inquérito sociodemográfico

Simultaneamente foi levado a cabo nas áreas de estudo um inquérito sociodemográfico visando obter algumas informações sobre as condições habitacionais e hábitos das crianças, tais como: existência de água canalizada nas residências, locais de colheita de água, presença ou não de latrinas nas habitações, contacto com coleções de água doce por parte das crianças assim como os motivos, frequência e finalidade da utilização das coleções de água (lazer, lavagem de roupa ou utensílios).

### 3.2.8 Tratamento

De acordo com as recomendações da WHO (1990, 1991), o tratamento das crianças parasitadas por *Schistosoma haematobium* foi feito pela administração de Praziquantel, 40 mg/kg de peso, em dose única, sendo que para as parasitoses intestinais fez-se a administração de Albendazol, 400 mg dose única.

### 3.2.9 Análise estatística

Os dados das análises laboratoriais e assim como os resultados do inquérito sobre as condições sociodemográficas da população em estudo foram analisados empregando os programas *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 24 para Windows. Aplicou-se o teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para avaliar a frequência e as diferenças de parasitismo entre os grupos de crianças. Aplicou-se o teste Mann-Whitney Wilcoxon para verificar se as medianas populacionais de uma variável quantitativa eram idênticas em dois grupos independentes (por exemplo, na comparação da intensidade do parasitismo segundo o sexo e grupo etário). A análise de regressão logística univariada foi empregue afim de avaliar fatores sociais e comportamentais associados à infeção por *S. haematobium* e geohelminthas.

## **4. Resultados**

## 4. Resultados

### 4.1 População e condições sociodemográficas

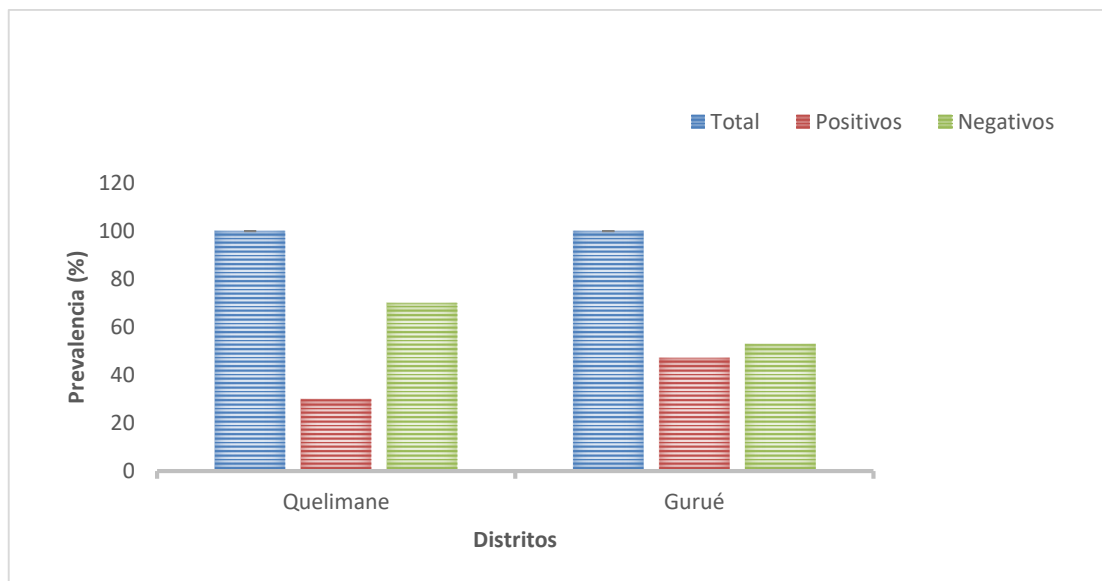
Participaram no estudo 357 crianças, sendo 187 (52,4%) do distrito de Quelimane e 170 (47,6%) do distrito de Gurué (Tabela 1). A maioria das crianças, 216 (60,5%) era do sexo masculino e 141 (39,5%) do sexo feminino ( $P=0,010$ ), com idades compreendidas entre os cinco e os 15 anos, sendo a média das idades igual a 11,58 anos ( $\pm 2, 29$  DP). O grupo com idade superior a 10 anos era significativamente maior ( $P \approx 0,000$ ) do que os de idade inferior. A maioria das crianças frequentava o segundo grau de ensino e residia em meio periurbano; quanto às condições de saneamento básico, a ausência de água canalizada na habitação foi referida por 246 crianças, enquanto 102 não possuíam latrinas na residência. Em todos os parâmetros verificaram-se diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,01$ ).

**Tabela 1:** Condições socio demográficas da população estudada.

VARIÁVEL	QUELIMANE		GURUÉ		TOTAL		P
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
<b>Género</b>							
Masculino	125	57,9	91	42,1	216	60,5	0,010
Feminino	62	44	79	56,6	141	39,5	
<b>Idade</b>							
≤ 10 Anos	81	79,4	21	20,6	102	28,6	$\approx 0,000$
> 10 Anos	106	41,6	149	58,4	255	71,4	
<b>Escolaridade</b>							
1 <sup>o</sup> grau (1 <sup>a</sup> -4 <sup>a</sup> classes)	104	85,2	18	14,8	122	34,2	$\approx 0,000$
2 <sup>o</sup> grau (5 <sup>a</sup> -7 <sup>a</sup> classes)	83	35,3	152	64,7	235	65,8	
<b>Meio</b>							
Urbano	5	100,0	0	0,0	5	1,4	$\approx 0,000$
Peri-urbano	182	100,0	0	0,0	182	51,0	
Rural	0	0,0	170	100,0	170	47,6	
<b>Condições na habitação</b>							
Com água Canalizada	36	32,4	75	67,6	111	31,3	$\approx 0,000$
Sem água Canalizada	151	61,4	95	38,6	246	68,9	
Com Latrina	85	45,5	170	100,0	255	71,4	
Sem Latrina	102	54,5	0	0,0	102	28,6	

#### 4.2 Prevalência de *Schistosoma haematobium* pela técnica de filtração da urina

Das 350 amostras de urina examinadas, foram encontrados ovos de *S. haematobium* em 134, dando uma prevalência global de 38,4%, tendo o intervalo de confiança (IC a 95%) variado entre 33,3%-43,5%. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $\chi^2$ ,  $P= 0,002$ ) ao nível dos distritos, sendo a maior prevalência de infecção verificada em Gurué com 47,1% (80/170), em comparação com Quelimane que teve uma prevalência de 30% (54/180), como mostra a Figura 8.



**Figura 8:** Prevalência de *S. haematobium* em função do distrito

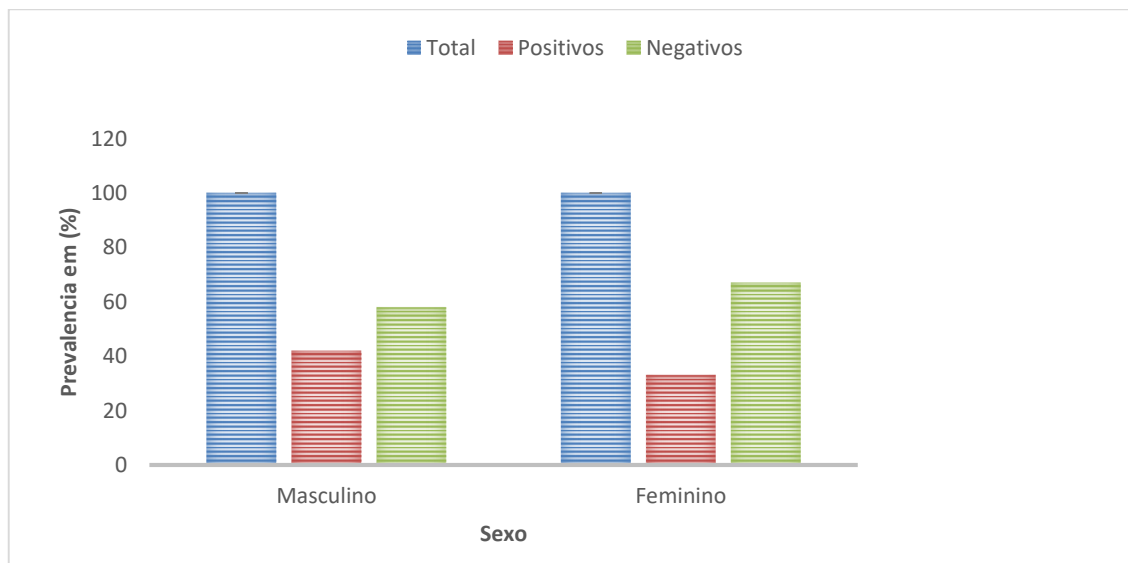
Em relação à carga parasitária (Tabela 2), constatou-se que a mediana de ovos de *S. haematobium* encontrada nas crianças parasitadas era de 17 ovos/10 ml, variando de 1 a 202 ovos. Observou-se também que 47 (13,4%) das crianças analisadas tinham infecção leve, 57 (16,3%) infecção moderada e 30 (8,6%) possuíam infecção pesada. A maior prevalência de infecções pesadas foi observada nas crianças das escolas do Moneia (13,3%) e Projecto (12,6%) localizadas no distrito de Gurué. Situação idêntica também foi observada em relação à infecção moderada, com as mesmas escolas a registarem prevalências mais altas do que as duas outras da cidade de Quelimane, com 24% para a escola primária de Moneia e 20% para a do Projecto. No tocante à infecção leve, constatou-se que as crianças da escola do Projecto apresentaram uma taxa de 18,9%, seguida das escolas de Manhaua Expansão com 15,7%), de Icídua com 13,2% e por último a de

Moneia com 4%. Verificaram-se diferenças significativas na intensidade de parasitismo entre as quatro escolas estudadas ( $\chi^2$ ,  $P = 0,002$ ).

**Tabela 2:** Distribuição geral da intensidade de infeção por *S. haematobium* em função das escolas estudadas.

Carga parasitária (ovos/10ml)	Quelimane				Gurué				Total	
	Manhaua		Icídua		Projecto		Moneia		N	%
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)		
<b>Negativo</b>	60	67,4	66	72,5	46	48,4	44	58,7	216	61,7
<b>Leve (1-10)</b>	14	15,7	12	13,2	18	18,9	3	4	47	13,4
<b>Moderada (11-49)</b>	10	11,2	10	11,0	19	20	18	24	57	16,3
<b>Pesada (<math>\geq 50</math>)</b>	5	5,6	3	3,3	12	12,6	10	13,3	30	8,6
<b>Total (%)</b>	<b>89</b>	<b>25,4</b>	<b>91</b>	<b>26,0</b>	<b>95</b>	<b>27,1</b>	<b>75</b>	<b>21,4</b>	<b>350</b>	<b>100</b>

Em relação ao género (Figura 9), apesar da prevalência ter sido superior no sexo masculino com (41,6%, 89/214) em comparação com o feminino (33,1%, 45/136) não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ).



