

INQUÉRITOS POPULACIONAIS DE ESQUISTOSSOMOSE MANSONI POR TÉCNICAS SOROLÓGICAS DE IMUNOFLUORESCÊNCIA E DE HEMAGLUTINAÇÃO

Luiz Candido de Souza DIAS^(1,3), Mário E. CAMARGO⁽²⁾, Sumie HOSHINO⁽²⁾, Alberto da Silva RAMOS^(1,4), José de Toledo PIZA⁽¹⁾ e Luiz Caetano da SILVA⁽²⁾

RESUMO

Técnicas sorológicas, acompanhadas de pesquisas parasitológicas, foram aplicadas em inquéritos populacionais de esquistossomose especialmente em escolares de diferentes áreas geográficas empregando-se amostras de sangue digital colhidas em papel de filtro. Foram utilizadas reações de imunofluorescência e de hemaglutinação e nos casos positivos, insistiu-se na pesquisa de ovos em sucessivos exames de fezes, pela técnica de HOFFMAN, PONS & JANER.

Em áreas de focos ativos, em 524 pessoas, houve 35,1% de reações sorológicas positivas e 19,1% com ovos de *S. mansoni*. Foram necessários 4,3 exames sucessivos de fezes por indivíduo, para êsse resultado.

Em áreas de focos potenciais e em áreas índenes, em 243 indivíduos, apenas três (1,2%) foram positivos à sorologia, dos quais dois apresentaram ovos nas fezes.

Discutem-se as diferenças observadas entre os processos sorológicos e parasitológicos e analisa-se a utilidade das técnicas sorológicas em inquéritos populacionais.

INTRODUÇÃO

Os métodos imunológicos para diagnóstico da esquistossomose assumem cada dia maior importância, devido a sua especificidade, rapidez e simplicidade.

Já tem sido sobejamente discutidas as vantagens que representam em relação aos métodos parasitológicos utilizados nos levantamentos epidemiológicos para o conhecimento da incidência ou prevalência desta endemia. Talvez tenham maior aplicação nas áreas onde se manifesta a helmintose em focos esparsos, cuja expansão vem sendo verificada graças à intensificação das pesquisas epidemiológicas. Daí o interesse em se realizar inquéritos mui-

to amplos que permitam a descoberta de maior número possível, senão de todos os portadores da infecção. Isto se constata no Estado de São Paulo, em cujas áreas da endemia surgem focos isolados e descobertos na maioria das vezes pela verificação dos primeiros casos autóctones revelados por ocasião dos levantamentos coprológicos, ou em achados ocasionais dos exames de laboratório ou ainda, como já tem acontecido, a descoberta de focos ativos representados apenas por planorbídeos parasitados pelas cercárias do *Schistosoma mansoni*, antes do registro de casos autóctones, que podem aparecer

Aided in part by a grant from the U. S. Army Defense Research Office (DAHC — 19-68 — G 0014)

- (1) Campanha de Combate à Esquistossomose (CACESQ) da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo
- (2) Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, da Universidade de São Paulo, Brasil
- (3) Faculdade de Medicina da Fundação Universitária do ABC
- (4) Escola Paulista de Medicina, São Paulo, Brasil

posteriormente ou não, permanecendo a infecção neste caso apenas nos moluscos, como se verifica em três localidades deste Estado.

