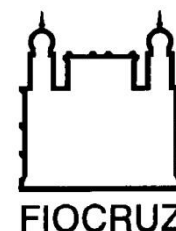




**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**



Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO DE *BIOMPHALARIA GLABRATA*
INFECTADOS POR *SCHISTOSOMA MANSONI* EM COLEÇÕES
HÍDRICAS DE SALVADOR, BAHIA - BRASIL**

VANESSA SOUSA ZANARDI

**Salvador – Bahia
2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO DE *BIOMPHALARIA GLABRATA*
INFECTADOS POR *SCHISTOSOMA MANSONI* EM COLEÇÕES
HÍDRICAS DE SALVADOR, BAHIA - BRASIL**

VANESSA SOUSA ZANARDI

Orientador: Dr. Mitermayer Galvão dos Reis
Co-Orientador: Dr. Lúcio Macedo Barbosa

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Patologia
Humana para a obtenção do grau de
Mestre em Patologia.

**Salvador – Bahia
2018**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Z27p Zanardi, Vanessa Sousa
Prevalência de infecção de *Biomphalaria glabrata* infectados por *Schistosoma mansoni* em coleções hídricas de Salvador, Bahia, Brasil. / Vanessa Sousa Zanardi. - 2018.

78 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular.

Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, 2018.

1. *S. mansoni*. 2. Esquistossomose. 3. *Biomphalaria glabrata*. 4. Epidemiologia. I. Título.

CDU 616.995.122

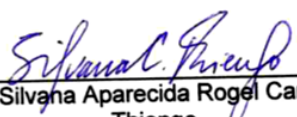
Título da Dissertação: "PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO DE *BIOMPHALARIA GLABRATA* INFECTADOS POR *SCHISTOSOMA MANSONI* EM COLEÇÕES HÍDRICAS DE SALVADOR, BAHIA - BRASIL"

VANESSA SOUSA ZANARDI

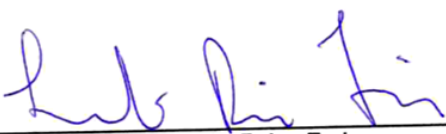
FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 16 de maio de 2018

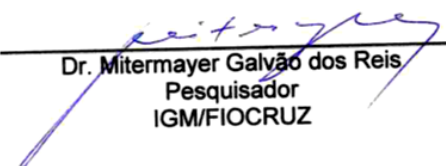
COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Silvana Aparecida Rogel Carvalho
Thiengo
Pesquisadora
IOC/FIOCRUZ



Dr. Leonardo Paiva Farias
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ



Dr. Mitermayer Galvão dos Reis
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade e força.

Aos meus pais, Clorismar Zanardi e Nivaldo Zanardi, pelo carinho, amor e suporte incondicionais durante todos os momentos marcantes da minha vida.

Ao meu grande companheiro, Almir Fucs, pela compreensão, companheirismo, alegria e amor durante todo o meu mestrado.

Ao meu orientador, Professor Dr^o Mitermayer Galvão do Reis pela sabedoria, pelos conhecimentos compartilhados e pelas orientações durante a elaboração do meu trabalho.

Ao Professor Dr^o Ronald Blanton pela paciência em ensinar, pelo suporte nos momentos necessários e pelo senso de humor.

Ao meu co-orientador, Professor Dr^o Lúcio Macedo Barbosa, pelo apoio desde minha trajetória na faculdade, pelos ensinamentos, por fazer nosso grupo de pesquisa mais alegre e por me ouvir quando precisei.

Ao Centro de Controle de Zoonoses do Município de Salvador, pela colaboração durante a construção deste trabalho; em especial à equipe do Programa de Controle da Esquistossomose: Fabiano Simões, Geruza Morais e a Ana Virgínia Rocha.

A todos do Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz pelo acolhimento durante meu treinamento e pelos ensinamentos na área de malacologia, em especial Dr^a Silvana Thiegnó e a Dr^a Mônica Ammon.

A Dr^a Theomira Azevedo pelo apoio e pelo entusiasmo em compartilhar seus ensinamentos.

Ao Professor Dr^o Luciano Kalabric Silva, pela paciência e sugestões durante meu mestrado.

Ao Dr^o Hudson Pinto pelos ensinamentos no vasto mundo das larvas de trematódeos.

A todos os colegas do grupo de Esquistossomose do LPBM por terem sido muito mais que um grupo de pesquisa.

A Cleiton Guimarães pelo suporte administrativo .

Aos meus colegas de mestrado, pelos momentos divididos juntos durante essa trajetória.

A Gilmar Ribeiro Junior pelas contribuições durante as coletas malacológicas e experimentos.

Aos colegas do LPBM e Instituto Gonçalo Moniz pelo suporte em meus experimentos.

Ao PRONEX pelo aprovação deste projeto.

A biblioteca pelas contribuições e correções deste trabalho.

ZANARDI, Vanessa Sousa. Prevalência de Infecção de *Biomphalaria glabrata* infectados por *Schistosoma mansoni* em Coleções Hídricas de Salvador, Bahia, Brasil. 78 f. il. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador; 2018.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A esquistossomose mansônica é uma doença tropical negligenciada (DTN) parasitária de transmissão hídrica causada por helmintos trematódeos do gênero *Schistosoma*. O estado da Bahia é considerado o segundo com maior área endêmica, incluindo o município de Salvador. A esquistossomose é transmitida por caramujos gastrópodes do gênero *Biomphalaria*, sendo *B. glabrata* considerada a principal espécie transmissora da esquistossomose no Brasil. A distribuição geográfica de *Biomphalaria* está diretamente relacionada com a distribuição da esquistossomose. As informações atualizadas acerca das populações de caramujos deste gênero contribuem para as ações de vigilância e controle para esquistossomose. **OBJETIVO:** O presente estudo visou avaliar as populações de *Biomphalaria glabrata* em coleções hídricas do município de Salvador para determinar a prevalência de infecção por *S. mansoni*, caracterizar as populações de cercárias, bem como descrever a distribuição de *B. glabrata* e identificar os focos de transmissão de esquistossomose mansônica neste município. **MATERIAL E MÉTODOS:** As coletas malacológicas foram realizadas entre junho e dezembro de 2017 em 17 coleções hídricas distribuídas nos Distritos Sanitários de Salvador, sendo empregado o método de Oliver e Schneiderman (1956). A identificação morfológica dos caramujos foi realizada a partir da observação das características da concha e do manto. Para a avaliação da infecção por *S. mansoni* foi empregada a técnica de exposição a luz realizada semanalmente no período de 30 dias. Adicionalmente, a avaliação da infecção foi realizada em 626/730 caramujos pela técnica de reação em cadeia polimerase em tempo real (qPCR) com primer específicos para a região 18S rRNA do *S. mansoni*. **RESULTADOS:** Foram coletados 1,403 *B. glabrata*. Ao final das análises no período de 30 dias, 730 caramujos continuaram vivos. Cinco caramujos foram positivos no teste de eliminação clássica, com uma taxa de infecção de 1,9% e 5,5% na Lagoa do IAT e na Horta de Saramandaia, respectivamente. Foram observadas outras larvas de trematódeos em 3,2% dos caramujos, sendo elas as Xifidiocercárias, Strigeidae, Spirorchiidae e Clinostomidae. Na análise por qPCR, 39 caramujos foram positivos para *S. mansoni*, com uma taxa de positividade variando por coleção hídrica entre 2% (2/100) e 43,4% (10/28). **CONCLUSÕES:** Esses resultados demonstram que *B. glabrata* está amplamente distribuído na cidade de Salvador, com áreas com potencial risco de transmissão para esquistossomose. A técnica de qPCR teve uma boa sensibilidade e pode ser utilizada para complementar o teste de eliminação clássica. Vale destacar que estimar a prevalência de infecção por *S. mansoni* em caramujos apenas levando em consideração o teste de eliminação clássica, pode subestimar o problema.

Palavras-chave: *S. mansoni*; esquistossomose; *Biomphalaria glabrata*; epidemiologia

ZANARDI, Vanessa Sousa. Prevalence of Infection of *Biomphalaria glabrata* infected by *Schistosoma mansoni* in water collections of Salvador, Bahia, Brazil. 78 f. il. Dissertation (Master's degree in Patology). Federal University of Bahia. Oswaldo Cruz Foundation, Gonçalo Moniz Institute, Salvador; 2018.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Schistosomiasis is a neglected parasitic tropical disease (NTD) transmitted by contact with fresh water contaminated with larvae of the trematode parasite of the genus *Schistosoma*. The state of Bahia is considered the second with the largest endemic area, including the municipality of Salvador. Schistosomiasis is transmitted by gastropod snails of the genus *Biomphalaria*, being *B. glabrata* considered the main species that transmits schistosomiasis in Brazil. The geographical distribution of *Biomphalaria* is directly related to the distribution of schistosomiasis. Updated information about snail populations of this genus contribute to surveillance and control actions for schistosomiasis. **AIM:** The present study aimed to evaluate the populations of *Biomphalaria glabrata* in water collections in the city of Salvador to determine the prevalence of *S. mansoni* infection, to characterize the populations of cercariae, as well as describe the distribution of *B. glabrata* and to identify the foci of transmission of schistosomiasis in this municipality. **MATERIAL AND METHODS:** The malacological collections were carried out between June and December 2017 in 17 water collections distributed in the Sanitary Districts of Salvador, using the method of Oliver and Schneiderman (1956). Morphological identification of snail species was performed observing characteristics of the shell and mantle. Snails were evaluated for *S. mansoni* infection by exposure to light performed weekly in the period of 30 days. **RESULTS:** We collected *B. glabrata* 1,403 snails. At the end of the analysis within 30 days, 730 snails continued alive, which were analyzed by exposure to light. Additionally, evaluation of the infection was performed in 626/730 snails by the quantitative real time polymerase chain reaction (qPCR) with *S. mansoni*-specific primers targeting the 18S rRNA. Five snails were positive by classical cercarial shedding, with infection rates of 1.9% and 5.5% in Lagoa do IAT and Horta de Saramandaia, respectively. Non-*Schistosoma* larvae were observed in 3,2% of the snails, being the *Xiphidiocercaria*, *Strigeidae*, *Spirorchiidae* and *Clinostomidae*. However, the qPCR analysis, detected *S. mansoni* in 39 snails, indicating a positivity rate ranging by water collection between 2% to 43,4%. **CONCLUSIONS:** These results demonstrate that *B. glabrata* is widely distributed in the city of Salvador, with areas with transmission risk to schistosomiasis. qPCR technique had a greater sensitivity and can be used to complement the light exposition method. It's worth to point out that estimating the prevalence of *S. mansoni* in snails only taking into account the classical elimination may underestimate the problem.

Keywords: *S. mansoni*; schistosomiasis; *Biomphalaria glabrata*; epidemiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Mapa da distribuição mundial da esquistossomose segundo prevalência.....	13
Figura 2	Distribuição da esquistossomose no Brasil, de acordo com a faixa de positividade entre 2010 e 2015.....	15
Figura 3	Distribuição da esquistossomose por área de risco no estado da Bahia.....	16
Figura 4	Ciclo biológico de <i>S. mansoni</i>	18
Figura 5	<i>Biomphalaria</i>	20
Figura 6	Concha de <i>B. glabrata</i>	24
Figura 7	Estruturas morfológicas internas de <i>B. glabrata</i>	24
Figura 8	Distribuição de <i>B. glabrata</i> no Brasil.....	25
Figura 9	Concha de <i>B. tenagophila</i>	26
Figura 10	Estruturas morfológicas internas de <i>B. tenagophila</i>	26
Figura 11	Distribuição de <i>B. tenagophila</i> no Brasil.....	27
Figura 12	Concha de <i>B. straminea</i>	28
Figura 13	Estruturas morfológicas internas de <i>B. straminea</i>	28
Figura 14	Distribuição de <i>B. straminea</i> no Brasil.....	29
Figura 15	Localização da área de estudo, estado da Bahia, com destaque para o município de Salvador.....	32
Figura 16	Distribuição geográfica dos Distritos Sanitários de Salvador.....	33
Figura 17	Separação do corpo mole da concha de <i>B. glabrata</i>	37
Figura 18	Região cefalopodal de <i>Biomphalaria spp.</i>	37
Figura 19	Fluxograma das etapas envolvidas na avaliação da infecção por larvas de trematódeos e identificação morfológica de <i>Biomphalaria ssp.</i>	38
Figura 20	Distribuição dos pontos de coleta de acordo com os Distritos Sanitários de Salvador.....	40

Figura 21	Panorama das coleções hídricas por Distrito Sanitário em Salvador.....	43-45
Figura 22	Manto de <i>Biomphalaria glabrata</i> , ressaltando as estruturas morfológicas do tubo e crista renal.....	46
Figura 23	Distribuição das coleções hídricas em que foram encontrados caramujos <i>Biomphalaria</i>	47
Figura 24	Larvas de trematódeos encontradas em <i>B. glabrata</i> (A) <i>S. mansoni</i> , (B1) Cercária Lutzii; (B2,3) Cercária Santense, (C) Clinostomidae, (D) Spirorchiidae e (E) Strigeidae.....	50
Figura 25	Comparação entre a porcentagem de caramujos positivos no Teste de Eliminação Clássica e qPCR.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Espécies do gênero <i>Biomphalaria</i> encontradas no Brasil	23
Tabela 2	Coleções hídricas selecionadas para coleta de <i>Biomphalaria</i> de acordo com o Distrito Sanitário, bairro e ano de positividade para <i>S. mansoni</i>	34
Tabela 3	Caracterização dos pontos de coleta de acordo com o distrito sanitário, tipo de coleção hídrica, contaminação ambiental e presença de vegetação	42
Tabela 4	Total de <i>B. glabrata</i> por coleção hídrica, quantidade e percentagem (%) de caramujos vivos após 30 dias de manutenção no moluscário	48
Tabela 5	Tipos cercarianos encontrados em exemplares de <i>Biomphalaria glabrata</i> nas coleções hídricas de Salvador	51
Tabela 6	Sensibilidade e especificidade do qPCR em relação ao teste clássico de eliminação de cercárias	52
Tabela 7	Taxa de infecção obtidas no qPCR e no teste de eliminação clássica nas amostras de <i>B. glabrata</i> sobreviventes	54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. A ESQUISTOSSOMOSE	12
1.2. CICLO BIOLÓGICO DO PARASITA E ASPECTOS CLÍNICOS DA ESQUISTOSSOMOSE.....	16
1.3. OS CARAMUJOS DO GÊNERO <i>BIOMPHALARIA</i>	20
1.4. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES <i>BIOMPHALARIA</i> NO BRASIL.....	23
2. JUSTIFICATIVA	30
3. OBJETIVOS	31
3.1. OBJETIVO GERAL	31
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4. MATERIAL E METÓDOS	32
4.1. ÁREA DE ESTUDO	32
4.2. SELEÇÃO DOS PONTOS DE COLETA	33
4.3. COLETA DE MOLUSCOS	35
4.4. AVALIAÇÃO DA INFECÇÃO POR LARVAS DE TREMATÓDEOS E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS CARAMUJOS	36
4.5. EXTRAÇÃO DE DNA E REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL	39
5. RESULTADOS	40
5.1. DISTRIBUIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS COLEÇÕES HÍDRICAS	40
5.2. COLETA E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS CARAMUJOS	46
5.3. LARVAS DE TREMATÓDEOS ENCONTRADAS EM <i>B. GLABRATA</i>	49
5.4. DETECÇÃO MOLECULAR DE <i>S. MANSONI</i> EM <i>B. GLABRATA</i>	51
6. DISCUSSÃO	55
7. CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	65

1. INTRODUÇÃO

1.1. A ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose, também conhecida como “barriga d’água” é uma doença tropical negligenciada (DTN) parasitária de transmissão hídrica causada por parasitas trematódeos do gênero *Schistosoma* (GRIMES et al., 2015). Diversos parasitas deste gênero apresentam relevância epidemiológica e capacidade de parasitar o homem. Entre eles, o *S. hematobium* (Bilharz, 1851), que causa a forma urinária da esquistossomose na África e na península Arábica, o *S. japonicum* (Katsurada, 1904), a qual é encontrada apenas na Ásia (principalmente nas Filipinas e China), causando a forma intestinal e hepatoesplenênica, as espécies *S. intercalatum* (Fisher, 1934) e *S. mekongi* (Voge, Bruckner e Bruce, 1978), as quais possuem relevância médica nos países da África Central e no Sudoeste Asiático, respectivamente, causando a esquistossomose intestinal. Por último o *S. mansoni* (Sambon, 1907), que representa a única espécie encontrada no Brasil que é responsável pela a esquistossomose mansônica intestinal e hepática nos países da África, Península Arábica e América do Sul (GRYSEELS, 2012; KATZ; ALMEIDA, 2003).

Historicamente, a primeira identificação e descrição de ovos com a presença de espícula lateral e terminal ocorreu em 1852, a partir das observações feitas por Theodor Bilharz (PRATA, 2008a). Alguns anos depois, em 1902, o médico inglês Patrick Manson em Londres examinou um inglês que viveu na Índia Ocidental, e observou a presença de ovos com espícula lateral apenas nas fezes e ausente na urina (KATZ, 2008). Apesar das observações feitas acerca da posição das espículas terem sido significativas e levantarem a hipótese de uma nova espécie; na mesma época, o helmintologista Arthur Looss questionava essas observações, alegando que os ovos com espículas laterais eram apenas formas inférteis do *S. haematobium*. Dentro dessas circunstâncias históricas, no Brasil, Pirajá da Silva em 1904, havia encontrado anteriormente nas fezes de pacientes do Hospital Santa Izabel a presença de ovos com a espícula lateral com as mesmas características descritas por Manson (PIRAJÁ, 1908a). Além disso, Pirajá havia descrito morfológicamente vermes adultos acasalados e a presença de ovos com espícula lateral no interior da fêmea, os quais foram obtidos a partir de autopsias realizadas em pacientes com esquistossomose. Logo, as observações feitas por Pirajá permitiram a descrição completa do parasito em questão, demonstrando de forma inequívoca que se tratava de uma nova espécie de *Schistosoma* (PIRAJÁ, 1908b).

Atualmente, a esquistossomose mansônica é considerada a segunda doença parasitária com maior prevalência e a terceira com maiores impactos socioeconômicos e de importância em saúde pública (JONG, 2012; MOREIRA; ZANI; ALVES, 2010; CDC, 2016; ELBAZ, 2013). Apesar da contínua implementação de medidas de controle para a esquistossomose, a Organização Mundial de Saúde estima que esta doença afeta cerca de 240 milhões de indivíduos em todo o mundo e mais de 700 milhões vivem em regiões endêmicas sob risco de contaminação (STEINMANN et al., 2006; WHO, 2016). Ademais, a esquistossomose é considerada endêmica em 74 países, representando a terceira causa de morbidade nos países em desenvolvimento na África, América do Sul, Caribe, Oriente Médio e Ásia (OLVEDA et al., 2013). A Figura 1 representa a distribuição da esquistossomose em todo mundo, levando-se em consideração sua prevalência.

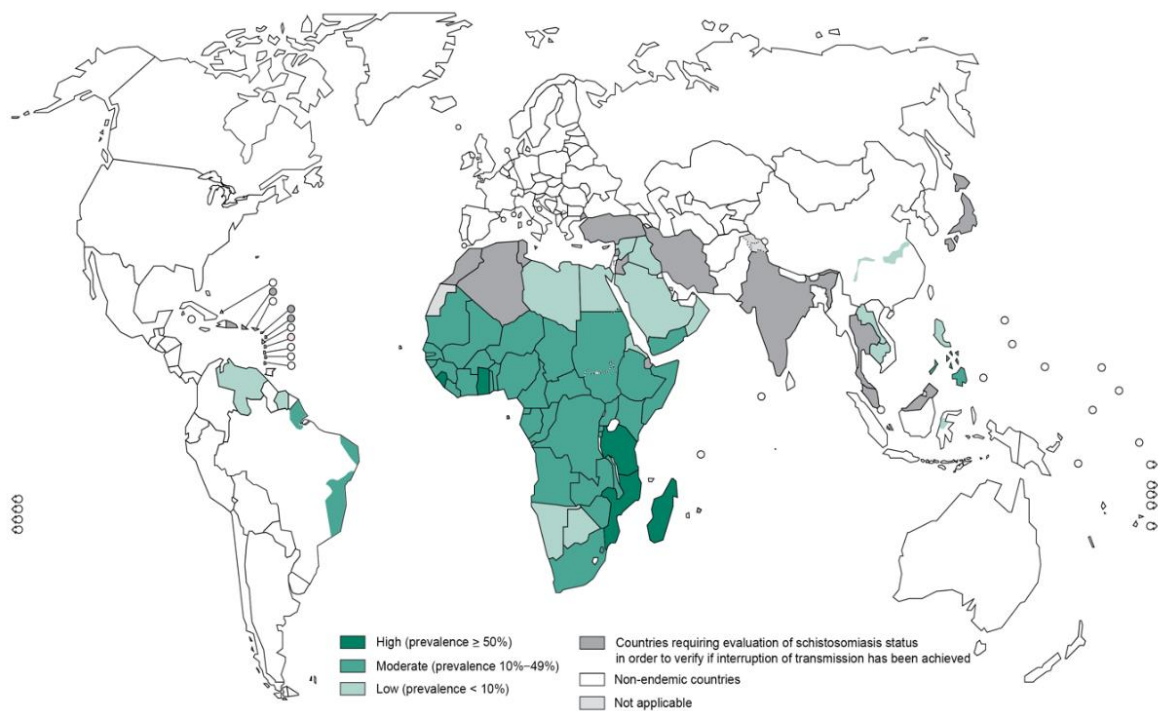


Figura 1: Mapa da distribuição mundial da esquistossomose segundo a prevalência (Fonte: WHO (2012)).