**Figura 9:** Prevalência de *S. haematobium* em função do sexo.

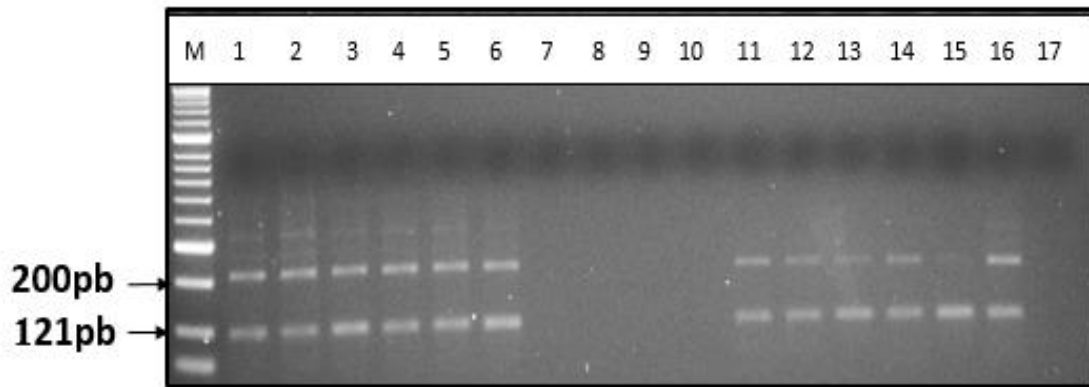
No que diz respeito à faixa etária, as crianças com idade (>10 anos) foram as mais afetadas (Figura 10), tendo uma prevalência equivalente a 39,3% (100/254), em comparação com os mais novos ( $\leq 10$  anos), em que foi observada uma prevalência de 35,4% (34/96), mas sem diferenças significativas ( $P= 0,550$ ).



**Figura 10:** Prevalência de *S. haematobium* em função do grupo etário.

#### 4.3 Prevalência de *S. haematobium* pela técnica de PCR

Das 216 amostras negativas pela técnica de filtração da urina, foram analisadas 159 pela técnica da PCR. Destas, 81 (50,9%) amostras foram positivas para *S. haematobium*, e as outras 78 (49,1%) confirmaram ser negativas. As amostras positivas apresentaram bandas com um peso molecular de 121pb, as quais correspondem a *S. haematobium*, e que são coincidentes com as 30 amostras de urina utilizadas como controlo positivo e representativas de carga parasitária leve (1-10 ovos/10 ml de urina), moderada (11-49 ovos/ 10 ml de urina) e pesada ( $\geq 50$  ovos/10 ml de urina), confirmando os resultados obtidos pela filtração. Assim, foi possível detetar DNA nas amostras que foram consideradas negativas pelo método de filtração e discriminá-las daquelas que eram verdadeiramente negativas (Figura 11).



**Figura 11.** Detecção do DNA de *S. haematobium* na faixa dos 121pb. Amostras de 1-6: controlos positivos de carga parasitária leve (1-2), moderada (3-4) e pesada (5-6); amostras 7 e 17: controlos negativos; amostras 8-10: urina negativa (filtração e PCR) e amostras 11-16 positivas para *S. haematobium*, M - Marcador molecular com 50pb.

Com a aplicação das duas técnicas, filtração da urina e PCR, constatou-se que 215 crianças estavam parasitadas, dando uma prevalência estimada de *S. haematobium* na população analisada de 73,4%, [68,1-78,1 IC 95%;], valor que é consideravelmente superior ao obtido unicamente pela filtração (38,4%), Tabela 3.

**Tabela 3:** Prevalência de *S. haematobium* com a aplicação dos dois métodos (PCR e filtração da urina).

Método	População	Positivos	Prevalência	IC a 95%
Filtração	350	134	38,4	33,3-43,5
PCR	293	210	71,7	66,3-76,5
Filtração + PCR	293	215	73,4	68,1-78,1

Há a salientar o facto de a prevalência pelas duas técnicas ter seguido o mesmo padrão de distribuição da infeção em relação aos distritos, sexo e assim como em relação a faixa etária, tal como se verificou pela aplicação do método de filtração da urina de forma isolada.

#### 4.4 Prevalência de helmintas intestinais

Em relação às parasitoses intestinais, das 234 amostras de fezes analisadas, 118 (50,4%) foram positivas aos ovos dos geohelmintas, tendo se obtido as seguintes prevalências globais de infecção: 32,1% (75/234) para *Ascaris lumbricoides* [IC a 95% 26,4-38,3], 35,5% (83/234) para *Trichuris trichiura* [IC a 95% 29,6- 41,8] e 5,1% (12/234) para os Ancilostomídeos [IC a 95% 2,9- 8,8]. Não foram encontradas outras espécies de helmintas, incluindo *S. mansoni*.

Entre os distritos Quelimane foi o que apresentou maior prevalência de *A. lumbricoides* 54% (67/124), assim como, de *T. trichiura* 66,1% (82/124) em comparação com Gurué com valores de 7,3 % e 0,9% respetivamente, revelando diferenças estatisticamente significativas ( $\chi^2$ ,  $P \approx 0.000$ ). A presença de casos de parasitismo por ancilostomídeos só se verificou em Gurué com 10,9% (12/ 110) (Tabela 4).

Quanto ao sexo e tal como observado para *S. haematobium*, a infecção foi mais frequente na população masculina, com uma prevalência de 34,9% e 40,4% observada em *A. lumbricoides* e *T. trichiura*, respetivamente, quando comparada com a obtida no sexo feminino, 27,3% para as duas espécies parasitárias.

No tocante à faixa etária, foram observadas diferenças significativas em termos de prevalência de infecção, sendo o grupo com idade igual ou inferior aos 10 anos o mais parasitado, quer por *A. lumbricoides* (48%), quer para *T. trichiura* (64%) do que os de idade superior ( $P \approx 0.000$ ). Quanto aos ancilostomídeos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no nível de infecção entre os sexos ( $P = 0,363$ ) nem entre os grupos etários ( $P = 0,591$ ).

**Tabela 4:** Prevalência de parasitas intestinais em função do distrito, sexo e idade.

Variável	N	<i>A. lumbricoides</i>			<i>T. trichiura</i>			Ancilostomídeos		
		Pos	(%)	P*	Pos	(%)	P*	Pos	(%)	P*
<b>Distrito</b>										
Quelimane	124	67	54,0	0,000 <sup>a</sup>	82	66,1	0,000 <sup>a</sup>	0	0,0	NA
Gurué	110	8	7,3		1	0,9		12	10,9	
<b>Sexo</b>										
Masculino	146	51	34,9	0,224 <sup>b</sup>	59	40,4	0,042 <sup>a</sup>	6	4,1	0,363 <sup>b</sup>
Feminino	88	24	27,3		24	27,3		6	6,8	
<b>Idade</b>										
≤ 10 Anos	75	36	48	0,000 <sup>a</sup>	48	64,0	0,000 <sup>a</sup>	3	25,0	0,591 <sup>b</sup>
> 10 Anos	159	39	24,5		35	22		9	7,5	

NA- Não aplicável, <sup>a</sup> Diferenças significativas, <sup>b</sup> Sem diferenças significativas e Pos= positivo.

Relativamente à carga parasitária (Tabela 5), as infeções leves foram as predominantes entre as crianças analisadas, seguidas pelas moderadas. No parasitismo por *A. lumbricoides* e por *T. trichiura*, não foram detetados casos de infeção pesada e apenas se registou um único caso para ancilostomídeos.

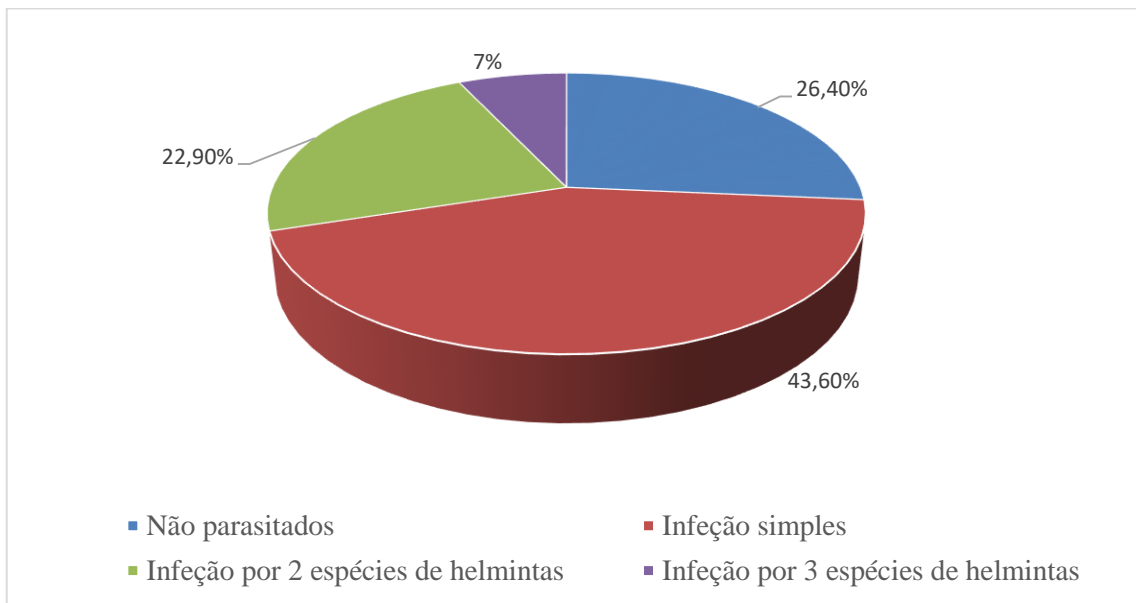
**Tabela 5:** Intensidade de infeção por helmintas intestinais na população estudada.

Parasitas	Parasitados		Leve		Moderada		Pesada		Mediana (opg)	Variação (opg)
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)		
<i>A. lumbricoides</i>	75	32,1	58	24,8	17	7,3	-	-	2280	(24-13464)
<i>T. trichiura</i>	83	35,5	70	29,9	13	5,6	-	-	216	(24- 5520)
Ancilostomídeos	12	5,1	10	4,3	1	0,4	1	0,4	504	(48- 5040)

Opg-número de ovos por grama de fezes

#### 4.5 Coinfecção de *S. haematobium* e geohelminthas

Das 227 crianças examinadas e que forneceram simultaneamente urina e fezes, 60 (26,4%) não estavam parasitadas, 99 (43,6%) tinham infeção simples, 52 (22,9%) estavam parasitados por duas espécies de helmintas e por último 16 (7,0%) por três espécies (Figura 12).



**Figura 12:** Padrão de distribuição do parasitismo na população estudada, com aplicação do método parasitológico.

Neste grupo de crianças foram detetados 88 casos de *S. haematobium*, sendo a sua associação com *A. lumbricoides* a mais frequente, observada em 22 crianças, seguida da coinfeção com *T. trichiura* em 20 e com ancilostomídeos em 8 crianças. No entanto, a associação só foi significativa na coinfeção com *T. trichiura* ( $\Phi=-0,188$ ;  $P=0,005$ ) e com ancilostomídeos ( $\Phi=0,136$ ;  $P=0,041$ ) não se verificando com *A. lumbricoides* ( $\Phi=-0,121$ ;  $P=0,069$ ). De salientar o facto da associação entre *S. haematobium* e *T. trichiura* ocorrer de forma negativa, ao contrário ao observado com os ancilostomídeos.

Em relação à coinfeção entre geohelminthas, das 234 crianças analisadas, 66 (28,2%) estavam infetadas por uma única espécie, 52 (22,2%) por duas espécies e 116

(49,6%) tinham amostras negativas. Para além disso, só se verificou associação positiva e significativa ( $\Phi=0,467$ ;  $P\approx 0,000$ ) entre *A. lumbricoides* e *T. trichuris* não ocorrendo com ancilostomídeos, em que apenas se detetou um caso em coinfeção com *A. lumbricoides* e nenhum com *T. trichiura*.

### 4.6 Condições sociodemográficas associadas ao estado parasitológico.

Para o caso de *S. haematobium* (Tabela 6), tal como mencionado anteriormente, verificou-se que as variáveis “sexo” e “idade” não apresentaram diferenças significativas quanto ao estado de infeção, situação verificada de forma semelhante em relação à “existência ou ausência de água canalizada na habitação” e à “fonte de abastecimento”. Já no que diz respeito as outras variáveis como o “contacto com água dos rios e das lagoas”, o “distrito” e a “escola em que se estuda” mostraram ter diferenças estatisticamente significativas em relação à infeção pela schistosomose urinária.

