

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Ciências
Departamento de Biologia Animal**



**Parasitoses intestinais em crianças de uma região rural da
Guiné-Bissau: prevalência e relação com o estado
nutricional**

Raquel Lima dos Santos Delgado

Mestrado em Biologia Humana e Ambiente

Lisboa – 2010

Universidade de Lisboa
Faculdade de Ciências
Departamento de Biologia Animal

**Parasitoses intestinais em crianças de uma região rural da Guiné-
Bissau: prevalência e relação com o estado nutricional**

Raquel Lima dos Santos Delgado

Mestrado em Biologia Humana e Ambiente

Esta dissertação foi orientada por:

Doutora Sónia Centeno-Lima, Investigadora Auxiliar
Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa
Centro de Malária e de Doenças Tropicais

Doutora Maria Teresa Rebelo, Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa
CESAM, Universidade de Aveiro

Lisboa, Outubro de 2010

Resumo

As parasitoses intestinais (helmintoses e protozooses) representam um grave problema de saúde pública nos países em desenvolvimento. A morbilidade causada por estes agentes patogénicos é na maioria das vezes relacionada com a desnutrição, resultando em deficiências no desenvolvimento físico e cognitivo da população infantil, geralmente a mais afectada. Os principais mecanismos de transmissão dos parasitas intestinais estão associados com inadequadas práticas de higiene pessoal e doméstica, e com fontes de contaminação. O objectivo deste trabalho foi estudar a prevalência de parasitoses intestinais e a sua relação com o estado nutricional em 117 crianças com idades compreendidas dos 0 aos 15 anos, de uma comunidade rural situada em Bafatá, interior da Guiné-Bissau. As técnicas aplicadas nas amostras de fezes foram a identificação morfológica das espécies, por observação microscópica, e a identificação molecular das espécies *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* e *Entamoeba moshkovskii*. O exame parasitológico das fezes revelou a uma prevalência de 60,7% crianças infectadas com parasitas intestinais, das quais 33,3% apresentaram *Giardia intestinalis*, 28,2% apresentaram Ancilostomídeos e apenas 4 casos de infecção com *E. histolytica*. Através da análise de índices antropométricos foi possível verificar a prevalência de desnutrição aguda em 45,8% das crianças e de desnutrição crónica em 58,6%. A relação das parasitoses intestinais com o estado nutricional determinou a inexistência de relação com a desnutrição aguda, contudo foi verificada uma relação significativa entre as crianças parasitadas com desnutrição crónica. Os parasitas mais frequentes encontrados nas crianças com desnutrição crónica foram os Ancilostomídeos. Este estudo contribuiu para o conhecimento da prevalência da giardíase e da ancilostomose em crianças da Guiné-Bissau, e a sua relação com a desnutrição aguda.

Palavras-chave: parasitas intestinais, desnutrição aguda, desnutrição crónica, perfil clínico, giardíase.

Abstract

Intestinal parasites (helminths and protozoan) represent a serious public health problem in developing countries. The morbidity caused by these pathogens is most often associated with malnutrition, resulting in shortcomings in physical and cognitive development of the child population, usually the most affected. The main mechanisms of transmission of intestinal parasites are related to inadequate personal hygiene and domestic, and with sources of contamination. The aim was to study the prevalence of intestinal parasites and its relation to nutritional status in 117 children aged 0 to 15 years in a rural community in Bafatá, a region inside of Guinea-Bissau. The techniques applied, in samples of feces, was the morphological identification of species by microscopic observation and molecular identification of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii*. The stool examination revealed a prevalence of 60.7% of children infected with intestinal parasites, of which 33.3% had *Giardia intestinalis*, 28.2% had Hookworms and only 4 cases of infection with *E. histolytica*. Through analysis of anthropometric indices was possible to determine the prevalence of acute malnutrition in 45.8% of children and chronic malnutrition at 58.6%. The relationship of intestinal parasites with nutritional status determined the lack of relationship to acute malnutrition, but there was a significant relationship between children infected with chronic malnutrition. The most common parasite found in children with chronic malnutrition was the Hookworms.

This study contributed to knowledge of the prevalence of giardiasis and hookworm in children in Guinea-Bissau, and its relationship to acute malnutrition.

Keywords: intestinal parasites, acute malnutrition, chronic malnutrition, clinic profile, giardiasis.

Agradecimentos

Por fim terminei mais uma etapa da minha vida, que tanto contribuiu para o meu crescimento não só educacional, como para o meu desenvolvimento enquanto ser humano e por isso dou graças a Deus.

Quero primeiramente agradecer ao professor Doutor Jorge Atouguia, por gentilmente me ter recebido na sua unidade;

À Doutora. Sónia Lima, por amavelmente me ter acolhido na sua equipa de estudantes e ter aceitado orientar este trabalho, pela disponibilidade e simpatia sempre demonstrados ao longo da execução deste percurso;

Ao Doutor Jorge Seixas e ao Doutor Victor Marques, por terem disponibilizado o material que proporcionou o meu estudo e também pela disponibilidade e atenção demonstrados;

À professora Doutora Maria Teresa Rebelo, por gentilmente ter aceitado orientar a minha tese de mestrado e pela atenção, ajuda e acompanhamento disponibilizados;

À mestre Filipa Ferreira, pela orientação e simpatia que me demonstrou desde o início da execução deste trabalho;

À técnica Laura Cravo e à mestre Ana Maria Fonseca por todo o apoio que sempre me disponibilizaram;

Claro que dedico este trabalho aos meus queridos pais, Josézito e Crisolita, que sempre me apoiaram e zelaram por mim e pelos meus estudos, aos quais devo parte de tudo o que até hoje consegui conquistar;

E a todos os queridos meus amigos e colegas da Faculdade de Ciências que contribuíram com a sua amizade e carinho ao longo da elaboração deste trabalho o meu bem haja!

“O senhor é meu pastor e nada me faltará.” Salmos 23:1

Índice

Resumo	iii
<i>Abstract</i>	iv
Agradecimentos	v
1. Introdução.....	1
1.1. Estado da arte	1
1.2. Parasitoses intestinais	2
1.3. Diagnóstico e tratamento de parasitoses intestinais	8
1.4. Parâmetros de avaliação do estado nutricional e do crescimento físico	9
1.5. Perfil clínico associado à desnutrição	11
1.6. Estado nutricional e parasitismo intestinal.....	13
1.7. Saúde na Guiné-Bissau	14
2. Objectivos.....	16
2.1. Objectivos gerais	16
2.2. Objectivos específicos	16
3. Material e Métodos	16
3.1. Desenho do estudo.....	16
3.2. Local, população e amostra.....	16
3.3. Aspectos étnicos	17
3.4. Colheitas das amostras de fezes	17
3.5. Inquérito.....	18
3.6. Avaliação nutricional e clínica	18
3.7. Exame parasitológico.....	19
3.8. Análise estatística	21
4. Resultados.....	22
4.1. Caracterização demográfica	22
4.2. Diagnóstico parasitológico.....	23
4.3. Caracterização do estado nutricional	24
4.4. Caracterização do estado clínico	28
5. Discussão	31
6. Referências bibliográficas	36
7. Anexos.....	41

1. Introdução

1.1. Estado da arte

As parasitoses intestinais são causas de relevante agravo em termos de saúde pública, principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, uma vez que a insuficiente política de educação sanitária e as fracas condições socioeconómicas da população levam à ausência de saneamento básico. Além disto, certos hábitos culturais ainda persistentes permitem a manutenção e disseminação de ciclos biológicos de vários parasitas. Os enteroparasitas são um dos principais factores debilitantes da população, associando-se frequentemente a quadros de diarreia crónica e desnutrição, comprometendo o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente das faixas etárias mais jovens da população (Uecker M. et al, 2007).

A doença diarreica, que pode ser causada por parasitas intestinais, continua a ser responsável por uma elevada taxa de mortalidade nos países em desenvolvimento, sendo a causa de aproximadamente 21% da mortalidade infantil nos primeiros 5 anos de vida (Figura 1). Causa cerca de 2.5 milhões de mortes/ano, sendo também das principais causas de hospitalização e morbilidade em todo o mundo (Mandomando I. et al, 2007).

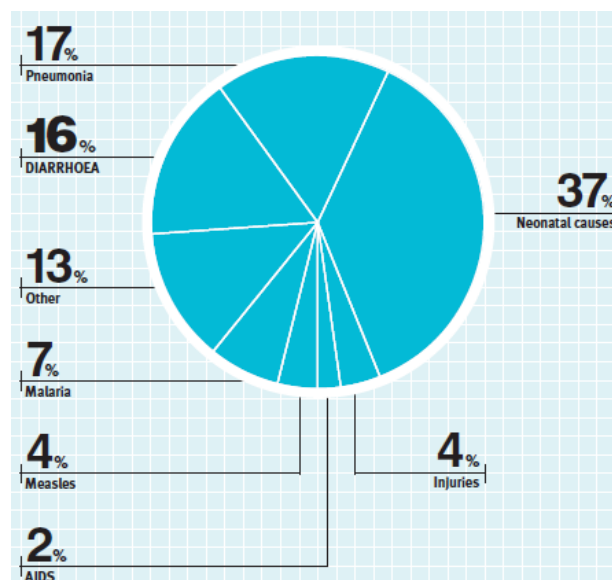


Figura 1- Causas de morte de crianças abaixo dos 5 anos de idade. OMS, 2004

De entre os vários agentes patogénicos que provocam esta doença, encontram-se um vasto número de espécies bacterianas (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas* spp.), de enteroparasitas (*Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*) e vírus (adenovírus, Norwalk vírus e rotavírus) (Vargas M. et al, 2004). Mundialmente a giardíase é a causa mais frequente de diarreias não-bacterianas (Singh A. et al, 2009).

