



ACESSO ABERTO

Data de Recebimento:
04/08/2024

Data de Aceite:
21/10/2024

Data de Publicação:
29/10/2024

***Autor correspondente:**

Francisco Lucas Silva de Lima,
Graduando em Licenciatura em
Ciências Biológicas, Santana do
Ipanema- AL.
Dados de contato: (82)
999442476; francisco.
lucas425biologia@gmail.com.

Citação:

LIMA, F.L.S. Métodos
diagnósticos moleculares
em reação em cadeia da
polimerase (pcr) na detecção
para esquistossomose mansoni,
v. 5, n. 4, 2024. <https://doi.org/10.51161/integrar/rem/4470>

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS MOLECULARES EM REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) NA DETECÇÃO PARA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

Francisco Lucas Silva de Lima¹.

¹ Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Alagoas. Santana do Ipanema-AL.

RESUMO

Introdução: A esquistossomose mansoni é uma das doenças tropicais negligenciadas (DTNs) causada pelo helminto *Schistosoma mansoni*, que continua sendo uma preocupação significativa na saúde pública em áreas endêmicas. Diante disto, é dada a importância de interromper a propagação da esquistossomose, onde a detecção precoce e precisa do parasito, tanto em humanos quanto nos caramujos, é essencial. Para isso, métodos moleculares em PCR podem significar um meio valioso para o diagnóstico da doença.

Objetivo: O estudo visa demonstrar os métodos de diagnósticos moleculares mais sensíveis e promissores para a detecção de *Schistosoma mansoni* em hospedeiros intermediários e definitivos e as especificidades de cada método.

Metodologia: O estudo trata-se de uma revisão integrativa de literatura de fontes de dados científicos, como PubMed e SciELO, e repositórios de teses, dissertações e monografias. Foram utilizados descritores em saúde (DECs) e critérios de inclusão e exclusão para assegurar a qualidade das informações revisadas.

Resultados: Os resultados das análises dos estudos indicaram que os métodos qPCR e Nested-PCR se sobressaíram melhor dentre os métodos de reação em cadeia polimerase (PCR) estudados, apresentando uma alta sensibilidade no diagnóstico para esquistossomose mansoni. **Conclusão:** Métodos PCR representam uma ferramenta poderosa para a detecção de *Schistosoma mansoni* em seres humanos e caramujos do gênero *Biomphalaria*, permitindo intervenções mais direcionadas e eficazes para interromper o ciclo de transmissão do parasito.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*, diagnósticos moleculares, PCR, *Schistosoma*, sensibilidade.

DOI: 10.51161/integrar/
rem/4470

Editora Integrar© 2024.

Todos os direitos reservados.

ABSTRACT

Introduction: Schistosomiasis mansoni is one of the neglected tropical diseases (NTDs) caused by the helminth *Schistosoma mansoni*, which remains a significant public health concern in endemic areas. In view of this, the importance of stopping the spread of schistosomiasis is given, where early and accurate detection of the parasite, both in humans and snails, is essential. For this reason, molecular methods in PCR can be valuable for the diagnosis of the disease. **Objective:** The study aims to demonstrate the most sensitive and promising molecular diagnostic methods for the detection of *Schistosoma mansoni* in intermediate and definitive hosts and the specificities of each method. **Methodology:** The study is an integrative literature review of scientific data sources, such as PubMed and SciELO, and repositories of theses, dissertations, and monographs. Health descriptors (DECs) and inclusion and exclusion criteria were used to ensure the quality of the information reviewed. **Results:** The results of the analysis of the studies indicated that the qPCR and Nested-PCR methods stood out better among the polymerase chain reaction (PCR) methods studied, presenting a high sensitivity in the diagnosis of schistosomiasis mansoni. **Conclusion:** PCR methods represent a powerful tool for the detection of *Schistosoma mansoni* in humans and snails of the genus *Biomphalaria*, allowing more targeted and effective interventions to interrupt the parasite transmission cycle.

Keywords: *Schistosoma mansoni*, molecular diagnostics, PCR, *Schistosoma*, sensitivity.