Quanto à situação atual do Estado, face à endemia, de acordo com os dados dos arquivos da Campanha de Combate à Esquistossomose (CACESQ) é a seguinte: 3,863 casos autóctones distribuídos em 30 municípios; 5.163 casos não autóctones registrados em 160 municípios. Neste particular pode-se atualmente estimar em cerca de 200.000 o número de casos da parasitose oriundos de outros Estados se nos basearmos em trabalhos realizados por vários pesquisadores na então Hospedaria de Imigrantes: REY¹⁹ calculou em 98.000 AMARAL & LIMA¹ obtiveram 19,7% dentre 495 examinados; CORRÊA⁶ obteve 24,5% em 1.010 examinados; CODA & col.⁵ os estimaram em 157.988. Há 27 municípios com casos autóctones e não-autóctones e onde se encontram focos ativos, isto é, o hospedeiro intermediário parasitado pelo *S. mansoni*, que são *B. tenagophila*, *B. glabrata* e *B. straminea* (CORRÊA & col.⁷); três municípios onde foram registrados casos não-autóctones e encontrados focos ativos do hospedeiro intermediário sem registro de casos autóctones (RODRIGUES & FERREIRA²¹, e RAMOS & col.¹⁷); 130 municípios considerados focos potenciais onde foram assinalados somente criadouros do hospedeiro intermediário sem verificação de casos autóctones da parasitose; 189 municípios nos quais foi assinalada a presença de planorbídeos não considerados hospedeiros intermediários, tais como a *B. peregrina*, a *B. intermedia* e *B. schrammi*.

Com relação às observações clínicas, a quase totalidade dos portadores da infecção não apresenta sintomatologia e também não houve registro das formas avançadas da doença. Esta afirmação se baseia em nossas observações e nas opiniões de colegas das Unidades Sanitárias, destacando-se a de FRÓES & col.⁹. Contudo, deve ser citada a observação de SANTOS²² segundo a qual a forma hepatoesplênica da esquistossomose mansonii autóctone em Roseira, já atinge os primeiros casos.

Têm sido realizados levantamentos coprológicos com uma única amostra de material para a pesquisa dos ovos do parasita, o que além de não revelar todos os portadores da

infecção, apresenta os inconvenientes de perda de tempo na colheita do material e remessa ao laboratório e na própria técnica laboratorial. Daí pensar-se corrigir tal situação recorrendo-se a um método fácil e rápido que pudesse ser empregado em grande número de pessoas nas áreas suspeitas da endemia.

Alguns métodos imunológicos poderiam ser adotados desde que não apresentassem falhas justamente em relação ao diagnóstico do grupo etário mais importante do ponto de vista epidemiológico, que engloba a idade juvenil. Em vista disso foi planejada a utilização de dois métodos sorológicos, a imunofluorescência e a hemaglutinação para o diagnóstico da esquistossomose nas pessoas que tivessem feito exame de fezes, para a comparação dos resultados. Serviria a técnica, à triagem dos positivos nos quais poderia ser feito exame de fezes se houvesse interesse, isto em futuros levantamentos.

Foram aproveitados grupos de pessoas de várias idades, submetidas na ocasião a exames de fezes e residentes em localidades do Estado que apresentavam as seguintes características: 1) Localidades em áreas de focos ativos com doentes autóctones e onde se encontram planorbídeos infetados; 2) Localidades em áreas de focos potenciais, com doentes não-autóctones e presença do hospedeiro intermediário; 3) Localidades em áreas indenes com doentes não autóctones e onde não foram encontradas espécies hospedeiras intermediárias, mas apenas as espécies não vectoras de *S. mansoni* referidas linhas atrás.

MATERIAL E MÉTODOS

A — Amostras Populacionais

Foram obtidas nas seguintes localidades:

1. Áreas de focos ativos

a) *Cubatão* — município situado à margem da via Anchieta que liga São Paulo a Santos e faz parte da Baixada Santista. Sua altitude é 3 metros e tem uma população de 40.000 habitantes, dos quais 80% constituídos de operários. Tem grande importância econômica financeira mercê de suas indústrias de base, destacando-se entre as maiores, a

Refinaria Presidente Bernardes e a Companhia Siderúrgica Paulista. Uma parte da cidade não possui rede de esgoto ou de galerias de águas pluviais.