Os helmintas causam infecções nos humanos através do seu contacto com ovos ou com as suas formas larvares geralmente pela via fecal-oral, estimulada pela falta de condições de higiene, mas nem sempre resultam em episódios de diarreia. Os

protozoários intestinais na maioria dos casos são transmitidos também pela via fecal-oral, contudo podem infectar o hospedeiro através da ingestão de água ou de alimentos contaminados com quistos. Portanto, a problemática da ocorrência das infecções causadas por estes agentes patogénicos reflecte-se não só na qualidade de vida e saúde das crianças, que geralmente na população são as mais afectadas em situações de conflitos e epidemias, mas também no correcto desenvolvimento físico devido aos inevitáveis episódios de desnutrição (OMS and UNICEF, 2009).

1.2. Parasitoses intestinais

1.2.1. Helmintoses

Os helmintas intestinais encontram-se distribuídos por todo o globo, particularmente nas regiões tropicais e subtropicais (Morenikeji O. et al, 2009).

Com particular interesse destacam-se os geohelmintas (helmintas do solo), que são o grupo de parasitas mais prevalente em infecções por helmintas nos humanos, sendo estimado que infectem cerca de 2 mil milhões de pessoas, em especial nos países em desenvolvimento (Cooper P. et al, 2008). As crianças são o grupo com as maiores prevalências e intensidades de infecção, também muito vulneráveis aos efeitos destes parasitas. Estes incluem as deficiências nutricionais e o comprometimento do desenvolvimento físico e mental, resultando em problemas de saúde adicionais para um grupo já em desvantagem (Saathoff E. et al, 2004).

Os quatro principais nemátodos mais comumente associados à desnutrição e doenças em crianças são: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e duas espécies de Ancilostomídeos, *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*. Pelo menos 400 milhões de crianças em idade escolar encontram-se cronicamente infectadas com estes parasitas (Hall A. et al, 2008).

A maioria dos nemátodos intestinais como *A. lumbricoides* e *T. trichuris* são adquiridos através da ingestão de ovos infectantes do solo contaminado com fezes humanas infectadas, enquanto as infecções por Ancilostomídeos e por *Strongyloides stercoralis* (também um nemátodo) ocorrem quando as larvas infectantes do solo penetram na pele nua, geralmente no pé (Morenikeji O. et al, 2009).

A. lumbricoides é o nemátodo mais frequente a infectar o tracto intestinal humano. Os parasitas adultos geralmente habitam no jejuno (intestino delgado) onde se alimentam do conteúdo intestinal, mas podem ser encontrados na porção superior ou inferior do intestino quando presentes em grande número, talvez devido à competição por nutrientes. Os adultos de *T. trichiura* colonizam o ceco (intestino grosso). A penetração deste parasita nos tecidos provoca inflamações e pequenas hemorragias de modo que, quando presente em um grande número, podem causar disenteria e até mesmo um prolapso rectal (Hall A. et al, 2008).

As duas principais espécies de Ancilostomídeos, *A. duodenale* e *N. americanus*, são normalmente consideradas em conjunto porque os ovos de cada espécie são morfológicamente semelhantes quando examinados ao microscópio e a maioria têm uma sobreposição a nível de distribuição geográfica (Hall A. et al, 2008). *A. duodenale* e *N. americanus*, são encontradas exclusivamente em humanos. As duas espécies compartilham um ciclo de vida comum: os ovos eclodem em larvas rabditóides, que se alimentam de bactérias no solo e progridem para larvas filarióides infectantes. Estas larvas ao penetrarem nos hospedeiros através dos poros da epiderme, migram através do sistema circulatório até atingirem os capilares alveolares. Após penetrarem o parênquima pulmonar, as larvas sobem a árvore brônquica e são deglutidas com as secreções. Cerca de 6 semanas após a infecção inicial, as larvas maduras já se encontram fixas à parede do intestino delgado para se alimentarem e iniciar a produção de ovos. Ocasionalmente, durante a sua migração para o intestino, as larvas podem causar sintomas pulmonares. A ancilostomose raramente é sintomática, até que seja estabelecida uma carga significativa de parasitas intestinais. A maior preocupação da infecção é a espoliação de sangue. Dotados de um anticoagulante orgânico, os Ancilostomídeos consomem cerca de 0,25 ml de sangue por dia, podendo causar anemia ferropénica, que pode estar associada a um retardo físico e mental das crianças afectadas (Kucik C. et al, 2004).

O ciclo de vida de *Strongyloides stercoralis* é semelhante ao ciclo de vida dos Ancilostomídeos: as larvas infectantes penetram na pele, pela corrente sanguínea chegam ao aparelho respiratório e depois passam para o tracto gastrointestinal (Cook G. and Zumla A., 2009). As infecções resultantes podem persistir por anos no intestino humano através da produção de larvas auto-infectantes. Quando a carga parasitária é elevada, as larvas auto-infectantes disseminam a partir do tracto gastrointestinal, podendo causar estrongiloidíase disseminada, frequentemente complicada por

meningite bacteriana e septicemia. Estas infecções também se encontram associadas à falta de higiene e ausência de instalações sanitárias (Speare D., 2008). Em indivíduos imunocompetentes, a infecção é geralmente assintomática ou provoca sintomas ligeiros a moderados a nível abdominal, dependendo da carga parasitária. Em doentes imunodeprimidos porém, a hiperinfecção e a disseminação dos parasitas para locais ectópicos (cérebro, por exemplo) causa doença severa que conduz à elevada taxa de mortalidade (até 87%) (Getaneh A. et al, 2010) (Hunter P. and Nichols G., 2002).

Estes geohelminthas são mais frequentes entre crianças que vivem em más condições de saneamento, e o seu impacto na morbilidade e mortalidade é mais grave em crianças desnutridas. Estudos sugerem que aproximadamente 70% da população destes parasitas se encontram hospedados em cerca de 15% da população hospedeira humana. Esses poucos indivíduos fortemente infectados são também a principal fonte de contaminação ambiental. Cuidados de saúde e instalações precárias, inadequadas condições de higiene e a indiferença social são factores que agravam esta situação. Entretanto o controle por geohelminthas é muitas vezes negligenciado, mesmo em países altamente infestados por este tipo de parasitas (Mascarini-Serra L. et al, 2010).

1.2.2. Protozooses

Neste grupo de parasitas protozoários destacam-se três espécies com grande relevância nos países em desenvolvimento: *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* e *Cryptosporidium* spp. (Ouattara M. et al, 2010). O parasita coccídio do género *Cryptosporidium* é responsável por causar criptosporidíase. Esta é considerada uma doença diarreica emergente, que geralmente causa uma infecção intestinal, traduzida por um quadro clínico de diarreia aguda (CDC, 2010). Para o seu diagnóstico é geralmente utilizada a técnica de coloração *Ziehl-Neelsen* para a identificação dos oocistos nas fezes (Rigo C. and Franco R., 2002). A giardíase e a criptosporidíase fazem parte do grupo das "doenças negligenciadas", relacionadas com a pobreza (Putignani L. and Menichella D., 2010).

Amebíase

- Agente etiológico e ciclo de vida

Existem três espécies morfológicamente idênticas do género *Entamoeba* que comumente parasitam os seres humanos: *E. histolytica*, *E. dispar* e *E. moshkovskii*. Contudo só a espécie *E. histolytica* é patogénica, as restantes espécies são parasitas comensais do intestino humano (Ali I. et al, 2008).

Esta ameba patogénica é indistinguível na fase de quisto (forma de resistência) e trofozoíto (forma móvel) das amebas não-patogénicas *E. dispar* e *E. moshkovskii*, excepto em raros casos de doença invasiva, quando os trofozoítos podem conter hemácias ingeridas (Parija S. and Khairnar K., 2007). O ciclo de vida de *Entamoeba histolytica* é monoxeno, ou seja, completa o seu ciclo em apenas um hospedeiro. Quando ingeridos os quistos, estes passam através do estômago, desenquistam na parte distal do intestino delgado e cólon e geralmente colonizam o intestino grosso humano. Através de mecanismos ainda desconhecidos, mas possivelmente relacionados com a ruptura do equilíbrio do micro-ambiente intestinal (redução de imunidade local, alteração da flora intestinal, lesões na mucosa, etc.), os trofozoítos tornam-se patogénicos e invadem a parede intestinal. O resultado é a ocorrência de ulcerações e subsequentes disenterias; podem também ser transportados pelo sangue para locais extra-intestinais em casos de infecção crónica, tais como: fígado (abscesso hepático), pulmões e cérebro. Os trofozoítos que permanecem no intestino sob a forma comensal reduzem o seu metabolismo e segregam uma parede quística ao seu redor, formando os quistos que são eliminados através das fezes e que irão desenquistar quando chegarem a um novo hospedeiro (Akisu C. et al, 2004) (Stanley S., 2003).

Um dos aspectos clínicos mais intrigantes da infecção por *E. histolytica* é que 90% dos indivíduos são assintomáticos, enquanto os restantes 10% desenvolvem colites, diarreias, disenteria e (em alguns casos) danos extra-intestinais, tais como o abscesso hepático (Bansal D. et al, 2009).