INTRODUÇÃO

A doença parasitária transmitida pela infecção do verme trematódeo *Schistosoma mansoni* em seres humanos é clinicamente denominada esquistossomose mansoni. Ela afeta principalmente localidades carentes e sem saneamento básico, sendo endêmica em regiões rurais com a presença de hospedeiros intermediários, definidos como caramujos do gênero *Biomphalaria*. Além disso, é considerada uma das doenças tropicais negligenciadas (DTNs), afetando milhões de pessoas em todo o mundo (TELES; CARVALHO, 2008; WHO, 2023). Destarte, o diagnóstico precoce e eficaz para a doença em hospedeiros intermediários e definitivos é fundamental ao planejamento de ações de controle, profilaxia e tratamento da esquistossomose mansoni, uma vez que essa doença causa impactos significativos aos infectados, que, caso não tratada, resulta em morbidade substancial ou morte (McMANUS et al., 2018).

Diante disto, métodos convencionais para o diagnóstico da esquistossomose, como os métodos considerados “padrão-ouro” para a detecção da doença, como o Kato-Katz em microscopia óptica para identificação de ovos em fezes humanas e a observação de cercárias em lâminas mediante fotoestimulação de caramujos do gênero *Biomphalaria*, possuem sensibilidade na identificação, mas por vezes demoram no diagnóstico e requerem habilidades técnicas especializadas. Podem apresentar exames falso-negativos em infecções de baixa intensidade, nas quais os métodos diagnósticos moleculares podem oferecer uma abordagem mais sensível e específica para a detecção da esquistossomose em seres humanos e caramujos. Entre esses métodos, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) ou PCR Convencional e suas variações mais específicas são amplamente utilizadas devido à sua alta sensibilidade (MELO, 2006), tendo como benefícios dos métodos moleculares PCR uma maior taxa de positividade, sensibilidade, especificidade e automatização. Desse modo, o objetivo delineado deste estudo foi demonstrar os métodos de diagnósticos moleculares mais sensíveis e promissores para a detecção de *Schistosoma mansoni* em hospedeiros

intermediários e definitivos e as especificidades de cada método.

METODOLOGIA

Para alcançar o objetivo proposto pelo estudo, foi realizado um levantamento bibliográfico de informações sobre métodos moleculares que podem ser utilizadas para minimizar os diagnósticos de falsos negativos em hospedeiros definitivos e intermediários do *Schistosoma mansoni*. Para isso, foi realizada uma revisão integrativa da literatura, método esse de pesquisa que sintetiza múltiplos estudos publicados e possibilita conclusões sobre uma determinada área estudada. Foram utilizadas as etapas de: identificação do tema; seleção da questão de pesquisa; coleta de dados bibliográficos nas bases de dados eletrônicas, com estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão para apresentação dos resultados evidenciados.

A questão norteadora da pesquisa foi: “Qual método molecular em Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é mais eficiente para o diagnóstico da Esquistossomose mansoni?” Para responder o questionamento, foi realizada uma busca nas bases de dados: PubMed (National Library of Medicine and National Institutes of Health), SciELO (Scientific Electronic Library Online) e BDTD (Base de dados de Teses e Dissertações). Utilizados os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) “*Schistosoma mansoni*”, “*Biomphalaria*”, “métodos diagnósticos moleculares”, “PCR”, “qPCR”, entre outros. Os termos foram combinados utilizando operadores booleanos (AND, OR) para ampliar a abrangência da busca. A coleta de dados foi realizada entre abril e maio de 2024.

Foram estabelecidos critérios de inclusão para a seleção dos estudos, os quais incluíam artigos científicos, revisões, teses e dissertações que abordassem especificamente métodos diagnósticos moleculares para detecção de *Schistosoma mansoni*, sem restrição de data de publicação. Foram excluídos estudos que não estivessem disponíveis em formato completo, não estivessem relacionados ao tema de interesse ou fossem considerados de baixa qualidade metodológica. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, os estudos foram triados em duas etapas: primeiro, por meio da leitura dos títulos e resumos, para identificar aqueles potencialmente relevantes; em seguida, pela leitura completa dos artigos selecionados, a fim de determinar sua inclusão final na revisão.