A Campanha de Combate à Esquistossomose (CACESQ) tem registrados 19 casos autóctones da moléstia e 122 casos importados de outros Estados. A espécie intermediária é *B. tenagophila* com índices de infecção natural de 1,53% (RAMOS & col.¹⁵).

b) *Eugênio de Mello* — distrito do Município de São José dos Campos situado no Vale do Paraíba, zona onde foi registrado o maior número de casos autóctones, 1.908, ou seja, mais ou menos a metade verificada em todo Estado. Nesta área ocorre a parasitose em nove municípios. Em Eugênio de Mello é de 3.598 o número de habitantes, possuindo 695 prédios e não dispondo de abastecimento de água nem rede de esgotos. A CACESQ neste distrito havia registrado 96 casos autóctones e 8 não-autóctones da helmintose, focos ativos em valas de drenagem, córrego, valas de irrigação dos arrozais e plantações de flôres. No tocante às pesquisas de planorbídeos, a espécie vectora de *S. mansoni* é *B. tenagophila* que já foi por nós encontrada com índices de infecção natural variando de 0,1 a 5,5%.

c) *Ourinhos* — cidade localizada na zona da média Sorocabana, com 48.991 habitantes, e dispondo de todos os melhoramentos, abastecimento de água e rede de esgotos. Em sua periferia, no Vale do Córrego do Jacu, foram localizados focos ativos da helmintose. O número de doentes autóctones registrados pela CACESQ até 1969 foi de 50, sendo de 8 os não-autóctones. A espécie intermediária é *B. glabrata*, com índices de infecção natural variando de 0,08% a 3,2% (REY¹⁹ e PIZA & RAMOS¹⁶).

2. Área de focos potenciais

Limeira — cidade com 75.076 habitantes, conta com abastecimento de água e rede de esgotos. Até o presente não foram registrados casos autóctones ou focos ativos. Quanto aos casos não autóctones apenas cinco (5) foram ali fichados pela CACESQ.

A única espécie de planorbídeo encontrada na localidade é *B. tenagophila*.

3) Áreas indenes

a) *Catanduva* — cidade localizada na zona Araraquarense, com 50.000 habitantes, dispondo de melhoramentos vários destacando-se o abastecimento de água e rede de esgotos; boas condições sanitárias.

Quanto aos casos de esquistossomose foram registrados pela CACESQ apenas três, não-autóctones.

As espécies de planorbídeos ali encontrados são *B. peregrina* e *B. intermedia*. Desta última espécie foram observados alguns exemplares eliminando cercárias classificadas como macrogranulosas. Tais exemplares foram colhidos em coleções hídricas frequentadas por escolares.

b) *Ilhabela* — cidade localizada na ilha de São Sebastião, com 4.000 habitantes, abastecimento de água, não dispondo de rede de esgotos. Com referência a esquistossomose foram ali registrados pela CACESQ dois casos não-autóctones. No decorrer das pesquisas levadas a efeito na ilha, foram encontrados pela CACESQ alguns exemplares de *B. tenagophila*, em tanque de jardim, certamente importados de outra localidade.

c) *São Sebastião* — cidade localizada no litoral do Estado, com 7.000 habitantes, esquistossomose na localidade, foram registrados abastecimento de água e não conta com rede de esgotos. Sobre a ocorrência de dos três casos não-autóctones.

As pesquisas de planorbídeos não revelaram a presença de vectores do *S. mansoni*.

B — Exames parasitológicos de fezes

As amostras de fezes foram colhidas em latinhas de 20 g, pelo pessoal da CACESQ, e encaminhadas aos laboratórios do Instituto Adolfo Lutz, onde se realizam os exames para os levantamentos epidemiológicos. A técnica de exame foi a de HOFFMAN, PONS & JANER¹⁰, utilizando-se uma única amostra do material e preparando-se duas lâminas de cada para o exame microscópico.