- Epidemiologia

A amebíase é um problema principalmente para os países em desenvolvimento, onde ocorrem cerca de 50 milhões de casos/ano e 100.000 mortes/ano (Bansal D. et al, 2009).

E. histolytica é a quarta causa de mortalidade devido a uma infecção por protozoário (após a malária, a tripanossomose africana e a leishmaniose) e representa a terceira causa de morbidade devido a um protozoário (após a malária e a tricomoniase) (Ali I. et al, 2008).

A infecção amebiana é predominante na Índia, África, áreas da América Central e do Sul e Extremo Oriente. Nos países em desenvolvimento a sua distribuição e prevalência dependem em grande parte dos hábitos culturais, da idade, do nível de saneamento, da aglomeração populacional e do nível socioeconômico. Já nos países desenvolvidos, a infecção é principalmente devida a *E. dispar* e é confinada a determinados grupos: imigrantes ou viajantes para áreas endêmicas, homens homossexuais, doentes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (SIDA) e a populações institucionalizadas (Ali I. et al, 2008).



Figura 2- Quisto e trofozoíto de *Entamoeba histolytica* (Adaptado de Lebbad M., 2010)

Giardíase

- Agente etiológico e ciclo de vida

Esta infecção é causada por *Giardia intestinalis* (também conhecida por *G. duodenalis* e *G. lamblia*), um protozoário flagelado patogénico intestinal, que pode surgir nas fezes também sob a forma de trofozoíto ou sob a forma de quisto. Este protozoário foi descrito pela primeira vez em 1681 pelo microscopista holandês Antonie Leeuwenhoek, que identificou o parasita nas suas próprias fezes (Hawrelak J., 2003).

Quando um novo hospedeiro consome um quisto, o ambiente ácido do estômago estimula o desenquistamento e cada quisto produz dois trofozoítos. Estes trofozoítos migram para o duodeno e jejuno proximal, onde fixam-se aos enterócitos da mucosa intestinal por meio de um disco adesivo ventral e se reproduzem. O processo de fixação provoca sérios danos nas microvilosidades, o que interfere com a absorção de

nutrientes. A rápida multiplicação dos trofozoítos eventualmente cria uma barreira física entre os enterócitos e o conteúdo intestinal, interferindo desta forma com a absorção de nutrientes. Este processo leva à atrofia das microvilosidades, hiperplasia das criptas, hiperpermeabilidade intestinal, danos estes associados a uma redução na secreção de enzimas dissacaridases, importantes no processo de digestão. Os trofozoítos geralmente não penetram o epitélio nem invadem os tecidos circundantes, ou entram na corrente sanguínea. Assim, a infecção é geralmente contida no lúmen intestinal (Eckmann L. and Gillin F., 2001; Hawrelak J., 2003).

É suficiente a ingestão de pelo menos 10-25 quistos para causar infecção em seres humanos; esta é na maioria das vezes assintomática. Após um período de incubação de uma a duas semanas, podem no entanto desenvolver-se sintomas de desconforto gastrointestinal, incluindo flatulência, cólicas, diarreia, esteatorreia (causada pela má absorção de gordura) e perda de peso. Sinais e sintomas crónicos, tais como fezes moles, esteatorreia, uma perda de 10 a 20% em peso, má absorção, mal-estar, fadiga e depressão, podem aumentar e diminuir ao longo de muitos meses se a condição não for tratada (Kucik C. et al, 2004).

O impacto clínico parece ser mais forte nos três primeiros anos de vida e em indivíduos desnutridos ou imunodeprimidos. Este parasita tem sido muitas vezes apontado como a causa de distúrbios no crescimento infantil, em associação com a também com a diarreia (Busatti H. et al, 2009). A associação de giardíase com a desnutrição energético-proteica, deficiência de micronutrientes e mais recentemente com anemia por deficiência de ferro tem sido relatada por alguns investigadores (Botero-Garcés J. et al, 2009).

- Epidemiologia

A giardíase encontra-se distribuída mundialmente mas com elevada prevalência nos países em desenvolvimento, onde a taxa de prevalência pode alcançar os 20-30%. A prevalência da infecção, específica da idade, é mais elevada na infância e durante a idade pré-escolar e depois sofre um decréscimo na adolescência. A idade surge como um factor de risco para a susceptibilidade à giardíase e apesar de surgir com frequência na idade infantil, é rara em crianças até 6 meses de idade, particularmente quando é praticada a amamentação. A subnutrição poderá aumentar a susceptibilidade para a infecção por *G. intestinalis*, como indica um estudo realizado com crianças da Gâmbia

com diarreia crónica e malnutrição, em que 45% das crianças tinham também giardíase (Cook G. and Zumla A., 2009).

O principal reservatório de *G. intestinalis* é o homem, contudo também é encontrada em cães, gatos, castores e gado. A giardíase é transmitida pela ingestão de quistos pela via fecal-oral, através da água e em alimentos contaminados, sendo agravado o risco de contaminação em situações de precárias condições de higiene e ausência de saneamento básico. Os quistos podem permanecer viáveis no ambiente por até três meses, sob condições favoráveis de temperatura e humidade. Três aspectos são importantes no contexto epidemiológico da doença: a resistência dos quistos no ambiente, a quantidade eliminada pelos pacientes e o aspecto zoonótico da doença (Busatti H. et al, 2009).

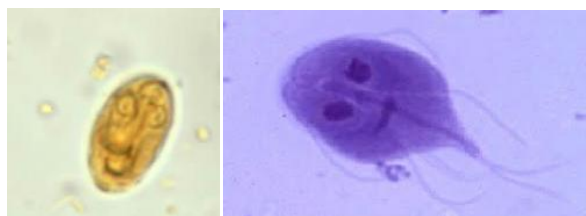


Figura 3- Quisto e trofozoíto de *Giardia intestinalis* (Adaptado, 2010)

1.3. Diagnóstico e tratamento de parasitoses intestinais

O diagnóstico de giardíase e amebíase é baseado no reconhecimento de quistos e trofozoítos nas fezes, enquanto o diagnóstico dos helmintas faz-se pela detecção dos ovos e larvas. A colheita de amostras de fezes é efectuada preferencialmente em dias separados para aumentar o rendimento do exame, devido à quantidade variável de organismos que são eliminados em diferentes épocas. As fezes podem ser examinadas directamente, ou após conservação, e coradas com iodo, tricrómio ou hematoxilina. No caso da giardíase, o conteúdo duodenal pode ser examinado directamente, por aspiração simples ou endoscópica (Vesly C. and Peterson W., 1999).

Geralmente o diagnóstico de protozoários intestinais depende da sua detecção microscópica. Apesar de esta detecção ser de baixo custo, é muito trabalhosa, pouco sensível (em casos de infecções ligeiras) e requer técnicos qualificados em microscopia parasitológica. Os métodos serológicos baseados na detecção de antígenos (por imunofluorescência directa, ensaio imunoenzimático e testes rápidos) podem ser realizados rapidamente, não requerem técnicos experientes e têm mais sensibilidade na

detecção que a microscopia. Recentemente encontram-se disponíveis kits comerciais de diagnóstico para os parasitas intestinais, nomeadamente para diferenciar *E. histolytica* de *E. dispar*. Contudo a técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) é a técnica de maior sensibilidade para diagnóstico da amebíase (Singh A. et al, 2009).

Para o tratamento das parasitoses intestinais são administradas doses do fármaco Metronidazol e seus derivados (para protozoários) e Mebendazol e seus derivados (para as helmintíases), representados na Tabela 1. Têm sido relatados alguns casos de falhas terapêuticas e resistência de *G. intestinalis* ao Metronidazol e infelizmente nenhum novo fármaco se encontra em desenvolvimento para o tratamento específico de protozoários intestinais. A fim de reduzir ou atrasar o desenvolvimento de resistências, alguns autores recomendam evitar tratamentos em massa em favor de tratamentos específicos e um maior esforço de prevenção em massa (Ouattara M. et al, 2010).

Tabela 1- Tratamento para parasitoses intestinais (Adaptado de Bethony J. et al, 2006)

Infecção	Medicamento
Ascaridíase	Albendazol; Mebendazol
Ancilostomíase	Albendazol; Mebendazol; Levamisol
Amebíase	Metronidazol; Tinidazol; Ornidazol
Giardíase	Metronidazol; Tinidazol; Ornidazol

1.4. Parâmetros de avaliação do estado nutricional e do crescimento físico

A desnutrição infantil é uma condição clínica de origem multicausal que tem as suas raízes na pobreza, e ocorre quando o organismo não recebe os nutrientes de que necessita para o seu metabolismo fisiológico, em decorrência de falta de aporte ou problema na utilização do que lhe é ofertado. A OMS adoptou o termo desnutrição energético-proteica, sendo definido como uma síndrome composta por uma variedade de condições patológicas decorrentes da falta concomitante de calorias e proteínas em diferentes proporções. É mais frequente em lactentes e crianças em idade pré-escolar, e geralmente associada a infecções recorrentes (OMS and Nestlé nutrition, 2002).

Os métodos que são geralmente utilizados para estabelecer o diagnóstico da desnutrição infantil são: exames de sinais clínicos, testes bioquímicos (imunológicos) e a antropometria. Contudo, os dois primeiros demonstram limitações importantes:

dificuldade na padronização e inconstância nas formas menos severas, no caso dos sinais clínicos; elevado custo e difícil operacionalidade em condições de campo no caso dos testes bioquímicos. Estes aspectos fazem da antropometria o método de escolha quando se pretende avaliar, de forma simples e precisa, a prevalência de desnutrição energético-proteica em populações infantis, principalmente nos países mais carenciados (Secker D. and Jeejeebhoy K., 2007).

