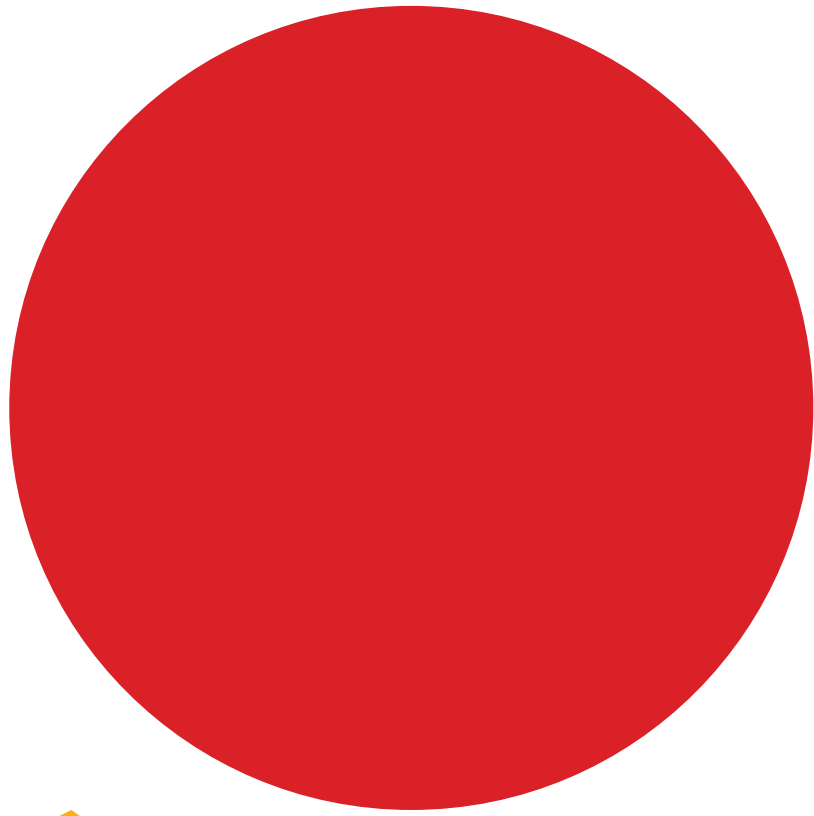


Nº5

Março 2015

cadernos CISA



**Transmissão
da Schistosomíase em Angola**

**ESTUDO MALACOLÓGICO
NAS PROVINCIAS DO BONGO,
LUANDA, CUANZA NORTE E MALANGE**

Prefácio

Na sua missão de contribuir para o conhecimento dos principais problemas de saúde que afectam o país, através da promoção da investigação biomédica, o CISA - Centro de Investigação em Saúde de Angola tem priorizado o estudo das doenças tropicais negligenciadas (DTN's), tais como a schistosomiase, as filariases e as helmintíases. Em Angola existe uma lacuna na produção de trabalhos de investigação científica em geral, e em particular para as doenças tropicais negligenciadas. É facto que as geohelmintoses e a schistosomiase são as doenças parasitárias com maior prevalência, a seguir à malária, e o desconhecimento desta importante realidade deve-se à inexistência de trabalhos como este caderno, um documento que contribuirá certamente para chamar a atenção das autoridades locais sobre a doença retratada e vai também permitir a divulgação das doenças tropicais negligenciadas de forma organizada e estruturada, respeitando os padrões universal e cientificamente recomendados.

Em 2010, o inquérito de prevalência de malária, schistosomiase, parasitoses intestinais, anemia e malnutrição em crianças e mulheres, realizado no município do Dande (comunas de Caxito, Úcuá e Mabubas), em colaboração com os Programas Nacionais de Controlo da Malária e das Doenças Tropicais Negligenciadas, confirmou uma alta prevalência destas três doenças endémicas e a sua associação com os níveis de malnutrição e anemia.

Em consequência destes resultados, o CISA, em parceria com o Programa Nacional de Doenças Tropicais Negligenciadas (PNDN) desenvolveu um estudo de intervenção no controlo da schistosomiase em crianças no município do Dande, cujo principal objetivo foi de comparar, num programa baseado na escola e outro na comunidade, a efectividade do controlo integrado da schistosomiase coexistente com as parasitoses intestinais, a malária e a anemia nas crianças em idade escolar submetidas a quimioterapia massiva. Por outro lado, confirmada a importância da eliminação dos focos de infecção para o controlo sustentável desta doença, o PNDN colaborou activamente no desenvolvimento de estudos malacológicos e de caracterização molecular de espécies de molusco promovidos, em 2013, pelo CISA em colaboração com o Museu de História Natural de Londres. Não posso deixar de salientar o facto deste estudo se ter realizado 50 anos após a publicação (1963) pelo Museu Britânico, do último estudo sobre os caracóis de água doce em Angola, da responsabilidade de Christopher A. Wright.

O trabalho agora apresentado neste quinto Caderno CISA resulta da identificação e recolha de moluscos realizada entre Novembro e Dezembro de 2013 em quatro províncias do noroeste de Angola. Este estudo permitiu igualmente a formação de técnicos na identificação e recolha dos caracóis, bem como de uma investigadora no *Wolfson Wellcome Biomedical Laboratories* do *Natural History Museum* de Londres, relativamente às técnicas moleculares envolvidas na codificação molecular de moluscos.

Os resultados deste estudo incitam-nos para a necessidade de se desenvolver um estudo integrado no âmbito do controlo da schistosomiase em Angola, que envolva o diagnóstico e tratamento das pessoas infectadas, a educação para a saúde e também o controlo do vector caracóis de água doce. É urgente unir esforços que possam contribuir para o controlo desta doença que ameaça geograficamente todo o país e que afecta perto de 60% da população e este é um contributo de grande valor, que vai certamente chamar a atenção sobre a endemia nas localidades onde foram realizados os estudos e permitirá traçar políticas, quem sabe num futuro próximo, para a implementação de estratégias de controlo.

Índice

2	Introdução
3	Schistosomíase
4	Transmissão
5	Aspectos clínicos
5	Manifestação imediata
5	Schistosomíase aguda
6	Schistosomíase crónica
7	Taxonomia dos caracóis existentes em Angola
7	Caracterização morfológica das conchas
9	Caracterização molecular dos caracóis
9	Recolha de caracóis em Angola
12	Resultados
16	Conclusões
17	Considerações finais
19	Bibliografia

Introdução

A schistosomíase é uma das parasitoses mais prevalentes no mundo, sendo endémica em 76 países. Estima-se que cerca de 200 milhões de pessoas se encontram infectadas, enquanto outras centenas de milhões vivem em áreas endémicas, expostas à infecção. Cerca de 20.000 pessoas morrem anualmente devido a doenças associadas, como o cancro urogenital e a fibrose (Simonsen, 2009).

A schistosomíase urogenital e a intestinal são doenças endémicas em Angola conforme distribuição na figura 1. A Organização Mundial de Saúde (OMS) calcula que 11,3 milhões dos 19 milhões de habitantes de Angola estejam em risco de contrair schistosomíase (WHO, 2010). Contudo, estas estimativas assentam em poucos estudos epidemiológicos e não se baseiam em dados recolhidos de forma sistemática. Devido à falta de informação actualizada, as organizações científicas internacionais estão a olhar com mais atenção para a situação em Angola. Efectivamente, há necessidade de mais investigação em todas as disciplinas relacionadas com as Doenças Tropicais Negligenciadas – DTNs – (ou quaisquer outras doenças tropicais infecciosas), desde a epidemiologia geral, aos estudos de transmissão e ao planeamento de programas de controlo.