Até o momento só existem relatos da presença da espécie *S. mansoni* no Brasil, sendo esta transmitida por caramujos do gênero *Biomphalaria*, mais especificadamente por três espécies de hospedeiros intermediários naturais: o *Biomphalaria glabrata* (SAY, 1818), *Biomphalaria tenagophila* (ORBIGNY, 1835) e *Biomphalaria straminea* (DUNKER, 1848), as quais encontram-se amplamente distribuídas geograficamente em todo o território nacional. Acredita-se que a esquistossomose tenha sido introduzida no Brasil a partir do tráfico de escravos provenientes da África, consolidando-se inicialmente na região Nordeste. Previamente, a esquistossomose mansônica era considerada uma doença restrita às áreas rurais. Entretanto, sua distribuição territorial no Brasil acompanhou os intensos fluxos migratórios de pessoas das áreas endêmicas rurais para as zonas urbanas (BRASIL, 2014a; KATZ; ALMEIDA, 2003). Estas, localizaram-se em regiões precárias de saneamento básico e políticas de saúde pública, que juntamente com a ampla distribuição do hospedeiro intermediário, bem como o processo de urbanização desordenada, favoreceram a manutenção e expansão territorial da doença através do estabelecimento de focos de transmissão para esquistossomose (MELO, 2011).

No Brasil, a esquistossomose mansônica ainda é considerada um grave problema de saúde pública, visto que se encontra presente em todo o território nacional, afetando cerca de 7 milhões de pessoas. Além disso, estima-se que mais de 30 milhões vivam em áreas de risco para esquistossomose (LEAL et al., 2012; SARVEL et al., 2011; WHO, 2010). As principais áreas endêmicas no Brasil estão localizadas na região Nordeste, compreendendo os estados da Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte (região litorânea), e na região Sudeste, nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo. Nos estados do Pará, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e no Distrito Federal, a transmissão da esquistossomose é focal e de baixa intensidade (Figura 2). No total, a transmissão da esquistossomose no Brasil é observada em 19 unidades federativas (BRASIL, 2014).

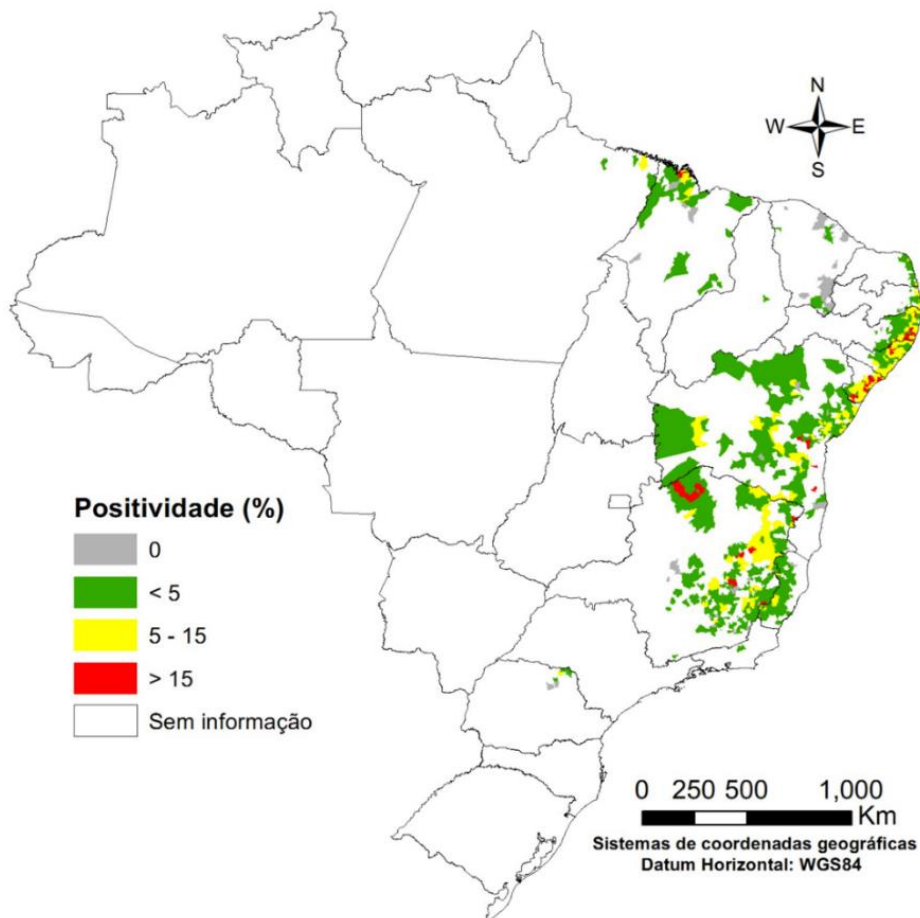


Figura 2: Distribuição da esquistossomose no Brasil, de acordo com a faixa de positividade, entre 2010 e 2015 (Fonte: Ministério da Saúde, 2014).

Dentre os estados endêmicos para esquistossomose, a Bahia é o segundo com maior área endêmica, estando presente em 251 dos 417 municípios e com uma prevalência aproximada de 5,4% (BRASIL, 2011). Destes, a esquistossomose possui um caráter endêmico em 167 (40%) (incluindo a cidade de Salvador), 122 (29,3%) possuem transmissão focal e 128 (30,7%) são indenes para transmissão da esquistossomose (DIVEP-SUVISA, 2018). A Figura 3 mostra a distribuição dos municípios do estado da Bahia de acordo com o grau de risco de transmissão para esquistossomose.

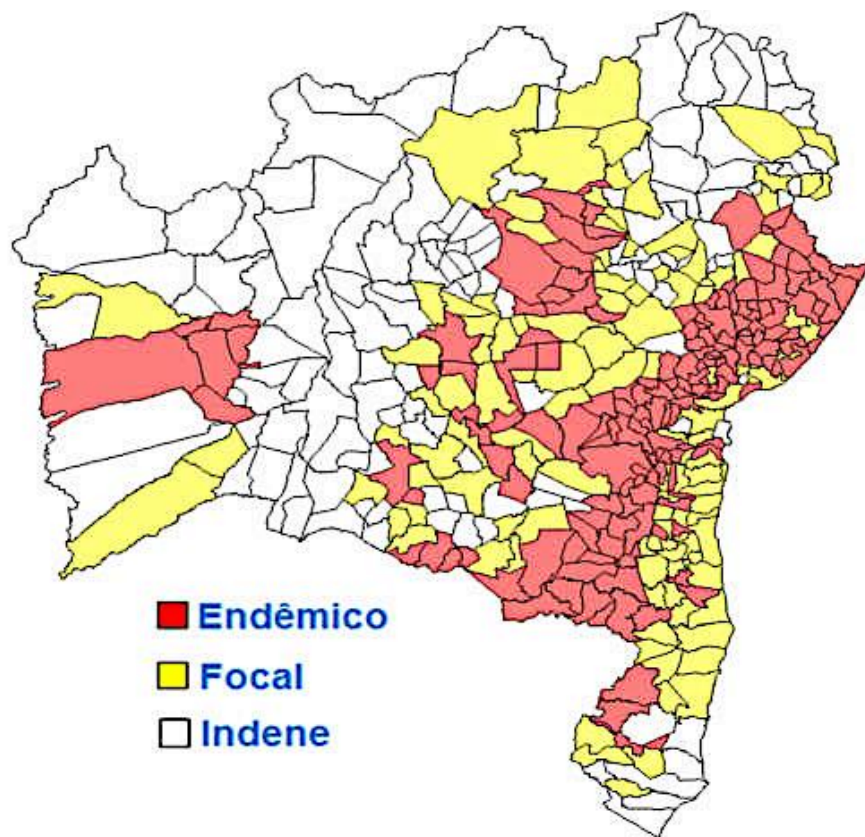


Figura 3: Distribuição da esquistossomose por área de risco no estado da Bahia (Fonte: DIVEP, 2018)

1.2. CICLO BIOLÓGICO DO PARASITA E ASPECTOS CLÍNICOS DA ESQUISTOSSOMOSE

A transmissão da esquistossomose humana ocorre pelo contato do homem com águas com caramujos infectados pelo parasito. O ciclo biológico do *S. mansoni* é do tipo heteroxênico, ocorrendo alternadamente em um hospedeiro intermediário, os caramujos do gênero *Biomphalaria*, onde ocorre a reprodução assexuada e um hospedeiro vertebrado definitivo, principalmente o homem, no qual a reprodução é sexuada (LEWIS; TUCKER, 2014).

O ciclo biológico do *S. mansoni* (Figura 4) tem início quando ovos maduros contendo o parasita presente nas fezes de indivíduos contaminados, entram em contato com a água, e por estímulos como luz e temperatura, os ovos eclodem e liberam os miracídeos (forma larval).

Devido à presença de cílios e do quimiotropismo pelas substâncias miraxonais liberadas por *Biomphalaria*, os miracídios são capazes de se movimentarem ativamente por um período de 6 a 12 horas e penetrarem nos caramujos, preferencialmente na região do pé e base do tentáculo. O processo de penetração ocorre entre 10 a 15 minutos, e após esse processo, os miracídios sofrem diversas alterações até transformarem-se em uma estrutura contendo as células germinativas. Estas, iniciam o processo de multiplicação e transformam-se em esporocistos I, que posteriormente, através de poliembrionia, irão dar origem aos esporocistos II. Estes, migram para as glândulas digestivas e ovotéstis do caramujo, levando a formação das cercárias cerca de 4 a 6 semanas após a penetração dos miracídios (GRYSEELS et al., 2006; INOBAYA et al., 2014).

As cercárias representam a forma infectante para hospedeiro definitivo e são liberadas na água por meio de vesículas formadas no tegumento do caramujo e por estímulos luminosos, podendo sobreviver no ambiente aquático por até 72 horas. Assim como os miracídios, as cercárias possuem um quimiotropismo por alguns ácidos graxos como o ácido linoleico e aminoácidos como arginina, as quais facilitam sua penetração no hospedeiro definitivo através das mucosas e pele. O processo de penetração é diretamente influenciado pela etapa de adesão e fixação das cercárias, bem como pela secreção de enzimas proteolíticas. Durante o processo de penetração, as cercárias perdem a cauda, alteram seu metabolismo energético (respiração anaeróbica) e reorganizam seu tegumento, sendo denominadas de esquistossômulos. Estes, são transportados em direção ao pulmão pela via sanguínea ou transtissular, sendo encontrados nesse local entre 5 a 12 dias após a penetração cercariana (INGRAM et al., 2003). Após 17 dias, os esquistossômulos chegam ao sistema porta, onde ocorrerá o desenvolvimento dos vermes adultos (LENZI et al., 2008). No 27º dia, os vermes adultos acasalados migram para região do plexo mesentérico, e a oviposição ocorre cerca de 40 dias após a penetração das cercárias (COELHO; MELO, 2005; SATANA; GOMES, 2011). A fêmea do *S. mansoni* libera entre 150 e 300 ovos/dia, os quais são encontrados nas fezes após 40 dias. Parte desses ovos caem na luz intestinal e são eliminados nas fezes, completando assim o ciclo evolutivo do parasito. Entretanto, outra parte dos ovos ficam retidos na parede intestinal ou são carregados pela circulação portal em direção ao fígado, onde também podem ficar retidos nos pequenos espaços da veia porta (LENZI et al., 2008).

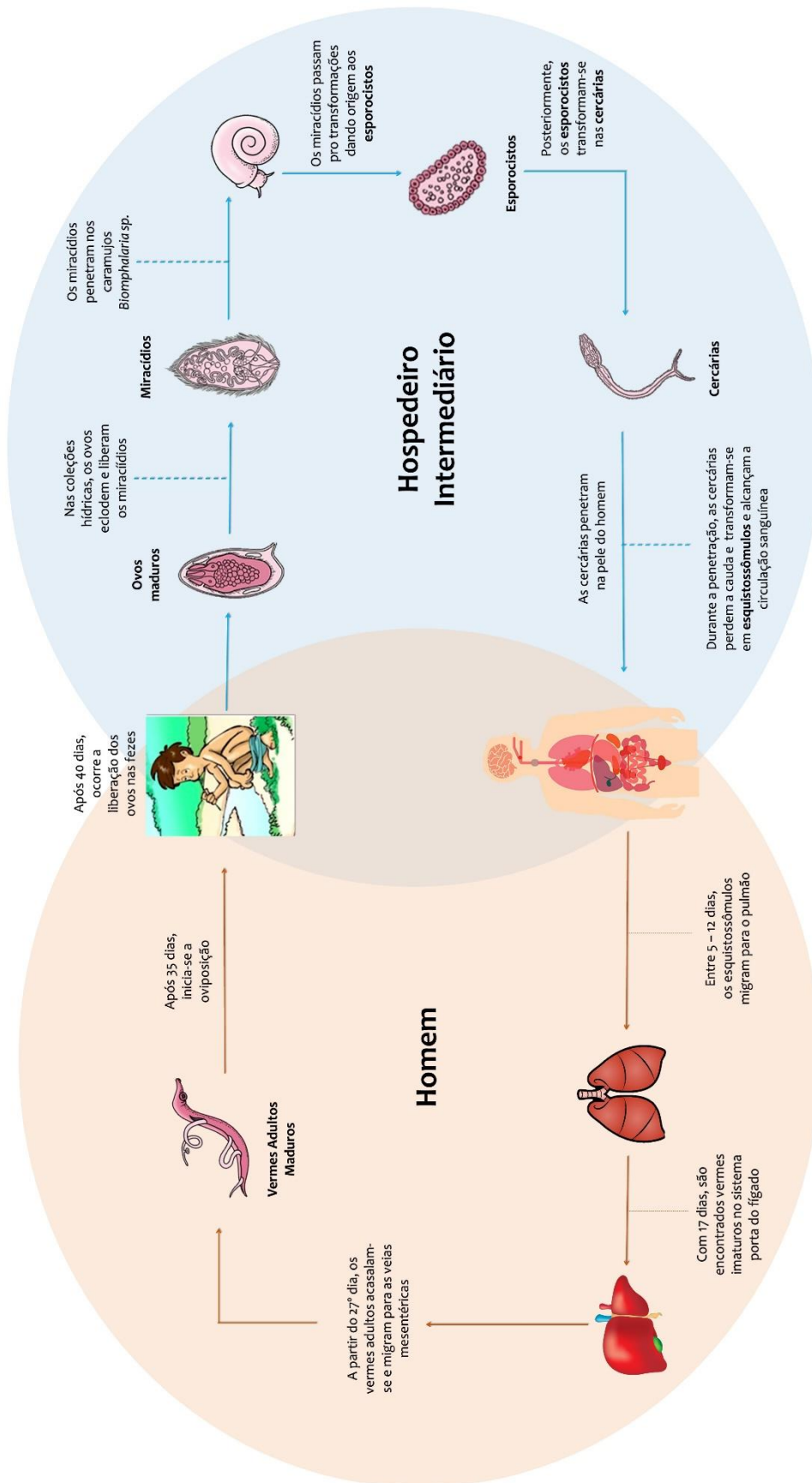


Figura 4: Ciclo biológico de *S. mansoni* (Fonte: Autores)

As manifestações clínicas da esquistossomose mansônica variam conforme a intensidade de infecção. Clinicamente, a infecção por *S. mansoni* pode ser classificada em fase aguda e crônica. A fase aguda inicia-se entre 24 a 72 horas após a penetração cercariana e é normalmente conhecida como dermatite cercariana ou fase aguda pré-postural (não são encontrados ovos nas fezes). Nessa fase, devido uma reação de hipersensibilidade ao processo de entrada das cercárias, há a presença de manifestações cutâneas pruriginosas acompanhadas de edema e eritema. A dermatite cercariana some entre 7 a 10 dias após a penetração cercariana. Algumas semanas ou meses após o contato inicial com as cercárias, pode ocorrer uma intensa reação de hipersensibilidade, denominada de febre de Katayama em resposta a migração dos esquistossômulos e posturas dos ovos (ROSS et al., 2007). Nesse estágio, os sinais e sintomas tornam-se mais intensos, e é frequentemente observado febre elevada, calafrios, mialgia, tosse seca e dores abdominais. Entretanto, na maioria dos casos, a fase aguda manifesta-se de forma assintomática, principalmente nos residentes de áreas endêmicas, e por isso, os sinais e sintomas são mais observados em infecções primárias (JAURÉGUIBERRY; PARIS; CAUMES, 2010).

Após o período da fase aguda, a esquistossomose mansônica pode evoluir para a forma crônica, a qual ocorre devido a resposta imune às enzimas proteolíticas e aos produtos da excreção e secreção liberados pelos miracidios presentes ovos retidos nos tecidos, induzindo uma reação inflamatória do tipo granulomatosa. Clinicamente, a esquistossomose crônica manifesta-se de diferentes formas, sendo elas: a forma crônica habitual ou discreta, que envolve a forma intestinal e hepatointestinal, e a forma crônica grave ou avançada, denominada hepatoesplênica (GRYSEELS, STRICKLAND et al., 2013).

A maior parte dos pacientes encontra-se nas formas clínicas discretas, as quais são caracterizadas pela presença de ovos viáveis nas fezes, podendo ser assintomáticos ou com sintomas discretos e inespecíficos. Dentre as formas clínicas nesse estágio da esquistossomose, há a forma intestinal que se caracteriza pela presença de diarreia (com ou sem sangue), emagrecimento, dores abdominais e perda de apetite, e a forma hepatointestinal, que se diferencia da forma intestinal pela presença de uma discreta hepatomegalia, notadamente no lobo esquerdo do fígado (VITORINO et al., 2012).

A fase crônica avançada da esquistossomose, denominada de hepatoesplênica é caracterizada pela fibrose hepática periportal (fibrose de Symmers) decorrente do depósito progressivo de colágeno, o qual se expande ao longo do tecido hepático e obstrui o sistema da veia porta, que pode vir acompanhada de lesões obstrutivas e destrutivas. Nesse estágio, observa-se a hipertensão portal associada com a esplenomegalia, bem como a presença de varizes no esôfago (PRATA; COURA et al., 2008b).

Além das formas clínicas descritas acima, a esquistossomose mansônica pode ter as formas ectópicas, as quais ocorrem quando o parasito se localiza em regiões atípicas, ou seja, fora do sistema porta-hepático. Dentre elas, destaca-se a neuroesquistossomose, sendo considerada a forma mais grave, uma vez que leva ao comprometimento do sistema nervoso, seja pela presença de ovos dos de *S. mansoni* ou pela deposição de complexos imunes (FERRARI, 2008; FILHO et al., 2015). Outros exemplos de formas ectópicas são a forma vasculopulmonar, miocárdica, esofágica, gástrica e geniturinária. (ANDRADE, 2008).

1.3. OS CARAMUJOS DO GÊNERO *BIOMPHALARIA*

Os hospedeiros intermediários de relevância epidemiológica para a esquistossomose pertencem ao gênero *Biomphalaria*, classe Gastropoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommatophora. Os moluscos desse gênero apresentam dois tentáculos longos e filiformes, com os olhos localizados na base dos tentáculos pés oblongos (pés são mais compridos do que largos) (Figura 5). Além disso, a região da boca é contornada pela mandíbula, que normalmente possui um formato de T quando vista de frente (BRASIL, 2008b).

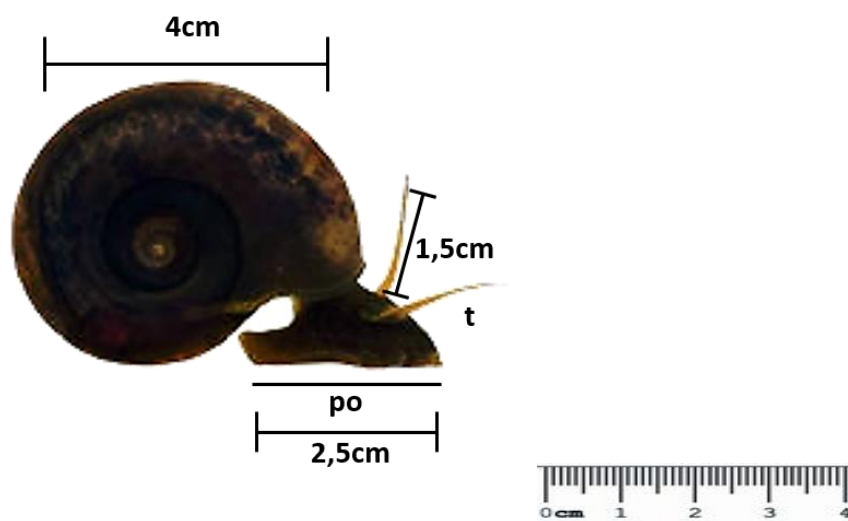


Figura 5: *Biomphalaria* (Fonte: <http://www.functionalglycomics.org/fg/update/2010>, (po) pé oblongo e (t) tentáculo. Escala: 4mm

Acerca das suas características conquiliológicas, esta possui formato planispiral, com orientação sinistrógira, com diâmetro que pode variar entre 7mm a 40mm. A coloração natural da concha é amarelo-palha, que pode variar de acordo com as condições ambientais, adquirindo

uma coloração mais escura (JARNE; POINTIER; DAVID, 2011; PARAENSE, 2008). A concha possui função protetora, sendo constituída por sais de cálcio, principalmente o carbonato de cálcio. Estes sais são obtidos a partir da alimentação do molusco, sendo armazenados nas glândulas digestivas. Posteriormente, são transportados pelo sangue até a região do manto, onde são convertidos em carbonatos. Além da proteção externa, a concha é responsável pela proteção dos órgãos internos, os quais são envolvidos por uma cavidade denominada de manto (REY, 2011).