A antropometria constitui um óptimo método de diagnóstico e o instrumento de aferição que melhor estuda o estado nutricional e o complexo processo do crescimento corporal da criança (Dasgupta P. and Hauspie R., 2001). Os indicadores mais utilizados e recomendados para a avaliação do estado nutricional, na infância são: peso para a idade, altura ou comprimento para a idade, peso para a altura, perímetro braquial, pregas cutâneas tricipital e escapular, e o índice de massa corporal (IMC). Outra medida eventualmente recomendada é o perímetro cefálico (Duggan M., 2010).

Num estudo recente a cargo da OMS, responsáveis de saúde de um universo de 202 países, 178 (dos quais 50 correspondem a países da África subsariana) indicam que o índice antropométrico Peso/idade é o mais utilizado para avaliar o estado nutricional de crianças com idade inferior a 5 anos. Contudo, no campo nem sempre existem balanças adequadas que permitam a obtenção exacta do peso das crianças, assim como por vezes é desconhecida a sua idade real. Neste sentido, a utilização da medida do perímetro braquial para a detecção da desnutrição energético-proteica tem sido uma eficaz alternativa para as comunidades, pois apenas requer uma fita métrica (ou mesmo um simples fio previamente marcado) e um treino mínimo do técnico (Duggan M., 2010). A escolha da circunferência do braço para averiguação das condições nutricionais da criança parte da admissão que, diferentemente do que ocorre em outras idades quando a hipertrofia pelo exercício muscular tem que ser considerada, na criança em idade pré-escolar a medida do perímetro braquial é o reflexo do seu estado actual ou recente de nutrição calórica e proteica, espelhada nos índices de reservas de calorias (gordura) e de proteínas (músculo) do braço (Monteiro C. et al, 1981).

Contudo a OMS actualmente recomenda para a determinação da Desnutrição Aguda (*wasting*), a avaliação do índice peso para o comprimento dos 0 aos 2 anos e a partir dos 2 anos de idade o índice IMC para a idade. A Desnutrição Crónica (*stunting*) é despistada pela avaliação do índice estatura para a idade (OMS, 2010). O índice peso para a idade é um indicador de baixo-peso, utilizado para avaliar o estado da criança por comparação com os outros índices. A desnutrição aguda e a desnutrição crónica e o

índice que determina o baixo-peso são avaliados como ligeiros, moderados e severos. Já o perímetro cefálico é considerado apenas um indicador antropométrico, pois avalia o crescimento/desenvolvimento do sistema nervoso central (Macchiaverni L. and Filho A., 1998).

1.5. Perfil clínico associado à desnutrição

A desnutrição energético-proteica engloba uma ampla variedade de situações clínicas cujo espectro oscila desde muito graves até ligeiras. Num extremo das situações encontram-se o *kwashiorkor* e o marasmo nutricional, associados a elevadas taxas de mortalidade infantil, e no outro a desnutrição ligeira, cuja principal manifestação identificável nas crianças é o atraso no crescimento (Monte C., 2000). O *kwashiorkor* é caracterizado pela presença de edema (saliência no ventre por acumulação de líquidos), dermatoses, diarreia e pelo fígado aumentado. Tipicamente existem lesões na pele (áreas pigmentadas ou despigmentadas, com ou sem ulceração), cabelo escasso e sem brilho, perda de interesse nas actividades e perda de apetite. Esta doença ocorre principalmente em crianças entre 1 e 3 anos de idade, resulta de uma grave deficiência de proteínas na dieta e está geralmente associada também a uma infecção (Ahmed T. et al, 2009) (OMS, 2009). Relativamente ao outro extremo, o marasmo é diagnosticado na criança quando a gordura subcutânea e muscular são perdidos por causa da mobilização endógena de toda a energia e nutrientes disponíveis. Os aspectos clínicos geralmente incluem: perda de massa muscular grave, pregas soltas de pele sobre os músculos dos glúteos, abdómen distendido (hipotonia muscular) e face triangular (rosto aparentemente envelhecido) (Müller O. and Krawinkel M., 2005; OMS, 2009).

A desnutrição pode ainda afectar todos os sistemas e órgãos das crianças gravemente desnutridas. Sugere-se que todos os processos do organismo entram numa redução funcional adaptativa, como estratégia para garantir a sobrevivência (Tabela 2).

Tabela 2- Principais aspectos da fisiopatologia da desnutrição grave. (Adaptado de Monte C., 2000)

Órgão/Sistema	Alteração	Consequência funcional
Tubo digestivo	Achatamento e atrofia das vilosidades intestinais	<ul style="list-style-type: none"> _ Diminuição das enzimas digestivas _ Má digestão, má absorção e diarreia _ Deficiência de micronutrientes
Fígado	Esteatose Lesão de hepatócitos Alteração grave de todas as funções hepáticas Redução da síntese de proteínas e da gliconeogénese	<ul style="list-style-type: none"> _ Hipoproteinémia _ Edema _ Hipoglicémia
Músculos	Redução/perda de massa muscular esquelética e lisa	<ul style="list-style-type: none"> _ Magreza acentuada _ Movimentos débeis dos membros e tronco _ Alterações miocárdicas
Sistema Imunológico	Atrofia do timo, amígdalas e de linfonodos Imunidade deprimida	<ul style="list-style-type: none"> _ Infecções subclínicas _ Septicémia
Metabolismo	Metabolismo basal e bomba de sódio-potássio alterados	<ul style="list-style-type: none"> _ Hipoglicémia _ Hipotermia/hipertermia _ Distúrbios electrolíticos
Sistema Hormonal	Níveis de insulina e factor de crescimento I reduzidos	<ul style="list-style-type: none"> _ Intolerância à lactose

Episódios de diarreia afectam não só o ganho de peso e altura nas crianças, mas também surgem com elevada incidência em crianças malnutridas, onde ocorrem em períodos de maior duração e de forma mais severa. Alguns investigadores sugerem que infecções entéricas assintomáticas também podem resultar em falhas no crescimento.

Infecções moderadas a severas com *Ancilostomídeos* estão fortemente associadas com anemia, que tem consequências também para o crescimento, aptidão física e produtividade laboral (Hall A. et al, 2008).

O crescimento físico insuficiente encontra-se associado com o aumento da morbilidade e mortalidade em crianças e estima-se que cerca de 182 milhões de crianças nos países em desenvolvimento sejam afectadas. Embora a etiologia da falha do crescimento seja multifactorial, a desnutrição e repetidas infecções em crianças têm sido documentados como agentes causais, entre os quais a infecção por *G. intestinalis* é uma causa já bem registada (Botero-Garcés J. et al, 2009).

1.6. Estado nutricional e parasitismo intestinal

O estado nutricional de uma criança possui um papel fundamental para que o seu crescimento seja progressivo e para que desenvolva correctamente as suas aptidões psicomotoras e sociais. A desnutrição crónica afecta cerca de 147 milhões de crianças nos países em desenvolvimento, sendo que repetidos episódios de diarreia durante a infância aumentam o seu risco, assim como potenciam o aumento da morbilidade (Ricci K. et al, 2006).

Estudos em países em desenvolvimento como a Malásia, Laos, Brasil, Gana, Tanzânia e a Tailândia têm demonstrado que o estado nutricional infantil tem uma associação significativa com factores socioeconómicos (condições precárias de higiene e saúde), demográficos, com a distribuição de alimentos na família, com o estado de imunização e doenças na infância, incluindo as parasitoses intestinais, com a nutrição na infância (incluindo a amamentação prolongada) e com o baixo peso ao nascimento. Os parasitas mais importantes relacionados com a desnutrição são os parasitas intestinais, especialmente os geohelmintas e *Giardia intestinalis*, seguido por outros parasitas como os coccídeos, *Schistosoma* spp. e os parasitas da malária (Al-Mekhlafi H. et al, 2005).

O estado nutricional de um indivíduo parasitado pode ser afectado através de diversos mecanismos pelos quais os parasitas intestinais podem “atacar” o seu hospedeiro: através da espoliação do conteúdo intestinal e de tecidos, incluindo sangue e soro, o que leva a uma perda de ferro e de proteínas; através da má digestão ou má absorção de nutrientes; por reacções inflamatórias que levam à produção de substâncias que podem afectar o apetite; através de respostas relacionadas com a infecção, como febre, levando a um aumento da taxa metabólica; e pela resposta imune à infecção, que resulta no desvio ou utilização de nutrientes e energia para fins que não teriam sido necessários se os parasitas não estivessem presentes no organismo (Hall A. et al, 2008).

A associação da giardíase com a desnutrição energético-proteica, deficiência de micronutrientes, e mais recentemente com a anemia ferropénica, tem sido relatada por alguns pesquisadores, bem como os seus efeitos adversos no sucesso escolar e nas funções cognitivas (Botero-Garcés J. et al, 2009). Contudo, a desnutrição poderá aumentar a susceptibilidade para a infecção por *Giardia intestinalis*, como indica um estudo realizado com crianças da Gâmbia com diarreia crónica e malnutrição, em que 45% das crianças tinham giardíase (Cook G. and Zumla A., 2009). A má absorção de

gordura, vitamina A e vitamina B₁₂ têm sido associadas a esta infecção e potenciam a gravidade da desnutrição (Botero-Garcés J. et al, 2009).