Em relação aos geohelminthas (Tabela 7), contrariamente ao que se observou para o caso da schistosomose, a “idade” assim como a “presença ou ausência de latrina na habitação” demonstraram ter diferenças significativas quanto ao estado de infeção das crianças. Por sua vez, o “meio” e a “existência de água canalizada na habitação” revelaram ter diferenças apenas para o caso de *A. lumbricoides*, tendo o “sexo” apresentado diferenças somente na infeção por *T. trichiura* (tabela 7).

**Tabela 6:** Condições sociodemográficas e estado da infeção por *S. haematobium*

Variável	Positivos		Negativos		P
	Nº	(%)	Nº	(%)	
<b>Sexo</b>					
Masculino	88	41,7	123	58,3	0,107**
Feminino	45	33,1	91	66,9	
<b>Idade</b>					
≤ 10 anos de idade	34	35,8	61	64,2	0,55**
> 10 anos de idade	99	39,3	153	60,7	
<b>Distrito</b>					
Quelimane	54	30,3	124	69,7	0,02*
Gurué	79	46,7	90	53,3	
<b>Contacto com água</b>					
Sim	120	89,5	155	71,7	≈0,000*
Não	14	10,4	61	28,2	
<b>Água canalizada</b>					
Sim	46	34,3	60	27,8	0,195**
Não	88	65,7	156	72,2	
<b>Abastecimento de água</b>					
Poço	16	11,9	20	9,3	0,594**
Furo	31	23,1	58	26,9	
Fontanário	87	64,9	138	63,9	
<b>Escola</b>					
EPC-Icidua	25	27,5	66	72,5	0,02*
EPC-Manhaua	29	32,5	60	67,4	
EPC-Projecto	49	51,5	46	48,4	
EPC-Moneia	31	41,3	44	58,7	

\*- Diferenças significativas; \*\*- Sem diferenças significativas

**Tabela 7:** Condições sociodemográficas associadas à infecção por geohelmintas.

Variável	Positivos		Negativos		P
	Nº	(%)	Nº	(%)	
<b><i>Ascaris lumbricoides</i></b>					
<b>Idade</b>					
≤ 10 anos de idade	36	48,0	39	52,0	≈0,000
> 10 anos de idade	39	24,5	120	75,5	
<b>Meio</b>					
Suburbano	64	88,9	55	35,0	≈0,000
Rural	8	11,1	102	65,0	
<b>Água canalizada</b>					
Sim	15	20	59	37,1	0,009
Não	60	80	100	62,9	
<b>Latrina</b>					
Sim	38	22,2	133	77,8	≈0,000
Não	37	58,7	26	41,3	
<b><i>Trichuris trichiura</i></b>					
<b>Sexo</b>					
Masculino	49	40,4	87	59,6	0,042
Feminino	24	27,3	64	72,7	
<b>Idade</b>					
≤ 10 anos de idade	48	60,0	27	36,0	≈0,000
> 10 anos de idade	35	22,0	124	78,0	
<b>Latrina</b>					
Sim	40	23,4	131	76,6	≈0,000
Não	43	68,3	20	31,7	

#### 4.7 Fatores de risco associados a infecção por *S. haematobium* e geohelmintas

Com o objetivo de se avaliar o grau de influência dos fatores sociais e comportamentais em relação ao estado parasitológico, as variáveis apresentadas nas Tabelas 6 e 7 foram submetidas a análise de regressão logística univariada (Tabela 8). Relativamente a *S. haematobium*, constatou-se que o contacto com os cursos de água doce

(rios e das lagoas), o distrito e a escola em que se estudava mostraram ser potenciais fatores de risco para aquisição da parasitose; com efeito, a probabilidade de infecção com a finalidade de “nadar” ou para “higiene pessoal” em cursos de água tornava os indivíduos 3 vezes mais propensos à infecção em relação aos não expostos (OR = 3,33; IC 95% 1,76-6,28 e OR= 3,67; IC 95% 1,51- 8,87) respectivamente.

Também se observou que residir em Gurué duplicava a probabilidade de se ter a doença (OR=2,07; IC 95% 1,34-3,22), bem como em meio rural (OR=1,99; IC 95% 1,28-3,09), sendo que “estudar na escola do Projecto” acrescia o risco em aproximadamente três vezes (OR= 2,81; IC 95% 1,53- 5,18). Quanto às variáveis sociais como a existência ou não de saneamento básico na habitação (água canalizada, fonte de abastecimento, latrinas) não foram observadas diferenças entre o grupo parasitado e o não parasitado.

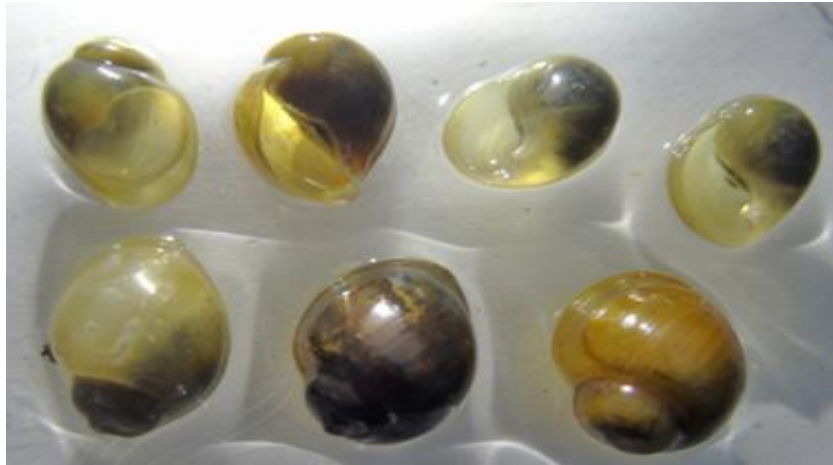
Em relação aos geohelminthas identificados neste trabalho, viu-se que para a infecção por *A. lumbricoides*, “viver em meio suburbano” era um fator de risco elevado, sendo de 14 vezes a probabilidade de serem infetadas por este parasita (OR=14,8; IC 95% 6,63-33,1). A inexistência de água canalizada e de saneamento básico representavam potenciais fatores de risco para a ascariose e tricurirose. Quanto ao grupo etário e ao sexo, as crianças menores de 10 anos eram os mais vulneráveis às geohelminthoses, sendo os rapazes mais propensos a tricurirose.

**Tabela 8:** Fatores de risco associados à infecção por *S. haematobium* e geohelmintas

Variável	Odds ratio	IC a 95%	P
<i>S. haematobium</i>			
<b>Contacto com água</b>			
Higiene pessoal (Sim)	3,67	1,51-8,87	0,004
Nadar (sim)	3,33	1,76-6,28	≈0,000
<b>Distrito</b>			
Gurué (sim)	2,07	1,34-3,22	0,001
<b>Escola</b>			
EPC-Projecto (sim)	2,81	1,53-5,18	0,01
<i>A. lumbricoides</i>			
Meio suburbano (sim)	14,83	6,63-33,1	≈0,000
Ausência de latrina (sim)	4,98	2,66-9,24	≈0,000
Ausência de água canalizada(sim)	2,36	1,23-4,53	0,1
Idade ≤ 10 anos (sim)	2,84	1,59-5,07	≈0,000
<i>T. trichiura</i>			
Sexo masculino (sim)	1,81	1,02-3,21	0,043
Idade ≤ 10 anos (sim)	6,29	3,45-11,51	≈0,000
Ausência de latrina (sim)	7,04	3,72-13,32	≈0,000

#### 4.8 Inquérito malacológico

O inquérito malacológico foi realizado em quatro habitats, nomeadamente, na lagoa de Tâmega Grande (Quelimane), na lagoa do Bairro barragem, nos rios Mutxora e Mugui (Gurué). Estes habitats caracterizam-se por serem cursos de água naturais e permanentes, exceto a lagoa Tâmega Grande que é do tipo temporário. Em todos os criadouros verificou-se abundância de vegetação nas margens, presença de aves aquáticas e exposição solar de forma total. Maioritariamente, estes habitats distam das habitações humanas cerca de 50 metros e são usados pela população para a lavagem da roupa, banho, pesca e atividades de lazer das crianças. No total foram colhidos 594 caracóis, pertencentes ao género *Bulinus* (Figura 13).



**Figura 13:** Moluscos (*Bulinus* spp) colhidos nos quatro habitats

O maior número de caracóis foi coletado na lagoa do Bairro Barragem (210), dos quais 4 grupos (5 caracóis/grupo) foram positivos ao teste de eliminação de cercárias de *S. haematobium*, dando uma taxa de infecção estimada neste habitat igual a 9,5%, seguido pelo rio Mugui com 175 caracóis, com taxa de infecção igual a 5,7%. O terceiro habitat em que se recolheu maior número de moluscos foi no rio Mutxora com 149, dos quais 2 grupos eliminaram cercárias, tendo uma taxa de infecção equivalente a 6,7% e, finalmente a lagoa de Tâmega Grande, com 60 caracóis coletados, não se tendo constatado eliminação de cercárias em nenhum deles (Tabela 9).

**Tabela 9:** Número e taxa de infecção (%) dos caracóis por habitat

<b>Distrito</b>	<b>Habitat</b>	<b>Caracóis colhidos</b>	<b>Caracóis positivos</b>	<b>Taxa de infecção (%)</b>
Quelimane	Tâmega Grande	60	0	0
Gurué	Barragem	210	20	9,5
	Rio Mutxora	149	10	6,7
	Rio Mugui	175	10	5,7
<b>Total</b>		594	40	6,7

## **5. Discussão**

## 5. Discussão

A monitorização periódica dos programas de controlo da schistosomose e das geohelmintoses é uma etapa fundamental para avaliar a eficácia das medidas de controlo implementadas e, se necessário, incluir medidas adicionais com vista à redução destas parasitoses para níveis que deixem de constituir um problema de saúde pública (WHO, 2013).

Em Moçambique, o programa de controlo da schistosomose e das parasitoses intestinais foi retomado em 2009 (Augusto *et al.*, 2009), após mais de três décadas de ausência. Os resultados do inquérito epidemiológico realizado a nível nacional, nessa data, em 83.331 crianças em idade escolar, demonstraram elevadas prevalências de infeção por *S. haematobium* (47%) e para helmintoses intestinais (53,5%). Além disso, verificou-se que tanto *S. haematobium* e *S. mansoni* continuavam a ser espécies endémicas em todo o país, sobretudo nas regiões do centro e norte para *S. haematobium*, enquanto que *S. mansoni* era predominante no centro-sul do país, com uma prevalência global de 1%. A principal medida recomendada, na sequência deste inquérito, foi a implementação de um ciclo de tratamento anual com Praziquantel (PZQ) para a schistosomose e Albendazol (ALB) para as geohelmintoses, a todas as crianças em idade escolar (5-15 anos), de acordo com as recomendações da WHO (1990, 1991).

De acordo com o referido estudo, a província da Zambézia era uma das mais afetadas tanto por *S. haematobium* (60,1%) como geohelmintas (51,3%), sendo bastante reduzido o número de casos de infeção por *S. mansoni* (1,3%).

No presente estudo, foram examinadas 350 crianças de 4 escolas em dois distritos, Quelimane e Gurué, desta província, tendo-se encontrado uma prevalência global de *S. haematobium* de 38,4% (134/350), pelo exame parasitológico da filtração da urina. O distrito de Gurué foi o que apresentou maior prevalência de infeção 47,1% (80/170), significativamente superior ( $\chi^2$ ,  $P= 0,002$ ) à detetada em Quelimane 30% (54/180).