C — Reações sorológicas

Foram realizadas com amostras de sangue colhidas por picada digital em papel

TABLE I

Resultados positivos em pessoas de áreas com focos ativos

Áreas	Nº de pessoas	Casos com	
		Sorologia positiva	Ovos de <i>S. mansoni</i> nas fezes
Cubatão	359	136 (37,9%)	78 (21,7%)
Eugênio de Mello	119	48 (40,3%)	22 (18,5%)
Ourinhos	46	0	0
TOTAL	524	184 (35,1%)	100 (19,1%)

de filtro (*). Depois de secas ao ar, conservaram-se à temperatura ambiente, por não mais do que uma semana. Para as reações, as amostras foram eluídas em PBS (NaCl 0,15M; fosfatos 0,01 M; pH 7,2) contendo "Tween 80" a 1%. Para a eluição, empregou-se a modificação técnica descrita por SOUZA & CAMARGO²³.

Reação de imunofluorescência

Seguiu-se a técnica de CAMARGO & col.⁴, empregando-se como antígeno um triturado de vermes deslipídicos, fixado em lâminas de microscopia, permitindo o processamento de 20 amostras por lâmina. Utilizaram-se conjugados anti IgG humana, diluídos em PBS com "Tween 80" a 1% e azul de Evans a 0,001%. Os conjugados foram diluídos segundo o título, para concentrações mínimas de 1/4 de unidade precipitante antiglobulínica, como definido por BEUTNER & col.³.

As amostras de sangue foram diluídas para concentrações correspondentes aproximadamente a sêro a 1:20, admitindo-se um valor de hematócrito de 40%.

Consideraram-se reações positivas aquelas dando fluorescências evidentes, avaliadas pelo menos em 2 + de intensidade e como reações duvidosas aquelas com fluorescências de 1 + ou ±. As reações negativas corresponde-

ram a partículas de vermes totalmente desprovidas de qualquer coloração fluorescente.

Reação de hemaglutinação

Utilizou-se a técnica descrita por HOSHINO & col.¹¹, com hemácias humanas formolizadas, tratadas pelo ácido tânico e sensibilizadas por antígenos solúveis de vermes adultos. As reações foram feitas em microplacas escavadas, como descrito, com amostras de sangue eluídas de papel de filtro e diluídas para concentrações correspondentes a sêro a 1:40.

RESULTADOS

Nas áreas com focos ativos foram estudados 524 casos (Tabela I), na maioria crianças de Grupo Escolar, de idades entre 7 e 13 anos. Incluíram-se alguns jovens de maior idade e alguns adultos.

Os exames sorológicos revelaram alta percentagem de resultados positivos. Assim, havia 171 casos positivos à reação de imunofluorescência (32,6%) e 168 positivos à reação de hemaglutinação (32,1%) e resultados duvidosos respectivamente em 31 casos (5,9%) e em 68 casos (13,0%). Os casos de resultados duvidosos, em sua maioria puderam ser considerados negativos, pois quando observados e uma das reações, em geral correspondiam a resultados negativos ou duvidosos na outra. Assim para 25 reações duvidosas de imunofluorescência, encontradas

* Klabin 80 ou Whatman n.º 1

TABELA II

Casos de Cubatão e Eugênio de Mello segundo as regiões de origem e segundo os resultados de exames sorológicos e de fezes

Origem dos pacientes	Nº	Com sorologia positiva	Com ovos de <i>S. mansoni</i>	Com sorologia positiva e amostras de fezes negativas
Regiões de esquistossomose endêmica	212	97/212(*) (47,8%)	61/212 (28,8%)	36/97 (37,1%)
Regiões sem esquistossomose endêmica	266	87/266 (32,7%)	39/266 (14,6%)	48/87 (55,2%)

(*) Casos positivos / Número total de casos

nos pacientes da área de Cubatão, apenas três correspondiam a reações positivas de hemaglutinação. Igualmente, para 61 reações duvidosas de hemaglutinação, somente 12 responderam a reações positivas de imunofluorescência.

Tomaram-se como casos sorologicamente positivos aqueles com resultados nitidamente positivos em pelo menos uma das reações. Foram eles 148 casos, ou seja, 35,1% do total.