Schistosoma haematobium



Schistosoma mansoni



Prevalência da Infecção (%)



0



1-4



5-24



25-49



50-100

Figura 1 – Estimativas sobre a prevalência de infecções por *Schistosoma haematobium* e *S. mansoni* em Angola (WHO, 2010)

Embora muito possa ser feito para controlar a morbidade causada pela schistosomíase, através da administração em larga escala do fármaco praziquantel em comunidades ou escolas, é evidente que o controlo sustentável e a eliminação definitiva de alguns focos de infecção carecem ainda de um melhor conhecimento sobre os locais de transmissão e os diferentes modelos de contacto com a água. Conforme referido no roteiro da OMS para o controlo das DTNs, é necessário dispensar uma maior atenção ao controlo dos hospedeiros intermediários (WHO, 2012).

O trabalho agora descrito neste Caderno pretendeu estudar a distribuição e a ocorrência de caracóis que alojam o parasita da schistosomíase. Apesar do papel dos caracóis na transmissão da schistosomíase ser bastante conhecido, o último estudo, em larga escala, publicado sobre os caracóis de água doce em Angola data de há cinquenta anos, numa obra de Christopher A. Wright (1963), apenas disponível em língua inglesa.

A história dos estudos malacológicos em Angola cobre pouco mais de um século. Os primeiros relatos de conchas de caracóis de água doce são os de Dunker, feitos em 1845 e 1853, baseados em material recolhido por George Tams. Posteriormente, e até aproximadamente 1960, vários cientistas deram continuidade a estes estudos, tendo sido reportados caracóis de espécies dos géneros *Biomphalaria* (*B. salinarum*, *B. pfeifferi*), *Bulinus* (*B. globosus*, *B. africanus*, *B. angolensis*, *B. truncatus rohlfsi*, *B. forskali*, *B. scalaris*, *B. crystallinus*), *Lymnea* entre outras. A “localização-tipo” de algumas espécies importantes de caracóis encontra-se em Angola, nomeadamente as de *Bulinus globosus*, que se podem encontrar no Rio Dande, Província de Luanda; *B. angolensis*, no distrito do Duque de Bragança (actual Calandula); *B. canescens*, nos pântanos junto ao Rio Bengo, próximo de Quicuxe; *B. crystallinus*, no rio próximo de Golungo Alto e *Biomphalaria salinarum*, nos afluentes do Rio Cuije, próximo de Quissol (Wright, 1963).

Schistosomíase



A schistosomíase é causada por tremátodes da família *Schistomatidae*, que apresentam sexos separados e são parasitas dos vasos sanguíneos de mamíferos e aves. A família está dividida em duas subfamílias: *Bilharzielinae* que apenas parasitam aves e alguns mamíferos, não tendo, por isso, interesse médico directo e *Schistosomatinae* que parasitam o ser Humano. Em 1858, Weinland denominou o género deste helminte de *Schistosoma* (schisto=fenda; soma=corpo) já que o macho apresenta o corpo fendido (Figura 2).

As espécies do género *Schistosoma* com importância epidemiológica em medicina humana são *S. haematobium* (Bilharz, 1852), *S. mansoni* (Sambon, 1907), *S. japonicum* (Katsurada, 1904), *S. mekongi* (Voge, 1978) e *S. intercalatum* (Fischer, 1934).

Figura 2 – Macho e fêmea de *Schistosoma* (Cortesia do Museu de História Natural de Londres)
– © The Trustees of the Natural History Museum, London

De acordo com a literatura, o agente etiológico da schistosomíase, *S. mansoni* foi descrito pela primeira vez em 1907, e *S. haematobium* em 1852. Roque descreveu a existência da schistosomíase nas províncias da Huíla, Ambriz e Cabinda, em 1902, sugerindo que o peixe bagre fosse o transmissor da doença, dando assim início a estudos sobre a transmissão da schistosomíase (Grácio, 1977).

Transmissão

O *Schistosoma* tem como hospedeiros intermediários algumas espécies de moluscos de água doce que, em condições favoráveis de temperatura, luminosidade, pH, e salinidade libertam larvas para a massa de água. Estas larvas podem infectar os seres humanos, mantendo assim altas taxas de prevalência e morbilidade.

O ciclo de vida de todas as espécies do *Schistosoma* que infectam os seres humanos, visível na figura 3, é constituído por duas fases, uma fase sexuada protagonizada pelos parasitas adultos no sistema vascular do hospedeiro definitivo, e uma fase assexuada nos moluscos, seus hospedeiros intermediários.

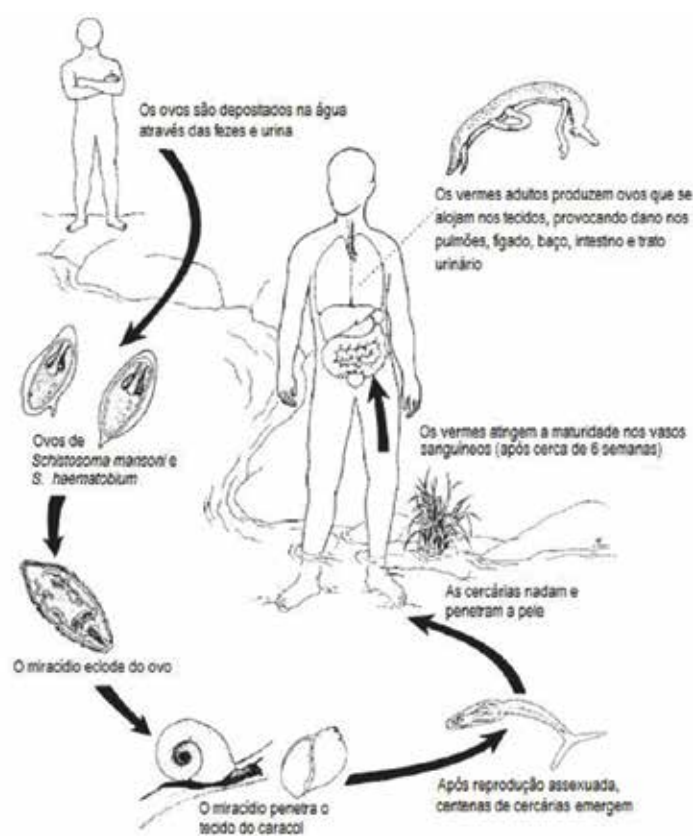


Figura 3 – Ciclo biológico do *Schistosoma* spp. (Adaptado de WHO, 1997)

Quando os ovos excretados por uma pessoa infectada (através de fezes ou urina) chegam à massa de água, eclodem e libertam o miracídio, que nada até encontrar os tecidos moles do caracol. O miracídio sobrevive até 12 horas na massa de água. Uma vez no molusco, as

larvas multiplicam-se e originam novas larvas definidas como cercárias que abandonam o molusco e, subsequentemente, infectam o homem, penetrando numa zona exposta da pele ou mucosas. O horário em que há maior actividade das cercárias na água é entre as 10 e as 16 horas, quando a luz solar e o calor são mais intensos. As cercárias podem viver até 48 horas na massa de água fora do caracol. Os parasitas adultos instalam-se nas veias intestinais ou vesicais do ser humano, onde podem ficar até cinco anos. Os ovos são eliminados através da urina ou fezes. Somente metade dos ovos são libertados para o exterior, os restantes ficam embebidos nos tecidos do portador, provocando lesões graves.

Os locais de maior transmissão de schistosomíase são os focos junto às habitações, tais como valas de irrigação e reservatórios de água, entre outros, uma vez que é nos locais junto às margens que os caracóis escolhem o seu *habitat*, e nestes locais onde as pessoas libertam os ovos, pelas fezes e urina. Assim é facilitado o contacto das cercárias com os caracóis.