Esta diferença pode ser devida possivelmente à maior exposição da população infantil de Gurué aos cursos de água doce para diversas atividades de higiene, domésticas e de lazer (banho, lavagem da roupa ou utensílios domésticos, nadar, pescar, etc.). Outra hipótese poderá ser devida à insuficiente cobertura do tratamento schistosomicida à

população alvo, visto que de acordo com as informações dos serviços de saúde locais, foram efetuadas campanhas de tratamento às crianças escolares, pela administração de PZQ e ALB, a cerca de 4 meses antes do início do estudo atual. Assim, considerando que o tratamento adequado aos indivíduos parasitados deve conduzir à cura e conseqüentemente à redução da prevalência, a elevada prevalência de *S. haematobium* em Gurué poderá estar relacionada com a não abrangência total das crianças parasitadas ou à rápida reinfeção, atendendo ao grau de dependência das populações em relação aos rios e lagoas.

Em relação a Quelimane, a maior parte das crianças que foram identificadas como positivas para *S. haematobium* revelaram que os sintomas (hematúria) da doença só tiveram início após terem regressado de férias onde tiveram mais contacto com cursos de água doce, nos distritos de Ile, Namacurra, Gurué, Alto-Molocué e Maganja da Costa. Este dado é de particular importância, visto que em Quelimane predominam praias e rios de água salgada, sendo reduzido o número de focos “infectantes” identificados. Deste modo, não se poderá colocar de parte a possibilidade de algumas infeções terem sido adquiridas noutros distritos endémicos para *S. haematobium*.

Quanto ao sexo, observou-se que a infeção por *S. haematobium* foi superior no sexo masculino 41,6% (89/214), em comparação com o feminino 33,1% (45/136) (Figura 9), tal como os diversos graus da carga parasitária, mas sem diferenças significativas ( $P > 0,05$ ). Este resultado está de acordo com o obtido por Gujral e Vaz (2000), em que também obtiveram maior infeção em indivíduos do sexo masculino (13,4%) comparativamente aos do sexo feminino (9,0%), em escolares da Cidade de Maputo, apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas ( $P = 0,153$ ). Observações semelhantes foram descritas por outros autores em Moçambique (Traquinho *et al.*, 1994; Augusto *et al.*, 2009), e como noutras regiões endémicas, sugerindo que esta diferença poderá estar relacionada com a existência de fatores culturais e comportamentais, como nadar, pescar e brincar em águas paradas ou de pouca corrente, o que contribui para uma exposição mais prolongada dos rapazes aos focos de transmissão (Barbour, 1985, Rey *et al.*, 1987, Lengeler *et al.*, 1991 e Moza *et al.*, 1998).

Relativamente à faixa etária, constatou-se que as crianças com idade superior aos 10 anos, eram as mais infetadas 39,3% (100/254), em comparação com as mais novas

( $\leq 10$  anos), com 35,4% (34/96), sendo nestas a carga parasitária na sua maioria correspondente a infecção leve, ao contrário do observado nas crianças mais velhas, mas sem significado estatístico ( $P= 0,550$ ). Resultados concordantes foram obtidos num estudo realizado na Etiópia (Geleta *et al.*; 2015), em que os autores constataram que a prevalência de *S. haematobium* entre as crianças aumentava com a idade. Augusto *et al.*, (2009) também observaram resultados semelhantes, em que a prevalência de infecção atingia o seu pico nos escolares de faixa etária entre os 10 a 14 anos de idade ( $\chi^2 = 0,08$ ,  $P=0,96$ ) o que poderia ser explicado pelo maior envolvimento das crianças mais crescidas nas atividades domésticas e de lazer (nadar), contribuindo assim para uma maior exposição deste grupo. Na Nigéria, Ugbomoiko *et al.*, (2010) constataram que os indivíduos com idade compreendida entre 10 a 14 anos eram os que apresentavam cargas parasitárias mais elevadas.

No presente estudo não foram identificados ovos de *S. mansoni* nas amostras de fezes analisadas, tanto nas provenientes do distrito de Quelimane e como nas de Gurué, confirmando as informações sobre a baixa endemicidade de *S. mansoni* em Moçambique de forma geral e nesta província em particular, tendo sido de 1,3% a sua prevalência em estudos anteriores (Augusto *et al.*, 2009).

Quando aplicada a técnica de PCR para à deteção de DNA de *S. haematobium* nas amostras de urina que foram consideradas negativas pela filtração, esta revelou ser bastante eficaz, permitindo a confirmação da positividade em 81 (50,9%) amostras. Resultados similares foram encontrados em um estudo realizado em Angola, tendo se verificado que num universo de 142 amostras em que não foram encontrados ovos de *S. haematobium* pelos métodos parasitológicos, a análise de PCR revelou a presença de DNA do parasita em 105 amostras (Jeremias *et al.*, 2015). Também, Lodh *et al.*, (2014) constataram que a técnica de filtração da urina apresentava uma baixa sensibilidade em comparação à PCR, tendo falhado na deteção de elevada proporção de casos positivos pela técnica da PCR.

Considerando os dois métodos de forma simultânea (filtração da urina e PCR) (Tabela 3) constatou se que 215 crianças estavam parasitadas, dando uma prevalência estimada de *S. haematobium* na população analisada de 73,4%, [68,1-78,1 IC 95%]. Esta situação revela que para fins de deteção da prevalência real de infecção da schistosomose

é imprescindível a associação de vários métodos de diagnóstico, sendo a PCR uma das ferramentas mais promissoras.

Moçambique é um país endêmico para *S. haematobium* e *S. mansoni*, tendo adotado como estratégia de controlo desta doença, o tratamento anual em massa com praziquantel. No entanto, para avaliar o impacto do tratamento e assim como a sua distribuição ao longo do país têm sido usadas somente técnicas parasitológicas. Sabe-se hoje que para um melhor controlo das intervenções do tratamento massivo é necessário aplicar técnicas que sejam mais sensíveis, em virtude de existirem infeções leves que ainda prevalecem após o tratamento em massa (Navaratnam *et al.*, 2012). Estes indivíduos com baixas cargas parasitárias, podem ainda eliminar ovos viáveis que quando em contacto com a água emergem os miracídios, infetando os moluscos hospedeiros intermediários e podendo manter com relativa facilidade o ciclo de transmissão (Shiff, 1968). Neste contexto, o recurso aos métodos moleculares será uma ferramenta eficaz para melhorar a vigilância epidemiológica e o sistema de monitorização da schistosomose no país em geral e na província de Zambézia em particular.

Importa referir que para além da deteção das bandas de DNA correspondentes a *S. haematobium* (121 pb), verificou-se também a amplificação de um outro fragmento maior (200 pb), o que também foi observado num estudo semelhante, em que foram empregues os mesmos *primers* aos utilizados neste trabalho (Ibironke *et al.*, 2011). Outros autores (Carneiro, 2011 e Oliveira, 2007) em investigações com *S. mansoni*, também obtiveram a amplificação de uma outra banda maior além da correspondente ao parasita. Segundo estes autores, a presença de outras bandas justifica-se pela elevada quantidade de oligonucleótidos livres, complementares de uma sequência repetitiva de DNA.

Em relação aos geohelminthas (Tabela 4) as prevalências globais de infeção neste estudo foram de 32,1% para *A. lumbricoides*, 35,5% para *T. trichiura*, e 5,1% para os Ancilostomídeos. O distrito de Quelimane teve as maiores prevalências de infeção com 54% (67/124) para *A. lumbricoides* e 66,1% (82/124) para *T. trichiura*, sendo estas diferenças significativas ( $\chi^2$ ,  $P \approx 0.000$ ) em relação a Gurué cujas prevalências foram de 7,3 % (8/110), 0,9% (1/110) e 10,9% (12/110) para *A. lumbricoides*, *T. trichiura* e Ancilostomídeos, respetivamente. Estes resultados estão de acordo com as prevalências

de parasitoses intestinais observadas na Zambézia em estudos anteriores, tendo-se observado que o distrito de Quelimane era o mais afetado entre todos os distritos, com uma prevalência de 81,2% (Augusto *et al.*, 2009).

Presume-se que a alta prevalência destas parasitoses em Quelimane esteja diretamente associada às condições de saneamento básico deficientes, com consequências diretas na higiene individual e coletiva no seio dos agregados familiares desta urbe. Esta hipótese é sustentada pelo facto de que nos bairros Manhaua e Icídua, locais onde se localizam as duas escolas estudadas na cidade de Quelimane, 54,5% (102/187) das crianças inquiridas revelaram não ter latrina na habitação e quando questionadas sobre o local de evacuação dos excreta, informaram que recorriam aos espaços de mangais (em Icídua) ou às machambas de arroz (em Manhaua) para o efeito (Anexo X). As áreas de mangais e de arroz encontram-se localizadas ao redor das habitações, a sensivelmente 20 metros e, na época das chuvas, a água arrasta todo o tipo de material das áreas de depósito para os espaços residências, contaminando assim o ambiente e contribuindo para a exposição das crianças às infeções parasitárias, devido ao seu hábito de brincar com a areia. Ainda em relação a estes bairros, 61,4% (151/ 246) das crianças informaram não ter água canalizada na habitação, o que as obrigava a percorrer cerca de 7 km até à cidade de Quelimane para a sua obtenção, sendo que os que não conseguiam fazer este percurso todos os dias eram obrigadas a recorrer aos poços a céu aberto, propensos à contaminação dos excreta e colocando-as em risco de infeção por parasitoses intestinais.

Por outro lado, o comportamento dos pescadores, principalmente de Icídua, poderá ter também as suas implicações, devido ao hábito de secagem do peixe assim como a sua venda ao ar livre e no chão, o que pode de certa forma facilitar a sua contaminação pelos ovos de *A. lumbricoides* e *T. trichiura*, principalmente atendendo que a maior parte da população não tem latrinas nas habitações e defecam a céu aberto, e ao hábito das populações, principalmente as crianças, de consumir o peixe seco antes da cozedura (Anexo XI).

Já para a cidade de Gurué, onde 67,6% (75/111) e 100% (170/170) das crianças informaram ter água canalizada e latrinas na habitação, respetivamente, a prevalência das helmintoses intestinais foi consideravelmente inferior à da cidade de Quelimane, como foi referido anteriormente. No entanto, há a salientar que informações dos serviços de

saúde locais, revelaram que quatro meses antes da realização deste trabalho, foi levada a cabo uma campanha geral de desparasitação das crianças escolares, o que pode também estar por detrás das prevalências baixas de parasitas intestinais encontradas neste distrito, em comparação com Quelimane.

Comparando a prevalência de infeção por *S. haematobium* e geohelmintras entre 2009 e o estudo atual na província da Zambézia, aplicando somente os métodos parasitológicos, verifica-se que houve uma aparente diminuição de 60,1% para 38,4% no caso de *S. haematobium*, no entanto, associando a técnica de PCR na urina, a prevalência obtida foi de 73,4%, superior à encontrada no inquérito realizado em 2009. Em relação às geohelmintras, a prevalência manteve-se praticamente inalterada, com 50,3% em 2009 e 50,4% no estudo atual. Estes resultados indicam que apesar dos esforços que têm sido levados a cabo, com vista à redução destas doenças, através de campanhas anuais de desparasitação com PZQ e ALB nas crianças com idade compreendida entre os cinco a 15 anos, a eficácia das mesmas é insuficiente.