Ao todo, foram selecionadas 20 referências bibliográficas pelo autor, sem restrição temporal, com base nas características dos métodos descritos. Essas referências serviram como base para destacar e analisar as principais aplicações dos métodos moleculares utilizados no diagnóstico da esquistossomose em humanos e caramujos do gênero *Biomphalaria*, permitindo a comparação do desempenho de cada um desses métodos. Os dados extraídos foram analisados e sintetizados para identificar padrões, tendências e lacunas no conhecimento relacionado aos métodos diagnósticos moleculares para detecção de esquistossomose em hospedeiros intermediários e definitivos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 REVISÃO DE LITERATURA

Os resultados desta discussão foram fundamentados por 20 (vinte) artigos científicos selecionados pelos critérios de inclusão e exclusão supracitados. Destes, 19 (dezenove) foram retirados na PubMed, e 1(um) BDTD. A Tabela 1 expõe as especificações de cada um dos artigos.

Tabela 1. Artigos selecionados relacionados a métodos moleculares PCR

Procedência	Autores	Título do Artigo	Periódico	Considerações/ Temática
PubMed	BUSTIN; NOLAN	Pitfalls of quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction	Journal of Biomolecular Techniques	Define e descreve métodos moleculares PCR
PubMed	CANENE - ADAMS	PCR geral	Métodos em enzimologia	Define e descreve métodos moleculares PCR
PubMed	DIEFFNBA; LOWE; DVESKSLE	General concepts for PCR <i>primers</i> design	Genome Research	Define e descreve métodos moleculares PCR
PubMed	ESPÍRITO - SANTO et al. (a)	Detection of <i>Schistosoma mansoni</i> infection by TaqMan® Real-Time PCR in a hamster model	Experimental Parasitology	Descreve e avalia o método molecular qPCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	ESPÍRITO - SANTO et al. (b)	Evaluation of real-time PCR assay to detect <i>Schistosoma mansoni</i> infections in a low endemic setting	BMC Infectious Diseases	Descreve e avalia o método molecular qPCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	FERNÁNDEZ- SOTO et al.	A Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Early Detection of <i>Schistosoma mansoni</i> in Stool Samples: A Diagnostic Approach in a Murine Model	PLoS Negl Trop Dis	Descreve e avalia o método molecular LAMP PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	GANDASEGUI et al.	A field survey using LAMP assay for detection of <i>Schistosoma mansoni</i> in a low-transmission area of schistosomiasis in Umbuzeiro, Brazil: Assessment in human and snail samples	PLoS Negl Trop Dis	Descreve e avalia o método molecular LAMP PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	GREEN; SAMBROOK	Nested Polymerase Chain Reaction (PCR)	Cold Spring Harbor protocols	Descreve e avalia o método molecular Nested PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	HANELT et al.	Detection of <i>Schistosoma mansoni</i> in <i>Biomphalaria</i> using nested PCR	J Parasitol	Descreve e avalia o método molecular Nested PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	HENEGARIU et al.	Multiplex PCR: Critical parameters and step-by-step protocol	Biotechniques	Descreve e avalia o método molecular multiplex PCR como diagnósticos a esquistossomose

PubMed	JANNOTTI - PASSOS et al.	Multiplex PCR for both identification of Brazilian <i>Biomphalaria species</i> (Gastropoda: Planorbidae) and diagnosis of infection by <i>Schistosoma mansoni</i> (Trematoda: Schistosomatidae)	J Parasitol	Descreve e avalia o método molecular multiplex PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	KWOK; HIGUCHI	Avoiding false positives with PCR	Nature	Define e avalia diferentes métodos moleculares como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	LIVAK; SCHMITTGEN	Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method	Methods	Descreve e avalia o método molecular qPCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	MACKAY	Real-time PCR in the microbiology laboratory	Clinical Microbiology and Infection	Descreve e avalia o método molecular qPCR como diagnósticos a esquistossomose
BDTD	MELO	Desenvolvimento de métodos moleculares baseados em PCR para detecção de <i>Schistosoma mansoni</i>	Instituto Aggeu Magalhães	Define e avalia diferentes métodos moleculares como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	MESQUITA et al.	A multiplex PCR protocol for rapid differential identification of four families of trematodes with medical and veterinary importance transmitted by <i>Biomphalaria</i> Preston, 1910 snails	Acta Trop	Descreve e avalia o método molecular multiplex PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	MESQUITA et al.	Um ensaio de amplificação isotérmica mediada por loop para detecção de <i>Schistosoma mansoni</i> em <i>Biomphalaria</i> spp. de áreas endêmicas para esquistossomose em Minas Gerais, Brasil	Vetores de parasitas	Descreve e avalia o método molecular LAMP PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	MORI; NOTOMI	Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation	Biochemical and Biophysical Research Communication	Descreve e avalia o método molecular LAMP PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	NOTOMI et al.	Loop-mediated isothermal amplification of DNA	Nucleic Acids Research	Descreve e avalia o método molecular LAMP PCR como diagnósticos a esquistossomose
PubMed	WILSON	Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification	Applied and Environmental Microbiology Applied and Environmental Microbiology	Define e avalia diferentes métodos moleculares como diagnósticos a esquistossomose