O sistema circulatório desses moluscos é formado pelo coração, o qual é responsável pela circulação da hemolinfa. A associação dos fatores humorais presentes na hemolinfa com os hemócitos (células de defesa) são responsáveis pela defesa imunológica do molusco contra patógenos, interferindo diretamente na susceptibilidade ao *S. mansoni* (VASQUEZ; SULLIVAN, 2001; AZEVEDO, 2004). Outra característica anatômica importante é a presença da rádula que auxilia na raspagem dos substratos. Além disso, possuem um sistema digestivo completo capaz de digerir diversos tipos de substratos (RUPPER et al., 2005).

Apesar dos caramujos do gênero *Biomphalaria* possuírem uma respiração pulmonar, eles são capazes de obter oxigênio dissolvido na água através do seu tegumento, garantindo assim a sobrevivência em diversos tipos de ambientes (TELES; CARVALHO, 2008). Além disso, possuem um sistema nervoso bem desenvolvido com a presença de vários pares de glânglios e sua excreção é feita através de uma estrutura presente nos rins, denominadas de túbulo renal (BRASIL, 2008b).

Acerca da sua reprodução, os moluscos do gênero *Biomphalaria* são hermafroditas, tendo como órgãos hermafroditas a glândula ovoteste (produtora do óvulo e espermatozoide) e o ovispermiduto (canal de passagem dos gametas). Em condições ambientais, esses moluscos se reproduzem por reprodução cruzada, garantindo assim a variabilidade genética de seus descendentes. Entretanto, em condições adversas, como em períodos de seca, são capazes de realizar a autofecundação, garantindo a perpetuação da espécie (BRASIL, 2008a; TIBIRIÇA et al., 2011).

O habitat desses moluscos é bem diversificado, ocorrendo tanto em ambientes aquáticos lênticos quanto lóticos, tendo uma preferência por água doce de curso lento. São comumente encontrados em coleções hídricas naturais tais como córregos, lagoas, riachos e pântanos, bem como em coleções hídricas artificiais como canais de irrigação, valas de esgoto, reservatórios de água e até mesmo em pequenas poças. Nestes locais, observa-se a presença de uma vegetação macrófita, principalmente plantas herbáceas, as quais são fundamentais para a sobrevivência dos moluscos uma vez que servem tanto para a alimentação, servindo como substrato, bem

como para a proteção, amenizando a luz do sol e temperatura, e desempenham um papel relevante na deposição das desovas (BARON et al., 2013; STANDLEY et al., 2014).

Boa parte dos biótopos dos caramujos apresentam um pH entre 6,0 e 8,0; em águas com pH ácidos, os caramujos são incapazes de realizar a deposição de cálcio em suas conchas (BRASIL, 2008a). Além disso, são habitats ricos em matéria orgânica, pouca turbidez, luminosidade e uma temperatura média entre 20°C e 25°C. Com relação à alimentação, os moluscos alimentam-se dos substratos presentes em seu habitat como limo, o qual é rico em matéria orgânica, algumas algas e bactérias, o lodo, que possui sais minerais, bem como a vegetação local (BORGES, 2008). Apesar da ampla variedade de ambientes, comumente, os focos de transmissão ocorrem próximos às regiões peridomiciliares urbanas ou rurais, e apresentam características semelhantes, como baixo índice de desenvolvimento urbano e ausência de condições adequadas de saneamento básico (TELES; CARVALHO, 2008; KING, 2010).

Outro aspecto ecológico importante relacionado com caramujos do gênero *Biomphalaria* é a capacidade de sobrevivência em ambientes com condições desfavoráveis. Nessas condições, os caramujos retraem suas partes moles para dentro da concha para impedir os efeitos da dessecação (estratégia adaptativa para sobreviver fora da água). Nesse tipo de mecanismo, o caramujo sobrevive apenas com suas reservas alimentares, podendo acumular toxinas e com uma quantidade limitada de oxigênio. Logo, a sobrevivência dos caramujos em situações adversas está diretamente relacionada com a capacidade de conservar nutrientes e oxigênio. Além disso, nestas condições, os caramujos atingem um estado de anidrobiose (suspensão temporária das atividades metabólicas) e diapausa (estado permanente de dormência), podendo sofrer alterações morfológicas, tais como o espessamento da concha e diminuição da área de abertura da concha (PIERI; FAVRE, 2008; WHITE et al., 2007). As espécies do gênero *Biomphalaria* possuem capacidades distintas de adaptação em condições adversas, sendo a *B. straminea* a espécie com melhor capacidade de adaptação e a *B. tenagophila* a menor (CARVALHO et al., 2008a; TUAN, 2009).

1.4. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES *BIOMPHALARIA* NO BRASIL

O gênero *Biomphalaria* possuem 34 espécies identificadas, das quais 22 estão presentes nas Américas e 12 na África (JONG, 2001). No Brasil, até o momento foram descritas 11 espécies e uma subespécie, das quais três são consideradas hospedeiras naturais do *S. mansoni*, sendo elas *B. glabrata*, *B. tenagophila*, *B. straminea*. As *B. peregrina*, *B. amazônica* e *B. cousini* são espécies consideradas hospedeiras potenciais, podendo serem infectadas artificialmente em laboratório (BRASIL, 2008b; SCHOLTE et al., 2012) (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies do gênero *Biomphalaria* encontradas no Brasil

Hospedeiras Naturais	<i>Biomphalaria glabrata</i> (Say, 1818)
	<i>Biomphalaria tenagophila</i> (Orbigny, 1835)
	<i>Biomphalaria straminea</i> (Dunker, 1848)
Hospedeiras Potenciais	<i>Biomphalaria amazonica</i> (Paraense, 1966)
	<i>Biomphalaria peregrina</i> (Orbigny, 1835)
	<i>Biomphalaria cousini</i> (Paraense, 1966)
Não hospedeiras	<i>Biomphalaria intermedia</i> (Paranese & Deslandes, 1962)
	<i>Biomphalaria kuhniana</i> (Clessin, 1883)
	<i>Biomphalaria schrammi</i> (Crosse, 1864)
	<i>Biomphalaria oligoza</i> (Paraense, 1975)
	<i>Biomphalaria occidentalis</i> (Paraense, 1981)
	<i>Biomphalaria tenagophila guaibensis</i> (Paraense, 1984)

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2008b; TEODORO, 2009.

Dentre as espécies relacionadas com a transmissão da esquistossomose no Brasil, destaca-se *B. glabrata*, sendo considerada a principal espécie transmissora do *S. mansoni* no país, uma vez que apresenta uma maior susceptibilidade a infecção, possui ampla distribuição geográfica, plasticidade ecológica e alta potencialidade de transmissão (KNIGHT: ONGELE; LEWIS, 2000; SCHOLTE, 2012). Acerca das características gerais, *B. glabrata* possuem uma concha com coloração marrom escura, com giros arredondados, variando entre 5 e 7 giros que variam proporcionalmente de acordo com o diâmetro da concha, a qual pode chegar a 40mm de diâmetro e 8mm de largura (Figura 6) (BRASIL, 2008b).



Figura 6: Concha de *B. glabrata* (Fonte: (BRASIL, 2008).

A identificação dos moluscos *B. glabrata* é feita a partir da associação das características conquiliológicas e características morfológicas internas. Dentre essas características, a principal delas é identificar a presença da crista pigmentada sobre o tubo renal em espécimes adultos (Figura 7A), sendo que em espécimes mais jovens a crista pigmentada ainda não é formada, sendo observada apenas uma discreta linha pigmentada. Outra característica morfológica interna que se deve observar é a presença de uma bolsa vaginal bem definida no aparelho reprodutor (Figura 7B) (BRASIL, 2008b).

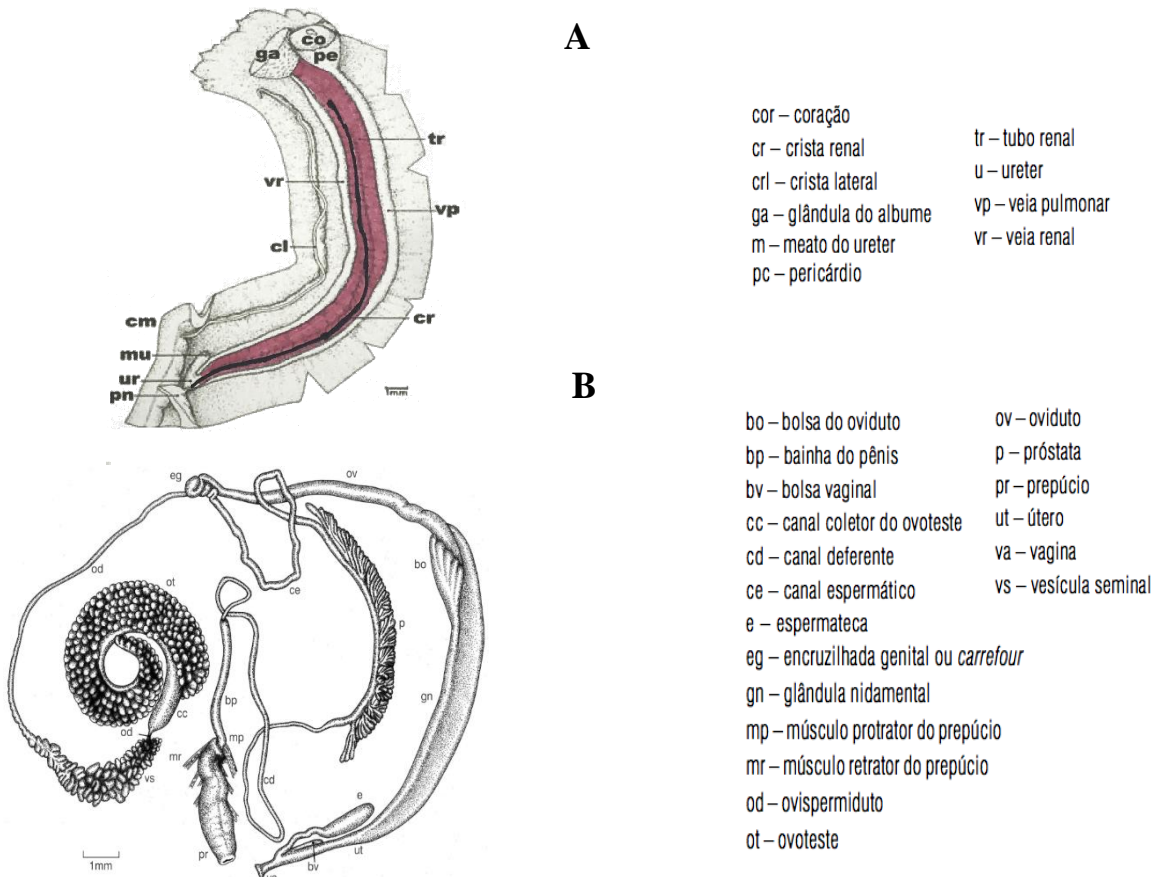


Figura 7: Estruturas morfológicas internas de *B. glabrata* (A) Manto rebatido e (B) Sistema reprodutor (Fonte: (BRASIL, 2008)

A distribuição de *B. glabrata* é a segunda mais intensa no país (CANTINHA, 2012; LEALNETO et al., 2013, MORGAN, 2001; PARAENSE, 2001), estando presente nos estados das regiões Nordeste, Sudeste e na parte norte da região Sul do Brasil (BRASIL, 2014a). Segundo CARVALHO (2008a) *B. glabrata* são encontrados em 16 estados brasileiros, sendo eles Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, São Paulo e Sergipe e Distrito Federal. A Figura 8 representa a distribuição de *B. glabrata* no Brasil.

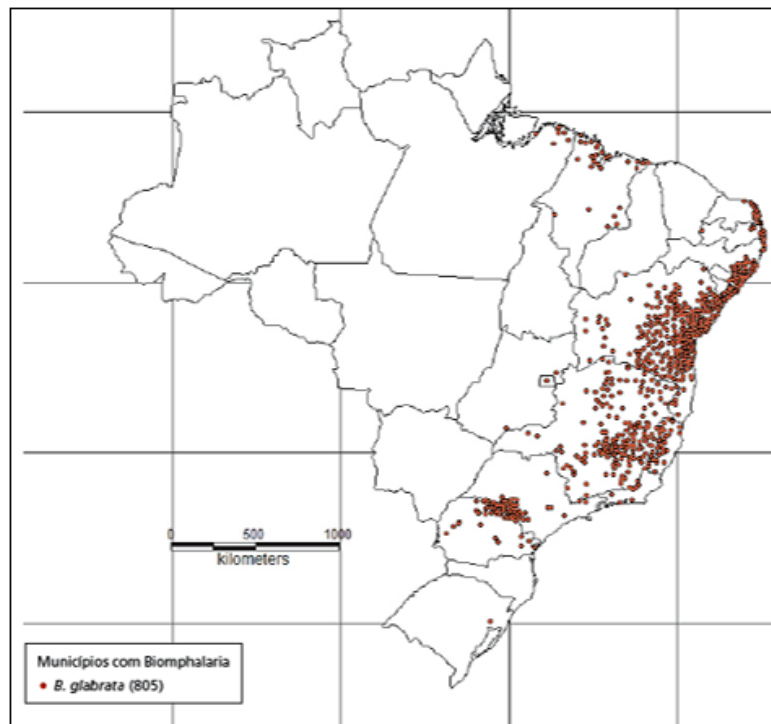


Figura 8: Distribuição de *B. glabrata* no Brasil (Fonte: BRASIL, 2008)

A segunda espécie de importância epidemiológica para transmissão da esquistossomose no Brasil é a *B. tenagophila*. Os exemplares desta espécie apresentam conchas grandes que podem chegar a 35mm de diâmetro e presença de até 8 giros carenados em ambos os lados, sendo estes mais acentuados a esquerda (Figura 9). Comumente, a presença da carena é apenas observada nesta espécie; entretanto, raramente também pode ser observada na espécie *B. glabrata* (BRASIL, 2008b).



Figura 9: Concha de *B. tenagophila* (Fonte: (BRASIL, 2008).

Assim como *B. glabrata*, as características conquiliológicas não são empregadas isoladamente para identificar a espécie *B. tenagophila*. Logo, para sua identificação também são observadas as características morfológicas internas, as quais são semelhantes à *B. glabrata*, diferindo apenas pela ausência da linha ou crista renal pigmentada (Figura 10A). Assim como em *B. glabrata*, é relevante observar no sistema reprodutor a presença de uma bolsa vaginal bem definida (Figura 10B) (BRASIL, 2008b; PARAENSE, 2008).

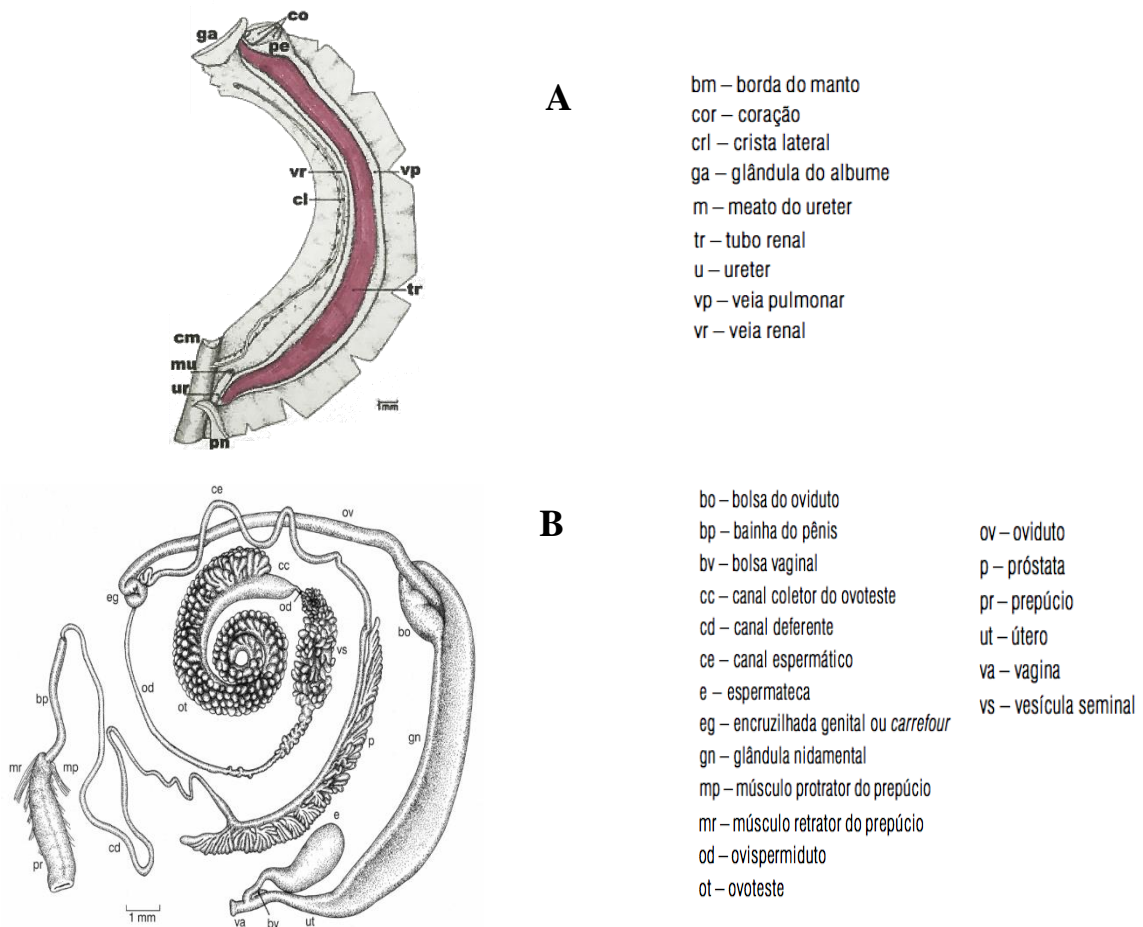


Figura 10: Estruturas morfológicas internas de *B. tenagophila* (A) Manto rebatido e (B) Sistema reprodutor (Fonte: (BRASIL, 2008)

A espécie *B. tenagophila* encontra-se distribuída em 10 estados brasileiros, principalmente nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, sendo eles Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Distrito Federal e São Paulo e é considerada a segunda espécie de importância epidemiológica para esquistossomose no Brasil (BRASIL, 2014a). Apesar de estar presente em toda faixa litorânea do país, a maior parte dos casos de esquistossomose nos estados da região Sul e Sudeste são atribuídos à essa espécie (TELES, 2005). A Figura 11 representa a distribuição de *B. tenagophila* no Brasil.



Figura 11: Distribuição de *B. tenagophila* (Fonte: (BRASIL, 2008))

Diferentemente das espécies anteriores, os moluscos *B. straminea* possuem uma concha menor, com cerca de 10mm a 16mm de diâmetro e até 4mm de largura, e com 5 giros arredondados que aumentam juntamente com o diâmetro (Figura 12). Outra característica importante é que o lado esquerdo da cocha apresenta uma concavidade mais dilatada do que o lado direito (BRASIL, 2008b).



Figura 12: Concha de *B. straminea* (Fonte: (BRASIL, 2008))

Acerca do aparelho genital, os moluscos *B. straminea* possuem como característica específica a presença de enrugamento vaginal (Figura 13A), sendo esta empregada como caracter diagnóstico para identificação da espécie, uma vez que as espécies *B. glabrata* e *B. tenagophila* apresentam uma bolsa vaginal no aparelho reprodutor. Adicionalmente, os planorbídeos *B. straminea* não apresentam a crista renal pigmentada sobre o tubo renal, sendo esta característica morfológica considerada relevante para a identificação da espécie (Figura 13B) (BRASIL, 2008b).