Pelos exames parasitológicos de fezes, encontraram-se 100 pacientes positivos para ovos de *S. mansoni* (19,1%). Para sua identificação, porém, foram necessários sucessivos exames de fezes. Ao primeiro exame, haviam sido identificados apenas 51% dos 100 casos positivos. Após um segundo exame, tal percentagem elevou-se a 74%, passando a 90%; 97,0% e 100% respectivamente após 3, 4 e 5 exames de fezes.

Nem sempre foi possível realizar-se número tão elevado de pesquisas parasitológicas para os pacientes com sorologia positiva. Ainda que para alguns destes tenham sido feitos exames em sete amostras sucessivas de fezes, para outros examinaram-se apenas uma ou duas amostras. A média de exames de fezes, para o grupo de pacientes soro-positivos, entretanto, foi de 4,3 exames por paciente.

Apesar dessa insistência nos exames parasitológicos em pacientes soro-positivos, foram amplas as diferenças de percentagens de posi-

tividade sorológica e parasitológica, respectivamente de 35,1% e 19,1%.

Tendo em vista que a eliminação fecal de pequeno número de ovos, em casos de infestações leves, pode resultar em sensibilidade relativamente baixa para os exames parasitológicos de fezes, procuramos analisar essas diferenças em dois grupos populacionais diferentes. Em consequência aos freqüentes movimentos migratórios no país, os pacientes de duas áreas estudadas (Cubatão e Eugênio de Mello) puderam ser distribuídos segundo originários ou não de regiões de esquistossomose endêmica. Neste último grupo, reuniram-se aqueles pacientes nativos da área em estudo ou provenientes de regiões sem esquistossomose endêmica.

Os resultados respectivos acham-se na Tabela II. As percentagens de casos sorológicos ou parasitológicamente positivos são mais elevadas para o 1º grupo do que para o 2º. Quanto às percentagens de pacientes sorologicamente positivos mas nos quais não se demonstraram ovos de *S. mansoni* nas fezes, foram respectivamente de 37,1% (limites de confiança 95%: 27,5% a 47,5 e 55,2%; limites de confiança 95%: 41,1% e 65,9%).

Todos os casos parasitológicamente positivos apresentaram positividade sorológica. É de se notar, entretanto, que em geral pesquisaram-se ovos em somente uma amostra de fezes para cada paciente sorologicamente negativo.

Nas áreas de focos em potencial e nas áreas índenes à esquistossomose, estudaram-se 243 casos, respectivamente 107 casos da região de Limeira e 136 nas demais (Catanduva, São Sebastião e Ilhabela). Também nestes grupos predominaram crianças de Grupo Escolar, com pequeno número de adultos. Estes contituiram a maioria, entretanto, nas duas últimas áreas assinaladas.

Foram encontrados dois casos com exames positivos de fezes. Quanto aos exames sorológicos, a reação de imunofluorescência foi positiva em três casos (1,2%), duvidosa em 24 (9,9%) e negativa em 216 (88,9%). A reação de hemaglutinação foi positiva em dois casos (0,8%), duvidosa em 23 (9,5%) e negativa em 218 (89,7%).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos vem demonstrar a utilidade das reações sorológicas de imunofluorescência e de hemaglutinação para a identificação de casos de esquistossomose em populações expostas ao risco de contaminação. Os exames sorológicos mostraram alta sensibilidade, permitindo a detecção de todos os casos posteriormente confirmados pelo achado de ovos em fezes. A simplicidade técnica de ambas as reações contrasta com as dificuldades inerentes aos exames parasitológicos de fezes. Não apenas a coleta do material, como sua preservação e processamento no laboratório, são mais fáceis para os exames sorológicos, desde que estes podem ser executados com amostras de sangue digital, colhidas em papel de filtro e enviadas ao laboratório mesmo pelo correio. Tais amostras, dessecadas, são estáveis à temperatura ambiente por algumas semanas e sua coleta não implica em pessoal especializado ou material elaborado, como seringas e agulhas estéreis, dispensando ainda tubos, centrifugas e cuidados de refrigeração, indispensáveis para amostras de sangue venoso.