3.2 DIAGNÓSTICO PARA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

Friani et al. (2023) destacam que a esquistossomose mansoni é uma parasitose prevalente no Brasil, causada pela infecção do helminto *Schistosoma mansoni* em hospedeiros intermediários, como os caramujos do gênero *Biomphalaria*. Esses caramujos, uma vez infectados, liberam cercárias no ambiente aquático, o que leva à infecção de hospedeiros definitivos, como os seres humanos. Trata-se de uma das doenças tropicais negligenciadas, com graves consequências se não for tratada.

Diante desse cenário, o diagnóstico precoce é peça fundamental contra a doença. Os métodos considerados “padrão-ouro”, segundo a Organização Mundial da Saúde (2023), incluem o teste parasitológico de fezes Kato-Katz, para humanos, e o exame de fotoestimulação, para caramujos. Esses métodos identificam indivíduos infectados e sua carga parasitária, quantificando ovos em humanos e a liberação de cercárias nos caramujos. No entanto, esses métodos apresentam baixa sensibilidade em situações de baixa carga parasitária, em áreas de baixa endemicidade e em caramujos submetidos a ambientes de estresse (NEVES, 2016).

Dessa forma, torna-se necessária a otimização de testes de diagnóstico mais eficazes, capazes de identificar com precisão as reais cargas parasitárias e as áreas de transmissão da doença. O grande problema, no contexto da saúde pública, é a carência de métodos diagnósticos sensíveis que identifiquem pacientes e moluscos assintomáticos, bem como casos de falso-negativos (GONZAGA, 2023). Segundo Neves (2016), as técnicas moleculares, como o PCR, apresentam potencial para melhorar a sensibilidade do diagnóstico, permitindo a detecção de infecções de baixa intensidade. Essas técnicas aumentam a especificidade, reduzem o risco de falsos-negativos e aceleram os resultados, além de possibilitar a automatização de alguns métodos, o que facilita o processamento de grandes volumes de amostras.

3.3 MÉTODOS MOLECULARES EM PCR E SEUS PRINCIPAIS DESAFIOS

A PCR convencional (Polymerase Chain Reaction) é uma técnica molecular amplamente utilizada para detectar e amplificar sequências específicas de DNA, podendo ser utilizada, segundo Fernández-Soto et al. (2014), como diagnóstico qualitativo em exames, como para a esquistossomose mansoni, onde visa à detecção molecular da presença ou ausência de *S. mansoni*. A técnica utiliza um termociclador, reagentes específicos e primers externos para amplificar o DNA alvo por meio de ciclos de desnaturação, anelamento e extensão (CANENE-ADAMS, 2013; FERNÁNDEZ-SOTO, 2014). Estudos de Melo (2006), Espírito-Santo et al. (2014a) e Green e Sambrook (2019) mostram que variações da Reação em Cadeia da Polimerase permitem o aprimoramento dessa técnica. Entre essas variações, a PCR em tempo real (qPCR) quantifica a amplificação do DNA durante a reação, eliminando a necessidade de eletroforese; a Nested-PCR realiza duas etapas de amplificação, aumentando a sensibilidade do diagnóstico; e a PCR Multiplex contribui para a amplificação de múltiplos segmentos de DNA simultaneamente em uma única reação, aumentando a sensibilidade e reduzindo o risco de falsos negativos. O método LAMP-PCR (Loop-Mediated Isothermal Amplification), por sua vez, opera a temperaturas constantes, eliminando a necessidade de um termociclador tradicional utilizado na PCR convencional, sendo mais acessível em ambientes com recursos limitados e permitindo detecções visuais rápidas (NOTOMI et al., 2000; MORI, NOTOMI 2009).