Na sequência das estratégias de controlo e prevenção das helmintoses na Zambézia, foram abertas valas de drenagem em todos os bairros do distrito de Quelimane, visando o escoamento rápido da água, na época chuvosa, período mais frequente das doenças diarreicas; no entanto, estas foram transformadas em entulhos pela população local, sendo comum observar ao longo das mesmas valas todo o tipo de dejetos. Em algumas zonas servem como local para o depósito de fezes, que comumente são inseridas em sacos plásticos e quando estas valas são alagadas pela água das chuvas, servem como espaço de lazer das crianças, expondo-as assim à infeção por helmintoses (Anexo XII).

Quanto à distribuição de água às populações, foram construídos fontanários públicos em algumas zonas com carência de água potável no distrito de Gurué, mas estes não cobrem as necessidades, tendo em conta o elevado número de habitantes. Em entrevista com alguns moradores do distrito de Gurué, revelaram que na maior parte das vezes os fontanários abertos não jorram água por três dias ou mesmo por uma semana, facto este que faz com que a população recorra aos poços a céu aberto para poder adquirir a água não tratada e frequentar cada vez mais os rios para as atividades domésticas.

No bairro Icídua, o Conselho Municipal da cidade de Quelimane construiu em 2014 três fontes de abastecimento de água. No entanto, esta ação não surtiu os efeitos desejados visto que a água das referidas fontes é salgada, e assim imprópria para o consumo humano (<http://www.jornalnoticias.co.mz/index.php/provincia-em-foco/33405-zambezia-bairro-de-icidua-nao-tem-abastecimento-de-agua-potavel.html>).

Em relação aos principais fatores de risco para a aquisição destas parasitoses, a análise de regressão logística demonstrou que o contacto com coleções de água para fins de higiene pessoal e lazer, residir no distrito de Gurué e estudar na escola do Projecto eram fatores determinantes para a infeção por *S. haematobium* (Tabela 8). Esta associação entre o contacto com fontes de água e a infeção por *Schistosoma* spp foi reportada por outros autores, tendo estes verificado de forma semelhante que determinadas atividades como o banho, lavagem da roupa e utensílios domésticos eram potenciais fatores de risco a infeção pela doença (El-Ayyat *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2005 e Matthys *et al.*, 2007).

Já para o caso dos geohelminthas (Tabela 8), verificou-se que a idade inferior ou igual a 10 anos representava um fator de risco associado à infeção tanto para *A. lumbricoides* (OR=2,84; IC 95% 1,59-5,07,  $P \approx 0,000$ ) e assim como para *T. trichiura* (OR=6,29; IC 95% 3,45-11,51;  $P \approx 0,000$ ), situação que também foi observada por Andrade (2005). Estas diferenças podem estar relacionadas ao facto de que as crianças de menor idade são as que mais contacto têm com o solo, devido ao tipo de atividades recreativas, o que faz com que este grupo se exponha com mais frequência do que os de idade superior a 10 anos.

Um outro fator associado à infeção por parasitoses intestinais era a ausência de saneamento básico (falta de latrinas e água canalizada na habitação), tendo mostrado um aumento significativo do risco de infeção quando comparado com os que possuíam saneamento nas habitações. Estes achados estão de acordo com os dados referidos na literatura, realçando que as causas mais importantes para as prevalências elevadas de geohelminthas são as condições de abastecimento de água e saneamento básico deficitários (Ludwig *et al.*, 1999.; Ziegelbauer *et al.*; 2012).

No que se refere ao género, o sexo masculino mostrou ter associação forte com estado de infeção por *T. trichiura*, sendo a possibilidade de aquisição desta em

aproximadamente duas vezes superior à das raparigas (OR=1,81; IC 95% 1,02-3,21;  $P=0,043$ ), facto que curiosamente não se observou com *A. lumbricoides*.

Em relação aos moluscos hospedeiros intermediários, o inquérito malacológico realizado nos quatro habitats (três em Gurué e um em Quelimane) (Tabela 9) permitiu identificar que pelo menos três deles eram potenciais zonas de transmissão de *S. haematobium*. Por conseguinte, e de acordo com os dados malacológicos obtidos, o maior risco de transmissão do parasita verificava-se em Gurué, justificada pela presença de moluscos *Bulinus* spp infetados, comprovados por eliminação de cercárias, nos três habitats em que se realizou o inquérito malacológico, quando comparado com Quelimane, onde apenas foi encontrado um habitat positivo (presença de *Bulinus* spp), mas sem eliminação de cercárias; o que não significa necessariamente ausência de transmissão em Quelimane.

No que diz respeito à coinfeção de *S. haematobium* e geohelmintras, verificou-se uma associação significativa com *T. trichiura* ( $\Phi=-0,188$ ;  $P=0,005$ ) e com os ancilostomídeos ( $\Phi=0,136$ ;  $P=0,041$ ), não se observando em relação a *A. lumbricoides* ( $\Phi=-0,121$ ;  $P=0,069$ ). Resultados similares foram também descritos num estudo realizado no Quénia, em que foi observada uma correlação positiva entre a infeção por *S. haematobium* e os geohelmintras *T. trichiura* e ancilostomídeos ( $r=0,96$ ,  $P=0,006$ ) (Matonge *et al.*; 2013). No entanto, importa salientar que a associação observada entre *S. haematobium* e *T. trichiura* foi negativa neste estudo, sendo que no estudo realizado em Quénia esta associação era positiva.

A correlação forte obtida neste trabalho entre *S. haematobium* e os ancilostomídeos poderá ser explicada pelo facto destes dois parasitas ocuparem espaços muito próximos no ambiente. Normalmente os ancilostomídeos preferem locais de clima quente e húmido, característica comum das margens dos rios e lagoas dos habitats em que fez se o inquérito malacológico, portanto, é provável que estas crianças sejam infetadas nas proximidades destes habitats, atendendo que estão descalças nas horas do mergulho, facilitando assim a penetração das larvas dos ancilostomídeos.

As implicações da coinfeção entre estes helmintas reflete-se sobretudo num maior risco de as crianças poderem desenvolver anemia ferropénica, tendo em

consideração que tanto *S. haematobium* assim como os ancilostomídeos são hematófagos, conduzido a perda de sangue e conseqüente quadros de anemia, o que também pode ser verificado em relação à infecção por *T. trichiura*.

A associação positiva observada entre os geohelminthas *A. lumbricoides* e *T. trichuris* ( $\Phi=0,467$ ;  $P\approx 0,000$ ), também constatada em outros estudos (Tchuem Tchuente *et al.*; 2004; Belo *et al.*, 2005). Esta situação poderá ser explicada pelo facto destas parasitoses compartilharem o mesmo habitat, tendo os mesmos factores sociais causais (falta de saneamento básico) e que normalmente são as mesmas crianças que acabam por ser infetadas pelas duas espécies durante suas actividades recreativas.

## **6. Conclusões e Recomendações**

## 6. Conclusões e Recomendações

Perante os resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que:

Após a implementação das medidas de intervenção iniciadas em 2009, parece haver diminuição na prevalência global de *S. haematobium* (60,1% para 38,4%); no entanto, ao associar a técnica de PCR, esta prevalência torna-se superior (73,4%) do que a do inquérito realizado em 2009 (60,1%). Com efeito, a aplicação da técnica de PCR revelou ser mais sensível para *S. haematobium* do que os métodos parasitológicos de filtração da urina, o que confirma que a aplicação exclusiva deste método poderá subestimar a prevalência real da parasitose, sendo a PCR útil no diagnóstico da infeção em áreas de baixa endemicidade e após o tratamento em massa, para a deteção das infeções leves que ainda prevalecem na população após administração do praziquantel,

*Schistosoma mansoni* continua a ser uma espécie com baixa endemicidade nos distritos de Quelimane e Gurué, não tendo sido detetado no presente estudo,

A prevalência de geohelminthoses manteve-se quase inalterada, 50,3% no estudo de 2009 e 50,4% no estudo atual,

A Zambézia é uma província com abundância de moluscos hospedeiros intermediários de *S. haematobium* (*Bulinus* spp) e aparentemente sem moluscos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* (*Biomphalaria* spp),

A lagoa do Bairro barragem, os rios Mugui e Mutxora constituem potenciais focos de transmissão de *S. haematobium* na província de Zambézia em geral e no distrito de Gurué em particular.

Neste sentido, é recomendável que:

Haja um maior envolvimento por parte das autoridades ligadas a saúde e do governo em geral, com vista a criar soluções para os problemas que a população de Quelimane e Gurué têm enfrentado, medidas que podem ser alcançadas através da canalização da água potável até aos bairros onde não há fontes de abastecimento, assim como o melhoramento do saneamento básico, através da abertura de latrinas públicas, principalmente em Icídua e Manhaua, evitando a defecção ao ar livre. Estas medidas

deverão ser associadas à remoção atempada do lixo, que caracteriza a maior parte das artérias das duas urbes, principalmente nos mercados;

Sejam realizadas regularmente campanhas de educação para a saúde, de forma a consciencializar a população a respeito do perigo que a schistosomose e as parasitoses intestinais representam para a população escolar em particular, através de palestras utilizando cartazes e posters que possam ilustrar as formas de transmissão e prevenção destas parasitoses;

Sejam implementadas novas técnicas como as moleculares baseadas em PCR, tanto para o diagnóstico da schistosomose como para os geohelminthas, em associação aos métodos parasitológicos de forma a detetar a infeção nos indivíduos com baixa carga parasitária e proceder ao respetivo tratamento, evitando que estes mantenham o ciclo de transmissão da doença nas áreas endémicas;

Para além das estratégias de tratamento da schistosomose com Praziquantel, feitas anualmente no país de forma isolada, será importante implementar outras abordagens direcionadas aos focos de transmissão, medidas estas que podem ser atingidas por supressão de alguns habitats ou ainda pela modificação das condições ecológicas dos mesmos, tal como a remoção da vegetação aquática e aumento da velocidade da corrente de água nos rios de menor caudal.

De acordo com as recomendações da OMS, a integração das várias medidas é fundamental para o controlo simultâneo da schistosomose e das geohelminthoses.

## **7. Referências Bibliográficas**

## 7. Referências bibliográficas

- African Statistical Yearbook., 2011. *Annuaire Statistique pour l'Afrique*, pp: 61-68.
- Andrade, E. C., Leite, I. C. G., Rodrigues, V. O., Cesca, M. G., 2010. Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. *Revista APS*, 13(2), 231-240.
- Araujo, A. J. U. S., Kanamura, H. Y., Dias, L. C. S., Gomes, J. F., Araújo, S. M., 2003. Coprotest® quantitativo: quantificação de ovos de helmintos em amostras fecais utilizando-se sistema de diagnóstico comercial. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 39(2), 115-124.
- Argemi, J., Camuset, G., About-Bakar, A., Lucescu, I., Forestier, E., Christmann, D. & Hansmann, Y., 2009. Case report: Rectal perforation caused by *Schistosoma haematobium*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80(2), 179-181.
- Astal, Z., 2004. Epidemiological survey of the prevalence of parasites among children in Khan Younis governorate, Palestine. *Parasitology Research*, 94, 449-51.
- Augusto, A., Nalá, R., Casmo, V., Sabonete, A., Mapaco, L., Monteiro, J., 2009. Geographic Distribution and Prevalence of Schistosomiasis and Soil-Transmitted Helminths among Schoolchildren in Mozambique. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(5), 799–803.
- Azevedo, J. F., Colaço, A. T., Faro, M. M., 1954. As schistosomíases humanas no Sul do Save (Moçambique). *Anais do Instituto de Medicina Tropical*, 9, 1-137.
- Barbour, A. D., 1985. The importance of age and water contact patterns in relation to *Schistosoma haematobium* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79, 151-153.
- Belo, S., Rompão, H., Gonçalves, L. & Grácio, M. A. A., 2005. Prevalence, behavioral and social factors associated with *Schistosoma intercalatum* and geohelminth infections in São Tomé and Príncipe. *Parassitologia*, 47, 227-231.