Por outro lado, a identificação da maioria dos casos de esquistossomose apenas pelo achado de ovos nas fezes exigiria que se submetesse toda a população suspeita a pelo menos quatro ou cinco exames sucessivos, tornando o inquérito quase impraticável.

A aplicação das reações sorológicas a populações de áreas livres de focos ativos, mostrou índice de positividade extremamente baixo, de apenas 1,2% (3 casos em 243). Em dois desses pacientes, provenientes de áreas endêmicas, foram encontrados ovos de *S. mansoni* nas fezes. Nestas amostras populacionais não se fez sentir grandemente a influência de movimentos migratórios, desde que formadas, na sua maioria, de pessoas oriundas das áreas de estudo.

Em pesquisas anteriores havíamos encontrado positividade de 2,6% para outros grupos de pessoas não parasitadas pelo *S. mansoni* (HOSHINO & col.¹²). Ambos esses valores em pessoas residentes em regiões não endêmicas contrastam significativamente com os índices de positividade aqui registrados para duas áreas de focos ativos em que as percentagens de casos sorologicamente positivos excederam de muito as percentagens de casos parasitológicamente comprovados. Apesar de submetidos a sucessivos exames de fezes, não foi possível comprovar-se a presença de ovos em cerca da metade dos casos com reações sorológicas positivas. Tal fato poderia resultar, em parte, do número relativamente restrito de amostras de fezes analisadas (em média 4.3 exames por paciente), que talvez sejam insuficientes para a identificação de apreciável percentagem de casos com baixa ovoposição. É mesmo de se supor que nas áreas estudadas, que se supõem de parasitoses de introdução recente, tanto pela ausência de formas avançadas da doença, como pela existência de focos ativos que não tiveram tempo de induzir a infecção humana, os níveis de infestação sejam mais baixos do que em zona de esquistossomose endêmica. Dêsse modo resultariam índices mais baixos de ovoposição, dificultando o achado de ovos nos exames de fezes. Não se pode deixar de admitir também a possibilidade de ausência de ovoposição em certo número de pacientes infestados.

Para investigar eventuais diferenças de sensibilidade dos exames de fezes em pacientes de áreas endêmicas e em pacientes autoctones das áreas ora estudadas, procuramos verificar as respectivas incidências de casos sôro-positivos apresentando exames de fezes seguidamente negativos. Ainda que a

percentagem verificada no segundo grupo (55,2%) tenha sido maior do que no primeiro (37,1%), o número de casos estudados é restrito, não se podendo atribuir valor grandemente significativo a essa diferença.

Outra observação feita no decorrer desta investigação foram os títulos relativamente baixos encontrados para casos parasitológicamente positivos, tanto na reação de imunofluorescência como na de hemaglutinação. Em vários casos titulados, esses valores não excediam 1/20 para a imunofluorescência e 1/40 ou 1/80 para a hemaglutinação, em contraste com os altos títulos freqüentemente assinalados para pacientes observados em áreas endêmicas, como já tivemos oportunidade de assinalar (HOSHINO & col.¹²).

Para justificar o excesso de percentagens de casos sorologicamente positivos sobre os casos parasitológicamente demonstrados, resta a hipótese de que se devam a falsos resultados positivos, que traduziriam baixa especificidade das reações sorológicas. Na realidade, em certas populações isentas de esquistossomose tem sido encontrada alta percentagem de reações positivas (KAGAN & col.¹³).