No entanto, essas diversas variações da PCR enfrentam desafios constantes, como o risco de contaminação cruzada entre as amostras, o que pode resultar em falsos positivos, especialmente na Nested-

PCR (KWOK; HIGUCHI, 1989). A especificidade dos primers é crucial, pois primers mal desenhados podem se ligar a sequências não alvo, resultando em amplificação inespecífica e, conseqüentemente, em falsos positivos ou negativos (DIEFFENBACH et al., 1993). O design de primers é particularmente desafiador em PCR Multiplex, onde múltiplos primers são usados simultaneamente (HENEGARIU et al., 1997). Além disso, a presença de inibidores nas amostras pode interferir na amplificação (WILSON, 1997). A necessidade de equipamentos caros e infraestrutura laboratorial adequada também pode limitar a aplicação dessas técnicas em ambientes com recursos restritos (MACKAY, 2004; BUSTIN; NOLAN, 2004). Por fim, a quantificação precisa na qPCR pode ser prejudicada por variações na eficiência de amplificação, exigindo controles rigorosos para garantir a precisão dos resultados (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001).

3.4 MÉTODOS MOLECULARES NA DETECÇÃO DE ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

Nos estudos de Melo (2006), Espírito-Santo et al. (2014b) e Hanelt et al. (1997), o sistema de qPCR otimizado e a Nested-PCR foram utilizados em amostras de DNA fecal, obtendo excelentes resultados em comparação a métodos diagnósticos usuais, como a microscopia e outros métodos moleculares. Os resultados de Espírito-Santo et al. (2014b) mostraram que a sensibilidade epidemiológica foi de 73,3% para o Kato-Katz, 66,7% para o Hoffman, e 86,7% para a Nested-PCR e a qPCR, com a qPCR apresentando menores riscos de contaminação externa.

O PCR multiplex, de acordo com os estudos de Mesquita et al. (2020) e Jannotti-Passos et al. (2006), mostrou-se promissor na identificação molecular específica de famílias de helmintos causadores da esquistossomose, diferenciando as famílias de trematódeos Clinostomidae, Echinostomatidae, Schistosomatidae e Strigeidae. Utilizando o rDNA como marcador molecular para taxonomia e sistemática em trematódeos, os iniciadores concebidos geraram produtos de PCR específicos para cada família, com tamanhos diferentes: 115, 140, 172 e 183 pb para as famílias Clinostomidae, Schistosomatidae, Echinostomatidae e Strigeidae, respectivamente, sendo capazes de detectar coinfeções em um hospedeiro potencial (MESQUITA et al., 2020).

O método LAMP-PCR, que apresenta sensibilidade menor e custo inferior em relação aos demais exames diagnósticos moleculares, segundo Mesquita et al. (2021) e Gandasegui et al. (2018), pode alcançar 100% de especificidade e 85,7% de sensibilidade em infectados. Ele detecta a presença de *S. mansoni* mesmo quando os caramujos não liberam cercárias, fornecendo informações valiosas para os serviços de vigilância, uma vez que, em muitas áreas endêmicas, os caramujos recolhidos raramente liberam cercárias, embora a transmissão da esquistossomose continue presente (MESQUITA et al., 2021).

Dessa forma, de acordo com os estudos descritos, são demonstrados os potenciais no desenvolvimento e aplicação de técnicas de diagnóstico molecular. A qPCR pode ser promissora em regiões de baixa endemicidade e em hospedeiros com baixa carga parasitária, devido à sua alta sensibilidade para a detecção de pequenas quantidades de material genético e ao seu baixo risco de contaminação. Além disso, o conhecimento sobre a presença de uma família de trematódeos, utilizando o PCR multiplex em uma determinada área, pode prever potenciais impactos à saúde e identificar coinfeções de parasitas em hospedeiros definitivos e intermediários. Métodos moleculares de boa qualidade e baixo custo, como o LAMP-PCR, podem ser utilizados para auxiliar no diagnóstico da doença em regiões que necessitem de uma melhor identificação parasitária.