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

Carneiro, T. R., 2011. Avaliação da reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de fezes, para diagnóstico da esquistossomose em região de baixa endemicidade, no estado do Ceará, Fortaleza, Brasil. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, pp: 53-59.

Carvalho, A. T., Martins Filho, A. O., Oliveira, R. C., 2008. A resposta imune na forma crônica da esquistossomose mansoni. In: Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL, (editores). *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. 20ª ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, pp: 670-716.

Central Intelligence Agency., 2013. Mozambique-The World Factbook.

CESO CI-Portugal., 2011. *Moçambique-Manual do Empreendedor*, pp: 1-3.

Cook, G.C. & Zumla, A., 2009. *Manson's Tropical Diseases*. (22ª Edition), Saunders Elsevier, London, p-1847.

El-Ayyat, A. A., Sayed, H. A., El-Desoky, H. H., 2003. Pattern of water contact activities in relation to *S. mansoni* infection in rural area in Giza Governorate, Egypt. *The Journal of Egyptian Public Health Association*, 78, 417-432.

European Centre for Disease Prevention and Control., 2014. Local transmission of *Schistosoma haematobium* in Corsica, France, First update–23 July 2015. Stockholm: ECDC, p-1.

Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF)., 2011. Child poverty and disparities in Mozambique. Summary Report.

Fundo das Nações Unidas para a Infância-(UNICEF)., 2014. Situação das Crianças em Moçambique, pp: 29-31.

Gamboa, M. I., Basualdo, J. A., Cordoba, M. A., Pezzani, B. C., Minvielle, M. C., Lahitte, H. B., 2003. Distribution of intestinal parasitoses in relation to environmental and sociocultural parameters in La Plata, Argentina. *Journal of Helminthology*, 77, 15-20.

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

- Geerts, S., & Gryseels, B., 2000. Drug resistance in human helminths: current situation and lessons from livestock. *Clinical Microbiology Reviews*; 13(2), 207-22.
- Geleta, S., Alemu, A., Getie, S., Mekonnen, Z., E Erko, B., 2015. Prevalence of urinary schistosomiasis and associated risk factors among Abobo Primary School children in Gambella Regional State, southwestern Ethiopia: a cross sectional study. *Parasites & Vectors*, 8:215.
- Gryseels, B., Polman, K., Clerinx, J., Kestens, L., 2006. Human Schistosomiasis. *Lancet*; 368, 1106-1118.
- Gujral, L & Gama Vaz, R., 2000. Prevalência, comportamentos de risco e níveis de informação sobre a esquistossomose urinária em escolares da área de saúde 1º de junho, na cidade de Maputo, Moçambique. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 16(1), 43-50.
- Hamburger, J., He, N., Abbasi, I., Ramzy, R. M., Jourdane, J., Ruppel, A., 2001. Polymerase chain reaction assay based on a highly repeated sequence of *Schistosoma haematobium*: A potential tool for monitoring schistosome-infested water. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 65, 907–911.
- Hogg, K. G., Kumbate, S., Anderson, S., 2003. Interleukin-12 p40 secretion by cutaneous CD11c $\beta$  and F4/80 $\beta$  cells is a major feature of the innate immune response in mice that develop Th1-mediated protective immunity to *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity*; 71(6), 3563-71.
- Hoguane, A. M., 2007. Perfil Diagnóstico da Zona Costeira de Moçambique. *Universidade Eduardo Mondlane, Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras, Chuabo Dembe, Quelimane, Moçambique*, 70-74.
- Ibironke, O. A., Phillips, A. E., Garba, A., Lamine, S. M And Shiff, C., 2011. Diagnosis of *Schistosoma haematobium* by Detection of Specific DNA Fragments from Filtered Urine Samples. *American. Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84(6), 998–1001.

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

Instituto Nacional de Estatística (INE), 2011. Estatísticas do distrito de cidade de Quelimane, pp: 8-22.

Instituto Nacional de Estatística (INE)-Ministério da Saúde, Moçambique., 2013. *Inquérito Demográfico e de Saúde*, pp: 18-20.

Jeremias, I., Belo, S., Afonso, A., Grácio, M. A., 2015. Vantagem da PCR no estudo epidemiológico de *Schistosoma haematobium* e *Schistosoma mansoni* em Angola. 6<sup>as</sup> *Jornadas Científicas do Instituto de Higiene e Medicina Tropical*.

Katz, N., Chaves, A., Pellegrino, J. A., 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14, 397-400.

King, C. H., Sturrock, R. F., Kariuki, H. C. & Hamburger, J., 2006. Transmission control for schistosomiasis—why it matters now. *TRENDS in Parasitology*, 22(12), 575-582.

Koukounari, A., Gabrielli, A. F., Toure, S., Bosque-Oliva, E., Zhang, Y., Sellin, B., 2007. *Schistosoma haematobium* infection and morbidity before and after large-scale administration of praziquantel in Burkina Faso. *Journal of Infectious Diseases*; 196, 59-69.

Kourilová, P., Hogg, K. G., Kolárová, L., 2004. Cercarial dermatitis caused by bird Schistosomes comprises both immediate and late phase cutaneous hypersensitivity reactions. *Journal of Immunology*; 172(6), 3766-74.

Lengeler, C., Kilima, P., Mshinda, H., Hatz, C., Tanner, M., 1991. Rapid, low-cost, two-step method to screen for urinary schistosomiasis at the district level: The Kilosa experience. *Bulletin of the World Health Organization*, 69, 179-189.

Lenzi, H. L., Kimmel, E., Schechtman, H., 1998. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involutions: morphogenetic and biomechanical approaches. *Memories of Institute Oswaldo Cruz*; 93(1), 141-51.

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

- Lichtenbergova, L., Kolbekova, P., Kourilova, P., 2008. Antibody responses induced by *Trichobilharzia regenti* antigens in murine and human hosts exhibiting cercarial dermatitis. *Parasite Immunology*; 30(11-12), 585-95.
- Lodh, N., Naples, J. M., Kwabena, M., Bosompem, K. M., Quartey, J., Shiff, J. C., 2014. Detection of Parasite-Specific DNA in Urine Sediment Obtained by Filtration Differentiates between Single and Mixed Infections of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* from Endemic Areas in Ghana. *PLOS ONE*, 9(3), e91144.
- Ludwig, K. M., Frei, F., Álvares Filho, F., Ribeiro-Paes, J. T., 1999. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32(5), 547-555.
- Massa, K., Olsen, A., Sheshe, A., Ntakamulenga, R., Ndawi, B. & Magnussen, P., 2009. Can coverage of schistosomiasis and soil transmitted helminthiasis control programmes targeting school-aged children be improved? New approaches. *Parasitology*. Cambridge University Press, 1-8.
- Matonge, P. M., Muturi M., Kamau L. M., 2013. Persistence of *Schistosoma Haematobium* and Geohelminthes Infection in Residents of Two Villages in Msambweni District of Coast Province, Kenya. *American Journal of Epidemiology and Infectious Disease*, 1(4), 41-46.
- Matthys, B., Tschannen, A. B., Tian-Bi, N. T., Comoé, H., Diabaté, S., *et al.*, 2007. Risk factors for *Schistosoma mansoni* and hookworm in urban farming communities in western Côte d'Ivoire. *Tropical Medicine and International Health*, 12, 709-723.
- Melo, F. L., Gomes, A. L. V., Barbosa, C. S., Werkhauser, R. P., Abath, F. G. C., 2006. Development of molecular approaches for the identification sites of schistosomiasis. *Transactions of the Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100, 1049-1055.

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

- Mesquita, N. F., Silva, R. A., Brandão, C. L., Dinis-Ribeiro, M., Fernandes, N. S. & Viana, H. L., 2004. Polipose cólica por *Schistosoma mansoni*–Caso clínico e revisão da Literatura. *Jornal Português de Gastroenterologia*, 11, 89-95.
- Ministério da Administração Estatal (MAE)., 2005. Perfil do Distrito de Gurué- Província da Zambézia, pp: 1-35.
- Moza, P. G., Pieri, O. S., Barbosa, C. S., Rey, L., 1998. Fatores sociodemográficos e comportamentais relacionados à esquistossomose em uma agrovila da zona canavieira de Pernambuco, Brasil. Rio de Janeiro. *Cadernos de Saúde Pública*, 14(1), 107-115.
- Muchangos, A., 1999. Moçambique, Paisagens e Regiões Naturais. Edição do Autor, pp: 1-40.
- Navaratnam, A. M., Sousa-Figueiredo, J. C., Stothard, J. R., Kabatereine, N. B., Fenwick, A., 2012. Efficacy of praziquantel syrup versus crushed praziquantel tablets in the treatment of intestinal schistosomiasis in Ugandan preschool children, with observation on compliance and safety. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 106, 400–407.
- Neves, D. P., 2005. *Parasitologia Humana*. 11ª edição. São Paulo, p: 494.
- Oliveira, L. M., 2007. Avaliação da reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de fezes para o diagnóstico da infecção pelo *Schistosoma mansoni*. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, pp: 51-70.
- Pearce, E. J., Macdonald, A. S., 2002. The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews Immunology*; (7), 499-511.
- Programa de Monitoria de Responsabilização Social ao Nível dos Municípios (MuniSAM)., 2013. Estudo de base-Conselho Municipal da Cidade de Quelimane, p: 11.
- Rambau, P. F., Chalya, P. L. & Jackson, K., 2013. Schistosomiasis and urinary bladder cancer in North Western Tanzania: a retrospective review of 185 patients. *Infectious Agents and Cancer*, 8, 19.

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

- REY, L., 2001. *Parasitologia*. (3ª edição), Guanabara & Koogan. Rio de Janeiro, p: 855.
- Rey, L., 2002. *Bases da Parasitologia Médica*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p: 379.
- Rey, L.; Lourenço, M. I. & Garcia, C. M., 1987. Esquistosomíase: Metodologia de controle em aldeias comunais em Moçambique. I. Controle de moluscos, terapia e participação comunitária. *Revista Médica de Moçambique*, 3, 1-7.
- Rollinson, D., Klinger, E. V., Mgeni, A. F., Khamis, S. & Stothard, J. R., 2005. Urinary schistosomiasis on Zanzibar: application of two novel assays for the detection of excreted albumin and haemoglobin in urine. *Journal of Helminthology*, 79, 199-206.
- Ross, A. G., Bartley, P. B., Sleight, A. C., Olds, G. R., Li, Y., Williams, G. M. E Schmcmanus, D. P., 2002. Schistosomiasis. *The New England Journal of Medicine*, 346(16), 1212-1220.
- Saathoff, E., 2004. Patterns of geohelminth infection, impact of albendazole treatment and re-infection after treatment in schoolchildren from rural KwaZulu-Natal/South-Africa. *BMC Infectious Diseases*; 4(27), 1-11.
- Savioli, L., Albonico, M., Engels, D. & Montresor, A., 2004. Progress in the prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. *Parasitology International*, 53, 103-13.
- Scholten, J. H. M., 1987. Estudo de Solos ao Nível de Reconhecimento da Faixa Costeira de Quelimane. *Serie Terra e Água-Instituto Nacional de Investigação Agronómica*. Maputo-Moçambique, pp: 6-9.
- Shiff, C. J., 1968. Location of *Bulinus* (Physopsis) globosus by miracidia of *Schistosoma haematobium*. *Journal Parasitology*, 45, 1133–1140.
- Shiff, C., Veltri, R., Naples, J., Quartey, J., Otchere, J., Anyan, W., Marlow, C., Wiredu, E., Adjei, A., Brakohiapa, E. & Bosompem, K., 2006. Ultrasound verification of Bladder damage is associated with known biomarker of bladder cancer

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

in adults chronically infected with *Schistosoma haematobium* in Gana. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(9), 847-854.