Nós mesmos, em índios do Alto Xingu, encontramos 39,7% de reações positivas (BARUZZI & col.²). A ocorrência de reações cruzadas entre espécies de esquistossomos parasitas de aves ou mamíferos e aqueles capazes de infestar a espécie humana tem sido repetidamente assinalada (PELLEGRINO & BIOCCA¹⁵, MOORE & col.¹⁴). Igualmente, encontraram-se reações cruzadas mesmo com cercárias de vida livre (PELLEGRINO & BIOCCA¹⁵; DÖNGUES⁸). É possível que a sensibilização por cercárias de outros estrigeídeos que não o *S. mansoni*, nas populações assinaladas, possa explicar a elevada incidência de falsas reações positivas. Os títulos que observamos para as mesmas foram sempre baixos. Entretanto, tendo em vista os baixos títulos também observados para os casos parasitológicamente comprovados das áreas ora em estudo, não é possível elevar-se para valores mais altos o limiar de positividade das reações, para dêsse modo se conseguir maior especificidade.

O estudo evolutivo dos casos de discrepância sorológica e parasitológica, ora observa-

dos, poderá trazer subsídios mais seguros para a avaliação do significado dessas reações, ao menos nas áreas aqui consideradas.

Ainda que eventualmente se possa atribuir certa percentagem de reações sorológicas positivas a reações cruzadas inespecíficas, a alta sensibilidade e facilidade de execução das técnicas de imunofluorescência e de hemaglutinação fazem dessas reações métodos extremamente úteis para a seleção de casos a serem ulteriormente comprovados por exames parasitológicos exaustivos. Estes se limitariam, dêsse modo, a percentagens limitadas das populações investigadas.

SUMMARY

Immunofluorescence and hemagglutination techniques in serological survey of Manson's schistosomiasis

Serological tests employing finger-tip blood samples collected on filter-paper were used for disclosing individuals parasitized with *S. mansoni*, especially among school-children, in areas with active or potential foci and in areas without schistosomiasis. Fecal tests for schistosoma eggs were also performed and successive samples examined in serologically positive cases. In areas with active foci of schistosomiasis, in 524 individuals, serology was positive in 35.1% and fecal tests in 19.1%. For these parasitological results, a medium of 4.3 stool samples per patient had to be examined. Every parasitologically positive case showed positive serum tests. In areas with potential foci or with no schistosomiasis, in 243 individuals, only 3 patients (1.2%) showed seropositive results, from which 2 passed eggs in stools. The differences between serological and parasitological results are discussed and the applicability of serological tests for surveys is analysed.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, A. D. F. do & LIMA, P. — Sobre o encontro de exemplares do *S. mansoni*, na cavidade intestinal, em casos de autópsia. *Brasil-Méd.* 55:273-240, 1941.
2. BARUZZI, R. G.; CAMARGO, M. E.; KAMEYAMA, I.; HOSHINO, S.; REBONATO, C. & D'ANDRETTA JR., C. — Splenomega-