CONCLUSÃO

Conclui-se que os métodos diagnósticos moleculares representam uma ferramenta poderosa para a detecção da esquistossomose em seres humanos e caramujos do gênero *Biomphalaria*. Sua alta sensibilidade, especificidade e rapidez tornam esses métodos essenciais para programas de controle da doença, permitindo intervenções mais eficazes e direcionadas para interromper o ciclo de transmissão do parasito. Este estudo demonstrou que o método molecular qPCR é geralmente considerado o mais eficaz em termos de sensibilidade e especificidade, além de sua capacidade de quantificação, que é fundamental para monitorar a carga parasitária. No entanto, em contextos onde o acesso a equipamentos sofisticados é limitado, o LAMP-PCR surge como a melhor alternativa, devido à sua simplicidade, rapidez e alta sensibilidade, sendo especialmente útil em ambientes de campo ou com recursos limitados. Recomenda-se a realização de mais estudos sobre os métodos moleculares descritos, dado o grande potencial de suas aplicações.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- BUSTIN, S. A.; NOLAN, T. Pitfalls of quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. **Journal of Biomolecular Techniques**, 15(3), 155-166. 2004.
- CANENE-ADAMS K. PCR geral. **Métodos em enzimologia**, 529, 291–298. 2013. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418687-3.00024-0>
- DIEFFNBACH, C. W.; LOWE, T. M. J.; DVESKSLER, G. S. General concepts for PCR primer design. **Genome Research**, 3(3), S30-S37. 1993. Available from: <https://doi.org/10.1101/gr.3.3.s30>
- ESPÍRITO-SANTO, M. C.; ALVARADO-MORA, M.V.; PINTO P.L.; BRITO, T.; BOTELHO-LIMA, L.S.; HEALTH, A.R.; AMORIM, M.G.; DIAS-NETO, E.; CHIEFFI, P.P.; PINHO, J.R.; E.J. CARRILHO, F.J.; LUNA, E.J.; GRYSCHKEK, R.C.
C. et al. Detection of *Schistosoma mansoni* infection by TaqMan® Real-Time PCR in a hamster model. **Experimental Parasitology**. v. 143, p. 83–89. , 1 ago. 2014. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24858959/>. Accessed: 1 mai. 2024. A
- FERNÁNDEZ-SOTO, P.; ARAHUETES, J.G.; HERNÁNDEZ, A.S.; ABÁN, J.L.; Vicente SANTIAGO, V.B.; MURO A. A Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Early Detection of *Schistosoma mansoni* in Stool Samples: A Diagnostic Approach in a Murine Model. **PLoS Negl Trop Dis**. 2014: 8 e 3126. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003126>. Accessed: 3 jan. 2024.
- FRIANI, G; AMARAL, A.M.R.; QUINELATO, S.; SILVA, C.C.M.; GOLO, P.S. Controle biológico de *Biomphalaria*, hospedeiro intermediário de *Schistosoma* spp.: uma revisão sistemática. **Ciência Rural** [Internet]. 53(4):e20210714. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210714>. Acesso: 3 jan. 2024.
- GANDASEGUI, J.; FERNÁNDEZ-SOTO, P.; MURO, A.; SIMÕES, B.C.; LOPES, F.M. LOYO, R.

de SOUZA, E.C.G. A field survey using LAMP assay for detection of *Schistosoma mansoni* in a low-transmission area of schistosomiasis in Umbuzeiro, Brazil: Assessment in human and snail samples. **PLoS Negl Trop Dis**. 2018 Mar 13;12(3):e0006314. doi: 10.1371/journal.pntd.0006314. PMID: 29534072; PMCID: PMC5849311.

GONZAGA, B.S. **Aplicação de Sm1-7qPCR para detecção de DNA de *Schistosoma mansoni* em modelo murino com infecção controlada**. 2023. 57 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. Nested Polymerase Chain Reaction (PCR). **Cold Spring Harbor protocols**, 2019. Available from: <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095182>

HANELT, B.; ADEMA, C.M.; MANSOUR, M.H.; LOKER, E.S. Detection of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria* using nested PCR. **J Parasitol**. 1997 Jun;83(3):387-94. PMID: 9194817.