Os seres humanos contraem a infecção durante actividades agrícolas, domésticas (recolha de água e outras lides diárias), ocupacionais (pescadores, lavadores de carros e agricultores) e de lazer (nadar e brincar) que os exponham a águas contaminadas. Os ambientes onde estes parasitas são endémicos são caracterizados pela falta de saneamento básico e de higiene e em meios rurais e pobres.

Aspectos clínicos

A patologia da schistosomíase está associada a diferentes factores tais como a espécie do parasita, a carga parasitária adquirida, a idade, o estado nutricional e a resposta imunitária do indivíduo.

Manifestação imediata



A dermatite cercariana ocorre quando as cercárias do *Schistosoma* penetram na pele do homem (Figura 4). Esta dermatite é caracterizada por comichão, erupção urticariforme seguida de eritema, edema, pequenas pápulas e dor, em menos de 24 horas. Este processo imunoinflamatório resulta na destruição de cercárias e schistosómulos na pele e nos pulmões.

Figura 4 – Reacção inicial à penetração de larvas na pele do braço; a cada larva corresponde uma marca (fotografia retirada de http://www.cdc.gov/dpdx/cercarialDermatitis/galleryhtml#clinical_cercaria)

Schistosomíase aguda

A schistosomíase aguda é diagnosticada com base na febre Katayama que é comum em áreas de transmissão elevada. Os sintomas da doença são mediados pelo sistema imunológico e, na maioria dos casos, começam após a deposição dos ovos nos tecidos do hospedeiro. Os sintomas mais comuns incluem febre, dor de cabeça, mialgias e diarreia

com sangue. Os sintomas respiratórios foram reportados em 70% dos indivíduos infectados com *S. mansoni* e em menor percentagem em pessoas infectadas com *S. haematobium*. A hepatomegalia bem como a esplenomegalia é comum nestes pacientes.

Schistosomíase crónica

Doenças gastrointestinais e hepáticas

A schistosomíase é a resposta do sistema imunitário do Homem à presença de ovos nos tecidos, o que induz uma resposta inflamatória de hipersensibilidade retardada, a qual conduz à formação de granulomas. A intensidade e duração da infecção determinam a quantidade de antígenos libertados e a severidade da doença fibro-obstrutiva. Os granulomas destroem os ovos e induzem à deposição fibrosa nos tecidos do hospedeiro. A maioria dos granulomas desenvolve-se no local de maior acumulação dos ovos, como no intestino e fígado, no caso do *S. mansoni* e *S. japonicum*, e no sistema urogenital, no caso do *S. haematobium*. No entanto, granulomas periovulares já foram detectados em vários tecidos como a pele, o pulmão, o cérebro, nas supra-renais, e no músculo-esquelético. A resposta inflamatória acompanha a migração dos ovos até ao lúmen do intestino ou ao tracto urinário.

Os ovos retidos na parede do intestino induzem à inflamação, hiperplasia, ulceração e formação de microabscessos. A diarreia é comum em crianças e pode alternar com obstipação.

Desde há décadas que se vem debatendo a relação entre cancro colo rectal e schistosomíase.

Doença urogenital

A doença do sistema urinário é específica da infecção com *S. haematobium*. Hematúria é o primeiro sinal da doença, surgindo 10 a 12 semanas após a infecção. Mais uma vez, a doença crónica é causada por inflamação granulosa que ocorre em resposta à deposição de ovos no tecido. Manifestações tardias da infecção incluem proteinúria, calcificações na bexiga, obstrução da uretra, cólica renal, hidronefrose e insuficiência renal.

A associação entre a infecção por *S. haematobium* e o carcinoma de células escamosas da bexiga tem sido um tema de intensa pesquisa e debate.

A infecção por *S. haematobium* provoca doença genital em aproximadamente 1/3 das mulheres infectadas. A doença vulvar e perineal pode ser hipertrófica, ulcerosa, ou fistulosa e pode ser confundida com outras infecções genitais. A schistosomíase vulvar pode também facilitar a transmissão do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).

Doença neurológica e outras manifestações

O mecanismo de deposição de ovos de *Schistosoma* no sistema nervoso central é desconhecido e não se desenvolve em todos os indivíduos infectados. No entanto, a presença de ovos no sistema nervoso pode reflectir tanto uma migração invulgar de parasitas, como a embolização de ovos a partir de uma localização remota.

A schistosomíase no sistema nervoso central tem sido descrita em soldados e trabalhadores de ajuda humanitária, que servem em áreas de elevada endemia, e de turistas que tiveram exposição em tais áreas. A epilepsia focal ou generalizada é uma apresentação típica da infecção por *S. japonicum* com envolvimento do sistema nervoso central. A mielite transversa é a manifestação mais comum na infecção por *S. mansoni* ou por *S. haematobium*.

A infecção causada pela schistosomíase durante a infância provoca um atraso substancial do crescimento e anemia. A quimioterapia com *praziquantel*, se bem-sucedida, pode levar a alguma recuperação deste atraso de crescimento, exigindo que os níveis de hemoglobina sejam monitorizados regularmente. As crianças infectadas podem ainda ter o sistema cognitivo afectado com repercussões ao nível da memória.

Taxonomia dos caracóis existentes em Angola

Caracterização morfológica das conchas

Cerca de 350 espécies de caracóis têm grande importância médica ou veterinária. A maioria dos hospedeiros intermediários do *Schistosoma spp.*, parasitas do ser humano pertencem a três géneros, *Biomphalaria*, *Bulinus* e *Oncomelania*. Os moluscos podem ser divididos em dois grupos principais: caracóis aquáticos, como *Biomphalaria* e *Bulinus* e caracóis anfíbios como *Oncomelania*.

A taxonomia dos caracóis é baseada em características conquiliológicas e anatómicas (Figura 5). O recurso a tabelas dicotómicas (Tabela 1) permite, de forma simples e precisa, a identificação dos diferentes grupos taxonómicos dos caracóis estudados.

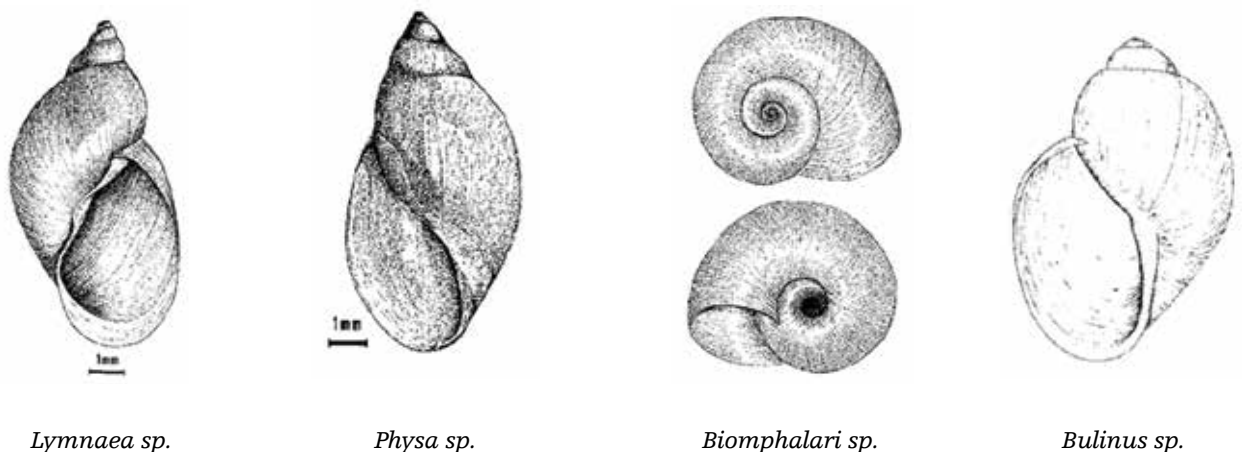


Figura 5 – Conchas típicas de alguns caracóis de água doce existentes em Angola (adaptado de Barbosa et al., 1968; WHO, 1997)