Investigações têm demonstrado que a desnutrição se encontra associada com a atrofia das microvilosidades intestinais e com perturbações na função de barreira intestinal, causada tanto por *G. intestinalis* como por outros parasitas entéricos. Com isto, a absorção de importantes nutrientes e microelementos (glutamina e derivados, arginina, retinol, carotenóides, zinco, cobre e selénio) que intervêm na regulação da proliferação do epitélio intestinal, diferenciação celular, bem como no transporte intracelular no epitélio intestinal encontram-se gravemente comprometidas (Guerrant R., et al, 2008). Os mecanismos responsáveis pela diminuição da resistência a infecções estão intimamente associados com deficiências específicas destes micronutrientes. Os mecanismos de defesa inespecíficos incluem a flora intestinal e barreiras anatómicas (mucosas e epitélio), para além dos sistemas antimicrobianos dos neutrófilos que são potencialmente afectados pela desnutrição (Scrimshaw N. and SanGiovani J., 1997).

Portanto, ao afectarem o estado nutricional do hospedeiro, as infecções parasitárias conduzem a alterações imunológicas que promovem uma diminuição da eficácia da resposta imune, favorecendo a ocorrência de outras infecções bacterianas oportunistas (Neto L. et al, 2009).

Infecções entéricas, consoante a carga parasitária, geralmente resultam em diarreias agudas (ou crónicas quando a infecção perdura a longo prazo), onde a desidratação é uma preocupação quando não ocorre tratamento. No entanto, a diarreia também afecta a absorção de nutrientes, os quais são conhecidos por contribuir para a desnutrição. Episódios repetidos de diarreia podem aumentar significativamente o risco de atraso no crescimento e o risco de baixa estatura, o que pode contribuir a longo prazo para um prejuízo a nível cognitivo e psicomotor (Ricci K. et al, 2006).

1.7. Saúde na Guiné-Bissau

A República da Guiné-Bissau (RGB) é um estado da África Ocidental, que conta com uma população cerca de 1.6 milhões de habitantes e faz parte dos países mais pobres do mundo. Segundo um relatório da OMS, a esperança média de vida dos adultos é de cerca de 46 anos (OMS, 2006a). A população da Guiné-Bissau é constituída

por mais de 20 etnias, com línguas, estruturas sociais e costumes distintos. A maioria da população vive da agricultura e professa religiões tradicionais locais. Cerca de 45% dos habitantes praticam o islamismo. Trata-se de um país com um clima tropical húmido, com duas estações distintas: a estação das chuvas (entre os meses de Junho e Outubro) e a estação seca (de Dezembro a Maio) (Guiné-Bissau, 2010).

Estima-se que apenas 6% da população tem acesso a água potável e um número equivalente de pessoas têm acesso a sistemas sanitários que permitem a descarga para uma rede pública de saneamento. O uso de sistemas sanitários sem respeito pelas regras de higiene agrava a contaminação da água dos poços, utilizada pela maioria da população urbana e, conseqüentemente, a ocorrência de doenças de origem hídrica (diarreias agudas, cólera, schistosomíase, tracoma, etc.). Um outro factor de risco para a saúde pública é o deficiente sistema de recolha e tratamento de lixo, que permite a proliferação de vectores de doenças (Dias L., 2006). Entre os problemas principais ligados à saúde da população destaca-se a elevada mortalidade infantil, juvenil e materna e a importante predominância das doenças transmissíveis. Estas últimas devem-se principalmente à malária, SIDA, doenças diarreicas, infecções respiratórias agudas, tuberculose e às doenças de potencial epidémico, como a cólera e a meningite, com fortes repercussões sobre a morbilidade e mortalidade da população (OMS, 2004). Um inquérito para a avaliação do estado de saúde na Guiné-Bissau, realizado em 2006, estimou que a mortalidade materna corresponde a 1100/100.000 nascimentos vivos e a taxa de mortalidade das crianças com idade inferior a 5 anos é estimada em 203/1000, valor elevado quando em comparação com encontrada região africana total da OMS (167/1000). As principais causas de morte destas crianças são: causas neonatais (24,1%), pneumonia (23,4%), malária (21,0%) e doenças diarreicas (18,6%) (OMS, 2006a).

2. Objectivos

2.1. Objectivos gerais

Estudar a prevalência de parasitoses intestinais em crianças entre os 0 e os 15 anos de idade de aldeias da Bacia do Rio Geba, na Guiné-Bissau e a sua relação com o respectivo estado nutricional e perfil clínico.

2.2. Objectivos específicos

1. Determinar a prevalência de parasitas intestinais de crianças de cinco aldeias da bacia do Rio Geba, Guiné-Bissau (dados recolhidos em Novembro 2009);
2. Detectar e identificar as espécies *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* e *Entamoeba moshkovskii*, utilizando métodos moleculares;
3. Investigar a associação entre a prevalência das parasitoses, o estado nutricional e o perfil clínico das crianças.

3. Material e Métodos

3.1. Desenho do estudo

Este foi um estudo observacional, transversal e analítico, com o objectivo de determinar a frequência das parasitoses intestinais em comunidades rurais do interior da Guiné-Bissau e estudar a sua relação com a desnutrição e perfil clínico.

3.2. Local, população e amostra

Os locais escolhidos para o estudo foram as regiões de Bafatá e Gabú, a segunda e terceira maiores cidades da Guiné-Bissau, situadas no interior do país, na margem do Rio Geba, a 130Kms e 200Km a leste de Bissau, respectivamente. A população em estudo pertence a cinco tabancas (aldeias): Sintcha Quecuta, Sintcha Sarfo, Aldeia do

Geba, Cumpangor e Colufe, de onde foi recolhida uma amostra de conveniência de 128 crianças.

A recolha de informação e do material biológico para realização deste estudo ocorreu no âmbito do projecto de investigação: “Dinâmica das doenças parasitárias emergentes de ecossistemas dulçaquícolas na bacia hidrográfica do Rio Geba, Guiné-Bissau e suas repercussões em Saúde Pública”, FCT/PDCT/SAU-ESA/72146/2006, projecto coordenado pela Doutora Fernanda Rosa, do Instituto de Investigação Científica Tropical (IICT). As instituições colaboradoras em Portugal incluíram o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, o Instituto Politécnico de Santarém, o Instituto de Higiene e Medicina Tropical/UNL, o Instituto Superior Técnico/UTL e a Faculdade de Medicina Veterinária/UTL. Na Guiné-Bissau participaram o Instituto da Biodiversidade e da Protecção das áreas Protegidas, a Direcção Geral de Pecuária e a Direcção Geral da Promoção e Prevenção da Saúde.

3.3. Aspectos éticos

O presente projecto foi submetido e aprovado pelo Ministério de Saúde da Guiné-Bissau. Apenas as crianças cujos responsáveis legais assinaram o consentimento informado foram incluídas. Foram disponibilizados medicamentos para todos os participantes infectados.

3.4. Colheitas das amostras de fezes

Os dados de cada criança foram obtidos em uma única ocasião, pelo biólogo Doutor Vítor Rosado Marques (IICT) e pelo médico Doutor Jorge Seixas (IHMT). Com o auxílio dos respectivos chefes das cinco tabancas, foram escolhidas aleatoriamente algumas famílias para participarem deste estudo; a realização do inquérito e das respectivas medições antropométricas e a entrega das fezes das crianças foram realizadas nas tabancas. Na maioria das vezes as crianças estavam acompanhadas pelos pais, somente pela mãe e em alguns casos apenas por indivíduo da aldeia responsável pelos seus cuidados. A recolha das amostras ocorreu entre os dias 13 e 23 de Novembro de 2009 (fim da época das chuvas).

Após a recolha dos recipientes com as amostras de fezes, estas foram devidamente identificadas e decalcadas em papel de filtro (*Generation® Blood Collection Card*, Qiagen) para o posterior diagnóstico molecular. As fezes foram conservadas em

criotubos em um meio próprio de conservação e transporte, *Protofix*TM (Alphatec Systems, Inc.) para a sua análise em Portugal (IHMT).

3.5. Inquérito

A metodologia utilizada para a recolha de dados foi a aplicação de um inquérito dirigido à população de conveniência, formulado com perguntas abertas e fechadas, dividido em quatro secções, respondidos pelos pais ou responsáveis pelas crianças. (Ver Anexo). Foram consideradas as seguintes secções de variáveis: 1- Dados maternos (idade, paridade, nível de escolaridade) e sobre a tabanca; 2- Dados antropométricos da criança e dos pais, quando presentes (medições corporais); 3- Antecedentes clínicos da criança; e 4- Estado clínico actual da criança e resultado parasitológico das fezes.

3.6. Avaliação nutricional e clínica

O peso e o comprimento/estatura foram obtidos de cada criança participante no estudo, de modo a poder avaliar-se o seu estado nutricional. As medidas antropométricas (peso, comprimento/estatura) foram efectuadas uma única vez, com as crianças vestidas com roupas leves e sem sapatos.

Nas crianças dos 0 aos 24 meses o comprimento foi medido com a criança em decúbito dorsal, utilizando um estadiómetro “Seca Mobile Measuring Mat for Babies and Toddlers (Model 210), com uma precisão de 0,5 cm. Quanto às crianças com idade entre os 25 e os 59 meses, a estatura foi medida com a cabeça posicionada de acordo com o plano de *Frankfurt*, utilizando um estadiómetro portátil Seca (Model 214), com uma precisão de 0,1 cm. O peso foi medido utilizando uma balança electrónica portátil Seca (Model 876), com uma precisão de 100 g. A balança utilizada é auto-calibrável, considerando-se a calibração efectuada de cada vez que a mesma foi ligada.