HENEGARIU, O.; HEEREMA, N. A.; DLOUHY, S. R.; VANCE, G. H.; VOGT, P. H. Multiplex PCR: Critical parameters and step-by-step protocol. **Biotechniques**, 23(3), 504-511.1997. Available from: <https://doi.org/10.2144/97233rr01>

JANNOTTI-PASSOS, L.K.; MAGALHÃES, K.G.; CARVALHO, O.S.; VIDIGAL, T.H. Multiplex PCR for both identification of Brazilian *Biomphalaria species* (Gastropoda: Planorbidae) and diagnosis of infection by *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae). **J Parasitol**. 2006 Apr;92(2):401-3. doi: 10.1645/GE-593R1.1. PMID: 16729704.

KWOK, S.; HIGUCHI, R. Avoiding false positives with PCR. **Nature**, 339(6221), 237-238. 1989. <https://doi.org/10.1038/339237a0>

LIVAK, K. J.; SCHMITTTGEN, T. D. **Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method**. *Methods*, 25(4), 402-408. 2001. Available from: DOI: 10.1006/met.2001.1262

MACKAY, I. M. Real-time PCR in the microbiology laboratory. **Clinical Microbiology and Infection**, 10(3), 190-212. 2004. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1198-743x.2004.00722.x>

McMANUS, D.P.; DUNNE, D.W.; SACKO, M.; UTZINGER, J.; VENNERVARD, B.J.; ZHOU XN. Schistosomiasis. **Nat Rev Dis Primers**. 2018; 4:13.

MELO, F. L. Desenvolvimento de métodos moleculares baseados em PCR para detecção de *Schistosoma mansoni*. 2006. 114 páginas. Tese (Doutorado em Saúde Pública). Instituto Aggeu Magalhães, Recife-PE. 2006.

MESQUITA, S.G.; RODRIGUES-LUIZ, G.F.; REIS-CUNHA J.L.; CARDOSO M.S.; Cristiane Lafeté Furtado De MENDONÇA C.L.F.; BUENO, L.L.; Ricardo Toshio FUJIWARA R.T.; Pinto, H.A.; Roberta Lima CALDEIRA, R.L.; Daniella Castanheira BARTHOLOMEU, D.C. A multiplex PCR protocol for rapid differential identification of four families of trematodes with medical and veterinary importance transmitted by *Biomphalaria Preston*, 1910 snails. **Acta Trop**. 2020; 211:105655., 211, 105655. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105655>. Accessed: 2 mai. 2024

MESQUITA, S.G.; NEVES, F.G.; SCHOLTE, R.G.C.; CARVALHO, O.S.; FONSECA, C.T.; CALDEIRA, R.L. Um ensaio de amplificação isotérmica mediada por loop para detecção de *Schistosoma mansoni* em *Biomphalaria* spp. de áreas endêmicas para esquistossomose em Minas Gerais, Brasil. **Vetores de parasitas** 14 , 388 .2021. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04888-y>

MORI, Y.; NOTOMI, T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. **Journal of Infection and Chemotherapy**, 15(2), 62-69. 2009. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10156-009-0669-9>

NEVES, David Pereira. Parasitologia humana. 13 Rio de Janeiro: Atheneu, 2016, 588 p.

NOTOMI, T.; OKAYAMA, H.; MASUBUCHI, H.; YONEKAWA, T.; WATANABE, K.; AMINO, N.; HASE, T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. **Nucleic Acids Research**, 28(12), E63. 2000. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>

TELES, H.M.S.; CARVALHO, O.S. 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 [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 459-484. ISBN 978-85-7541-370-8. Available from SciELO Books

WILSON, I. G. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. **Applied and Environmental Microbiology**, 63(10), 3741-3751. 1997. Available from: 10.1128/aem.63.10.3741-3751.1997. PMID: 9327537; PMCID: PMC168683.

WHO. *Schistosomiasis*. World Health Organization. 2023. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>.