Chave dicotômica de alguns dos gêneros de gastrópodes de água doce presentes na área de estudo (adaptado de DBL, 1978; Brown & Kristensen, 1993)

1	Animal com opérculo, concha em geral grande (maior que 20 mm altura/comprimento ou largura)	Sub Classe Prosobranchia 2
	Animal sem opérculo, concha em geral pequena (menor que 20 mm altura/comprimento ou largura)	Sub Classe Pulmunata 6
2	Opérculo concêntrico. Forma da concha desde deprimida a oval ou cônica	4
	Opérculo em espiral ou concêntrico com um núcleo em espiral. Concha varia de cônica oval a muito espiralada	Família Thiariidae 3
3	Opérculo todo em espiral, com núcleo perto da margem basal e rádula pequena. Concha dextrorsa	Gênero Melanoides
4	Concha deprimida, globosa ou com altura reduzida. Fêmea ovípara, e macho com órgão de cópula perto do bordo do manto	Família Ampullaridae 5
5	Concha sinistrorsa (abertura para a esquerda). A concha em geral grande	Gênero Lanistes
6	Concha dextrorsa com espiral enrolada. Tentáculos triangulares	Família Lymnaeidae. Gênero <i>Lymnaea</i>
	Concha sinistrorsa com espiral enrolada	7
7	Concha obtusa, em forma de disco ou de lente, espiral poucoafiada. Presença de pseudobrânquia, bordo do manto liso, dentes da rádula em linhas quase direitas. Cor vermelho sangue	Família Planorbidae 8
	Concha lustrosa com espiral nitidamente pontiaguda. Ausência de pseudobrânquia. Bordo do manto com processos digitiformes. Dentes da rádula em fiadas em forma de V. Sem cor de sangue. Concha com suturas profundas. Prepúcio com glândulas acessórias	Família Physidae, Gênero <i>Physa</i>
8	Concha discóide e dextrorsa. Órgão copulatório não é do tipo "ultrapénis"	Sub Família Planorbinae 9
	Concha globosa, oval. Estrutura de "ultrapénis", com uma bainha ligada à parte superior e inferior do pénis	Sub Família Bulininae. Gênero <i>Bulinus</i>
9	Concha pequena, com menos de 2 mm	10
	Concha grande com mais de 3 mm e menos de 6 mm. Espirais mais ou menos convexas em baixo e em cima. Lobos prostáticos organizados em linhas e sem canal prostático. Ausência de glândula penial no órgão de cópula	Gênero <i>Biomphalaria</i>
10	Concha discóide, achatada nos dois lados e em geral com menos do que 5 espirais, com faixas regulares e por vezes angulares na periferia. Bordo com um estilete longo, muito bem desenvolvido	Gênero <i>Gyraulus</i>
	Concha lentiforme com o lado superior convexo. Concha sem septo interno	Gênero <i>Lentorbis</i>

Caracterização molecular dos caracóis

Em trabalhos de campo é comum encontrar apenas a concha dos moluscos sem corpo, o que dificulta a sua correta identificação. Como solução, foi desenvolvida uma estratégia para extracção de vestígios do molusco existentes no interior de conchas vazias para análise molecular. O DNA obtido da concha é submetido à técnica de PCR (Reacção em Cadeia da Polimerase) direccionada para a região nuclear (ITS2) ou mitocondrial (*cox I*) do DNA, e o padrão molecular obtido comparado de forma a identificar a espécie do caracol.

A introdução de várias técnicas moleculares, como a PCR, a sequenciação do DNA e o RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) têm gerado um efeito positivo em estudos malacológicos de caracterização. A PCR-RFLP da região do gene rRNA permite a diferenciação dos grupos de espécies e mostra que existe uma variação da sequência entre as espécies. Perfis de RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) indicam a alta divergência entre grupos de espécies. A análise da sequência do gene COX I indica que o DNA mitocondrial pode ajudar a explicar a relação de variáveis morfológicas entre espécies.

A mitocôndria é um dos constituintes da célula eucariótica que contem no seu próprio DNA a capacidade de codificar vários genes. Como esta molécula de DNA não se recombina, contém regiões altamente conservadas que possibilitam o estudo de perfis específicos de moluscos como *Biomphalaria spp.* e *Bulinus spp.*

Recolha de caracóis em Angola

Na procura de caracóis de água doce, entre Novembro e Dezembro de 2013, a equipa de recolha de caracóis analisou massas de água com recurso a um protocolo padrão. Esta equipa foi treinada, designadamente em matéria de saúde e segurança, na medida em que cada massa de água é um local potencial de transmissão da schistosomíase. O contacto directo da pele com a água devia ser evitado através do uso de botas até às coxas e à prova de água e ainda de luvas resistentes. Qualquer contacto accidental da água com a pele exposta deveria ser lavada com etanol de imediato. Foram distribuídos formulários de recolha dos caracóis nos quais foi registada a seguinte informação:

- Informação geral sobre o local (nome, tipo, coordenadas GPS e povoação mais próxima);
- Propriedades da água (temperatura, pH, salinidade, sólidos dissolvidos, caudal, nível da água, condutividade, profundidade);
- Informação sobre a recolha (número de colectores, hora da recolha);
- Dados ecológicos (substrato, caracóis presentes, vegetação, contacto com animais, contacto com humanos);
- Dados sobre os caracóis (espécies de caracóis, número, número de infectados).

Os caracóis foram recolhidos com recurso a peneiras (Figura 6) e pinças, com o cuidado para não se danificarem as conchas. Os exemplares recolhidos em cada local foram separados por género e colocados em frascos de tampa de enroscar (Figura 7), com água mineral limpa e, mais tarde, numa mala térmica com gelo. Foram tiradas fotografias em cada local visitado. Sempre que possível, perguntou-se aos habitantes da localidade sobre a presença de sangue na urina (sinal de schistosomíase urogenital).



Figura 6 – Recolha de caracóis com peneiras



Figura 7 – Caracóis armazenados

No laboratório do CISA, no Caxito, os caracóis *Bulinus* e *Biomphalaria* foram colocados em água doce e analisados para a colecta das cercárias, depois de expostos a uma luz forte ou à luz do sol. A presença de cercárias foi registada e estas foram observadas ao microscópio. As amostras de cercárias foram identificadas em termos morfológicos e recolhidas com uma pipeta (aproximadamente em 4 ul de água) antes de serem colocadas em cartões FTA® para análise genética futura. Os caracóis foram relaxados por congelamento e depois fixados em etanol (95%). Os tubos universais de tampa de enroscar foram rotulados internamente com lápis e papel pergaminho e externamente com marcador permanente (Figura 7).

Os locais visitados incluíram as bacias hidrográficas dos Rios Dande, Bengo, Cuanza, Lucala e do Cuije (Figura 8).