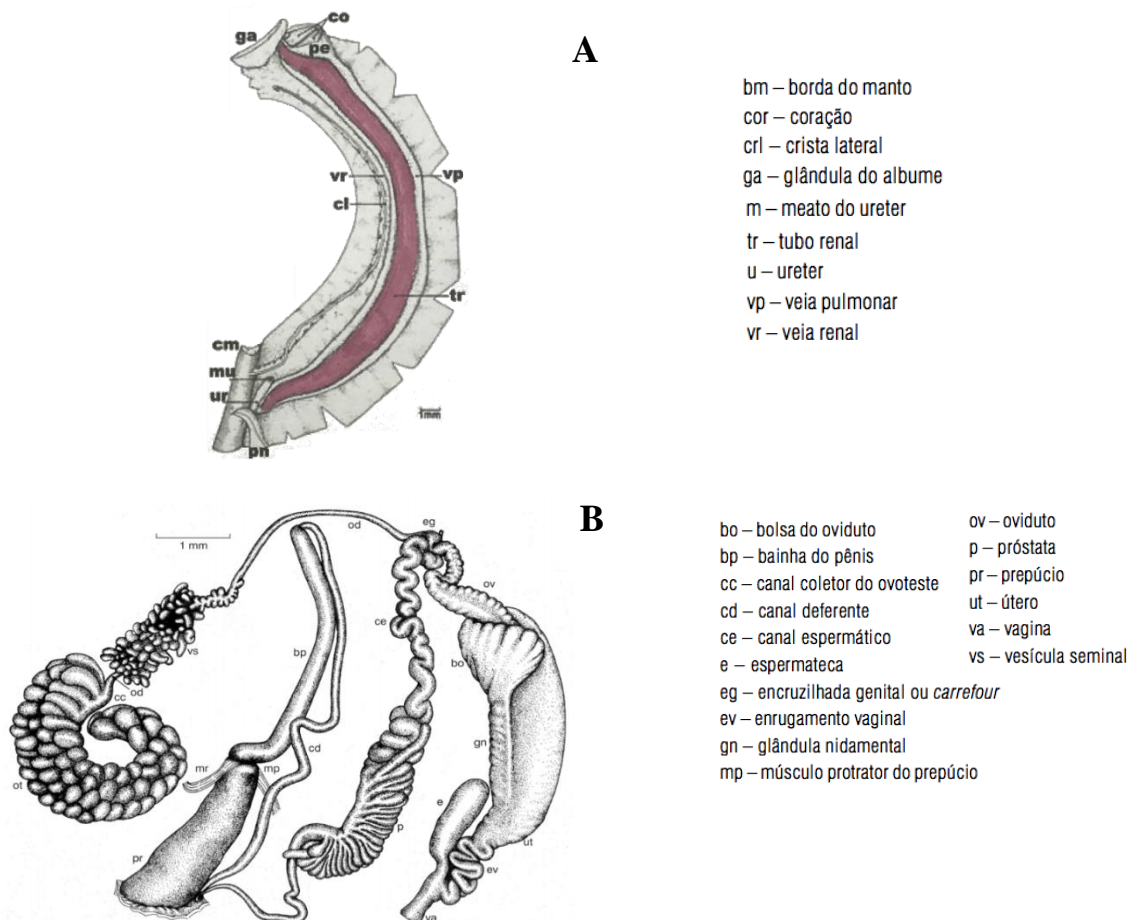


Figura 13: Estruturas morfológicas internas do *B. straminea* (A) Manto rebatido e (B) Sistema reprodutor (Fonte: (BRASIL, 2008))

Dentre as espécies transmissoras da esquistossomose no Brasil, a *B. straminea* caracteriza-se por ter a melhor adaptação climática, estando presente em quase todas as bacias hidrográficas do Brasil. Essa espécie está presente em 24 estados brasileiros (com exceção do Amapá e Rondônia), tendo uma maior distribuição nas regiões Nordeste e Sudeste. (BRASIL, 2014a), sendo considerada um importante vetor de transmissão da esquistossomose na região Nordeste, apesar dos baixos níveis de susceptibilidade de infecção pelo *S. mansoni* (OHLWEILER, 2010). A Figura 14 representa a distribuição de *B. straminea* no Brasil.



Figura 14: Distribuição de *B.straminea* (Fonte: (BRASIL, 2008))

Em um estudo realizado em 2012, através de métodos de modelagem espacial, Scholte e colaboradores observaram que as espécies *Biomphalaria* estão amplamente distribuídas no Brasil, sendo influenciada por diferentes fatores climáticos e ambientais, principalmente temperatura e as taxas de precipitação. Ademais, esta distribuição está diretamente associada com a distribuição da esquistossomose mansônica no Brasil, ressaltando a importância de estudos que visam identificar a distribuição e infecção dos caramujos, uma vez que essas informações servem de orientação para medidas de controle para esquistossomose.

2. JUSTIFICATIVA

Levando-se em consideração que a distribuição dos caramujos do gênero *Biomphalaria sp* correlaciona-se diretamente com a distribuição de casos de esquistossomose, torna-se fundamental uma análise detalhada das coleções hídricas com relação à população de caramujos, uma vez que representam um fator de risco para a transmissão da doença. Além disso, devido a diversidade de fatores envolvidos na transmissão da esquistossomose, as informações atualizadas sobre a distribuição e caracterização das populações de caramujo são essenciais e contribuem diretamente para a orientação, planejamento e desenvolvimento de ações de vigilância e controle da esquistossomose. Diante do exposto, esse trabalho visa identificar as coleções hídricas de Salvador que representam risco na transmissão da esquistossomose através da análise das populações de caramujos.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar as populações de *Biomphalaria* presentes nas coleções hídricas examinadas em Salvador quanto à prevalência de infecção por *Schistosoma mansoni*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a distribuição de *Biomphalaria* nas coleções hídricas em Salvador;
- Determinar a prevalência de infecção por *S. mansoni* em *Biomphalaria* nessas coleções hídricas;
- Identificar as coleções hídricas com potencial risco de transmissão para esquistossomose em Salvador.

4. MATERIAL E METÓDOS

4.1. ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi conduzido no município de Salvador, Bahia (Figura 15), o qual está situado na região Nordeste (12° 58' 16" S/ 38° 30' 39" W). O município, possui 2.675.656 de habitantes e apresenta uma área territorial de 692,818 km² (IBGE, 2010), e apresenta clima tropical superúmido com temperatura média superior a 18°C em todos os meses do ano (IBGE, 2002). Sua rede hidrográfica é formada por 10 Bacias Hidrográficas, destacando-se a Bacia do Rio Jaguaribe e Camaraujipe por serem as maiores em extensão territorial (SANTOS et al., 2010).

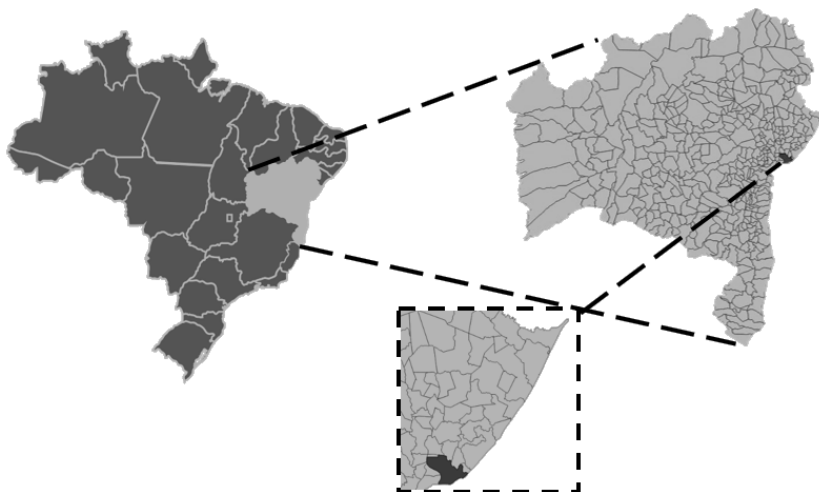


Figura 15: Localização da área de estudo, estado da Bahia, com destaque para o município de Salvador (Fonte: a autora)

Atualmente, o município de Salvador possui uma organização política-administrativa que compreende 18 Regiões Administrativas denominadas de Prefeituras-Bairro, com finalidade administrativa, de planejamento, gestão e informação, e 12 Distritos Sanitários (Distrito Sanitário do Centro Histórico, Itapagipe, Liberdade, Barra/ Rio Vermelho, Cajazeira, Subúrbio Ferroviário, São Caetano/Valéria, Cabula/Beiru, Pau da Lima, Boca do Rio, Brotas e Itapuã), que segundo Almeida, Castro e Lisboa (1998) podem ser definidos como um processo de regionalização que busca estabelecer a universalização e direito ao acesso da população aos serviços de saúde, de modo a melhorar as condições de saúde com eficiência técnica e operacional, bem como política, econômica e social.

A Figura 16 representa a distribuição geográfica dos 12 Distritos Sanitários na cidade de Salvador. A compreensão da distribuição geográfica dos Distritos Sanitários de Salvador foi importante para auxiliar na localização, identificação e seleção dos pontos de coleta para a investigação malacológica de *Biomphalaria*.

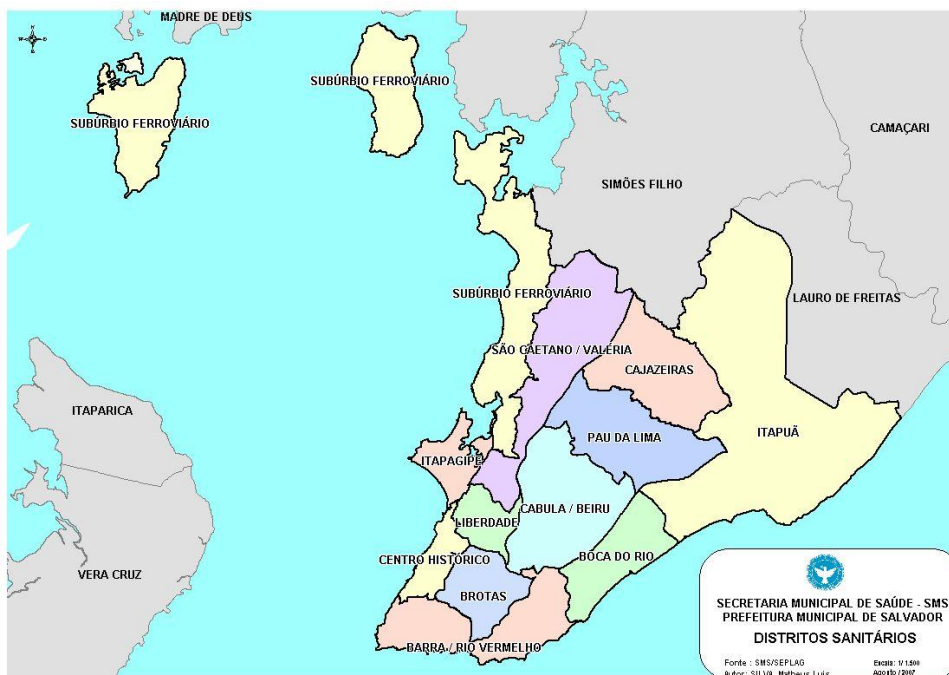


Figura 16: Distribuição geográfica dos Distritos Sanitários de Salvador (Fonte: CCZ, 2007)

4.2. SELEÇÃO DOS PONTOS DE COLETA

A seleção dos pontos de coletas foi feita a partir dos dados referentes aos inquéritos malacológicos do Centro de Controle de Zoonoses de Salvador (CCZ). Com base nesses dados, foram considerados como pontos de coleta as coleções hídricas dos Distritos Sanitários que apresentaram caramujos do gênero *Biomphalaria* eliminando cercárias de *S. mansoni* no período de 2009 a 2016. Adicionalmente, nosso grupo selecionou três pontos adicionais para a pesquisa malacológica, baseando-se nos seguinte critérios: coleções hídricas de uso recreacional e/ou proximidade à áreas com histórico para esquistossomose. No total foram selecionadas 17 coleções hídricas.

A Tabela 2 representa as coleções hídricas selecionadas para a coleta de *Biomphalaria*, organizando-as por sua localização e bairro em seu respectivo Distrito Sanitário, bem como o ano em que foram identificados caramujos *Biomphalaria* eliminando cercárias de *S. mansoni*

ou se correspondem aos pontos adicionais. Foram selecionadas cinco coleções hídricas no Distrito Sanitário de São Caetano/Valéria, dois pontos de coleta nos Distritos Sanitários de Boca do Rio, Brotas, Cabula/Beiru. Pau da Lima e Subúrbio Ferroviário e um ponto no Distrito Sanitário do Centro Histórico.

Tabela 2: Coleções hídricas selecionadas para a coleta de *Biomphalaria* de acordo com o Distrito Sanitário, bairro, coordenadas geográficas e ano de positividade para *S. mansoni*

Distrito Sanitário	Localização Coleção Hídrica	Bairro	Coordenadas Geográficas	Positividade <i>S. mansoni</i>
Boca do Rio	Parque Pituaçu	Pituaçu	38°24'43.85"W 12°58'05.85"S	2009/2010/2015
	Bate Facho		38°25'45.85"W 12°57'47.61"S	2016
Brotas	Dique do Tororó	Brotas	38°30'16.0"W 12°58'23.5"S	Ponto Adicional
	Avenida ACM		38°28'27.3"W 12°59'27.0"S	2009/2010
Cabula /Beiru	Alameda	Imbuí	38°27'36.3"W 12°57'23.9"S	2012
	Flamengo			
	Horta Saramandaia	Saramandaia	38°30'16.0"W 12°58'23.5"S	2015
Centro Histórico	R. Nossa Senhora de Lourdes	Barbalho	38°29'53.3"W 12°57'42.0"S	2015
Itapuã	Lagoa do Abaeté	Itapuã	38°21'28.0"W 12°56'43.0"S	Ponto Adicional
Pau da Lima	Lagoa do Urubu	Jardim Santo Inácio	38°27'39.1"W 12°55'07.1"S	2009/2010/2012
	Lagoa do IAT	São Marcos	38°27'38.5"W 12°55'04.8"S	2015

São Caetano /Valéria	R. São Rafael		38°28'27.3"W 12°54'01.7"S	2010/2011
	Horta São	Pirajá	38°28'6.90"W	Ponto
	Bartolomeu		12°53'49.30"S	Adicional
	R. das Fontes		38°28'29.1"W 12°54'00.8"S	2011
	Rio do Cobre		38°28'20.0"W 12°54'02.1"S	2011
	Dique do Cabrito	Marechal Rondon	38°28'16.4"W 12°54'32.6"S	2009/2010
Subúrbio Ferrovário	R. Geváriosio	Itacaranha	38°29'09.3"W	2009
	Cerqueira		12°53'03.5"S	
	R. Ray Charles	Paripe	38°28'21.6"W 12°50'06.2"S	2012

4.3. COLETA DE MOLUSCOS

As coletas malacológicas foram realizadas entre junho e dezembro de 2017 em 8 Distritos Sanitários, de modo que em cada coleção hídrica foi feita apenas uma coleta. O método de coleta selecionado foi o de Oliver e Schneiderman (1956), o qual emprega o uso de conchas e auxílio de pinças como utensílios de coleta. O tempo estipulado de coleta foi de 10 minutos. Cada coleção hídrica foi analisada quanto a presença de vegetação e de saídas diretas ou indiretas de esgoto. Adicionalmente, cada coleção hídrica foi classificada seguindo as definições da Resolução nº 357 do Conama e do Instituto Brasileiro de Geografia (IBGE).

A densidade de caramujos coletados foi feita dividindo-se o número de planorbídeos coletados em cada ponto pelo número de coletores que realizaram a coleta no período de 10 minutos.

$$\text{Densidade Populacional de Caramujos} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de caramujos coletados}}{\text{Tempo (10 minutos)} \times \text{N}^\circ \text{ de pessoas (1 coletor)}}$$

Os caramujos coletados em cada coleção hídrica foram devidamente acondicionados em gazes levemente umedecidas com água do ponto de coleta e armazenados em recipientes

plásticos previamente identificados com o nome da coleção hídrica. Posteriormente, os caramujos foram conduzidos para o moluscário do Instituto Gonçalo Moniz – FIOCRUZ BA (IGM), onde foi realizada inicialmente a contagem dos caramujos. Em seguida, os caramujos foram acomodados em aquários plásticos contendo água filtrada e desclorada, os quais foram identificados com o nome da coleção hídrica e data da coleta, e protegidos por uma tela para evitar a exposição dos caramujos a insetos. A alimentação dos moluscos ocorria semanalmente em dias alternados, sendo estes alimentados com alface fresca devidamente higienizada e ração suplementada com carbonato de cálcio.

4.4. AVALIAÇÃO DA INFECÇÃO POR LARVAS DE TREMATÓDEOS E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS CARAMUJOS

Para avaliação da infecção por larvas de trematódeos (cercárias), os caramujos coletados foram submetidos ao Teste de Eliminação Clássica de Cercárias. Nesta técnica, os caramujos são colocados em recipientes transparentes contendo cerca de 4 mL de água desclorada/filtrada e expostos à luz de lâmpadas incandescentes por um período de 2 a 6 horas. Os caramujos foram analisados semanalmente por um período de 30 dias, de modo que aqueles que não eliminaram cercárias neste período foram submetidos a uma avaliação adicional por 10 dias.

Cada recipiente foi examinado individualmente com o auxílio de uma lupa para verificar a presença de larvas de trematódeos. Nos recipientes onde foi identificada a presença de larvas, foram retiradas pequenas alíquotas, as quais foram coradas com Lugol (5%) para a identificação morfológica do tipo cercariano no microscópio estereoscópico.

Após o teste de eliminação clássica, todos os moluscos, negativos ou positivos foram submetidos às técnicas de identificação morfológica para *Biomphalaria*. Para isso, os caramujos foram individualmente mortos em água 70°C de 10 a 45s e mergulhados em água a temperatura ambiente para seu resfriamento. Em seguida, foi realizada a separação da parte mole dos caramujos da concha com o auxílio de duas pinças (Figura 17). Posteriormente, com uma lâmina de bisturi foi feita a separação da região cefalopodal (Figura 18), sendo esta armazenada no freezer -70°C para subsequente extração de DNA.

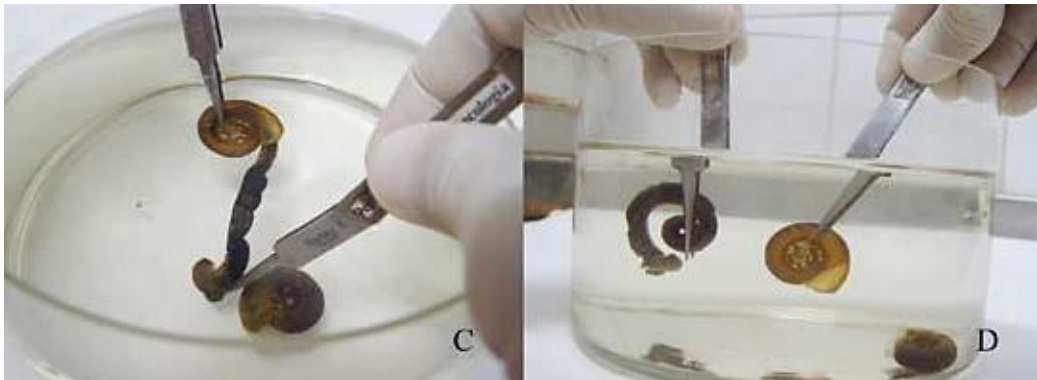


Figura 17: Separação do corpo mole da concha de *B. glabrata* (BRASIL, 2011)



Figura 18: Região cefalopodal de *Biomphalaria* spp (Fonte: LEAL, 2010)

O restante da parte mole foi colocado no fixador Raillet-Henry por 48 horas, e foram dissecados pela técnica descrita por Paraense e Deslandes, a qual permite identificar morfologicamente as espécies do gênero *Biomphalaria* a partir da observação de características morfológicas internas presentes no manto e sistema reprodutor.

A Figura 19 representa o fluxograma das etapas envolvidas na avaliação da infecção por larvas de trematódeos e identificação morfológica de *Biomphalaria spp.*

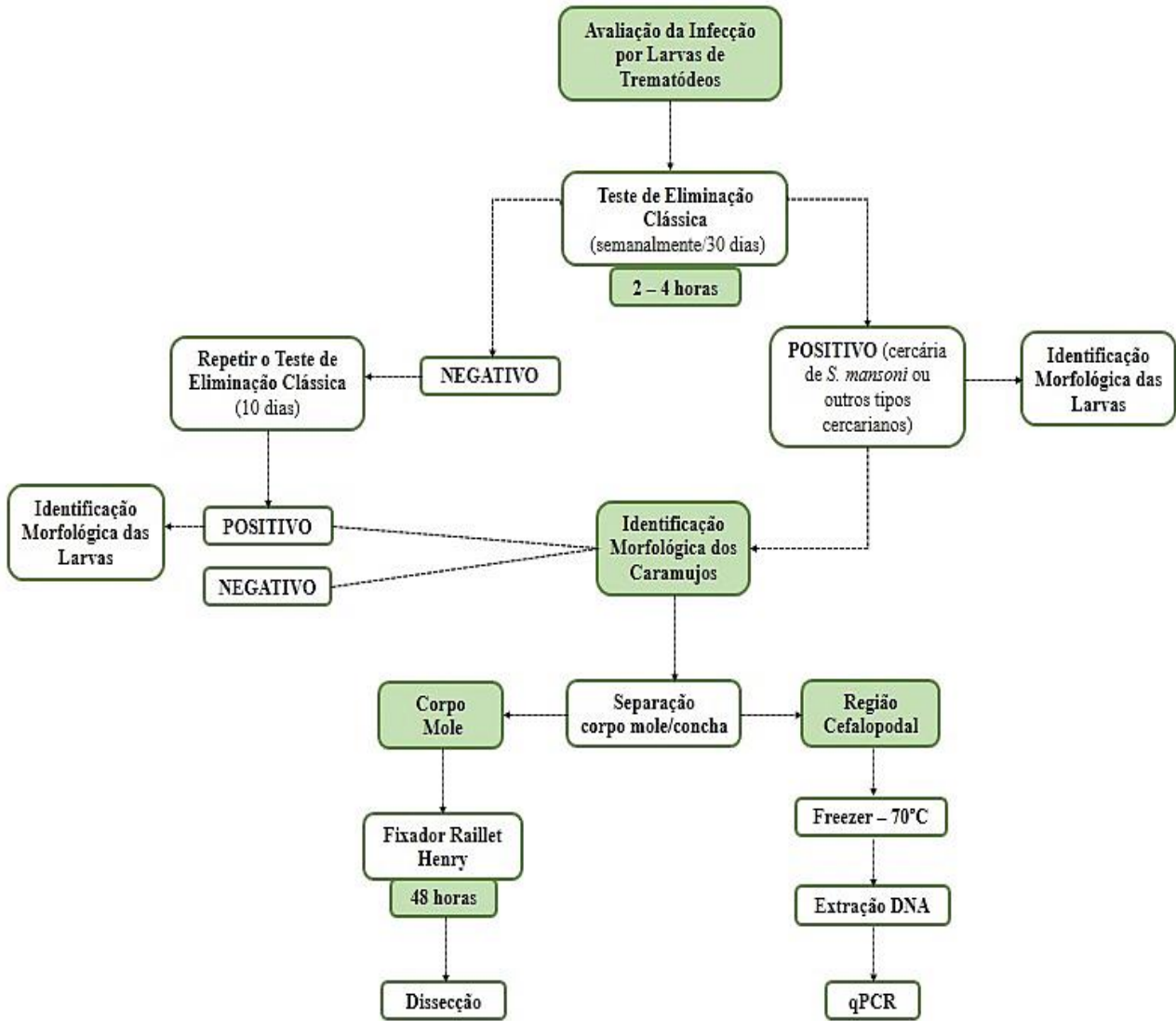


Figura 19: Fluxograma das etapas envolvidas na avaliação da infecção por larvas de trematódeos e identificação morfológica de *Biomphalaria spp.*

4.5. EXTRAÇÃO DE DNA E REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL

As extrações de DNA foram realizadas individualmente a partir de fragmentos da região cefalopodal dos moluscos que sobreviveram após 30 dias de análises malacológicas, seguindo o protocolo padrão do Kit DNeasy Tissue Kit (Qiagen). Para os pontos que apresentaram mais de 100 caramujos vivos, foi utilizado um programa estatístico para o cálculo do tamanho amostral para obter uma representação significativa daquela população de moluscos. Para isso, foi utilizado o Software WinPepi, versão 1.65 (Disponível em <http://www.brixtonhealth.com/pepi4windows.html>, levando-se em consideração um nível de confiança de 95%, e que a menor porcentagem de positividade para *S. mansoni* é de 1% e a maior de 5%. Todas as extrações foram realizadas no Instituto Gonçalo Moniz – Fiocruz BAHIA.