Para a determinação do estado nutricional foram calculados os valores *Z-score* dos respectivos índices, consoante o sexo e a idade, a partir da população referência recomendada pela OMS (2006b): peso para a altura (P/A), IMC para a idade (IMC/I), altura para a idade (A/I) e o peso para a idade (P/I). O cálculo do IMC correspondeu ao peso/altura². Para as crianças dos 0 aos 60 meses o cálculo dos *Z-score* dos indicadores antropométricos foi efectuado com o *software WHO Anthro* (2006b); para as crianças acima dos 60 meses foi utilizado o *software WHO Anthro Plus* (2007). O programa

informático apenas permitiu o cálculo do P/I para crianças até aos 120 meses e o indicador P/A para crianças até os 60 meses.

O índice P/I foi utilizado como indicador de baixo peso quando o valor do *Z-score* \leq -2; o índice P/A e IMC/I foram considerados como indicadores de desnutrição aguda quando o valor do *Z-score* \leq -2; o índice A/I foi indicado para avaliar a desnutrição crónica, também quando o valor do *Z-score* \leq -2 (OMS, 2010).

Neste estudo, as crianças que apresentaram valores de *Z-score* \leq -3,00 foram consideradas como severamente desnutridas, com valores de *Z-score* entre -2,00 e -2,99 como moderadamente desnutridas, com valores de *Z-score* entre -1,00 e -1,99 com desnutrição ligeira e normais com valores *Z-score* $>$ -1 (Mupfasoni D. et al, 2009) (Al-Mekhlafi H. et al, 2005).

A observação clínica foi efectuada pelo médico presente no estudo e incluiu a anamnese (história clínica) e o exame físico. As crianças agudamente doentes ou portadoras de patologia crónica relevante foram medicados e/ou encaminhados para cuidados médicos nos hospitais de Bafatá ou Gabú.

3.7. Exame parasitológico

Amostras de fezes e diagnóstico microscópico

Todas as amostras foram observadas ao microscópio (por exame directo), diluídas em soro fisiológico e coradas com solução de Lugol. Foram identificados todos os organismos parasitas patogénicos e não patogénicos presentes em cada amostra e o resultado de cada amostra foi aferido por três microscopistas, dois experientes em parasitologia.

Extracção de DNA

Para as amostras que foram detectadas como sendo positivas, suspeitas ou negativas pela microscopia para o complexo *Entamoeba*, procedeu-se à extracção de DNA e posterior análise molecular. A extracção, a partir do decalque das fezes, foi efectuada com o *QIAmp*® *Mini Kit* e com o *Generation*® *Capture Card Kit* (Qiagen). As adaptações ao protocolo original implicaram apenas a redução do volume de eluição do DNA de 100µl para 25µl. Durante as extracções foram incluídos sempre controlos

negativos para garantir a ausência de contaminação cruzadas entre as amostras. O DNA extraído foi armazenado a -20°C.

Deteccção e amplificação molecular pela técnica PCR (*Polimerase Chain Reaction*)

- Amplificação do gene 18S humano

Este procedimento foi realizado para constituir um controlo interno de extracção de DNA. Realizou-se a amplificação de parte do gene codificante 18S humano com 350pb, através de um PCR *nested*, nas amostras que foram positivas ou suspeitas microscopicamente para o complexo *Entamoeba* e que não ocorreu a amplificação de DNA de *Entamoeba*, assim como em todas as amostras negativas microscopicamente para as espécies do complexo *Entamoeba*. Foram utilizados os *primers* IAC1 e IAC2 (Parija and Khairnar, 2007) nas duas reacções, sendo as condições de amplificação as descritas na Tabela 3.

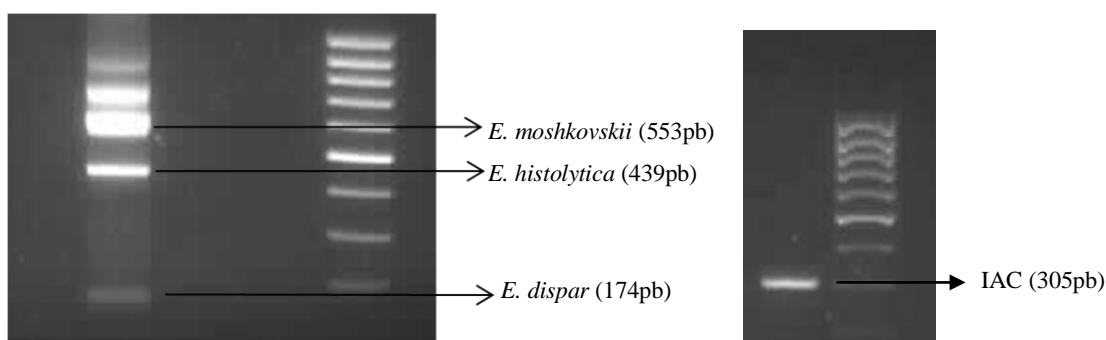
- Amplificação do gene 16S rRNA para a detecção diferencial das espécies do complexo *Entamoeba*

Para a detecção específica de *E. dispar*, *E. histolytica* e *E. moshkovskii* amplificou-se o gene 16S rRNA através de um PCR *nested multiplex*. Na primeira reacção foram utilizados os *primers* E1 e E2 que amplificam a região do gene que corresponde ao género *Entamoeba* spp., na segunda reacção utilizou-se os *primers* Ed1, Ed2, Eh1, Eh2, Em5 e Em6 (Parija and Khairnar, 2007), que permitiram a distinção das três espécies *E. dispar*, *E. histolytica* e *E. moshkovskii* respectivamente (Tabela 3).

Em todas as reacções de amplificação do gene 18S humano e do gene 16S das espécies de *Entamoeba* spp. foi incluído DNA de controlo humano, proveniente de duas amostras do laboratório do CMDT-IHMT e DNA controlo de *E. dispar*, *E. histolytica* e *E. moshkovskii* generosamente cedidos por Graham Clark da *London School of Hygiene and Tropical Medicine*. Também foram introduzidos em todas as reacções controlos negativos de extracção e de amplificação. Todas as reacções de amplificação foram efectuadas utilizando o kit “PCR ready to go DNA beads” (*GE Health Care*) e os produtos amplificados foram analisados em luz UV, após a electroforese em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio.

Tabela 3- Condições de amplificação utilizadas

Reacção	Primers	Concentração primers	Vol. DNA	Vol. Final	Condições de amplificação
<i>Nested multiplex PCR gene 16S E. dispar, E. histolytica, E. moshkovskii</i>					
1 ^a	E-1/E-2	10 pmol	2,5 µl	25 µl	96°C 2' (30 ciclos), 92°C 60", 56°C 60" e 72°C 90", 72°C 7'
2 ^a	Ed1/Ed2, Eh1/Eh2, Em5/Em6	10 pmol	2,5 µl	25 µl	96°C 2' (40 ciclos), 92°C 60", 48°C 60" e 72°C 90", 72°C 7'
<i>Nested PCR gene 18S humano</i>					
1 ^a	IAC-1/IAC-2	5 pmol	2,5 µl	25 µl	96°C 2' (30 ciclos), 92°C 60", 56°C 60" e 72°C 90", 72°C 7'
2 ^a	IAC-1/IAC-2	5 pmol	2,5 µl	25 µl	96°C 2' (40 ciclos), 92°C 60", 48°C 60" e 72°C 90", 72°C 7'



Figuras 4 e 6- Fotos da electroforese de um gel de agarose 2% dos marcadores moleculares de *E. moshkovskii*, *E. histolytica*, *E. dispar* e do marcador do controlo de amplificação interno (IAC)

3.8. Análise estatística

Os dados foram informatizados com o software SPSS®-17.0 e após despistados os erros de amplitude e inconsistências foram calculados os resultados de estatística descritiva, média, desvio padrão, mediana, máximo e mínimo. Foi realizado o teste de Qui-quadrado para a comparação de frequências. As tabelas foram construídas com o auxílio do *Microsoft Excel*®.

4. Resultados

4.1. Caracterização demográfica

A amostra inicial foi de 128 crianças, mas de apenas 119 se obteve a respectiva amostra de fezes. Foram excluídos do estudo dois jovens por terem mais de 19 anos (20 e 23 anos) que tinham sido recrutados por pedido irrecusável dos chefes de tabanca. A amostra final corresponde portanto 117 crianças (64 do sexo masculino e 53 do sexo feminino), com idades compreendidas entre os 0 e os 15 anos. A amostra foi repartida em três grupos etários: dos 0 aos 5 anos (n=42); dos 6 aos 10 anos (n=47); e dos 11 aos 15 anos (n=28) (Figura 5).