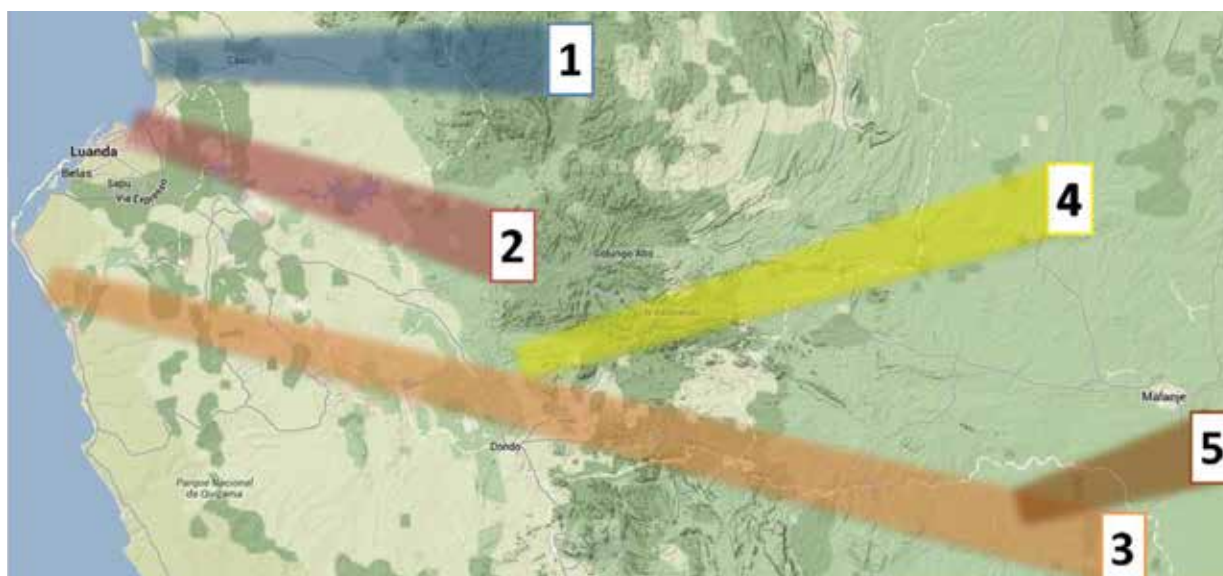


Figura 8 – Áreas visitadas durante o trabalho de campo: Área 1 – bacia hidrográfica do Dande; Área 2 – bacia hidrográfica do Bengo (ou Zenza); Área 3 – bacia hidrográfica do Cuanza; Área 4 – bacia hidrográfica do Lucala; Área 5 – bacia hidrográfica do Cuije.

Foram visitados e estudados detalhadamente em Novembro/Dezembro de 2013, um total de 60 locais (Figura 9) em quatro províncias: Bengo (25 locais); Cuanza Norte (12 locais); Luanda (10 locais); e Malanje (13 locais) (Figuras 10, 11, 12 e 13).

Importa sublinhar que Christopher A. Wright visitou estas mesmas áreas em Novembro e Dezembro de 1957, o que significa que os ecossistemas agora encontrados deviam ser semelhantes aos que ele conheceu. No entanto, o facto destas visitas se terem efectuado no início da estação chuvosa, depararam-se com muitos rios e afluentes com caudais baixos ou secos, o que certamente teve implicações em termos da biodiversidade identificada.

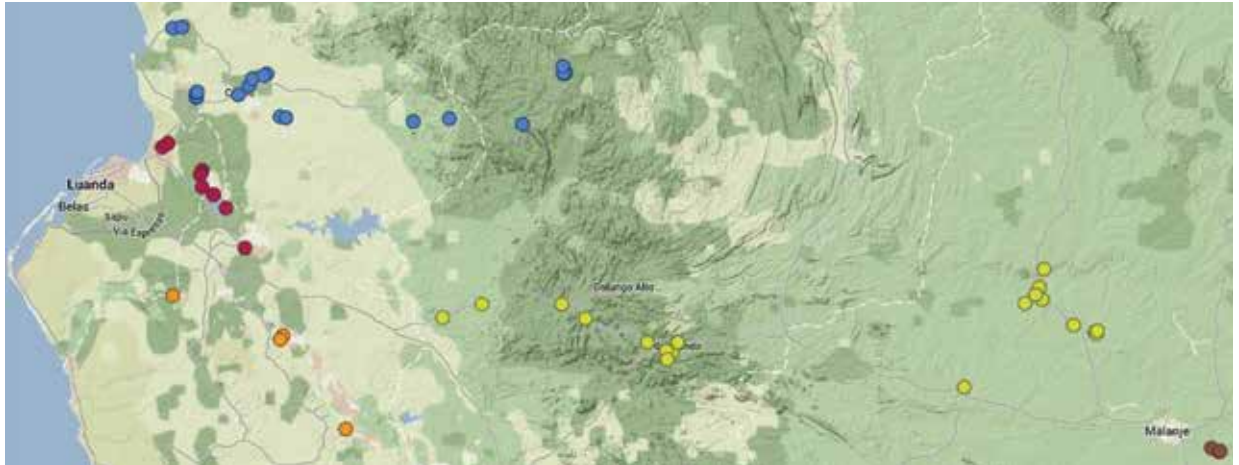


Figura 9 – Locais visitados durante o trabalho de campo. A azul, os locais na bacia hidrográfica do rio Dande e seus afluentes; a lilás os locais na bacia hidrográfica do rio Bengo (Zenza) e seus afluentes; a laranja os locais na bacia hidrográfica do rio Cuanza e seus afluentes; a verde os locais na bacia hidrográfica do rio Lucala e seus afluentes, e a castanho os locais na bacia hidrográfica do rio Cuije e seus afluentes.



Figura 10 – Local de amostragem no Bengo



Figura 11 – Local de amostragem no Cuanza Norte



Figura 12 – Local de amostragem em Luanda



Figura 13 – Local de amostragem em Malanje

Resultados

Em todos os locais visitados o tempo de amostragem situou-se entre os 10 minutos, no mínimo, e os 45 minutos, no máximo (o tempo médio por local de estudo foi de 22 minutos). As bacias hidrográficas com biodiversidade mais elevada foram as dos rios Bengo, Cuanza e Cuije, com mais de três géneros identificados, em média, em cada local (Tabela 2).

Propriedades químicas da água (média e variação) e biodiversidade nos locais visitados, por bacia hidrográfica. (SDT - Sólidos Dissolvidos Totais)

Bacia hidrográfica	Dande/Úcua	Bengo	Cuanza	Lucala	Cuije
Número de locais	20	11	4	22	3
Altitude (m)	232 (12-762)	17 (0-31)	14 (4-21)	220 (201-1111)	1045 (1038-1051)
Temperatura (°C)	28,3 (25,4-32,8)	30,4 (27,8-33,1)	32,7 (30,9-33,6)	31,5 (22,5-32,1)	24,2 (22,1-27,2)
SDT (ppm)	205 (42-736)	398 (138-830)	69 (59-80)	119 (26-612)	204 (156-276)
pH	7,75 (6,96-8,79)	7,71 (6,88-8,70)	7,02 (6,54-7,82)	9,26 (6,85-9,60)	7,76 (7,07-8,3)
Condutividade (S/m)	245 (59-795)	562 (194-1171)	96 (83-112)	159 (65-860)	288 (220-397)
Salinidade (ppm)	125 (33-389)	276 (95-581)	52 (46-58)	84 (35-415)	139 (106-190)
Média de Biodiversidade (n.º géneros)	1,35 (0-4)	3,27 (2-5)	3,25 (3-4)	1,5 (0-2)	3,3 (1-5)

No total, 73% dos locais tinham um substrato lodoso (na maior parte dos casos associado a raízes), tendo-se observado contacto reduzido de animais domésticos com a água (3% dos locais tinham vacas, 8% cabras, 13% porcos, 7% cães, 3% cavalos e 7% galinhas). A fauna selvagem estava presente nalguns locais, nomeadamente em 18% dos locais observou-se, ou suspeitou-se, da presença de répteis aquáticos, em 3% dos locais observou-se, ou suspeitou-se, da presença de hipopótamos e em 27% dos locais foram observadas aves aquáticas. A vegetação mais prevalente observada em todos os 60 locais foi capim (57%), plantas macrófitas (52%), nenúfares (37%), juncos (35%) e jacintos de água (13%).