Os primers utilizados foram o Schfo 11 (5'- CGATCAGGACCAGTGTTCAGC -3') e Schre (5'- GACAGGTCAACAAGACGAACTCG -3'), os quais são específicos para o gene que codifica a subunidade ribossomal 18S rRNA do *S. mansoni*. Este gene foi selecionado para amplificação pois está presente em cerca de 100 cópias no genoma (GOMES et al., 2006).

A reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) foi realizada sob as seguintes configurações: etapa inicial de desnaturação a 50°C por 2 minutos, seguida por 40 ciclos de amplificação (95°C por 2 minutos, 95°C por 15 segundos e 60°C por 30 segundos) (adaptado de GOMES, et al., 2006). Em cada reação foram utilizadas controle negativos e uma curva padrão foi construída a partir de uma amostra de *S. mansoni* proveniente de amostras de fezes. Todas as reações foram realizadas em duplicata. O volume final da reação foi de 25µl, sendo utilizado 7,5 µl de H₂O, 12,5µl de Syber Green, 2µl de cada primer, 1µl de ROX e 2µl do DNA de cada amostra de *Biomphalaria*.

5. RESULTADOS

5.1. DISTRIBUIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS COLEÇÕES HÍDRICAS

Com base na análise da Figura 20, pode-se constatar que as 17 coleções hídricas selecionadas para a coleta malacológica estão amplamente distribuídas na cidade de Salvador, uma vez que são encontradas em 8 dos 12 Distritos Sanitários, sendo eles o Distrito Sanitário da Boca do Rio, Brotas, Cabula/Beiru, Centro Histórico, Itapuã, Pau da Lima, São Caetano Valéria e Subúrbio Ferroviário. A maior concentração de pontos de coleta foi observada no Distrito Sanitário de São Caetano/Valéria, com a presença de cinco coleções hídricas.

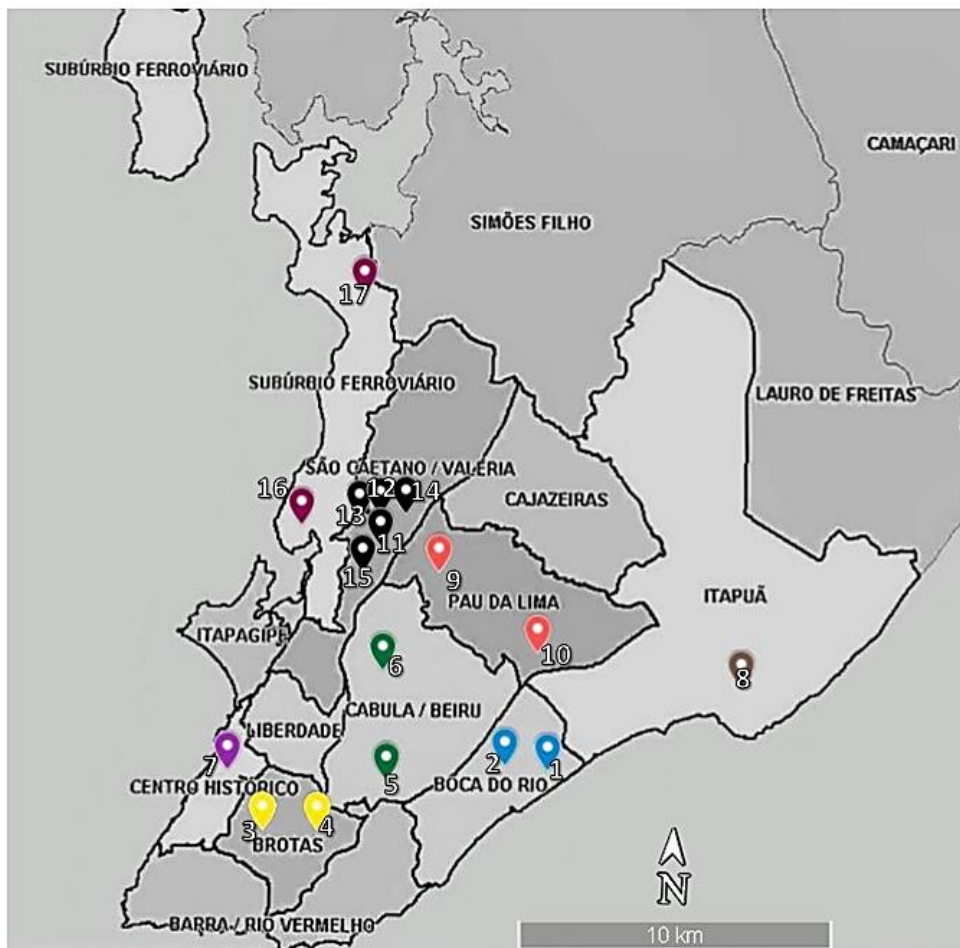


Figura 20: Distribuição dos pontos de coleta de acordo com os Distritos Sanitários de Salvador

A classificação quanto ao tipo de coleção hídrica, presença de vegetação e esgoto foi feita em 14/17 coleções hídricas, pois as coleções hídricas não incluídas na classificação (Rua São Rafael, Rua das Fontes, Rua Ray Charles), tiveram obras de intervenção pública. Diante disso, e levando-se em consideração a Resolução nº 357 do Conama, apenas a coleção hídrica do Rio do Cobre foi classificada como ambiente lótico, pois apresentou águas em movimento representando 7,1% das coleções hídricas. Esta foi subclassificada como rio, uma vez que foi observada a presença de corrente de água natural que flui com continuidade.

As demais coleções hídricas foram classificadas como ambientes lênticos por apresentarem águas paradas com movimento lento ou estagnado, representando 93% das coleções hídricas. Destas, 23% foram sub-classificadas como córregos devido a presença de curso de água corrente de pequeno porte, sendo elas as coleções hídricas do Parque Pituaçu, Bate Facho, Rua Nossa Senhora de Lourdes. Já as coleções hídricas da Alameda Flamengo, Lagoa do Abaeté, Lagoa do Urubu e Lagoa do IAT foram classificadas como lagoas por apresentarem um fluxo lento e terem formato circular cercadas por terra, representando 30,7% das coleções hídricas. As coleções hídricas da Horta de São Bartolomeu, Horta Saramandaia e Rua Gevârsio Cerqueira foram classificadas como valas (23%) devido a observação de esgoto em direção aos sistemas de drenagem atravessando casas ou vias públicas. Além disso, foram incluídos como ambientes lênticos os diques (15,4%), que se definem como contenções de água criadas artificialmente, como as coleções hídricas do Dique do Tororó e Dique do Cabrito. A coleção hídrica da Avenida ACM foi classificada como canal (7,7%), uma vez que este representa o local de escoamento de águas pluviais.

Na avaliação quanto a presença de contaminação ambiental, foi observado que 57,1% das coleções hídricas apresentavam contaminação ambiental, sendo considerada positiva aquelas em que havia a saída de esgoto direta ou indiretamente. Ademais, em todas as coleções hídricas foram observadas a presença de vegetação nos locais de coleta.

A Tabela 3 sintetiza a classificação das coleções hídricas de acordo com o tipo de coleção hídrica, vegetação e contaminação ambiental.

A Figura 21 representa o panorama das coleções hídricas por Distrito Sanitário em que foram realizadas as coletas malacológicas.

Tabela 3: Caracterização dos pontos de coleta de acordo com o Distrito Sanitário, contaminação ambiental, tipo de coleção hídrica e presença de vegetação

Distrito Sanitário	Ponto	Coleção Hídrica	Classificação	Contaminação Ambiental	Vegetação
Boca do Rio	1	Parque Pituaçu	Córrego	Não	Sim
	2	Bate Facho	Córrego	Sim	Sim
Brotas	3	Dique do Tororó	Dique	Não	Sim
	4	Avenida ACM	Canal	Sim	Sim
Cabula/Beiru	5	Alameda Flamengo	Lagoa	Não	Sim
	6	Horta Saramandaia	Vala	Sim	Sim
Centro Histórico	7	R. Nossa Senhora de Lourdes	Córrego	Sim	Sim
Itapuã	8	Lagoa do Abaeté	Lagoa	Não	Sim
Pau da Lima	9	Lagoa do Urubu	Lagoa	Sim	Sim
	10	Lagoa do IAT	Lagoa	Sim	Sim
São Caetano/Valéria	11	R. São Rafael	N.A	N.A	N.A
	12	Horta São Bartolomeu	Vala	Não	Sim
	13	R. das Fontes	N.A	N.A	N.A
	14	Rio do Cobre	Rio	Não	Sim
	15	Dique do Cabrito	Dique	Sim	Sim
Subúrbio Ferroviário	16	R. Gevârsio Cerqueira	Vala	Sim	Sim
	17	R. Ray Charles	N.A	N.A	N.A

N.A = não se aplica

Distrito Sanitário Boca do Rio



Parque Pituacu



Bate Facho

Distrito Sanitário Brotas



Dique do Tororó



Av. ACM

Distrito Sanitário Cabula/Beiru



Alameda Flamengo



Horta de Saramandaia

Distrito Sanitário Centro Histórico



Distrito Sanitário Itapuã



Distrito Sanitário Pau da Lima



Distrito Sanitário São Caetano/Valéria



Distrito Sanitário São Caetano/Valéria



Distrito Sanitário Subúrbio Ferroviário



Figura 21: Panorama das coleções hídricas por Distrito Sanitário em Salvador (Fonte: autora)

5.2. COLETA E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DOS CARAMUJOS

No total foram coletados 1,403 caramujos em 12 coleções hídricas na cidade de Salvador, sendo elas: Pituacu, Bate Facho, Dique do Tororó, Avenida ACM, Horta de Saramandaia, Rua Nossa Senhora de Lourdes, Lagoa do Urubu, Lagoa do IAT, Horta São Bartolomeu, Rio do Cobre, Dique do Cabrito e Rua Gevários Cerqueira.

Destes, 730 caramujos continuaram viáveis para identificação morfológica e extração de DNA após a exposição a luz realizada semanalmente no período de 30 dias, representando uma viabilidade de 52%. Com relação à média de sobrevivência por coleção hídrica, pode-se observar que a maior porcentagem foi oriunda do Dique do Cabrito e Lagoa do Urubu, com 69% de viabilidade, seguido pelo Dique do Tororó e Rua Gevários Cerqueira, as quais apresentaram 66% e 56% de viabilidade, respectivamente.

A partir da análise morfológica, observou-se que em todos os caramujos analisados havia a presença da crista renal sobre o tubo renal. Sendo assim, estes foram identificados como sendo da espécie *B. glabrata* (Figura 22).

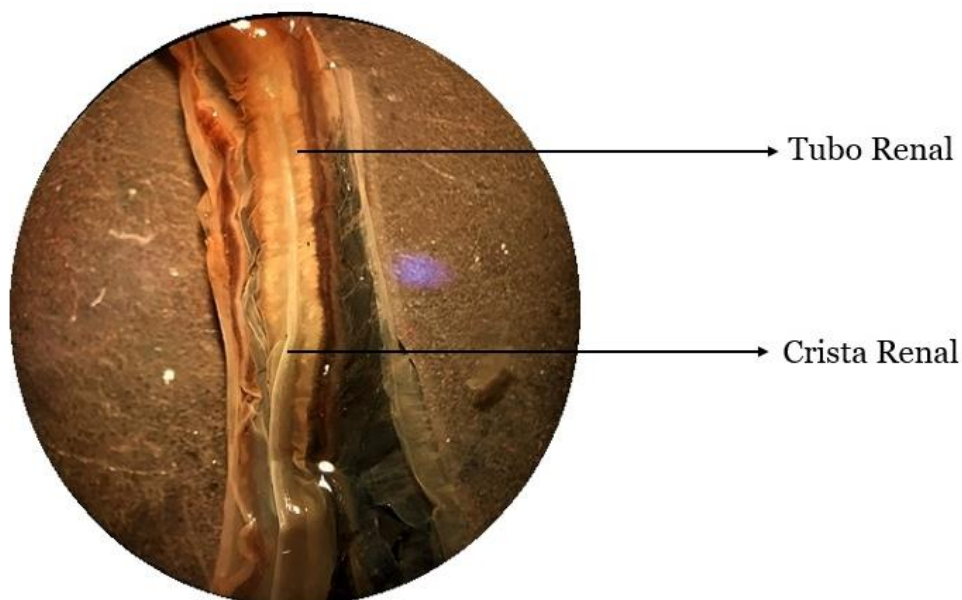


Figura 22: Manto de *Biomphalaria glabrata*, ressaltando as estruturas morfológicas do tubo e crista renal (Fonte: autora)

Em relação a distribuição, *B. glabrata* estava distribuída em 8 Distritos Sanitários, destacando-se o Distrito Sanitário de Cabula/Beiru, onde na Horta de Saramandaia foram encontrados 410 caramujos, o Distrito Sanitário da Boca do Rio, no Parque Pituáçu, com um total de 294 caramujos coletados e o Distrito Sanitário de São Caetano/Valéria, onde foram coletados 289 caramujos na Horta de São Bartolomeu. Não foram encontrados caramujos nas coleções hídricas da Alameda Flamengo, Lagoa do Abaeté, Rua São Rafael, Rua das Fontes e Rua Ray Charles. A Figura 23 representa a distribuição por Distrito Sanitário das coleções hídricas em que foram encontradas *B. glabrata*.

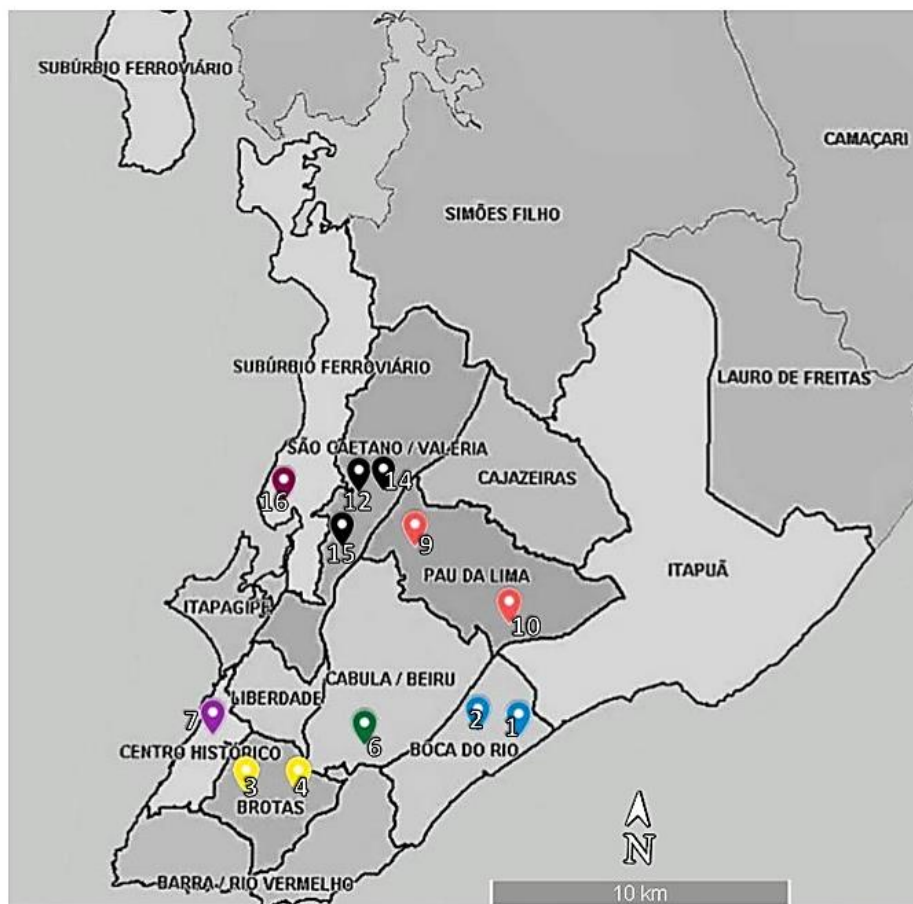


Figura 23: Distribuição das coleções hídricas em que foram encontrados *Biomphalaria glabrata*

Os resultados relacionados ao total de caramujos coletados, viabilidade após 30 dias e espécies encontradas em cada coleção hídrica estão representados na Tabela 4.

Tabela 4: Total de *B. glabrata* por coleção hídrica, quantidade e percentagem (%) de caramujos vivos após 30 dias de manutenção no moluscário

Distritos Sanitários	Coleção Hídrica	Ponto	Caramujos Coletados	Caramujos Vivos
Boca do Rio	Parque Pituaçu	1	294	145 (49%)
	Bate Facho	2	22	13 (59%)
Brotas	Dique do Tororó	3	3	2 (66%)
	Av. ACM	4	84	48 (57%)
Cabula/Beiru	Alameda Flamengo	5	-	-
	Horta Saramandaia	6	410	205 (50%)
Centro Histórico	R. Nossa Senhora de Lourdes	7	49	27 (55%)
Itapuã	Lagoa do Abaeté	8	-	-
Pau da Lima	Lagoa do Urubu	9	42	29 (69%)
	Lagoa do IAT	10	33	18 (54%)
São Caetano/Valéria	R. São Rafael	11	-	-
	Horta São Bartolomeu	12	289	144 (49%)
	R. das Fontes	13	-	-
	Rio do Cobre	14	58	28 (48%)
	Dique do Cabrito	15	33	23 (69%)
Subúrbio Ferroviário	R. Gevársio Cerqueira	16	86	48 (56%)
	R. Ray Charles	17	-	-
Total			1403	730

5.3. LARVAS DE TREMATÓDEOS ENCONTRADAS EM *BIOMPHALARIA GLABRATA*

A partir da análise das larvas de trematódeos observou-se a presença de 5 tipos cercarianos diferentes sendo transmitidos por *B. glabrata* encontrados em quatro coleções: a Horta de Saramandaia, Lagoa do Uruba, Lagoa do IAT e Dique do Cabrito. Estes tipos cercarianos foram classificados em dois grupos: o grupo das cercárias com cauda simples, tendo sido encontrados três tipos de cercárias, e o grupo de cercárias com cauda bifurcada, onde foram encontrados quatro tipos cercarianos. Todos os tipos cercarianos foram encontrados na etapa adicional de análise pelo Teste de Eliminação Clássica, e não foi observada coinfeção.

Dentre os tipos cercarianos com cauda bifurcada, destaca-se a cercária de *S. mansoni* (Figura 24A2), a qual caracteriza-se pela presença de furcas curtas, ausência de faringe e ocelos, além da presença de ventose ventral. Esse tipo cercariano foi encontrado em caramujos presentes em duas coleções hídricas, sendo elas a Lagoa do IAT, no Distrito Sanitário do Pau da Lima e na Horta de Saramandaia, localizada no Distrito Sanitário do Cabula/Beiru.

Na Horta de Saramandaia também foram identificados 9 exemplares de *B. glabrata* eliminando exclusivamente outros tipos cercarianos de cauda simples, os quais foram classificados como cercárias do grupo das Xifidiocercarias, uma vez que foi observada a presença de estiletos e ausência de ocelos pigmentados (PINTO; MELO 2013). Dentre os tipos cercarianos do grupo Xifidiocercaria, nosso grupo encontrou dois tipos: a Cercária Lutzi (Figura 24B1) e Santense (Figura 25B2,B3), ambas descritas previamente por Ruiz, em 1943 e 1952, respectivamente.