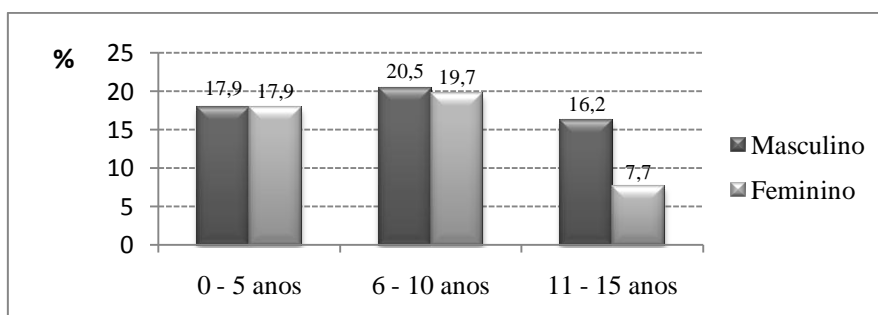


Figura 5- Frequências dos grupos etários por sexo, N =117

A distribuição das crianças pelas tabancas foi relativamente homogênea: 23,1% de Sintcha Quecuta, 20,5% de Sintcha Sarfo, 17,1% da Aldeia do Geba, 18,8% de Compangor e 20,5 % de Colufe. Em relação à frequência da escola foram obtidas respostas de apenas 64% da população, destas 42,7% frequentam a escola enquanto 21,4% das crianças não frequentam. As duas etnias presentes na população infantil foram Fula (35,9%) e Mandinga (10,3%), sendo que não se obteve informação de 53,8% da amostra. A população materna total corresponde a 42 mulheres e contou-se com a participação de 30 mães, sendo as restantes crianças acompanhadas pelo pai ou tio. As duas etnias presentes também foram Fula (n=11) e Mandiga (n=5), sendo que 14 mães não responderam. Quanto à escolaridade, a grande maioria é analfabeta (N=19), apenas 3 mulheres têm o ensino básico incompleto, as 8 restantes não responderam. Em relação à paridade, cada mulher teve em média 6 filhos e só 3 mulheres afirmaram ter tido aborto.

4.2. Diagnóstico parasitológico

Relativamente à presença de parasitas intestinais patogénicos, foram diagnosticadas como positivas 71 crianças (60,7%) tanto pela observação microscópica como pela realização de técnicas moleculares. A diferença entre os sexos para as crianças parasitadas encontra-se na Figura 6.

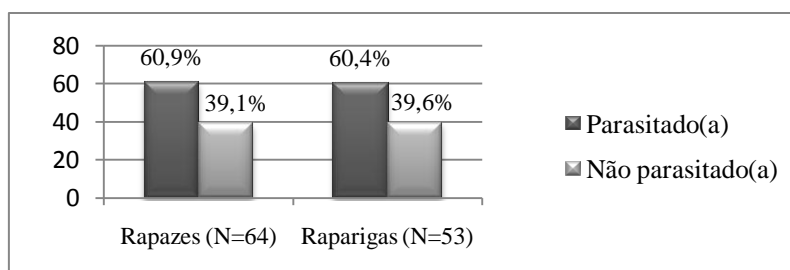


Figura 6- Prevalência de parasitas intestinais entre os sexos

Nota-se que a distribuição foi aproximadamente homogénea, em ambos os sexos mais de 60% das crianças foram positivas para parasitas intestinais. Quanto às infecções, as espécies mais prevalentes na população foram *Giardia intestinalis*, que surgiu tanto em infecções singulares como mistas (33,3%) e os Ancilostomídeos que também surgiram em infecções singulares e mistas (28,2%). Contudo foram identificadas outras espécies de parasitas intestinais, tal como o descrito na Tabela 4.

Tabela 4- Prevalência e distribuição das infecções parasitárias pelos grupos etários

Parasitas entéricos	Grupos etários			
	0-5 anos (n=42)	6-10 anos (n=47)	11-15 anos (n=28)	Total (N=117)
Negativo	38,1% (16/42)	36,2% (17/47)	46,4% (13/28)	39,3% (46/117)
Helminthas				
Ancilostomídeos	19,0% (8/42)	25,5% (12/47)	17,9% (5/28)	21,4% (25/117)
<i>Hymenolepis nana</i>	2,4% (1/42)	0	0	0,9% (1/117)
<i>S. stercoralis</i>	2,4% (1/42)	0	7,1% (2/28)	2,6% (3/117)
Protozoários				
<i>E. histolytica</i>	0	2,1% (1/47)	0	0,9% (1/117)
<i>G. intestinalis</i>	35,7% (15/42)	27,7% (13/47)	14,3% (4/28)	27,4% (32/117)
Infecções mistas				
Ancilostomídeos+ <i>E. histolytica</i>	0	2,1% (1/47)	3,6% (1/28)	1,7% (2/117)
<i>G. intestinalis</i> + Ancilostomídeos	0	4,3% (2/47)	10,7% (3/28)	4,3% (5/117)
<i>G. intestinalis</i> + <i>E. vermicularis</i>	2,4% (1/42)	0	0	0,9% (1/117)
<i>G. intestinalis</i> + Ancilostomídeos + <i>E. histolytica</i>	0	2,1% (1/47)	0	0,9% (1/117)
Total	61,9% (26/42)	63,8% (30/47)	53,6% (15/28)	60,7% (71/117)

Foram detectadas pelos microscopistas 36 amostras positivas ou suspeitas para a presença de espécies do complexo *Entamoeba* spp. Contudo a confirmação do diagnóstico pela técnica de PCR resultou em 18 amostras negativas e 18 amostras positivas apenas para a espécie *E. dispar*. Na Tabela 5 podemos observar a comparação do diagnóstico dos três microscopistas para a presença de espécies do complexo *Entamoeba* spp. e o respectivo resultado molecular.

Tabela 5- Comparação da detecção microscópica e molecular de *Entamoeba* spp.

	MIC (+/suspeita)	PCR (+)	PCR (-)
Microscopista I	22	14	8
Microscopista II	19	10	9
Microscopista III	22	15	7

Podemos observar a discrepância entre a detecção microscópica e molecular, assim como a variabilidade introduzida pelos diferentes observadores. Na tentativa de contrastar estes dados, foram escolhidas também outras 36 amostras negativas pela microscopia para o complexo *Entamoeba* spp. aleatoriamente e constatou-se o seguinte resultado (Tabela 6):

Tabela 6- Diagnóstico por PCR das amostras dadas como positivas e negativas pela microscopia

	PCR (+)	PCR (-)
Mic. (+ / suspeitas) n=36	18 (<i>E. dispar</i>)	18
	2 (<i>E. dispar</i>)	
Mic. (-) n=36	3 (<i>E. histolytica</i> + <i>E. moshkovskii</i>)	30
	1 (<i>E. histolytica</i>)	

Foram detectadas 4 amostras com a espécie patogénica do complexo que não foram diagnosticadas pela microscopia.

4.3. Caracterização do estado nutricional

A distribuição geral dos valores de *Z-score* dos índices antropométricos encontra-se representada na Tabela 7.

Tabela 7- Valores de Z-score dos indicadores antropométricos: P/A (peso para a altura), IMC/I (índice de massa corporal para a idade), A/I (altura para a idade) e P/I (peso para a idade)

<i>Z-score</i>	Sexo	N	Média	Mín.	Máx.	D.P.
P/A (n=27)*	M	12	-0,11	-1,90	1,95	1,16
	F	15	-0,72	-2,17	1,24	0,95
IMC/I (n=116)**	M	63	-0,99	-3,80	2,05	1,23
	F	53	-0,92	-2,86	4,37	1,17
A/I (n=116)**	M	63	-1,17	-4,36	3,34	1,47
	F	53	-1,11	-5,57	1,88	1,49
P/I (n=78)***	M	38	-1,28	-3,83	1,48	1,09
	F	40	-1,25	-3,66	0,81	1,00

*Idade <5 anos (60 meses); ** Ausência do valor da altura de 1criança; ***Idade <10 anos (120 meses)

Em média todos os indicadores antropométricos registaram valores negativos para ambos os sexos, ou seja os valores da população presente neste estudo encontram-se abaixo da população referência da OMS. As médias dos indicadores P/I e A/I foram as mais negativas, indicando um cenário geral de desnutrição ligeira, embora com valores mínimos muito negativos. Relativamente à ocorrência de desnutrição na população infantil de acordo com os grupos etários, os resultados da desnutrição aguda e crónica encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8- Distribuição da desnutrição nos grupos etários

	0-5 anos	6-10 anos	11-15 anos	Total
Desnutrição Aguda (ZP/A)*	n=27			N=27
Ligeira (-1 ≤ Z < -2)	29,6% (8/27)	NA	NA	29,6% (8/27)
Moderada (-2 ≤ Z < -3)	3,7% (1/27)	NA	NA	3,7% (1/27)
Severa (Z ≤ -3)	0	NA	NA	0
Total	33,3% (9/27)	NA	NA	33,3% (9/27)
Desnutrição Aguda (ZIMC/I)	n=41	n=47	n=28	N=116
Ligeira (-1 ≤ Z < -2)	24,4% (10/41)	29,8% (14/47)	32,1% (9/28)	28,5% (33/116)
Moderada (-2 ≤ Z < -3)	7,3% (3/41)	21,3% (10/47)	14,3% (4/28)	14,7% (17/116)
Severa (Z ≤ -3)	0	2,1% (1/47)	7,1% (2/28)	2,6% (3/116)
Total	31,7% (13/41)	53,2% (25/47)	53,5% (15/28)	45,8% (53/116)
Desnutrição Crónica (ZA/I)**	n=41	n=47	n=28	N=116
Ligeira (-1 ≤ Z < -2)	29,3% (12/41)	36,2% (17/47)	39,3% (11/28)	34,5% (40/116)
Moderada (-2 ≤ Z < -3)	29,3% (12/41)	6,4% (3/47)	21,4% (6/28)	18,1% (21/116)
Severa (Z ≤ -3)	12,2% (5/41)	2,1% (1/47)	7,1% (2/28)	6,0% (7/116)
Total	70,8% (29/41)	44,7% (21/47)	67,8% (19/28)	58,6% (68/116)

* Crianças até 60 meses; ** $\chi^2 = 14,6$; $p = 0,023$

Ao avaliar a desnutrição aguda nas crianças dos 0 aos 5 anos observou-se um número semelhante de desnutridos detectados com o indicador IMC/I (31,7%), em relação ao valor indicado pelo P/A (33,3%). A desnutrição aguda afectou de semelhante forma as crianças dos 6 aos 10 anos (53,2%) e dos 11 aos 15 anos (53,5%).