A biodiversidade nalguns locais era elevada, assim como a biomassa. Por exemplo, no canal do Caxito, o número de caracóis dos géneros *Melanoides* e *Physa* encontrados foi muito elevado, uma ocorrência pouco comum na África subsaariana.

Na tabela 3 indicam-se os géneros de caracóis identificados por local de amostragem. De acordo com as avaliações morfométricas preliminares, foram identificados nove géneros de moluscos, nomeadamente *Biomphalaria*, *Bulinus*, *Gyraulus*, *Lanistes*, *Lentorbis*, *Lymnaea*, *Melanoides*, *Physa* e *Succinea*. Particularmente importante foi a descoberta de *Bulinus globosus* (105 espécimes) (Figura 14), *Bulinus canescens* (3 espécimes) (Figura 15), *Bulinus angolenses* (8 espécimes) (Figura 16), *Bulinus crystallinus* (mais de 200 espécimes) (Figura 17) e *Biomphalaria salinarum* (23 espécimes) (Figura 18), no que se julga serem as suas localizações-tipo, identificadas pela primeira vez no século XIX.

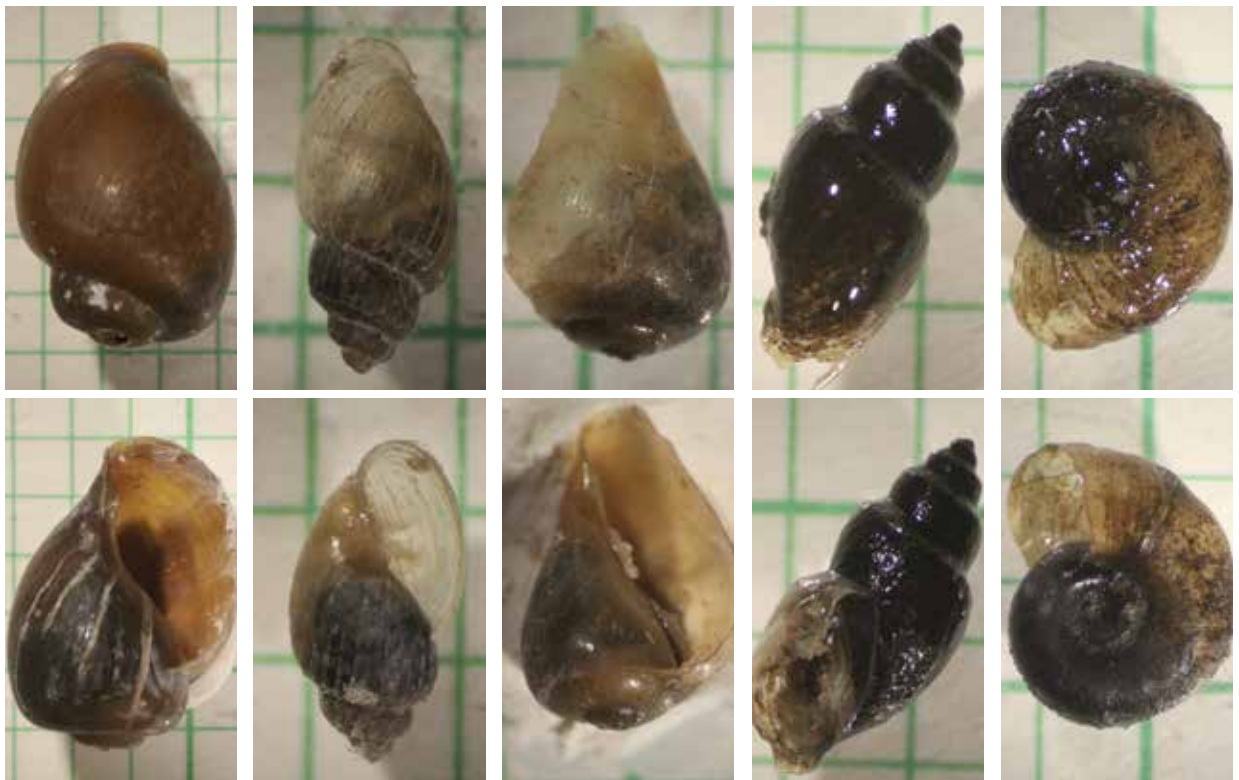


Figura 14

Espécime de *Bulinus globosus* colhido durante as amostragens

Figura 15

Espécime de *Bulinus canescens* colhido durante as amostragens

Figura 16

Espécime de *Bulinus angolenses* colhido durante as amostragens

Figura 17

Espécime de *Bulinus crystallinus* colhido durante as amostragens

Figura 18

Espécime de *Biomphalaria salinarum* colhido durante as amostragens

Dos espécimes de *Bulinus spp.* e *Biomphalaria spp.* recolhidos, apenas os da espécie *Bulinus globosus* (25) libertavam cercárias *Schistosoma haematobium* activas e viáveis. Estas cercárias foram recolhidas em cartões FTA® e os caracóis foram conservados em frascos devidamente rotulados. Particularmente interessante foi o facto de 20 dos 25 caracóis infectados terem sido recolhidos na localização típica de Bengo, próximo da Fazenda Tentativa. Além de parasitas humanos, constatou-se que os espécimes de *B. globosus* também libertavam cercárias de *Trichobilharzia*, equinóstomas, anfiostomas e de *Strigeoids*. Verificou-se que os espécimes de *B. crystallinus* libertavam cercárias de *Trichobilharzia* e equinóstomas.

Géneros de caracóis encontrados nos vários locais de amostragem estudados

Local	Província	<i>Biomphalaria</i>	<i>Bulinus</i>	<i>Gyraulus</i>	Género <i>Lanistes</i>	<i>Lentorbis</i>	<i>Lymnaea</i>	<i>Melanooides</i>	<i>Physa</i>	<i>Succinea</i>
Barragem de Mabubas	Bengo	–	–	–	–	–	–	X	–	–
Rio Dande e pântanos	Bengo	–	–	–	–	–	–	X	–	–
Canal do Caxito (Norte)	Bengo	–	–	–	–	–	–	X	X	–
Canal do Caxito (Centro)	Bengo	–	–	–	–	–	–	X	X	–
Ribeira de Cabungo (Localização tipo da <i>Bulinus globosus</i>)	Bengo	–	X	–	X	–	X	X	–	–
Lago Cabundo	Bengo	–	X	–	X	–	X	X	–	–
Represa natural	Bengo	–	–	X	–	–	–	–	–	–
Canal de irrigação	Bengo	–	X	–	–	–	–	–	–	–
Planície aluvial do Rio Dande	Bengo	–	–	–	–	–	–	X	–	–
Canal de irrigação desactivado	Bengo	–	X	–	X	–	–	–	–	–
Lago formado pela planície aluvial do Rio Úcua	Bengo	–	X	–	–	–	–	–	–	–
Rio Lifune	Bengo	–	–	–	–	–	–	X	–	–
Canal de irrigação próximo de Libongo	Bengo	–	X	–	–	–	–	X	–	–
Rio Tanda (a jusante da barragem)	Bengo	–	X	–	–	–	–	–	–	–
Rio Tanda (a montante da barragem)	Bengo	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ribeira de Quizende	Bengo	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ponto de confluência entre os rios Tanda e Quizende	Bengo	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Rio Calua	Bengo	–	–	–	–	–	–	X	–	–
Rio Úcua (1)	Bengo	–	–	–	–	–	X	X	–	–
Rio Úcua (2)	Bengo	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Lago Panguila (1) (Localização tipo potencial da <i>Bulinus canescens</i>)	Bengo	–	X	X	–	–	X	–	X	X
Lago Panguila (2)	Bengo	–	X	–	–	–	X	–	–	–
Canal do Lago Panguila (1)	Bengo	–	X	–	X	–	X	X	–	–
Canal do Lago Panguila (2)	Bengo	–	X	–	X	–	–	–	–	–
Canal do Lago Panguila (3)	Bengo	–	X	–	X	–	–	–	–	–
Ponte sobre o Lago Panguila	Luanda	–	X	–	X	–	X	–	X	–
Rio Bengo	Luanda	–	–	–	X	–	–	X	–	X
Lago Quilunda (1) (Localização tipo potencial de <i>Bulinus canescens</i>)	Luanda	–	X	–	–	–	X	X	X	–
Lago Quilunda (2) (Localização tipo potencial de <i>Bulinus canescens</i>)	Luanda	–	X	–	–	–	X	X	X	–
Lago Quilunda (3)	Luanda	–	–	–	X	–	–	X	X	–