Na coleção hídrica do Dique do Cabrito também foram encontrados *B. glabrata* eliminando tipos cercarianos com cauda bifurcada, porém pertencentes ao grupo Distoma Brevifurcada Faringeada da família Clinostomidae (Figura 24C), a qual caracteriza-se por apresentar um tronco caudal estreito, presença de ocelos e membrana nadatória dorsal (PINTO; MELO, 2013) e ao grupo da Distoma Brevifurcada Afaringeada da família Spirorchiiidae (Figura 24D), cuja diferença para a família anterior, é a ausência da faringe no corpo (PINTO; MELO, 2013).

O grupo de cercárias com cauda bifurcada foi encontrada em *B. glabrata* na coleção hídrica da Lagoa do Urubu presente no Distrito Sanitário de Pau da Lima, sendo estas pertencentes ao grupo Distoma Longifurcada Faringeada, da família Strigeidae (Figura 24E). As cercárias dessa família possuem, além da cauda bifurcada, a presença de ventosa ventral bem desenvolvida,

ausência de ocelos e tronco caudal longo (PINTO; MELO, 2013). A Figura 24 representa o panorama das larvas de trematódeos encontradas em *B. glabrata*.

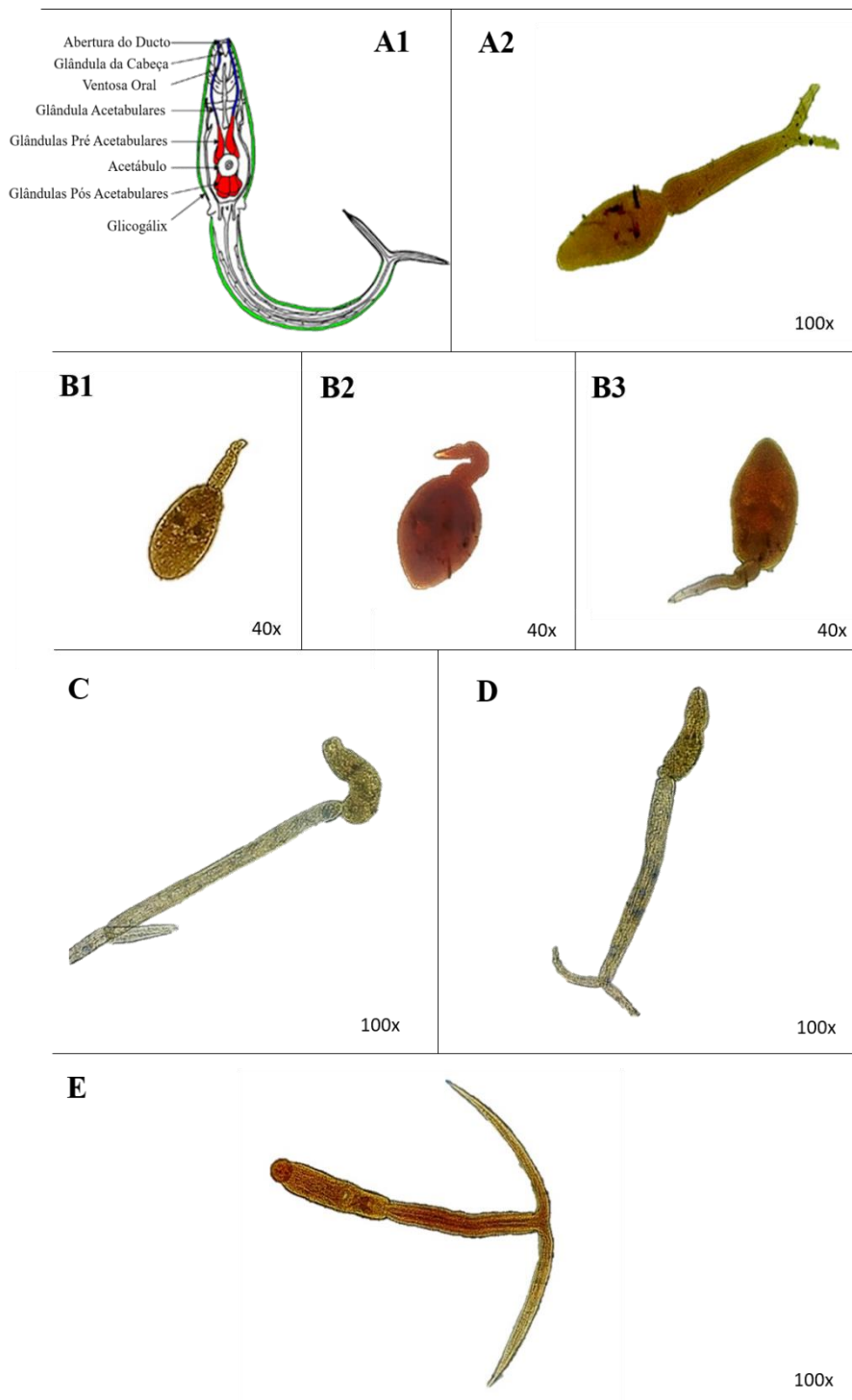


Figura 24: Larvas de trematódeos encontradas em *B. glabrata*; (A1) Diagrama cercária *S. mansoni* (Adaptado de DORSEY, 2002), (A2) Cercária *S. mansoni*; (B1) Cercária Lutzii; (B2,3) Cercária Santense, (C) Clinostomidae, (D) Spirorchiiidae e (E) Strigeidae. Fonte: (A autora)

A Tabela 5 representa as coleções hídricas em que foram encontrados *B. glabrata* eliminando cercárias, bem como a porcentagem de positividade.

Tabela 5: Tipos cercarianos encontrados em exemplares de *Biomphalaria glabrata* nas coleções hídricas de Salvador

Distritos Sanitários	Bairro	Coleção Hídrica	Caramujos Positivos	Tipos Cercarianos	Positividade
Cabula/Beiru	Saramandaia	Horta Saramandaia	4/205	<i>S. mansoni</i>	1,9%
			9/205	Xifidiocercárias	4,3%
Pau da Lima	Jardim Santo Inácio	Lagoa do Urubu	9/29	Strigeidae	31%
	São Marcos	Lagoa do IAT	1/18	<i>S. mansoni</i>	5,5%
São Caetano/Valéria	Marechal Rondon	Dique do Cabrito	1/23	Spirorchiidae	4,3%
			1/23	Clinostomidae	4,3%

5.4. DETECÇÃO MOLECULAR DE *S. MANSONI* EM *B. GLABRATA*

Após o cálculo do tamanho amostral dos moluscos que sobreviveram à exposição à luz nos pontos com uma quantidade ≥ 100 caramujos coletados, o número de caramujos vivos utilizados para a extração de DNA e qPCR para os pontos da Horta de Saramandaia, Horta de São Bartolomeu e Parque Pituaçu, foi de 145, 100 e 100, respectivamente. Diante disso, o número total de *B. glabrata* sobreviventes para o qPCR passou de 730 para 626.

No qPCR, foram consideradas como positivas as amostras que apresentaram a temperatura de melting igual ao dos controles positivos e amplificação até o Ct 35, o qual foi selecionado a partir da sensibilidade da curva padrão. O fator de correlação (R^2) foi de 0,99. Todos os controles negativos foram negativos em todos os experimentos.

Através da técnica de qPCR para pesquisa de *S. mansoni*, pode-se observar que dentre as 626 amostras, 39 foram consideradas positivas, representando uma positividade de 6,2%. Enquanto que no Teste de Eliminação Clássica apenas 5 (0,8%) amostras foram positivas (Figura 28).

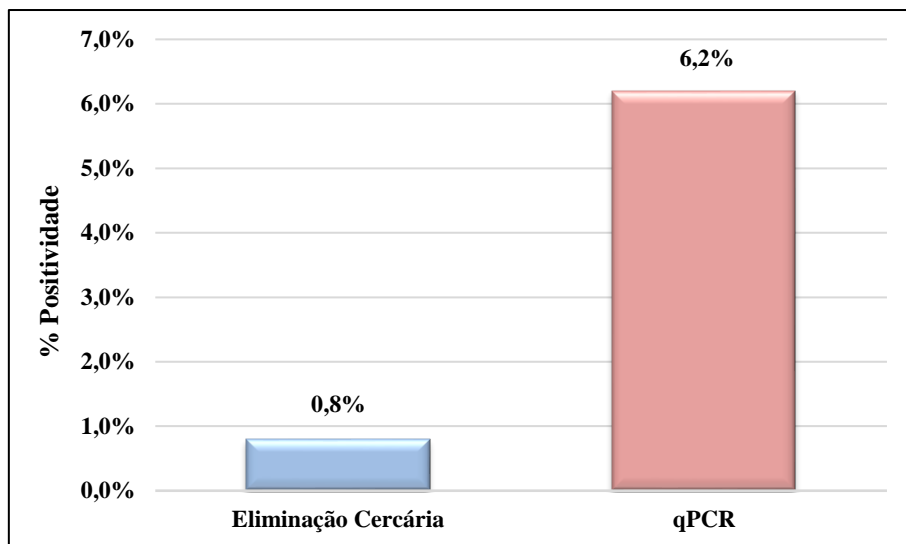


Figura 25: Comparação entre a porcentagem de caramujos positivos no Teste de Eliminação Clássica e qPCR

A sensibilidade do qPCR para detecção das infecções por *S. mansoni* foi de 100% e a especificidade de 94,5% baseado nas comparações com os resultados do Teste de Eliminação Clássica (padrão ouro). Esse resultado reflete a sensibilidade da detecção molecular em relação ao Teste de Eliminação Clássica, sugerindo que a detecção molecular é mais sensível do que o método convencional (Tabela 6).

Tabela 6: Sensibilidade e especificidade do qPCR em relação ao teste clássico de eliminação de cercária

qPCR	Eliminação Clássica		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	5	34	39
Negativo	0	587	587
Total	5	621	626

Sensibilidade = 100% e especificidade = 94,5%

Nenhum caramujo que havia previamente eliminado outros tipos cercarianos foi positivo para *S. mansoni* no qPCR. Desta maneira, das 12 coleções hídricas onde foram encontrados *B. glabrata*, 41,7% foram positivas para *S. mansoni* exclusivamente no qPCR, sendo elas o Parque Pituaçu, Avenida ACM, Rua Nossa Senhora de Lourdes, Horta de São Bartolomeu e Dique do Cabrito. As coleções hídricas do Dique do Tororó, Bate Facho, Lagoa do Urubu, Rio do Cobre e Rua Gevários Cerqueira foram negativas para *S. mansoni*, tanto no Teste de Eliminação Clássica, como no qPCR.

A maior taxa de positividade através do qPCR foi observada na coleção hídrica do Dique Cabrito, onde 43,6% dos caramujos foram positivos para *S. mansoni*. A coleção hídrica da Av. ACM também apresentou uma taxa de positividade significativa, sendo observada uma taxa de positividade de 18,7%, seguido pela Lagoa do IAT e Rua Nossa Senhora de Lourdes.

Acerca das coleções hídricas que foram previamente positivas para *S. mansoni*, foi observado um aumento nas taxas de positividade. Na coleção hídrica da Lagoa do IAT, a taxa de positividade pelo Teste de Eliminação Clássica foi de 5,5%, tendo tido um aumento de 11,1%, uma vez que no qPCR essa taxa foi de 16,6. De forma semelhante, a coleção hídrica da Horta de Saramandaia que anteriormente apresentou uma positividade de 1,9% pelo Teste de Eliminação Clássica, teve um aumento de 2,9% em sua positividade, tendo sido encontrado 4,8% dos caramujos positivos para *S. mansoni*.

A Tabela 7 representa os resultados observados acerca da positividade de *S. mansoni* no Teste de Eliminação Clássica e no qPCR, levando-se em consideração os caramujos viáveis.

Tabela 7: Taxa de infecção obtidas no qPCR e no teste de eliminação clássica nas amostras de *B. glabrata* sobreviventes

Distrito Sanitário	Coleção Hídrica	<i>B. glabrata</i> sobreviventes para qPCR	Taxa de Infecção		qPCR (+)
			Teste de Eliminação Clássica		
			S. mansoni	Outros	
Boca do Rio	Parque Pituaçu	100	—	—	5 (5%)
	Bate Facho	13	—	—	—
Brotas	Dique do Tororó	2	—	—	—
	Av. ACM	48	—	—	9 (18,7%)
Cabula/Beiru	Horta Saramandaia	145	4 (1,9%)	9 (4,3%)	7 (4,8%)
Centro Histórico	R. N. Senhora de Lourdes	28	—	—	3 (10,7%)
Pau da Lima	Lagoa do Urubu	29	—	9 (31%)	—
	Lagoa do IAT	18	1 (5,5%)	—	3 (16,6%)
São Caetano/Valéria	Horta São Bartolomeu	100	—	—	2 (2%)
	Rio do Cobre	28	—	—	—
	Dique do Cabrito	23	—	2 (8,6%)	10 (43,4%)
Subúrbio Ferroviário	R. Gevársio Cerqueira	48	—	—	—
Total		626	5	20	39

6. DISCUSSÃO

As coletas malacológicas realizadas no presente estudo demonstraram que *B. glabrata* encontra-se distribuída em 70,6% das coleções hídricas examinadas no presente estudo em Salvador, tendo sido coletados 1,403 caramujos desta espécie. Estes, estavam presentes em habitats diversos, sendo eles rios, diques, canais, valas, lagoas, rio e córregos. A maior parte dos caramujos estavam presentes em córregos e valas, as quais juntas, representam 50% coleções hídricas.

Nas coleções hídricas da Alameda Flamengo, Lagoa do Abaeté, Rua São Rafael, Rua das Fontes e Rua Ray Charles, não foram encontrados *B. glabrata*. Destas, 60% tiveram obras de intervenções públicas, tais como esgotamento sanitário e pavimentação de ruas. Sendo assim, e levando-se em consideração que as doenças parasitárias refletem as condições sanitárias, bem como os hábitos de higiene de uma população, estes resultados demonstraram que o direcionamento de intervenções públicas efetivas é fundamental para proporcionar melhorias de condição de vida e conseqüentemente a prevenção e controle de doenças parasitárias (FONSECA et al., 2010).

As maiores densidades populacionais de *B. glabrata* foram observadas nas coleções hídricas presentes no Distrito Sanitário de Cabula/Beiru, com 410 caramujos, seguido pelos Distritos Sanitários de São Caetano Valéria/ e Boca do Rio, com 380 e 316 caramujos coletados, respectivamente. Dentre essas coleções hídricas, destacam-se a Horta de Saramandaia e a Horta de São Bartolomeu. De fato, apesar dos caramujos *Biomphalaria* serem comumente encontrados em coleções hídricas naturais, a maior densidade populacional costuma ser observada em criadouros artificiais tais como as valas de drenagem e de irrigação relacionadas à atividade humana (BARBOZA et al., 2012; REY, 2001). A irrigação constante das hortas fornece as condições ideais para a formação de criadouros para *Biomphalaria spp* (NETO et al., 2012). Um estudo realizado em 2006 no município de Juiz de Fora, Minas Gerais investigou a abundância e distribuição geográfica de *Biomphalaria* em coleções hídricas, incluindo 7 hortas. Seus resultados demonstraram que em todas as valas de irrigação das hortas foram encontrados *Biomphalaria spp* (TIBIRIÇA, 2006), reforçando o fato de que a intervenção humana nos ambientes naturais interfere e contribuí diretamente para a espacialização de caramujos *Biomphalaria* (BORGES, 2008).

A terceira coleção hídrica com maior densidade de *B. glabrata* foi o Parque Metropolitano de Pituacu. Alguns fatores que contribuíram para esse cenário relacionam-se com a presença de águas de curso lântico e de vegetação e substratos orgânicos (lodoso), que segundo Carvalho

(2008) fornecem condições favoráveis para a distribuição de caramujos dessa espécie. Essa ampla distribuição também foi observada em um estudo realizado por Teixeira e colaboradores (2011), os quais empregaram o uso de algumas variáveis ecológicas, tais como pH, temperatura e salinidade, para explicar a ocorrência de *B. glabrata* no Parque Metropolitano de Pituçu.

Acerca da viabilidade dos caramujos, pode-se observar que 56% estavam viáveis após as análises semanais por 30 dias. Esse resultado sugere que o tempo de análise pode ter influenciado na sobrevivência de *B. glabrata*. Faro e colaboradores (2013) analisaram semanalmente por 62 dias a taxa de sobrevivência de caramujos infectados laboratorialmente. Como resultado, esses autores observaram que 86,6% caramujos infectados permaneceram vivos, enquanto que não tiveram perdas no grupo controle. Os autores atribuíram essa diferença a fatores como idade, tamanho da concha, bem como ao tempo de análise após a exposição aos miracidios. Além disso, é possível que os caramujos que não permaneceram viáveis estivessem parasitados por *S. mansoni*. Neste cenário, as alterações na taxa de sobrevivência de *B. glabrata* podem ser devido às diferenças na susceptibilidade e quantidade de miracidios que penetraram no caramujo (BEIDEMAN; FRIED; SHERMA, 2013; RIES, 2011).

Apenas as coleções hídricas da Horta de Saramandaia e Lagoa do IAT foram positivas para *S. mansoni* no Teste de Eliminação Clássica após 30 dias, com taxa de 1,9% e 5,5% de positividade, respectivamente. Os resultados encontrados na Horta de Saramandaia eram esperados, uma vez que as condições de cultivo e irrigação da Horta eram insatisfatórias e apresentaram-se de forma rudimentar e precária, com a presença de canais escavados para irrigação das hortaliças, que associadas com as condições sanitárias precárias do bairro e elevada densidade populacional de *B. glabrata* fornecem as condições necessárias para a manutenção do ciclo do *S. mansoni* neste local. Além disso, em 2015, o CCZ identificou *B. glabrata* positivos para *S. mansoni*. Do mesmo modo, na região da Lagoa do IAT também foram observadas condições para manutenção do ciclo, tais como despejo de esgoto das residências direto na coleção hídrica e relatos de moradores positivos para esquistossomose na região.

No Teste de Eliminação Clássica, o presente estudo também identificou 20 *B. glabrata* eliminando outras larvas de trematódeos, sendo elas as Xifidiocercárias, cujas metacercárias são formadas em anfíbios ou insetos aquáticos (PINTO; MELO, 2013), as cercarias da família Spirorchiiidae, as quais parasitam vasos sanguíneos de répteis, aves e mamíferos (SOUZA, 2006), Clinostomidae, parasitas de aves e Strigeidae, que são parasitos intestinais de aves e mamíferos. Estes tipos cercarianos transformam-se em larvas em moluscos gastrópodes (PINTO; MELO, 2013).

A presença de *B. glabrata* eliminando Xifidiocercárias também foi observada pelo CCZ em 2017 em coleções hídricas do Subúrbio Ferroviário. Alguns estudos descritos na literatura já avaliaram a presença deste tipo cercariano em *Biomphalaria spp.* Moraes e colaboradores (2009) realizaram um estudo na cidade de Guarulhos (São Paulo) para avaliar a presença de larvas de trematódeos em *Biomphalaria spp.*, e observaram que o tipo cercariano mais frequente foi a Xifidiocercária, representando 76,5% de todas as infecções. Em 2012, Souza e Melo, na cidade de Mariana, em Minas Gerais também identificaram *B. glabrata* eliminando Xifidiocercárias após fotoestimulação. Apesar de não serem responsáveis por nenhuma doença de importância clínica, a presença de Xifidiocercárias tem sido considerada como um controle biológico para larva de mosquitos (CARVALHO; ANDRADE; UETA, 2002).

Este foi o primeiro estudo que fez a identificação de outros tipos cercarianos da família Strigeidae, Clinostomidae e Spirorchidae na cidade de Salvador. As cercarias da família Spirorchidae foram observadas por Souza e colaboradores (1998) e Pinto e Melo (2013) nas três principais espécies transmissoras da esquistossomose no Brasil: *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, na cidade de Minas Gerais. Em 2013, Pinto e Melo também identificaram nessas espécies a presença de cercarias da família Clinostomidae. Este tipo cercariano é considerado um parasita da cavidade oral de aves, mas já foram relatados casos acidentais de contaminação de seres humanos por espécies de *Clinostomum* (PINTO; MELO, 2013; PARK et al., 2009). Já as cercarias da família Strigeidae foram identificadas por Rodrigues e colaboradores (2017) em um levantamento da biodiversidade de larvas de trematódeos em *Biomphalaria sp* em dois municípios do estado do Maranhão. De modo semelhante, Souza e colaboradores (2008) observaram a presença de cercarias da família Strigeidae em *B. glabrata* em Pernambuco. Thiengo e colaboradores (2006) identificaram *B. tenagophila* eliminando cercária da família Strigeidae no noroeste fluminense. Entretanto, nos estudos de Silva e Melo (2013) este tipo cercariano foi eliminado apenas por *B. glabrata* e *B. tenagophila* presentes na cidade de Ouro Branco, em Minas Gerais.