Silva, I. M., Pereira Filho, E., Thiengo, R., Ribeiro, P. C., Conceição, M. J., Panasco, M. & Lenzi, H. L., 2008. *Schistosomiasis haematobium*: histopathological course determined by cystoscopy in a patient in whom Praziquantel treatment failed. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 50(6), 343-346.

Siqueira-Batista, R., Ramos Júnior, A. N., Farinazzo, R. J. M., 1998. O *Schistosoma mansoni*. In: Huggins DW, Siqueira-Batista R, Medeiros, L. B, *et al*, (editores). *Esquistossomose mansoni*. São Paulo: Grupo Editorial Moreira Jr; p: 26-32.

Souza, G. T., Leal, N. C., Almeida, A. M., 2005. Avaliação da técnica Nested-PCR para aplicação no diagnóstico da peste. Dissertação de Mestrado, Centro de Pesquisas Aggeu de Magalhães CPqAM, Recife: pp-64.

Stothard, J. R & Rollinson, D., 1996. An evaluation of random amplified polymorphic DNA for identification and phylogeny of freshwater snails of the genus *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Molluscan Studies*, 62, 165-176.

Tchuem Tchuenté, L. A., Behnke, J. M., Gilbert, F. S., Southgate, V. R E Vercruysse, J., 2004. Polyparasitism with *Schistosoma haematobium* and soil-transmitted helminth infections among school children in Loum, Cameroon. *Tropical Medicine International Health*, 975-86.

Traquinho, G. A., Júlio, A., Thompson, R., 1994. Esquistossomose urinária em Boane, Província de Maputo. *Revista Médica de Moçambique*, 5, 20-23.

Traquinho, G. A.; Nalá, R.; Vaz, R. G. & Corachan, M., 1998. Schistosomiasis in northern Mozambique. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92, 279-281.

Ugbomoiko, U. S., Ofoezie, I. E., Okoye, I. C., Heukelbach, J., 2010. Factors associated with urinary schistosomiasis in two peri-urban communities in south-western Nigeria. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 104(5), 409-19.

## Capítulo VII – Referências Bibliográficas

Vaz, R. G., 1992. Parasitoses intestinais e vesicais em prisioneiros na cidade de Maputo. *VIII Jornadas Científicas de Saúde de Moçambique, Livro de Resumos*, Maputo, 16(1), 43-50.

Vranjac, A., 2007. Vigilância Epidemiológica e Controle da Esquistossomose. Centro de Vigilância Epidemiológica. São Paulo, pp: 9-12.

Warren, K. S., 1972. The immunopathogenesis of schistosomiasis: a multidisciplinary approach. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*; 66(3), 417-34.

WHO, 1990. Drugs used in parasitic diseases. *World Health Organization*. Geneva, p-126.

WHO, 1991. Basic laboratory methods in medical parasitology. *World Health Organization*, Geneva, Switzerland.

WHO, 2004. The global burden of disease: update. *World Health Organization*, Geneva.

WHO, 2005. Report of the Scientific Working Group meeting on Schistosomiasis. Geneva: 14-16.

WHO, 2009. Child growth standards and the identification of severe malnutrition in infants and children. A joint statement by the World Health Organization and the United Nations Children Fund.

WHO, 2012. Report of the informal consultation on schistosomiasis control. *World Health Organization*, Geneva.

WHO, 2013. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: *Second WHO report on neglected tropical diseases*, pp: 99-104.

WHO., 2001. Iron Deficiency Anaemia: assessment, prevention and control: a guide for programme managers. *World Health Organization*. Geneva, 65, 575-588.

Ziegelbauer, K., Speich, B., Mausezahl, D., Bos, R., Keiser, J., Jurg, U., 2012. Effect of Sanitation on Soil-Transmitted Helminth Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS Medicine*, 9(1), e1001162.

### Sítios da Internet

<http://www.jornalnoticias.co.mz/index.php/provincia-em-foco/33405zambezia-bairro-de-icidua-nao-tem-abastecimento-de-agua-potavel.html>. [Consultado em 10-09-2016].

<http://pt.mapsofworld.com/mozambique/>

<http://www.africa-turismo.com/mapas/mocambique.htm>

## **8. Anexos**

## 8. Anexos

### 8.1. Anexo I

#### Carta de aprovação do estudo pelo Comité Nacional de Bioética para a Saúde-Moçambique.



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
COMITÉ NACIONAL DE BIOÉTICA PARA A SAÚDE  
IRB00002657

Exmo Senhor  
Dr. Célio Alfredo  
UP-Faculdade de Ciências de Saúde

Ref: 05/CNBS/16

Data 04 de Fevereiro de 2016

**Assunto:** Parecer do Comité Nacional de Bioética para saúde (CNBS) sobre o estudo: "*Controle pós-Terapêutico da Schistosomose e das parasitoses intestinais e actualização da situação malacológica nos distritos de Quelimane e Gurué na Província de Zambézia, Moçambique*"

O Comité Nacional de Bioética para Saúde (CNBS) analisou as correcções efectuadas no protocolo intitulado: "*Controle pós-Terapêutico da Schistosomose e das parasitoses intestinais e actualização da situação malacológica nos distritos de Quelimane e Gurué na Província de Zambézia, Moçambique*"

Registado no CNBS com o número 101/CNBS/2015, conforme os requisitos da Declaração de Helsínquia,

Não havendo nenhum inconveniente de ordem ética que impeça a realização do estudo, o CNBS dá a sua devida aprovação aos seguintes documentos:


- Protocolo
- Instrumento de recolha de dados
- Consentimento Informado

Todavia, o CNBS informa que:

- 1- A presente aprovação não substitui a autorização administrativa.
- 2- Não houve declaração de conflitos de interesse por nenhum dos membros do CNBS.
- 3- A aprovação terá a validade de um ano, terminando esta a 04 de Fevereiro de 2017. Os investigadores deverão submeter o pedido de renovação da aprovação um mês antes de terminar o prazo.
- 4- Recomenda-se aos investigadores que mantenham o CNBS informado do decurso do estudo.
- 5- A lista actualizada dos membros do CNBS esta disponível na secretaria do Comité.

Com as nossas mais cordiais saudações.

O Presidente

  
Dr. João Fernando Lima Schwalbach

ENDEREÇO:  
MINISTÉRIO DA SAÚDE  
C. POSTAL 264  
Av. Eduardo Mondlane/Salvador Allende  
MAPUTO – MOÇAMBIQUE

Telefones: 430814/427131(4)  
Telex: 6-239 MISAU MO  
FAX: 258 (1) 426547  
258 (1) 33320

8.2. Anexo II

Carta de autorização administrativa do Gabinete do Ministro da Saúde-Moçambique.



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE  
**MINISTÉRIO DA SAÚDE**  
Gabinete do Ministro

Exmo Senhor  
Célio Alfredo  
UP – Faculdade de Ciências de Saúde

Nota n.º 321/GMS/002/2016

Maputo, 22 de Fevereiro de 2016

**Assunto:** Solicitação de Autorização Administrativa para Realização de Estudo

Incumbe-me S.Excia a Ministro da Saúde, Drª Nazira Valí Abdula, de acusar a recepção da vossa carta sem referencia, na qual solicita autorização para realização de um estudo intitulado "Controlo pós-Terapêutico da Schistosomose e das parasitoses intestinais e actualização da situação malacológica nos Distritos de Quelimane e Gorué na Província de Zambézia, Moçambique" e tenho a informar o despacho recaído cujo o teor é o seguinte:

**“Autorizo”**  
**Devem manter informado o**  
**CNBS e o INS – do decurso do Estudo**  
**Assinado: Drª Nazira Valí Abdula**  
**(19/02/2016)**

Cumprimentos



Av. Eduardo Mondlane / Salvador Allende  
Caixa Postal Nº 264  
E-mail: gbminsau@tropical.co.mz

Telefs.: 21 42 06 14 - 42 38 22  
21 30 66 21 - 42 26 82  
Telefax: 258 (21) 42 71 33

8.3. Anexo III

**Carta de cobertura do estudo, por parte da Direção Provincial de Saúde da Zambézia.**



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE  
GOVERNO DA PROVÍNCIA DA ZAMBÉZIA  
DIRECÇÃO PROVINCIAL DE SAÚDE

Ao: UP  
Att: Faculdade de Ciências de  
Saúde  
Maxixe

N/Ref. 2062/DPSZ/900/2015

Data: 9/9/2015

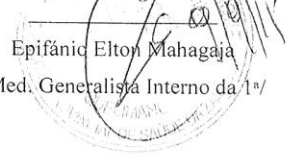
Assunto: Carta de Cobertura para a realização do estudo intitulado "Controlo pos – terapeutico da Schistosomiase e das parasitoses intestinais na Provincia da Zambézia".

A Direção Provincial de Saúde, analisou o vosso pedido e o respectivo protocolo pelos quais solicitam carta de cobertura para a realização do estudo intitulado "Controlo pos – terapeutico da Schistosomiase e das parasitoses intestinais na Provincia da Zambézia", não tendo verificado algum inconveniente que impeça a sua viabilização, somos de parecer favorável que o estudo aconteça na nossa Província, desde que o respectivo protocolo tenha aprovação da Comissão de Bioética de Saúde e Autorização administrativa de S.Excia Ministra de Saúde.

Sem mais, subscrevemo-nos com elevada estima e consideração.

Na Ausência da Directora Provincial  
O Médico Chefe Provincial

Epifânico Elton Mahagaja  
/Med. Generalista Interno da 1ª/



8.4. Anexo IV

Credencial da Direção Provincial de Educação da Zambézia



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE

GOVERNO DA PROVINCIA DA ZAMBEZIA

DIRECÇÃO PROVINCIAL DE EDUCAÇÃO E DESENVOLVIMENTO HUMANO DA  
ZAMBEZIA

CREDECIAL

Para fazer o trabalho de pesquisa nas Escolas Primárias do 1º e 2º Graus de Incidua e Manhaua Expansão no distrito de Quelimane e do Projecto e Moneia no distrito de Gurúe, no âmbito da preparação da sua tese de mestrado com o título “Controlo pós-terapêutico da Schistosomose e das parasitoses intestinais e actualização da situação malacológica nos distritos de Quelimane e Gurúe na província da Zambézia, Moçambique”, a DPEDHZ credencia o Senhor **Célio Alfredo**, estudante no mestrado em Paracitologia Medica, no Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova Lisboa em Portugal, para colher amostras de fezes e de urinas nas crianças de faixa etária entre os 5 à 15 anos de idade nas escolas acima referenciadas.

Quelimane, aos 02 de Fevereiro de 2016

O DIRECTOR PROVINCIAL

  
Armindo A. Primeiro  
(Especialista da Educação)

## 8.5 Anexo V

### Técnica de filtração da urina (WHO, 1991).

#### Princípio da técnica

Esta técnica tem por objetivo pesquisar e quantificar ovos de *Schistosoma haematobium* na urina. Ao fazer passar 10 ml de urina sobre um filtro, os elementos mais pesados incluindo os ovos de *S. haematobium* ficam retidos no filtro, permitindo a sua identificação e quantificação.

#### Material

- ✓ Seringas de plástico de 10 ml;
- ✓ Suportes de plástico para filtros (13 mm ou 16 mm de diâmetro);
- ✓ Filtros de policarbonato Millipore ( $\text{Ø} = 12\mu\text{m}$ , Swinnex®);
- ✓ Lâminas de microscópio;
- ✓ Pinças;
- ✓ Microscópio;
- ✓ Luvas.