X – Colectado

Local	Província	<i>Biomphalaria</i>	<i>Bulinus</i>	<i>Gyraulus</i>	Género <i>Lanistes</i>	<i>Lentorbis</i>	<i>Lymnaea</i>	<i>Melanooides</i>	<i>Physa</i>	<i>Succinea</i>
Lagoa artificial na Fazenda de Aurora	Luanda	-	X	-	X	-	-	X	-	-
Pequena Lagoa formada pelo Rio Cuanza	Luanda	-	X	-	X	-	-	-	-	-
Lagoa Cabemba (1)	Luanda	-	X	X	X	-	-	-	-	-
Lagoa Cabemba (2)	Luanda	-	X	X	X	-	-	-	-	-
Canal do Rio Cuanza	Luanda	-	X	-	X	-	X	-	-	X
Lagoa próxima de Aldeia Nova (1) (Localização tipo potencial de <i>Bulinus crystallinus</i>)	Cuanza N.	-	X	-	-	-	-	X	-	-
Lagoa próxima de Aldeia Nova (2)	Cuanza N.	-	-	-	-	-	-	X	-	-
Ribeira desconhecida próxima de Golungo Alto	Cuanza N.	-	X	-	-	-	-	X	-	-
Rio Luinha	Cuanza N.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rio Lussué	Cuanza N.	-	-	-	-	-	-	X	-	-
Rio Muembege (1)	Cuanza N.	-	X	-	-	-	-	X	-	-
Rio Muembege (2)	Cuanza N.	-	X	-	X	-	-	-	-	-
Rio Muembege (3)	Cuanza N.	-	X	-	-	-	-	-	-	-
Rio Muembege (4)	Cuanza N.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rio Muembege (5)	Cuanza N.	-	X	-	-	-	-	-	-	-
Rio Cangulungo (Localização tipo potencial de <i>Bulinus crystallinus</i>)	Cuanza N.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rio Cambota	Cuanza N.	-	X	X	-	-	-	-	-	-
Rio Quimona	Malanje	-	-	X	-	-	-	-	-	-
Rio Memba	Malanje	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribeira desconhecida próxima de Carlanga	Malanje	-	X	-	-	-	-	-	-	-
Rio Quialeva	Malanje	-	X	-	-	-	-	-	-	-
Rio Lucala	Malanje	-	-	-	-	-	X	X	-	-
Rio Sende (1)	Malanje	-	X	-	-	-	-	-	-	-
Rio Sende (2)	Malanje	-	-	X	-	-	-	-	-	-
Rio Camahonjo (1)	Malanje	X	X	-	-	-	-	-	-	-
Nascente do Rio Cota (Localização tipo potencial de <i>Bulinus angolenses</i>)	Malanje	X	X	-	-	-	-	-	-	-
Nascente do Rio Camahonjo (2)	Malanje	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rio Calulo	Malanje	-	-	-	X	-	-	-	-	-
Rio Quastimbala (1) (Localização tipo potencial de <i>Biomphalaria salinarum</i>)	Malanje	X	X	X	-	X	-	-	-	-
Rio Quastimbala (2) (Localização tipo potencial de <i>Biomphalaria salinarum</i>)	Malanje	X	X	X	-	X	X	-	-	-

Conclusões

O trabalho de campo realizado no período de Novembro/Dezembro de 2013 nas províncias do Bengo, Luanda, Cuanza Norte e Malanje, no noroeste de Angola, resultou em novas e importantes colecções malacológicas. Foram criadas novas colecções de *Bulinus globosus*, *Bulinus canescens*, *Bulinus angolensis*, *Bulinus crystallinus* e *Biomphalaria salinarum* a partir das suas localizações-tipo. É notável que locais visitados há mais de 150 anos ainda acolham as mesmas espécies de caracóis.

Este trabalho lançou as bases para novos estudos de investigação no âmbito da transmissão e epidemiologia da schistosomíase, uma das Doenças Tropicais Negligenciadas mais debilitantes.

As amostras de caracóis e parasitas recolhidas serão sujeitas a uma caracterização molecular detalhada, que inclui o projecto SCAN e o projecto do *DNA barcoding*. O projecto denominado SCAN ("*The Schistosomiasis Collection and Natural History Museum*") é elaborado com base na identificação e caracterização de *Schistosoma spp.* e seus caracóis intermediários, colhidos em todo o mundo, e que tem como objectivo criar uma colecção de espécies de *Schistosoma* no Museu de História Natural de Londres. O SCAN irá funcionar como um repositório global de espécimes de *Schistosoma* que possa constituir um recurso para a investigação essencial em schistosomíase, de extrema importância para os vários países participantes, nomeadamente Angola.

A equipa de investigação do Museu de História Natural de Londres colabora com equipas de instituições locais da Tanzânia, Níger, Senegal e Angola, na realização de investigações conjuntas com os programas nacionais de controlo das DTNs. O projecto incide sobre espécies de *Schistosoma*, incluindo potenciais híbridos de *Schistosoma spp.* parasitas de humanos e animais em diferentes regiões dos respectivos países endémicos. É ainda objectivo deste projecto o estudo de diferentes estratégias de tratamento associadas à diversidade genética e à estrutura de populações de parasitas locais.

O *DNA barcoding* (código de barras do DNA) é uma das técnicas moleculares mais recentes que tem sido utilizada para documentar a estrutura e variação genética populacional de moluscos hospedeiros de *Schistosoma spp.* O *DNA barcoding* envolve a comparação de variações na sequência numa região do gene citocromo oxidase I (*cox1*). O código de barras *cox1* para *Bulinus africanus* pode ser útil em moluscos onde as espécies se sobrepõem, especialmente quando as diferenças morfológicas são muitas vezes difíceis de determinar.

Análises de amostras de *S. mansoni* de todo o mundo revelam que o mesmo está separado, geograficamente, em cinco grandes linhagens. A reduzida diversidade genética no Novo Mundo, em comparação com o Velho Mundo sugere que *S. mansoni* foi introduzido no Novo Mundo recentemente, talvez por escravos infectados com schistosomíase intestinal na África Ocidental. Curiosamente, a diversidade abrangente de parasitas é maior por cada indivíduo infectado do que a nível de localização geográfica. A substancial variação genética do *S. mansoni* em crianças e jovens sugere que estes parasitas podem estar a funcionar como uma fonte de variabilidade genética, incluindo a susceptibilidade a drogas.

Estudos recentes revelam uma separação genética distinta entre o *S. haematobium* das Ilhas do Oceano Índico e as regiões costeiras e todo o continente Africano, onde existem níveis extremamente baixos de diversidade mitocondrial dentro e entre populações de parasitas.

As vantagens e desvantagens sobre o uso *DNA barcoding* e da utilização de genes, tais como *coxI* para a identificação e filogenia têm sido tópicos de debate na literatura científica. É aceitável que marcadores nucleares e mitocondriais sejam necessários para uma estimativa mais precisa da evolução e da história natural. É essencial o desenvolvimento de uma técnica de rastreio rápida, de baixos custos e facilmente reproduzível, mas, de momento, os recursos para este fim são limitados.