O Teste de Eliminação Clássica possui limitações em situações como baixa carga parasitária, infecções pré-patentes, desenvolvimento interrompido do esporocisto e morte dos caramujos após a exposição, interferindo diretamente na interpretação dos resultados (BARBOSA, 1992; HANELT et al., 1997; TORRIJOS, et al., 2014). Logo, apesar do uso de técnicas moleculares para identificar o DNA de *S. mansoni* ainda ser restrita, diversos trabalhos desenvolveram técnicas de PCR para detectar o DNA de *S. mansoni* em vários alvos moleculares. Hamburger e colaboradores (1998) empregaram o PCR baseada em uma sequência de DNA de 121bp, a qual apresentou uma sensibilidade de 80% no primeiro dia após

infecção. Outro grupo de pesquisadores selecionaram um alvo ribossomal (18S rDNA) do *S. mansoni* para amplificação por nested PCR, e após uma semana de infecção, encontraram uma sensibilidade de 100% (Hanelt et al., 1997). Logo, a detecção molecular permite uma avaliação precoce da infecção por *S. mansoni* ainda na fase pré-patente, demonstrando-se mais sensível que os métodos clássicos. Recentemente, Caldeira e colaboradores (2017) empregaram a técnica de PCR em baixa estrigência (LS-PCR) para avaliar a infecção por *S. mansoni* em *Biomphalaria spp.* Esses autores demonstraram que esta técnica foi altamente sensível e específica, sendo capaz de detectar o DNA de *S. mansoni* quando um caramujo positivo estivesse presente em um pool de 1000 caramujos.

Após empregar a técnica de qPCR para avaliar a positividade por *S. mansoni*, as coleções hídricas que foram previamente positivas no Teste de Eliminação Clássica, também amplificaram o DNA de *S. mansoni*. Na Lagoa do IAT a taxa de infecção de 5,5% no Teste de Eliminação Clássica passou para 16,6% após o qPCR. Já na Horta de Saramandaia a taxa de infecção para *S. mansoni* passou 1,9% para 4,9% quando avaliamos os resultados do Teste de Eliminação Clássica em associação com o qPCR.

Levando-se em consideração que serão realizadas intervenções urbanísticas, tais como a construção de praças, obras de micro e macrodrenagem e pavimentação (CARVALHO, 2016) na área da Horta de Saramandaia, este local provavelmente terá sua positividade para *S. mansoni* alterada, podendo até mesmo deixar de ser um local de transmissão para esquistossomose. No entanto, um estudo piloto realizado recentemente pelo nosso grupo para avaliar a prevalência da esquistossomose mansônica em 55 moradores distribuídos em 5 áreas no Bairro de Saramandaia (incluindo a área da antiga horta) constatou que cerca 24% da população nessas regiões estão positivas para esquistossomose, demonstrando que existem outros possíveis focos ativos de transmissão para a esquistossomose no bairro de Saramandaia (dados não publicados).

Nossos resultados mostraram que alguns caramujos negativos no Teste de Eliminação Clássica foram positivos no qPCR, representando 5,4% do total caramujos. Enquanto que no Teste de Eliminação Clássica, menos de 1% dos caramujos eliminaram cercárias de *S. mansoni*. Estes resultados são semelhantes aos descritos na literatura, demonstrando que a técnica de PCR se apresenta com um método mais sensível que a técnica de Eliminação Clássica. Farghaly e colaboradores (2016) compararam a sensibilidade de dois métodos convencionais de análise, o Teste de Eliminação Clássica e o esmagamento de concha, com o PCR. Foi observado que a média de sensibilidade do Teste de Eliminação Clássica comparada com o PCR foi de 23,8% e com o esmagamento de concha de 46,4%; enquanto que a sensibilidade do PCR foi 100%,

demonstrando que o PCR possui uma sensibilidade superior aos métodos tradicionais, sendo capaz de detectar casos positivos que foram falsos negativos nos demais métodos. Melo e colaboradores (2006) também observaram que o PCR permite a identificação em “pools” de caramujos que foram previamente negativos nos métodos convencionais.

Acerca das coleções hídricas que foram positivas para *S. mansoni* exclusivamente no qPCR, é fundamental fazer uma análise sobre seu histórico de positividade de caramujos para *S. mansoni*. No Parque Metropolitano de Pituaçu, esta positividade foi observada em 2009, 2010 e em 2015. Acredita-se que a associação entre a presença de *B. glabrata* e o despejo de dejetos domiciliares decorrentes de ligações clandestinas de esgoto de residências próximas ao Parque Metropolitano de Pituaçu, foram fatores que contribuíram para essa positividade. Além disso, em 2002 devido ao processo de degradação das águas da Represa de Pituaçu, ocorreu um vazamento da tubulação de esgotamento sanitário, que além de impedir o uso de suas águas, também iniciou o processo de eutrofização (GOMES, 2008). Possivelmente, a positividade observada no presente estudo nesta coleção hídrica seja reflexo da contaminação ambiental prévia.

De forma semelhante, a positividade observada em 2015 (CCZ, 2015) e no presente estudo na Rua Nossa Senhora de Lourdes, também é reflexo de contaminação ambiental, uma vez que há a presença direta de saídas de esgoto das residências próximas ao local de coleta. Em contrapartida, mesmo tendo todas as condições para manutenção do ciclo da esquistossomose e ter sido positiva em 2016 (CCZ, 2016), a coleção hídrica do Bate Facho apresentou um resultado negativo em ambas as técnicas empregadas nesse trabalho para avaliar infecção por *S. mansoni*. Acredita-se que por se tratar de uma vala de esgoto, as condições ambientais tenham sido desfavoráveis para o sucesso da infecção pelo *S. mansoni* em *B. glabrata*.

Este foi o primeiro trabalho que identificou a positividade para *S. mansoni* na coleção hídrica da Horta de São Bartolomeu, a qual foi positiva apenas no qPCR. Contudo, em 2015, nosso grupo realizou um trabalho com 1,335 moradores de 3 microáreas no bairro de São Bartolomeu para avaliar a distribuição da infecção por *S. mansoni* nesta população, bem como a epidemiologia genética do *S. mansoni*. Como resultados, foi observada uma taxa de positividade de 24,7% para esquistossomose (BLANTON, et al., 2015). Em 2006 também foi realizado um estudo em 268 escolares que residiam no bairro de São Bartolomeu afim de investigar a presença de casos de esquistossomose na região. Como resultado, os autores encontraram uma positividade de 30,2%, sendo que a maior quantidade de ovos/gramas de vezes foi observada nas crianças que moravam próximas as coleções hídricas naturais na área de São Bartolomeu (GUIMARÃES, 2006). Apesar desses estudos terem sido realizados em

locais distintos ao do presente estudos, estes fazem parte da mesma bacia hidrográfica, de modo que é importante observar que os possíveis focos de transmissão para esquistossomose não estão presentes de modo isolado, mas sim presentes em distintos pontos próximos ao Parque São Bartolomeu. Adicionalmente, nosso grupo realizou exames parasitológicos nos trabalhadores da Horta de São Bartolomeu, encontrando 46% positividade para esquistossomose (dados não publicados).

A maior taxa de infecção dentre as coleções hídricas analisadas pelo qPCR foi no Dique do Cabrito, sendo 43,3% dos caramujos positivos para *S. mansoni*. Esse resultado pode ser explicado segundo Santos (2010) que afirma “Devido ao lançamento de efluentes e de esgotos domésticos e industriais, o Dique encontra-se, atualmente, com um alto índice de degradação ambiental”. Logo, esse cenário relaciona-se diretamente com a presença de risco de transmissão de doenças parasitárias devido a precariedade na qualidade das águas do Dique, bem como as condições insatisfatórias de saneamento básico. Diante do exposto, ainda que não tenha sido observada a eliminação de cercária de *S. mansoni* na primeira etapa de análise malacológica, os resultados encontrados no qPCR eram prováveis, uma vez que recentemente, nosso grupo avaliou a prevalência de infecção em 1870 moradores da região do Dique do Cabrito, empregando tanto o método de POC-CCA quanto o Kato-Katz. A taxa de infecção pelo Kato – Katz foi de 2,44% e no POC-CCA foi de 11% (incluindo traço positivo). A associação desses dados com os do qPCR demonstram que este local apresenta potencial de transmissão para esquistossomose em Salvador.

Apesar de não terem sido encontrados *B. glabrata* positivos para *S. mansoni* na coleção hídrica do Dique do Tororó, tanto no Teste de Eliminação Clássica, como no qPCR, este local já foi um dos principais focos de transmissão da esquistossomose em Salvador. O primeiro relato da presença de moradores com esquistossomose no entorno do Dique do Tororó ocorreu em 1962. Naquela época, as condições de saneamento básico eram precárias na região, de modo que boa parte dos dejetos provenientes das residências eram despejados diretamente no Dique do Tororó. No mesmo ano, tiveram início as obras de saneamento na região, sendo construídos canais submersos e uma rede de esgoto, de modo que todos os dejetos que eram despejados no Dique, iriam ser jogados no Rio Lucaia, e somente as águas pluviais continuaram sendo despejadas (OLIVEIRA, 2007).

A Lagoa do Urubu foi considerada negativa para *S. mansoni* levando-se em consideração o Ct 35. Durante a seleção do Ct para considerar uma amostra positiva, observamos que o qPCR foi capaz de amplificar o DNA de *S. mansoni* em um caramujo previamente positivo para outros tipos cercarianos no Teste de Eliminação Clássica. No entanto é importante ressaltar que essa

amplificação gerou um Ct 38, que segundo Too et al. (2003) sugerem um resultado falso positivo. Além disso, afim de evitar reações cruzadas, a região selecionada para amplificação (a porção 18S rRNA) está presente cerca de 100 vezes no genoma do *S. mansoni*, sendo o primer selecionado específico para essa região (GOMES et al., 2006; JOHNSTON; KANE; ROLLINSIN, 1993).

A ausência de taxas de coinfeção nos caramujos observados nesse estudo pode ser explicada pelo antagonismo cercariano, a qual leva a uma competição entre as larvas de diferentes trematódeos e também a uma redução no número de parasitas que conseguem completar seu desenvolvimento. Machado e colaboradores (1988) observaram que as cercarias de *S. mansoni* não se desenvolvem em *B. tenagophila* previamente infectados com cercarias longifurcadas. Apesar dos nossos resultados serem relacionados com outro tipo cercariano, o antagonismo cercariano pode explicar o fato de não ter sido observada a eliminação de ambos os tipos cercarianos no Teste de Eliminação Clássica. Entretanto, a eliminação simultânea de cercárias em coinfeções é possível e foi observada por Moraes e colaboradores (2009), os quais identificaram infecção dupla de *S. mansoni* e *C. lutzii* apenas em 6,55% de *B. tenagophila*.

Complementarmente, nossos resultados no qPCR evidenciaram que os caramujos que eliminaram cercárias de *S. mansoni* geraram um Ct 16, indicando uma grande quantidade de DNA do parasita. Todavia, aqueles que foram negativos no Teste de Eliminação Clássica, mas positivos no qPCR, geraram um Ct entre 30 a 35, demonstrando uma menor quantidade de DNA.

O aumento nas taxas de infecção a partir da associação de métodos clássicos e PCR encontrada nesse estudo corrobora como estudos prévios na literatura. Jannotti e Souza (2000) utilizaram o LS-PCR em associação com o Teste de Eliminação Clássica para determinar a taxa de infecção pelo *S. mansoni* após 7 e 42 dias em *B. straminea* e *B. tenagophila* previamente expostos à miracídeos. Apesar de empregarem outra técnica de PCR e avaliarem a infecção em outras espécies de *Biomphalaria spp*, os resultados encontrados corroboram com os encontrados no presente estudo, uma vez que a taxa de infecção aumentou de 20% para 55% no *B. straminea* e de 45% para 67,6% no *B. tenagophila*. Além disso, o LS-PCR foi capaz de detectar o DNA de *S. mansoni* na fase pré-patente da infecção.

Outro fator que pode explicar a positividade para *S. mansoni* no qPCR apesar da ausência de eliminação de cercárias relaciona-se com o sistema imune de *Biomphalaria spp*. A resistência ou susceptibilidade à infecção pelo *S. mansoni* nesses caramujos está diretamente relacionada com a capacidade dos hemócitos fagocitarem e destruírem o parasita. Lu e colaboradores (2016) identificaram exemplares de *B. sudanica* que não eliminaram cercárias

de *S. mansoni*, mas foram positivos no PCR. Para explicar esses resultados, os autores discutem o fato de que as infecções não bem-sucedidas, as quais não levam à eliminação das cercárias, podem ser detectadas pelo PCR pois o DNA do parasita ainda não foi completamente degradado. Esse fenômeno também já foi descrito em *B. glabrata*, onde parte dos esporocistos primários são degenerados ou encapsulados pelos hemócitos, de modo que a infecção não é bem-sucedida. De fato, os esporocistos possuem uma função fundamental na progressão da doença, uma vez que os níveis de produção das cercárias está diretamente relacionado com seu desenvolvimento e concentração durante a infecção no caramujo (THERÓN; PAGES; ROGNON, 1997).

Outra resposta imune que pode levar ao atraso na eliminação de cercárias, é o desenvolvimento atrasado na resistência do caramujo à infecção por *S. mansoni*. Nesse sentido, Borges, Souza e Andrade (1998) discutem que ocorrem mudanças teciduais significativas nos caramujos *Biomphalaria* infectados e que não eliminaram cercárias. Em *B. glabrata* esses autores observaram que ocorre uma proliferação focal e difusa dos amebócitos, a qual é acompanhada de expansão da matriz extracelular, podendo ter uma aparência similar à observada em granulomas. Lemos e Andrade (2001) discutem que essas mudanças teciduais se desenvolvem gradualmente ao longo da infecção nos caramujos que anteriormente eliminavam cercárias. Essas alterações teciduais também foram observadas por Naga e Radwan (2012), os quais observaram que *B. alexandria* descendentes de caramujos susceptíveis não foram capazes de eliminar cercárias após 30 dias de infecção. Entretanto, segundo (BORGES; SOUZA; ANDRADE apud SOUZA, dados não publicados), estas alterações teciduais não garantem a erradicação completa da infecção, uma vez que alguns esporocistos remanescentes podem ser capazes de completar o desenvolvimento do parasita, de modo que a liberação das cercárias pode ocorrer em até 9 meses após a infecção.

É importante salientar que a reprodução entre caramujos susceptíveis e resistentes influenciam no tempo de desenvolvimento do *S. mansoni* no caramujo. Lewis e colaboradores (1993) em um estudo com *B. glabrata* obtidos a partir do cruzamento com espécies resistentes e susceptíveis, identificaram que cerca de 20% dos caramujos descendentes apresentavam um atraso na fase pré patente, que podia durar até 10 meses. Guimarães e colaboradores (1997) também discutem que *B. glabrata* podem apresentar um perfil parcialmente resistente, no qual a fase pré patente e patente podem juntas chegar até 1 ano, sem causar nenhum tipo de dano para o caramujo ou para o parasita.

A ausência da eliminação de cercárias também pode ser estar relacionado com o processo de esporocistogênese. Estudos experimentais demonstraram que a formação do esporocisto

secundário pode ser proveniente tanto do esporocisto primário como pode ocorrer um processo de auto replicação, produzindo novas gerações de esporocistos (HANSEN, 1973; KECHEMIR; THÉRON, 1980; TOUASSEM; THÉRON, 1986). Jourdane e Théron (1987) observaram que durante o processo de esporocistogênese podem ocorrer alterações, de modo que a localização do esporocisto secundário durante sua migração dentro do caramujo determina o sucesso do desenvolvimento do parasita. Uma dessas alterações ocorre quando o esporocisto secundário migra para regiões ectópicas, tais como a região cefalopodal e rins, de modo que ao invés de produzir cercarias, produz outra geração de esporocistos (JAMIENSON, 2016). Esse fenômeno foi observado por Richards e colaboradores (1992) em *B. glabrata* parcialmente resistentes, tendo um retardo de até 7 meses na liberação de cercarias.

Neste sentido, os resultados do presente estudo identificaram coleções hídricas com a presença de *B. glabrata* positivos para *S. mansoni*, podendo-se inferir que estes são suscetíveis à infecção e que os locais onde foram encontrados atuam como focos de transmissão para esquistossomose em Salvador, tais como a Horta de Saramandaia, Lagoa do IAT, Av. ACM (próxima à Comercial Ramos), Rua Nossa Senhora de Lourdes, Horta São Bartolomeu e Dique do Cabrito. Ademais, este é o primeiro estudo que relata a presença de outros tipos cercarianos da família Clinostomidae, Strigeidae e Spirorchiidae em *B. glabrata* no município de Salvador. Demonstramos que a combinação entre o Teste de Eliminação Clássica e métodos moleculares fornecem informações mais fidedignas acerca da positividade por *S. mansoni* em caramujos *Biomphalaria*, podendo estimar a intensidade de infecção e determinar os focos de transmissão para esquistossomose.

7. CONCLUSÃO

- *B. glabrata* encontra-se amplamente distribuídos na cidade de Salvador
- Em Salvador, a Horta de Saramandaia e Lagoa do IAT apresentaram exemplares de *B. glabrata* liberando cercárias de *S. mansoni*;
- A maior taxa de positividade para *S. mansoni* em *B. glabrata* foi observada no qPCR, sugerindo que a detecção molecular é uma metodologia mais sensível e específica para avaliar infecção;
- Foram identificadas coleções hídricas com risco de transmissão para esquistossomose: Horta de Saramandaia, Lagoa do IAT, Av. ACM (próxima à Comercial Ramos), Rua Nossa Senhora de Lourdes, Horta São Bartolomeu e Dique do Cabrito;
- A coleção hídrica do Dique do Cabrito apresentou a maior taxa de positividade no qPCR (43,4%);
- Este foi o primeiro trabalho que identificou *B. glabrata* positivos para *S. mansoni* na Horta de São Bartolomeu
- *B. glabrata* de Salvador também é susceptível à infecção por outras larvas de trematódeos;
- Este foi o primeiro trabalho que indentificou *B. glabrata* eliminando cercárias da família Clinostomidae, Strigeidae e Spirorchiidae no município de Salvador;
- Estimar a prevalência de infecção por *S. mansoni* em moluscos apenas pelo Teste de Eliminação Clássica pode subestimar o problema.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E. S. A; CASTRO, C. G. J.; LISBOA, C. A. Distritos sanitários: concepção e organização: 1. ed. São Paulo: Editora Fundação Peirópolis,1998.

ANDRADE, ZA. A patologia da Esquistossomose humana. In: CARVALHO, OS., COELHO, PMZ., LENZI, HL., orgs. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008, pp. 546-568.

AZEVEDO, C. M; BORGES, C.; ANDRADE, Z. A. Behavior of *Schistosoma mansoni*-induced histopathological lesions in *Biomphalaria glabrata* submitted to ionizing radiation. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, p. 218 – 221, 2004.

BARBOSA, C.S., SILVA, C. B. Epidemiologia da esquistossomose mansônica no Engenho Bela Rosa, município de São Lourenço da Mata, Pernambuco, Brasil, **Cad. Saúde Publ.**, v. 8, 1992.

BARBOZA, D. M. et al. *Biomphalaria* species distribution and its effect on human *Schistosoma mansoni* infection in an irrigated area used for rice cultivation in northeast Brazil. **Geospatial Health**, v. 6, n. 3, 2013.

BARON, O.L. et al. Parental transfer of the antimicrobial protein LBP/BPI protects *Biomphalaria glabrata* eggs against oomycete infections. **PLOS Pathog.**, v. 9, n. 12, 2013.

BEIDMAN, D. FRIED, B; SHERMAN, J. Effects of *Schistosoma mansoni* infection on the survival, fecundity, and triacylglycerol content of *Biomphalaria glabrata* snails. **J. Vet. Sci. Med. Diag.**, v. 2, n. 3, 2013.

BEZERRA, F. S. M. Moluscos transmissores da esquistossomose. In: NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2004. P. 194 – 2002.

BORGES, C. M. C.; SOUZA, C. P.; ANDRADE, Z. A. Histopathologic Features Associated with Susceptibility and Resistance of *Biomphalaria* Snails to Infection with *Schistosoma mansoni*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. V. 93, n. 1, p. 117 – 121, 1998.

BORGES, E. et al., Fauna de moluscos (*Biomphalaria*) vetores da esquistossomose mansônica nos cursos d'água do assentamento de reforma agrária ezequias dos reis, no município de Araguari – MG. **Horizonte Científico**, v. 2, n. 1, p. 1-25, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica da Esquistossomose (2014)**. Disponível em: < <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/esquistossomose/situacao-epidemiologica>>. Acesso em: 10 de jan 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. A Infecção e a doença. In: _____. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii: diretrizes técnicas**. 4 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014a.

BRASIL. Secretária de Vigilância em Saúde. **Sistema Nacional de Vigilância em Saúde. Relatório de Situação: Bahia**. Brasília, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Aspectos ecológicos. In: _____. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)**. 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008a.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Moluscos. In: _____. **Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica: diretrizes técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)**. 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008b.

BRASIL. RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. Classificação e diretrizes ambientais para o nquadramento dos corpos de água superficiais, e condições e padrões de lançamento de efluentes, Brasília, DF, mar 2005.

BLANTON, R. E. et al. The Relative Contribution of Immigration or Local Increase for Persistence of Urban Schistosomiasis in Salvador, Bahia, Brazil. **Plos Negl. Trop. Dis.**, v. 9, n. 3, 2015.

CALDEIRA, R. L.; JANNOTTI-PASSOS, L; K; CARVALHO, S. O. Use of Molecular Methods for the Rapid Mass Detection of *Schistosoma mansoni* (Platyhelminthes: Trematoda) in *Biomphalaria spp.* (Gastropoda: Planorbidae). **J. Trop. Med.**, v. 2017, 2017.