#### Procedimentos

- ✓ Primeiramente o filtro é colocado no suporte;
- ✓ De seguida agita-se ligeiramente o recipiente contendo a urina e com a seringa, aspira-se 10 ml de urina (se a quantidade da amostra for inferior a 10 ml, regista-se o volume);
- ✓ Posteriormente adapta-se a seringa ao suporte contendo o filtro;
- ✓ Mantendo a seringa na posição vertical e segurando no suporte, pressiona-se o êmbolo para que a urina seja expelida através do filtro;
- ✓ Retira-se o suporte da seringa, enchendo-a com ar e expelindo o com a seringa fixada ao suporte,
- ✓ Retira-se de novo o suporte da seringa e com ajuda da pinça, retira-se o filtro Millipore ( $\text{Ø} = 12\mu\text{m}$ , Swinnex®) sendo colocado sobre a lâmina na posição invertida.

- ✓ Finalmente observa-se- ao microscópio, contando o número de ovos presentes no filtro.
- ✓ O resultado é expresso em nº de ovos/10 ml de urina.

## 8.6. Anexo VI

### Método de Kato-Katz (Katz *et al.*, 1972).

#### Princípio da técnica

Esta técnica visa a pesquisa, identificação e quantificação de ovos de helmintas nas fezes. Uma determinada quantidade de fezes é filtrada, o que permite eliminar os constituintes fecais mais volumosos, e posteriormente é submetida a um processo de clarificação pelo verde de malaquita - glicerina, permitindo contar os ovos de helmintas presentes na preparação.

#### Material:

##### KIT OVO-FEC

- ✓ Filtros de nylon;
- ✓ Espátulas;
- ✓ Placas perfuradas (orifício central calibrado, 41,7mg);
- ✓ Tiras de celofane (22x30mm) embebidas em solução de verde de malaquita-glicerina;
- ✓ Rolhas de cautchu;
- ✓ Papel absorvente;
- ✓ Microscópio óptico;
- ✓ Luvas.

#### Procedimentos

- ✓ Primeiramente coloca-se a placa perfurada sobre a lâmina de microscópio;
- ✓ Com uma espátula retira-se uma amostra de fezes e coloca-se sobre o papel absorvente;
- ✓ De seguida o filtro é colocado sobre as fezes, sendo comprimidas com a extremidade da espátula, de modo a que as fezes passem através do filtro;
- ✓ Com o auxílio da espátula, as fezes que passam pelo filtro são recolhidas e depositadas no orifício da placa perfurada e comprimidas até encher o orifício;
- ✓ Retira-se o excesso de fezes se necessário, passando a espátula sobre a placa;

- ✓ De seguida a placa perfurada é levantada, inclinando ligeiramente um dos extremos, de modo a que fique sobre a lâmina um cilindro de matéria fecal;
- ✓ Posteriormente coloca-se sobre este a tira de celofane embebida em verde de malaquita-glicerina e comprimidas com a rolha de cauchu de modo que as fezes se distribuam uniformemente na lâmina;
- ✓ Deixa-se a preparação à temperatura ambiente durante 1 hora ou sob uma lâmpada acesa durante 10 a 20 minutos, para clarificar a amostra de fezes;
- ✓ Faz-se o exame ao microscópio contando os ovos encontrados na preparação, por espécie de helminta;
- ✓ Com o auxílio da tabela anexada, calcula-se o número de ovos por grama de fezes para cada espécie,
- ✓ Sendo o resultado expresso em nº ovos por grama de fezes para cada espécie encontrada;

## 8.7. Anexo VII

### Protocolo de extração do DNA genómico nas amostras de urina

- ✓ Para a extração do DNA genómico, 150 µl de urina são transferidos para um novo tubo eppendorf,
- ✓ Coloca-se o tampão de extração CTAB na estufa a 60°C para o equilíbrio térmico,
- ✓ Seguidamente adiciona-se 0,600 ml do tampão CTAB que foi previamente aquecido a 60°C,
- ✓ Posteriormente adiciona-se 8 µl de proteinase K e faz-se a homogeneização até que os tecidos fiquem completamente dissolvidos no tampão,
- ✓ Seguidamente as amostras são incubadas durante 90 minutos a 55°C,
- ✓ Após o período de incubação adicionar-se 0.75 ml de clorofórmio/isoamylalcohol (24:1) seguido de uma mistura manual durante dois minutos,
- ✓ Centrifuga-se rapidamente para que haja separação da zona aquosa da zona orgânica,
- ✓ Pipeta-se a camada aquosa para um tubo novo e adiciona-se 1 ml de etanol absoluto a 4°C seguido de um processo de mistura,
- ✓ Faz-se a centrifugação durante 15 minutos a 13 000 rpm,
- ✓ Decanta-se o sobrenadante e, adiciona-se novamente 0,5 ml de etanol a 70% para a lavagem do ``pellet`` e volta-se a centrifugar nas mesmas condições anteriormente descritas,
- ✓ De seguida despreza-se o sobrenadante e retira-se cuidadosamente todo o excesso de etanol colocando na estufa, no máximo durante 10 minutos a 55°C, para que haja a evaporação total do etanol,
- ✓ Finalmente, adiciona-se 50 µl de tampão TE (pH7) e agita-se o tubo de modo a que o ``pellet`` se dissolva. As amostras são guardadas em alíquotas a – 20°C, até a sua utilização.

## 8.8. Anexo VIII

### Consentimento informado

**Título do Protocolo:** Controlo pós-terapêutico da Schistosomose e das parasitoses intestinais e atualização da situação malacológica nos distritos de Quelimane e Gurué na província de Zambézia, Moçambique.

Estudante: Célio Alfredo, telf: 258 826534788, E-mail: [celioalfredoluis@gmail.com](mailto:celioalfredoluis@gmail.com)

Orientadora: Professora Doutora Silvana Belo, IHMT-UNL

Coorientadora: Professora Doutora Manuela Calado, IHMT-UNL

#### a) Introdução

A schistosomose é uma doença parasitária causada por helmintas do género *Schistosoma* e que envolve no seu ciclo de vida moluscos de água doce. A doença é um dos maiores problemas de saúde humana nos países tropicais e subtropicais de África, Ásia e América Latina. A schistosomose urogenital ou bilharziose pode levar a presença anormal de eritrócitos (glóbulos vermelhos) na urina, dando o aspeto de sangue (hematúria), dor ou desconforto ao urinar (disúria), uropatia obstrutiva com calcificação da bexiga, enquanto que a forma intestinal é responsável por manifestações clínicas a nível hepatointestinal nomeadamente, dores abdominais, aumento do tamanho do fígado e do Baço (hepatoesplenomegália), fibrose periportal do fígado e hipertensão portal. Assim, este estudo tem por objetivos determinar a prevalência de *Schistosoma* spp e de parasitas intestinais na população escolar (5-15 anos de idade) e aplicar técnicas moleculares baseadas em PCR no diagnóstico da infeção humana por *Schistosoma* spp, em complemento dos exames diretos e em moluscos hospedeiros intermediários, no distrito de Gurué e Quelimane, na província de Zambézia.

#### b) Procedimentos do estudo

Se você quer participar no estudo, deve assinar este consentimento informado e depois responder a um questionário com perguntas relacionadas aos seus dados sociodemográficos (sua identificação, morada, hábitos de contacto com água do rio, motivos de contacto com tal água, existência de casa de banho e latrina na habitação, etc). Também, será necessário fazer a recolha de urina e fezes para a realização dos exames parasitológicos, visando a pesquisa e quantificação dos ovos dos parasitas e outra parte

para a aplicação dos testes de biologia molecular. Todos os indivíduos detetados como positivos serão submetidos posteriormente ao tratamento com Praziquantel (PZQ) e ou com Albendazol (ALB).

**c) Riscos**

A sua participação neste estudo não te coloca em risco ou qualquer outra situação desconfortável, uma vez que todos os procedimentos de colheita da urina assim como das fezes não são invasivos.

**d) Benefícios**

Para além do tratamento que os indivíduos positivos irão beneficiar de forma gratuita, não há um outro benefício direto previsto.

**e) Confidencialidade**

As informações colhidas no âmbito deste estudo serão confidenciais, isto é, serão apenas conhecidas pelos investigadores e, somente a parte estatística poderá ser tornada pública.

**f) Voluntariedade**

A sua participação neste estudo é voluntária, não havendo qualquer forma de pressão ou obrigação em fazer parte dele.

**g) Contactos**

Se você tiver alguma dúvida relacionada a este trabalho, pode entrar em contacto com o investigador deste estudo através do número 826534788 ou então por meio do seu correio eletrónico acima disponibilizado.

Assinatura: -----

Data: -----/-----/-----

**8.9. Anexo IX**

**Inquérito sociodemográfico e parasitológico**

Data \_\_\_\_\_ Ficha Nº \_\_\_\_\_

Escola \_\_\_\_\_ Localidade \_\_\_\_\_

**A. Dados pessoais**

Nome: \_\_\_\_\_

Idade \_\_\_\_\_

Naturalidade \_\_\_\_\_ Província \_\_\_\_\_

Residência/Bairro \_\_\_\_\_ Tempo de residência \_\_\_\_\_

Meio: Urbano [ ] Suburbano [ ] Rural [ ] Outro [ ]

Sexo: Masculino-----, Feminino-----

Escolaridade \_\_\_\_\_

**B. Condições de Habitação**

Água canalizada: sim [ ] não [ ] Fonte \_\_\_\_\_

Casa de banho: sim [ ] não [ ] interior [ ] exterior [ ]

Latrina: sim [ ] não [ ]

**C. Motivo de contacto com a água**

Higiene pessoal-----, Lavagem de roupa ou utensílios-----, Lazer/nadar/-----

Pesca-----, Agricultura-----,

**D. Hora em que tem tido contacto com a água**

Antes das 12 horas-----, entre as 12 as 14 horas-----,

Depois das 14 horas-----

**E. Exame de Urina**                      **Aspeto macroscópico -----**

**Grau de hematúria:** 0 [ ]                      1 [ ]                      2 [ ]                      3 [ ]                      4 [ ]

Nº de ovos de *S. haematobium* \_\_\_\_\_/10 ml

**F. Exame de fezes**

Sangue nas fezes      sim [ ]                      não [ ]

**Helmintas:**

*A. lumbricoides*      [ ]      nº ovos \_\_\_\_\_ ovos/g \_\_\_\_\_

*T. trichiuria*      [ ]      nº ovos \_\_\_\_\_ ovos/g \_\_\_\_\_

Ancilostomídeos      [ ]      nº ovos \_\_\_\_\_ ovos/g \_\_\_\_\_

*E. vermicularis*      [ ]      nº ovos \_\_\_\_\_ ovos/g \_\_\_\_\_

*S. mansoni*      [ ]      nº ovos \_\_\_\_\_ ovos/g \_\_\_\_\_

Taenídeos      [ ]      nº ovos \_\_\_\_\_ ovos/g \_\_\_\_\_

*Hymenolepis* sp      [ ]      nº ovos \_\_\_\_\_ ovos/g \_\_\_\_\_

*S. stercoralis*      [ ]      \_\_\_\_\_ larvas

**Observações**

---

8.10. Anexo X



**Figura 14:** Espaço usado para eliminação dos excreta no bairro Icídua (Original C. Alfredo, 2016).

8.11. Anexo XI



**Figura 15:** Comercialização do peixe ao relento e no chão em Icídua (Original C. Alfredo, 2016).

8.12. Anexo XII



**Figura 16:** Hábito das crianças em brincar nas valas de drenagem na época chuvosa (Original C. Alfredo, 2016).