É ainda necessária muita investigação no que respeita à estabilidade de alguns *habitats* e bacias hidrográficas em tempos de alterações ambientais e climáticas. As observações sobre as propriedades químicas da água e a presença de espécies em geral constituem informação adicional relevante acerca da biodiversidade nesta região de Angola. O estudo mais recente para comparação dos trabalhos que foram realizados em Angola, é a recolha efectuada por Christopher A. Wright em 1957 (em resultado de uma anterior colaboração entre o Museu de História Natural de Londres e Angola). Embora alguns *habitats* se tenham degradado entretanto, devido a projectos de desenvolvimento (barragens e estradas), é encorajador constatar que outros mantiveram a sua composição em termos de espécies.

De particular interesse é a colecção de *Bulinus globosus* da localização-tipo na ribeira de Cabungo. Esta é uma das espécies mais relevantes de caracóis hospedeiros da schistosomíase urogenital em toda a África e, com efeito, verificou-se que 20% dos caracóis, neste local, libertavam cercárias. Estudos pan-africanos sobre esta espécie, realizados pelo Museu de História Natural de Londres, têm vindo a sugerir que há uma grande diversidade genética nos caracóis *B. globosus* e esta colecção passará doravante a ser o ponto de referência para esta espécie em qualquer estudo futuro de caracterização.

Considerações finais

O controlo da schistosomíase é possível recorrendo a várias medidas, incluindo o tratamento farmacológico, a educação para a saúde e o controlo dos caracóis. A melhoria nos métodos de diagnóstico e no tratamento dos indivíduos infectados é uma das medidas-chaves para o controlo da doença e, de acordo com a OMS, em locais de elevada prevalência de schistosomíase dever-se-á proceder ao tratamento de toda a população com recurso à distribuição em massa de Praziquantel.

A melhoria das condições sanitárias como a existência de saneamento básico, latrinas e urinóis é outra das medidas. Também a educação para a saúde apresenta um papel determinante no controlo da doença. Outra das medidas passa pela redução, se possível, do contacto das populações com a água contaminada, criando condições para utilizar, de forma segura, água para banhos, lavagens e lazer. A redução da contaminação da água, educando as pessoas a não defecar e urinar directamente para a massa de água tem de ser uma realidade. Por último, o controle das populações de caracóis, intermediários na infecção, é também uma das medidas que deve ser tomada, em situações controladas, para redução da doença.

O conhecimento da distribuição dos caracóis no país, e em especial as espécies que servem de hospedeiro intermediário do *S. haematobium*, como a *Biomphalaria* e *Bulinus*, é fundamental, daí a importância da colaboração entre Angola e o Museu de História Natural de Londres.



Bibliografia

- Barbosa FS, Berry EG, Harry HW, Hubendick B, Malek EA, Paraense WL (1968). A guide for the identification of the snail intermediate hosts of schistosomiasis in the Americas. Pan American Health Organization/ World Health Organization. 132 pags.
- Betson M, Sousa-Figueiredo JC, Kabatereine NB, Stohard JR (2013). New insights into the molecular epidemiology and population genetics of *Schistosoma mansoni* in Ugandan pré-school children and mothers. PLoS Negl Trop Dis. 7(12): e2561. doi: 10.1371/journal.pntd.0002561.
- Brown DS, Kristensen T (1993). A field guide to African freshwater snails I: West African species. Monograph of the Danish Bilharziasis Laboratory, Charlottenlune. 55pgs.
- Camargo EP (2008). Doenças Tropicais. Estudos Avançados 22 (64):102-103.
- DBL, Danish Bilharziasis Laboratory, 1978. "A field guide to African Freshwater Snails. 5: Central African Species. Edited by Who Snail Identification Centre – Danish Bilharziasis Laboratory.
- DeJong RJ, Emery AM, Adema CM (2004). The mitochondrial genome of *Biomphalaria glabrata* (gastropoda, basommatophora), intermediate host of *Schistosoma mansoni*. Journal of Parasitology, 90:991-996.
- Grácio, MAA (1977). Contribuição para o conhecimento da incidência de bilharziose vesical no distrito de Benguela Concelho de Vila Mariano Machado (Ganda). An Inst Hig Med Trop. 5(1/4): 285-288.
- Kane RA, Stothard JR, Emery AM, Rollinson D (2008). Molecular characterization of freshwater snails in the genus *Bulinus*: a role for barcodes?, Parasites & Vectors, 1:15.
- Mandahl-Barth G (1962). Key to identification of East and Central African freshwater snails of medical and veterinary importance. Bull Wld Org, 27:135-150.
- Neves DP, De Melo AL, Linardi PM (2005). Parasitologia Humana, 11.º Edição, Atheneu. 494 p.
- Rollinson D, Stothard JR, Jones CS, Lockyer AE, de Souza CP, *et al* (1998). Molecular characterization of intermediate snail hosts and the search for resistance genes. Mem Inst Oswaldo Cruz 93 (Suppl.1): 111-116.
- Ross AG, Bartley PB, Sleight AC, Olds GR, Li Y, Williams GM, *et al* (2002). Schistosomiasis. N Engl J Med. 346(16):1212-20.
- Simonsen PE (2009). Filariases. In Manson's Tropical Diseases, Section 11 Helminthic Infections. Chapter 84 , 22nd edition. Cook GC and Zumla AI Editors. Saunders Elsevier.
- Webster BL, Emery AM, Webster JP, Gouvras A, Garba *et al* (2012). Genetic diversity within *Schistosoma haematobium*: DNA barcoding reveals two distinct groups PLoS Negl Trop Dis. Feb 2013; 7(2).
- WHO (1997). Vector Control: Methods for Use by Individuals and Communities, CHAPTER 8 Freshwater snails. Edit Jan A. Rozendaal ISBN 92 4 154494 5:425 págs.
- WHO (2010). Angola Country Profile – Preventive Chemotherapy and Transmission Control. Geneva: World Health Organization.
- WHO (2012). Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases – A roadmap for implementation. Geneva: World Health Organization WHO/HTM/NTD/2012.1, 42 págs.
- Wright CA (1963). The freshwater gastropod mollusca of Angola. Bull British Museum (Natural History) 10 (8):447-528.

Ficha técnica

Coordenação:

Miguel Brito

Conteúdos:

Rossely Paulo

José Carlos Figueiredo

Revisão científica

Maria Amélia Grácio



República de Angola
Ministério da Saúde



República de Angola
Governo Provincial do Bengo



FUNDAÇÃO
COOPERAÇÃO



FUNDAÇÃO
CALOUSTE
GULBENKIAN



O CISA “Centro de Investigação em Saúde de Angola”, resulta de uma parceria entre o Ministério da Saúde de Angola, o Governo Provincial do Bengo, o Camões – Instituto da Cooperação e da Língua, I.P. e a Fundação Calouste Gulbenkian, e tem como finalidade desenvolver a investigação na área da Saúde.

Iniciado em 2007, integra três plataformas de recolha de dados – demográficos, de mortalidade e morbilidade – que permitem a realização de estudos epidemiológicos transversais. Estes estudos pretendem contribuir para uma melhor compreensão da realidade epidemiológica do país e construção de orientações metodológicas ao nível da resolução dos problemas de saúde das populações.

PROJECTO CISA
Hospital Geral do Bengo
Caxito
Angola

Backoffice
Fundação Calouste Gulbenkian
Avenida de Berna, 45 A
1067-001 Lisboa
Portugal

info@cisacaxito.org

www.cisacaxito.org