CANTINHA, R. S. Estudo da resposta do caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) frente a estímulos ambientais estressores, com enfoque na proteína HSP 70. 2012. 103f. Tese de Doutorado em Ciências. Instituto de Pesquisa Energética Nucleares. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

CARVALHO, G. A.; ANDRADE, C. F.; UETA, M. T. Experimental infection of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) larvae with the xiphidiocercariae of a hematolechid. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 573 – 578, 2002.

CARVALHO, OS., et al. Distribuição espacial de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*, hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil. In: CARVALHO, OS., COELHO, PMZ., and LENZI, HL., orgs. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008a, pp. 393-418.

CARVALHO, M. O. A produção audiovisual no planejamento urbano participativo: experiências e o caso do plano de bairro Saramandaia. 285f. Tese de Doutorado em Arquitetura e Urbanismo. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

CENTRO DE CONTROLE DE ZOONOSES DE SALVADOR (CCZ). Relatório Interno Anual das Ações de Controle de Zoonoses entre 2009 a 2016.

CENTRO DE CONTROLE DE ZOONOSES DE SALVADOR (CCZ). Relatório Interno Anual das Ações de Controle de Zoonoses de 2017.

CENTRO DE CONTROLE DE ZOONOSES DE SALVADOR (CCZ). Primeiro Relatório Quadrimestral das Ações de Controle de Zoonoses entre 2018.

COELHO A. L.; MELO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni* e a doença. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Editora: Atheneu, 2005.

CDC. Neglected Tropical Diseases. The Burden of Schistosomiasis (Schisto, Bilharzia, Snail Fever). 2016.

DIVEP; SUVISA. Boletim epidemiológico da esquistossomose – Bahia, 2018.

DORSEY, C. H et al., Ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* cercaria. **Micron.**, v. 33, n. 3, p. 279 – 323, 2002.

ELBAZ, T.; ESMAT, G. Hepatic and Intestinal Schistosomiasis: Review. **J. Adv. Res.** v. 4, n. 5, p. 445–52, set. 2013.

FALCÃO, E. C. O incontestável descobridor do *Schistosoma mansoni*. In:_____. **Pirajá da Silva: o incontestável descobridor do Schistosoma mansoni**. 1 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008, pp. 21-29.

FARGHALY, A. et al. Molecular approach for detecting early prepatent *Schistosoma mansoni* infection in *Biomphalaria alexandrina* snail host. **J. Parasit. Dis.**, v. 40, n. 3, p. 805 – 812, 2016.

FARO, M. J et al. Biological, biochemical and histopathological features related to parasitic castration of *Biomphalaria glabrata* infected by *Schistosoma mansoni*. **Exp. Parasitol.** v. 134, n. 2, p. 228 – 234, 2013.

FERRARI, T.C.A.; MOREIRA, P.R.R.; CUNHA, A.S. Clinical characterization of neuroschistosomiasis due to *Schistosoma mansoni* and its treatment. **Acta Tropica**, v. 108, n. 2-3, p. 87-97, 2008.

FILHO, A. et al. Neuroesquistossomose. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, v. 19, n. 3, p. 165-209, 2015.

FONSECA, E. O. L. et al. Prevalência e fatores associados às geohelmintíases em crianças residentes em municípios com baixo IDH no Norte e Nordeste brasileiros. **Cad. Saúde Pública**, v. 26, n. 1, 2010.

GOMES, A. L. V. **Desenvolvimento e validação da detecção molecular da infecção por *Schistosoma mansoni* em lotes de moluscos vetores para identificação de focos de transmissão.** Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2008.

GOMES, A. L. V. et al. Development of a real time polymerase chain reaction for quantitation of *Schistosoma mansoni* DNA. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 1, 2006.

GOMES, F. B. Encantos e desencantos do Parque Metropolitano de Pituacú: da preservação aos problemas ambientais. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Geografia) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Geociências, Salvador, 2008.

GUIMARÃES, C. T. et al. Resistência de *Biomphalaria glabrata* à infecção pelo *Schistosoma mansoni*: variações no período pré-patente e na compatibilidade. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, n. 30, v. 4, p. 273 – 278, 1997.

GUIMARÃES, I. C. S.; TAVARES-NETO, J. Transmissão urbana de esquistossomose em crianças de um bairro de Salvador, Bahia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 5, p. 451-455, 2006.

GRIMES, et al. The roles of water, sanitation and hygiene in reducing schistosomiasis: a review. **Parasite Vect.**, v. 8, n. 156, p. 1–16, mar. 2015.

GRYSEELS, B; STRICKLAND, G. M. Schistosomiasis. In: MAGILL, A.J et al. (Eds). **Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease**. 9th ed. Elsevier: Philadelphia, 2013.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 383–397, 2012.

GRYSEELS, B. et al. Human Schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106–1118, set. 2006.

HAMBURGER, J. et al. A polymerase chain reaction assay for detecting snails infected with *Bilharzia* parasites (*Schistosoma mansoni*) from very early prepatency. **Am. J. Trop. Med.**, v. 59, n. 6, 1998.

HANELT, B., MANSOUR, M. H., LOKEER, E. S. Detection of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria* using Nested PCR. **J. Parasitol.**, v. 83, 1997.

HANSEN, E. L. et al. *Schistosoma mansoni*: emergence of progeny-daughter sporocysts in monoxenic culture. **Exp. Parasitol.**, v. 33, n. 3, p. 486 – 494, 1973.

HUMPHRIES, J. Effects of larval schistosomes on *Biomphalaria* snails. In: TOLEDO, R.; FRIED, B. (Eds.) **Biomphalaria Snails and Larval Trematodes**. New York. Editora: Springer, 2011, pp. 103-125.

IBGE. Censo Demográfico 2010 – **Número de municípios e os mais populosos**. IBGE, 2010. Disponível em:< <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv49230.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

IBGE. **Mapa de clima do Brasil**. IBGE, 2002. Disponível em:< https://atlascolar.ibge.gov.br/images/atlas/mapas_brasil/brasil_clima.pdf> Acesso em: 10 de dez. 2017.

INGRAM, R. J. et al. Penetration of human skin by the cercariae of *Schistosoma mansoni*: an investigation of the effect of multiple cercarial applications. **J. Helminthol.**, v. 77, p. 27 – 31, 2003.

INOBAYA, M. T. et al. Prevention and control of schistosomiasis: a current perspective. **Res. Rep. Trop. Med.**, v. 5, p. 65 – 75, 2014.

JAUÉGUIBERRY, S.; PARIS, L.; CAUMES, E. Acute schistosomiasis, a diagnostic and therapeutic challenge. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, n. 3, p. 225–231, 1 mar. 2010.

JAMIENSON, B. G. M. *Schistosoma* sporocysts. In:_____. **Schistosoma: biology, pathology and control**. New York: CR Press, 2016, pp. 118 – 148.

JANNOTTI-PASSOS, L. K.; SOUZA, C. P. Susceptibility of *Biomphalaria tenagophila* and *Biomphalaria straminea* to *Schistosoma mansoni* infection detected by low stringency polymerase chain reaction. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 42, n. 5, p. 291 – 294, 2000.

JARNE, P; POINTIER, JP; DAVID, P. Biosystematics of *Biomphalaria spp.* with emphasis on *Biomphalaria glabrata*. . In: TOLEDO, R.; FRIED, B. (Eds.) **Biomphalaria Snails and Larval Trematodes**. New York: Springer, 2011, pp. 1-32.

JOURDANE, J.; THÉRON, A. Larval development: eggs to cercariae. In: ROLLISON, D.; SIMPSON, A. ed. **The biology of schistosomes**. Londres: Academic Press, 1987. p. 83 – 117.

JOHNSTON, D. A., KANE, R. A., ROLLINSON, D. Small subunit (18S) ribosomal RNA gene divergence in the genus *Schistosoma*. **Parasitology**, Cambridge, v. 2, p.147-156. 7-8. Aug. 1993.

JONG, E. C. Schistosomiasis. In: JONG, E. C; STEVENS, D. **Netter's infectious diseases**. Philadelphia. Editora: Saunders, 2012, pp. 516-521.

KATZ, N. A descoberta da esquistossomose no Brasil. **Gaz. Méd. Bahia**, v. 78, n. 2, p. 123-125, 2008.

KATZ, N; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Cienc. Cult.**, São Paulo, v 55, n. 1, p. 38-43, jan. 2003.

KECHEMIR, N.; THÉRON, A. Existence of replicating sporocysts in the development cycle of *Schistosoma haematobium*. **J. Parasitol.**, v. 66, p. 1068 – 1070, 1980.

KING, C.H. Parasites and poverty: the case of schistosomiasis. **Acta. Trop.** v. 113, n. 2, p. 95–104, fev. 2010.

KLOSS, H. et al. The distribution of *Biomphalaria spp.* in different habitats in relation to physical, biological, water contact and cognitive factors in a rural área in Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 57- 66, 2001

KNIGHT, M.; ONGELE, E.; LEWIS, F. Molecular studies of *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host of *Schistosoma mansoni*. **Int. J. Parasitol.** v. 10, n. 30, p. 535–41, abr. 2000.

LEAL-NETO, et al. Biological and environmental factors associated with risk of schistosomiasis mansoni transmission in Porto de Galinhas, Pernambuco State, Brazil. **Cad. Saúde Públ.**, v. 29, n. 2, p. 357-367, fev. 2013.

LEAL, et al. Acute Schistosomiasis in brazilian traveler: the importance of tourism in the epidemiology of neglected parasitic diseases. **Case Rep. Infect. Dis.**, v. 2012, p. 1–3, 2012.

LEAL, S. V. **Aplicação da técnica de “Nested PCR” durante o período pré-patente para identificação de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro intermediário *Biomphalaria glabrata*.** Dissertação (Mestrado em Parasitologia Médica) – Universidade Nova Lisboa. Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Lisboa, 2010.

LEWIS, F. A.; ANDRADE, Z. A. Sequential Histological Changes in *Biomphalaria glabrata* during the Course of *Schistosoma mansoni* Infection. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 719 - 721, 2001.

LENZI et al. Migração e desenvolvimento de schistosoma mansoni no hospedeiro definitivo. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.(Orgs.) ***Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. p. 85-145.

LEWIS, F. A.; TUCKER, M. S. Schistosomiasis. In: TOLEDO, R.; FRIED, B. (Eds.) **Digenetic Trematodes**. New York. Editora: Springer, 2014, p. 47-75.

LEWIS, F. A. et al., *Schistosoma mansoni*: analysis of an unusual infection phenotype in the intermediate host snail *Biomphalaria glabrata*. **Exp. Parasitol.**, v. 77, p. 349 – 361, 1993.

LU, L. et al., Relative compatibility of *Schistosoma mansoni* with *Biomphalaria sudanica* and *B. pfeifferi* from Kenya as assessed by PCR amplification of the *S. mansoni* ND5 gene in conjunction with traditional methods. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 166, 2016.

MACHADO, S. M. P. et al. Verificação de antagonismo entre larvas de *Schistosoma mansoni* e larvas de outros Digenea em *Biomphalaria tenagophila*, molusco planorbídeo de criadouro natural situado na região de Campinas, SP, Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 22, n. 6, 1988.

MELO, F. L. et al. Development of molecular approaches for the identification of transmission sites of schistosomiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med.**, v. 100, n. 11, p. 1049 – 1055, 2006.

MELO, A. G. S.; et al. Esquistossomose em área de transição rural-urbana: Reflexões epidemiológicas. **Cienc. Cuid. Saúde**, v. 10, n. 3, p. 506 – 513, 2011.

MORAES, J. et al. *Schistosoma mansoni* and other larval trematodes in *Biomphalaria tenagophila* (Planorbidae) from Guarulhos, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 51, n. 2, p. 77- 82, mar. 2009.

MOREIRA, C. P. DE S.; ZANI, C. L.; ALVES, T. M. DE A. Atividade moluscicida do látex de *synadenium carinatum* boiss (EUPHORBIACEAE) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte. **Rev. Eletr. Farm.**, v. 7, n. 3, p. 16–27, 2010.

MORGAN, et al. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: past history and future trends. **Parasitology**, v. 123, p.211-228, 2001.

NAGA, I. F. A.; RADWAN, E. H. Defense response of susceptible and resistant *Biomphalaria alexandrina* snails against *Schistosoma mansoni* infection. **Rev. Biol. Trop.**, v. 60, n. 3, p. 1195 – 2004, 2012.

NETO, O. B. L. et al. Análise espacial dos casos humanos de esquistossomose em uma comunidade horticultura da Zona da Mata de Pernambuco, Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 15, n. 4, 2012.

OHLWEILER, F. P. et al. **Manual de Gastrópodes Límnico e Terrestres do Estado de São Paulo associados à Helminntoses**. Porto Alegre: Redes Editora, 2010.

OLIVEIRA, E. E. R. **A vegetação na transformação da paisagem do dique do tororó. Dissertação de Mestrado em Geografia.** 160 f. Universidade Federal da Bahia, Instituto de Geociências. Departamento de Geografia. Salvador, 2007.

OLVEDA, D. U. et al. Bilharzia: Pathology, Diagnosis, Management and Control. **Trop. Med. & Surg.**, v. 1, n. 4, 20 ago. 2013.

PARAESE, W.L. Histórico do *Schistosoma mansoni*, In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L. (Orgs.) **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008, p. 28-41.

PARAENSE, W.L. The schistosome vectors in Americas. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 7-16, 2001.

PARK, C. W. et al. A Human Case of Clinostomum complanatum Infection in Korea. **Korean J. Parasitol.**, v. 47, n. 4, p. 401 – 404, 2009.

PIERI, O. S.; FAVRE, T. C. Diapausa em *Biomphalaria glabrata*. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L. (Orgs.) **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. p. 419-433.

PINTO, H. A.; MELO, A. L. Larvas de trematódeos em moluscos do Brasil: panorama e perspectivas após um século de estudos. **Patol. Trop.**, v. 42, n. 4, p. 369 – 386, 2013.

PIRAJÁ, S. M. A. Contribuição para o estudo da schistosomíase na Bahia. **Brasil Med.**, v. 22, p. 281 – 283, 1908a.

PIRAJÁ, S. M. A. Contribuição para o estudo da Schistosomíase na Bahia. Dezesesseis observações. **Brasil Med.**, v. 22, p. 441 – 444, 1908b.

PRATA, A. Comemoração do centenário da descoberta do *Schistosoma mansoni* no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 689–691, 2008a.

PRATA, A. R.; COURA, J. R. Fases e formas clínicas da Esquistossomose mansônica. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L. (Orgs.). **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008b. p. 739-787.

REY, L. Schistosoma e esquistossomose: epidemiologia e controle. In:_____. **Parasitologia**. 4ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara, 2011.

RICHARDS, C. S.; KNIGHT, M.; LEWIS, F. A. Genetics of *Biomphalaria glabrata* and its effect on the outcome of *Schistosoma mansoni* infection. **Parasitol. Today**, v. 8, p. 171 – 174, 1992.

RUPPER, E. E.; FOX, R. S.; BARNERS, R. D. **Zoologia dos invertebrados**. 7 ed. São Paulo: Roca. 2005. p. 323-481.

RODRIGUES, J. G. M. R. Larvas de trematódeos de *Biomphalaria spp.* (Gastropoda: Planorbidae) de dois municípios do leste da Amazônia Legal brasileira. , v. 8, n. 3, p. 51 – 58, 2017.

ROSS, et al. Katayama syndrome. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 3, p. 218–224, 2007.

SANTANA, L.A; GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica : aspectos gerais , imunologia , patogênese e história natural. **Rev. Bras. Clin. Med.**, v. 9, n. 4, p. 300– 307, 2011.

SANTOS, E. et al. O caminho das águas em Salvador: bacias hidrográficas, bairros e fontes. Bacia Hidrográfica do Rio Camarajipe. In:_____. **O caminho das águas em Salvador: bacias hidrográficas, bairros e fontes**. CIAGS/UFBA, Salvador, 2010.

SARVEL, A. K. et al. Análise da positividade da esquistossomose mansoni em Regionais de Saúde endêmicas em Pernambuco, 2005 a 2010. **Plos Neglected Trop. Dis.**, v. 5, n. 3, p. 1 – 6, 2011.

SILVA, R. E.; MELO, A. L. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos de água doce coletados na bacia hidrográfica do Lago Soledade, Ouro Branco, Minas Gerais, Brasil. **Lundiana**, v. 11, p. 21 – 33, 2013.

SOUZA, C.P. et al. Moluscos límnicos da Microrregião de Belo Horizonte, Minas Gerais, com ênfase nos vetores de parasitoses. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 31, p. 449 – 456, 1998.

SOUZA, M. A. A. **Levantamento malacológico, aspectos ecológicos e mapeamento de áreas de risco para a transmissão da esquistosomose mansoni no município de Mariana, Minas Gerais**. 152 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Departamento de Parasitologia, 2006.

SOUZA, M. A. A.; MELO, A. L. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos gastrópodes coletados em Mariana, Minas Gerais, Brasil. **Iheringia, Série Zool.**, v. 102, n. 1, p. 11 – 18, 2012.

SOUZA, M. A. A. et al. Criadouros de *Biomphalaria*, temporários e permanentes, em Jaboaão dos Guararapes, PE. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 41, n. 3, 2008.

SCHOLTE et al. Spatial distribution of *Biomphalaria spp.*, the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. **Geospat Health.**, v. 6, n. 3, p. 95-101, 2012.

STANDLEY, et al. The population genetic structure of *Biomphalaria choanomphala* in Lake Victoria, East Africa: implications for schistosomiasis transmission. **Parasites & Vectors** v. 7, n. 524, p. 1-10, jul 2014.

STEINMANN, P. et al. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. **The Lancet Infect. Dis.**, v. 6, n. 7, p. 411-425, 2006.

TEIXEIRA, R. S. et al. Espacialização do caramujo da espécie *Biomphalaria glabrata* do córrego da Lagoa do Parque Pituauçu Salvador – BA. **Candombá**, v. 7, n. 1, p. 55 – 64, jan – dez, 2011.

TELES, H. M. S.; CARVALHO, O. Implicações da Biologia de *Biomphalaria* no Controle da Esquistossomose. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L. (Orgs.) **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. p. 459-484.

TELES, H. M. S. Distribuição geográfica das espécies dos caramujos transmissores de *Schistosoma mansoni* no Estado de São Paulo. **Rev. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 5, p. 426-432, set-out 2005.

TIBIRIÇA, S.H.C.; GUIMARÃES, F.B.; TEIXEIRA, M.T. *Schistosoma mansoni* in the context of the Brazilian health policy. **Ciên. & Saúde Col.**, v. 16, n. 1, p. 1375-1381, 2011.

TIBIRIÇA, S. H.C. **Identificação morfológica e molecular, biometria, abundância e distribuição geográfica de *Biomphalaria ssp.* (Preston, 1910) (Molusca, Planorbidae), no município de Juiz de Fora, Minas Gerais**. 86 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, Juiz de Fora, 2006.

THÉRON, A; PAGES, J. R.; ROGNON, A. *Schistosoma mansoni*: distribution patterns of miracidia among *Biomphalaria glabrata* snail as related to host susceptibility and sporocyst regulatory processes. **Exp. Parasitol.** v. 85, n. 1, p. 1 – 9, 1997.

THIENGO, S. A. R. C. et al. Freshwater snails and Schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: VI - Noroeste Fluminense Mesoregion. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 239- 245, 2006.

TUAN, R. Distribuição e diversidade de espécies do gênero *Biomphalaria* em microrregiões localizadas no Médio Paranapanema, São Paulo, SP, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 1, p. 279-283, 2009.

TORRIJOS, A. B. et. al. Estimating trematode prevalence in snail hosts using a single-step duplex PCR: how badly does cercarial shedding underestimate infection rates? **Parasit. Vectors**, v. 7, n. 243, 2014.

TOO, H. P. et al. Real time PCR quantification of GFR-2 alternatively spliced isoforms in murine brain and peripheral tissues. **Mol. Brain Res.**, v.114, p. 146-154, 2003.

TOUASSEM, R. THÉRON, A. Study on the intramolluscal developement of *Schistosoma bovis*: demonstration of three patterns of sporocystogenesis by daughter sporocysts. **Parasitology**, v. 92, p. 337 – 341, 1986.

VASQUEZ, R. E.; SULLIVAN, J. T. Hematopoietic tissue allografts in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata) induce humoral immunity to *Schistosoma mansoni*. **Dev. Comp. Immunol.**, v. 25, p. 561 – 564, 2001.

VITORINO, et al. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Rev. Soc. Bras. Clín. Méd.**, v. 10, n. 1, p. 39-45, 2012.

WEERAKOON, et al. Advances in the Diagnosis of Human Schistosomiasis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 28, n. 4, p. 939–967, 2015.

WHO. **Global Health Observatory Map Gallery: World: Distribution of Schistosomiasis. 2016.** Disponível em:<<http://gamapserv.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>>. Acesso em: 20 nov 2017.

WHO. **Distribution of schistosomiasis, worldwide, 2012.** Disponível em:<http://www.who.int/schistosomiasis/Schistosomiasis_2012-01.png?ua=1>. Acesso em: 20 nov 2017.

WHO. **First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases.** Geneva: World Health Organization, 2010.

WHITE, M. M.; FRIED, B.; SHERMA, L. Effects of aestivation and starvation on the neutral lipid and phospholipid content of *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.** v. 93, n. 1, fev 2007.