- lia in brazilian indians from the Alto Xingu (Central Brazil). I — Occurrence and results of serologic tests for some parasite diseases. (Em publicação).
3. BEUTNER, E. H.; HOLBOROW, E. J. & JOHNSON, G. D. — Quantitative studies of immunofluorescent staining. I — Analysis of mixed immunofluorescence. *Immunology* 12:327-337, 1967.
 4. CAMARGO, M. E.; HOSHINO, S. & SILVA, L. C. da — A slide fluorescent antibody technique with adult worm antigen for the serological diagnosis of schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7: 327-331, 1965.
 5. CODA, D. N. F. & MENDES, E. A. T. — Contribuição para o estudo e profilaxia da esquistossomose mansônica no Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* (São Paulo) 19:25-68, 1959.
 6. CORREIA, M. O. A. — Incidência da esquistossomose mansoni em imigrantes oriundos de outros estados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* (São Paulo) 13:91-98, 1953.
 7. CORREIA, R. R.; MURGEL, J. M. T.; PIZA, J. T.; RAMOS, A. S.; DIAS, L. C. S.; MORAIS, L. V. C. & ROSARIO, F. — Dispersão da *Biomphalaria straminea*, hospedeira intermediária do *Schistosoma mansoni*, através da distribuição de peixes. Trabalho apresentado em sessão do dia 4/12/1969, no *Dep. de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina*.
 8. DÖNGUES, J. — Der serologisch nachweis von *Schistosoma* infektionen mittels cercarien von *Posthodiplostomum brevicaudatum*. Eine modifikation der cercarienhüllenreaktion von Vogel und Minning. *Z. Tropenmed. Parasit.* 17:413-426, 1966.
 9. FRÖES, E.; PIZA, J. T.; RAMOS, A. S.; DIAS, L. C. S. & PINTO, A. C. M. — Aspectos da epidemiologia e profilaxia da esquistossomose em São José dos Campos, Estado de São Paulo, Brasil. Trabalho apresentado ao VI Congresso de Medicina Tropical de Porto Alegre em 1970. *Hospital* (Rio) 77:153-164, 1970.
 10. HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A. & JANER, J. L. — The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico J. Publ. Hlth. Trop. Med.* 9:283-291, 1934.
 11. HOSHINO, S.; CAMARGO, M. E. & SILVA, L. C. da — Standardization of a hemagglutination test for schistosomiasis with formalin-treated human erythrocytes. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 19:463-470, 1970a.
 12. HOSHINO, E.; CAMARGO, M. E. & SILVA, L. C. da — A comparison between the hemagglutination test with formalin-treated erythrocytes and the immunofluorescence test with worm particles, for schistosomiasis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12:136-143, 1970b.
 13. KAGAN, I. G.; SULZER, A. J. & CARVER, K. — An evaluation of the fluorescent antibody test for the diagnosis of schistosomiasis. *Amer. J. Epidemiol.* 81:63-70, 1965.
 14. MOORE, G. T.; KAISER, R. L.; LOWRENCE, R. S.; PUTNAM, S. M. & KAGAN, I. G. — Intradermal and serologic reactions to antigens from *Schistosoma mansoni* in schistosoma dermatitis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 17:86-91, 1968.
 15. PELLEGRINO, J. & BIOCCHA, E. — Diagnóstico sorológico da esquistossomose mansônica. II — Reação de imunofluorescência com cercária de *Schistosoma bovis* e *Cercaria caratinguensis*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:257-260, 1963.
 16. PIZA, J. T. & RAMOS, A. S. — Os focos autóctones de esquistossomose no Estado de São Paulo. *Arq. Hig. Saúde Públ.* (São Paulo) 25:261-271, 1960.
 17. RAMOS, A. S.; PIZA, J. T.; PINTO, H. G.; STARK, N. & MORAIS, L. V. C. — Mongaguá e Praia Grande, focos ativos de esquistossomose mansoni no litoral de São Paulo. Sessão de 5/5/1969 do *Dep. de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina*.
 18. RAMOS, A. S.; RUIVO, M. & D'ANDRETTA JR., C. — *Biomphalaria tenagophila* naturalmente infetada pelo *Schistosoma mansoni* em Cubatão, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9:374-337, 1967.
 19. REY, L. — A frequência provável da esquistossomose mansônica em São Paulo. *Hospital* (Rio) 44:589-597, 1953.
 20. REY, L. — Primeiro encontro de planorbídeos naturalmente infectados por furco-cercárias de *S. mansoni* no planalto paulista. *Rev. Clin. São Paulo* 28:57-64, 1952.
 21. RODRIGUES, D. C. & FERREIRA, C. S. — Esquistossomose mansoni no Município de Osasco (São Paulo, Brasil): encontro de exemplares do *Biomphalaria tenagophila* naturalmente infestado pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Paul. Med.* 70:302, 1967.
 22. SANTOS, N. R. — *Esquistossomose no Vale do Paraíba*. Tese de doutoramento. São Paulo, 1967.
 23. SOUZA, S. L. & CAMARGO, M. E. — The use of filter paper blood smears in a practical fluorescent test for American trypanosomiasis sero diagnosis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8:255-258, 1966.

Recebido para publicação em 12/8/1970.