Registou-se uma diferença significativa entre a prevalência da desnutrição crónica nas várias faixas etárias ($p=0,023$), onde o grupo mais afectado foi o das crianças dos 0 aos 5 anos (70,8%). A desnutrição mais frequente na população foi a desnutrição crónica (58,6%); ambos tipos de desnutrição variaram desde o grau ligeiro ao grau severo.

Quanto à frequência de baixo-peso na amostra, considerou-se também os valores de *Z-score* iguais ou inferiores a -1, resultados observados na Tabela 9.

Tabela 9- Distribuição do Baixo-peso nos grupos etários

	0-5 anos (n=42)	6-10 anos (n=36*)	Total (N=78)
Baixo-peso (ZP/I)			
Ligeira ($-1 \leq Z < -2$)	35,7% (15/42)	38,9% (14/36)	37,2% (29/78)
Moderada ($-2 \leq Z < -3$)	19,1% (8/42)	13,9% (5/36)	16,7% (13/78)
Severa ($Z \leq -3$)	4,8% (2/42)	5,6% (2/36)	5,1% (4/78)
Total	59,5% (25/42)	58,3% (21/36)	59,0% (46/78)

* Crianças até 120 meses

Mais de metade da população abaixo dos 10 anos inclusive apresentou baixo-peso ligeiro, moderado ou severo (59,0%). Observou-se uma incidência semelhante entre o grupo das crianças dos 0 aos 5 anos (59,5%) e o grupo dos 6 aos 10 anos (58,3%). As formas mais frequentes foram o baixo-peso ligeiro (37,2%) e o moderado (16,7%).

Estado nutricional e infecções parasitárias

A relação entre a desnutrição e a presença/ausência de parasitas intestinais encontra-se descrita na Tabela 10.

Tabela 10- Relação entre a desnutrição e o estado parasitológico

	C/ Parasitas intestinais	S/ Parasitas intestinais
Desnutrição Aguda (ZP/A) (0-5 anos)*	n=15	n=12
Ligeira ($-1 \leq Z < -2$)	26,7% (4/15)	33,3% (4/12)
Moderada ($-2 \leq Z < -3$)	0	8,3% (1/12)
Severa ($Z \leq -3$)	0	0
Total	26,7% (4/15)	41,6% (5/12)
Desnutrição Aguda (ZIMC/I) (0-15 anos)	n=71	n=46
Ligeira ($-1 \leq Z < -2$)	29,6% (21/71)	26,1% (12/46)
Moderada ($-2 \leq Z < -3$)	11,3% (8/71)	19,6% (9/46)
Severa ($Z \leq -3$)	1,4% (1/71)	4,3% (2/46)
Total	42,3% (30/71)	50,0% (23/46)
Desnutrição Crónica (ZA/I) (0-15 anos)**	n=71	n=46
Ligeira ($-1 \leq Z < -2$)	42,3% (30/71)	21,7% (10/46)
Moderada ($-2 \leq Z < -3$)	14,1% (10/71)	23,9% (11/46)
Severa ($Z \leq -3$)	9,9% (7/71)	2,2% (1/46)
Total	66,2% (47/71)	47,8% (22/46)

*Crianças até 60 meses; ** $\chi^2 = 9,2$; $p = 0,027$

Observou-se que a ocorrência de desnutrição aguda na população possivelmente não estará relacionada com a presença de parasitismo intestinal, pois o número de crianças com desnutrição aguda (ZIMC/I) sem parasitas é maior (50,0%) em relação ao número de crianças com desnutrição e parasitadas (42,3%). Quanto à desnutrição crónica, existem mais crianças desnutridas com parasitas intestinais (66,2%) do que sem parasitas intestinais (47,8%), com uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,027$). Observou-se também maior número de crianças com desnutrição crónica severa com parasitas, em relação às não parasitadas.

Com o tipo de infecção intestinal mais prevalente na população pretendeu-se verificar a sua relação com o estado nutricional (Tabela 11).

Tabela 11- Relação entre o tipo de infecção intestinal e a desnutrição

Tipo de infecção intestinal	Desnutrição Aguda (Z-score ≤ -2) (ZIMC/I)			
	0-5 anos (n=3)	6-10 anos (n=11)	11-15 anos (n=6)	Total
<i>G. intestinalis</i> (N=33)	0	27,3% (3/11)	0	9,1% (3/33)
<i>Ancilostomídeos</i> (N=27)	0	27,3% (3/11)	16,7% (1/6)	14,8% (4/27)
<i>G. intestinalis</i> + <i>Ancilostomídeos</i> (N=6)	0	0	16,7% (1/6)	16,7% (1/6)
Total	0	54,6% (6/11)	33,4% (2/6)	40,0% (8/20)

	Desnutrição Crónica (<i>Z-score</i> ≤ -2) (ZAI)			
	0-5 anos (n=17)	6-10 anos (n=4)	11-15 anos (n=8)	Total
<i>G. intestinalis</i> (N=33)	17,6% (3/17)	50,0% (2/4)	0	15,2% (5/33)
<i>Ancilostomídeos</i> (N=27)	29,4% (5/17)	50,0% (2/4)	0	25,9% (7/27)
<i>G. intestinalis</i> + <i>Ancilostomídeos</i> (N=6)	0	0	12,5% (1/8)	16,7% (1/6)
Total	47,1% (8/17)	100,0% (4/4)	12,5% (1/8)	44,8% (13/29)

Das crianças com desnutrição aguda, nas formas moderada e severa, 40,0% possuem uma destas infecções, enquanto 44,8% das crianças com desnutrição crónica são afectadas com uma destas infecções.

Com desnutrição aguda não se registou crianças dos 0 aos 5 anos com este tipo de infecções, contudo as infecções com *G. intestinalis* e com *Ancilostomídeos* afectaram mais de metade das crianças dos 6 aos 10 anos (54,6%) com desnutrição aguda. Aconteceu o semelhante para a desnutrição crónica, onde todas as crianças desnutridas dos 6 aos 10 anos encontram-se parasitadas por *G. intestinalis* e por *Ancilostomídeos*. No geral, os parasitas mais associados com a desnutrição tanto aguda como crónica foram os *Ancilostomídeos*.

4.4. Caracterização do estado clínico

Em relação à caracterização do estado clínico da população, o histórico clínico das crianças foi resumido para a ocorrência de algumas patologias que foram consideradas mais relevantes para o estudo, baseado em informações reportadas pelos pais (Tabela 12).

Tabela 12- Histórico clínico das crianças

	M	F	Total
Malária*	n=63	n=51	N=114
Sim	47,6% (30/63)	70,6% (36/51)	57,9% (66/114)
Não	52,4% (33/63)	29,4% (15/51)	42,1% (48/114)
Infecção respiratória aguda*	n=63	n=51	N=114
Sim	9,5% (6/63)	11,8% (6/51)	10,5% (12/114)
Não	90,5% (57/63)	88,2% (45/51)	89,5% (102/114)
Diarreia**	n=61	n=51	N=112
Sim	18,0% (11/61)	23,5% (12/51)	20,5% (23/114)
Não	82,0% (50/61)	76,5% (39/51)	79,5% (91/114)

*Ausência de 3 respostas; **Ausência de 5 respostas

Segundo as respostas obtidas, mais de metade das crianças teve pelo menos um episódio de malária, com maior incidência para o grupo feminino (70,6%). Quanto à ocorrência de infecção respiratória aguda e diarreia, foi novamente o grupo feminino o mais afectado, embora ligeiramente. Relativamente ao estado clínico actual das crianças da amostra, os dados encontram-se representados na Tabela 13.

Tabela 13- Estado clínico actual

	M	F	Total
Estado geral*	n=64	n=52	N=116
Bom	14 (20,3%)	15 (28,3)	24,1% (28/116)
Razoável	50 (78,1%)	35 (66,0%)	73,3% (85/116)
Mau	1 (1,6%)	2 (3,8%)	2,6% (3/116)
Anemia*	n=64	n=52	N=116
Sim	9,4% (6/64)	11,3% (6/52)	10,3% (12/116)
Não	90,6% (58/64)	86,8% (46/52)	89,7% (104/116)
Dor abdominal*	n=64	n=52	N=116
Sim	7,8% (5/64)	9,4% (5/52)	8,6% (10/116)
Não	92,2% (59/64)	88,7% (47/52)	91,4% (106/116)
Dermatite**	n=64	n=51	N=115
Sim	46,9% (30/64)	19,6% (10/51)	34,8% (40/115)
Não	53,1% (34/64)	80,4% (41/51)	65,2% (75/115)

*Ausência de 1 resposta; ** Ausência de 2 respostas

O estado geral Razoável foi atribuído em maior percentual para o sexo masculino (78,1%), face ao sexo feminino (66,0%). Com o estado classificado como Bom e como Mau predominam as meninas, embora com ligeiras diferenças entre os sexos. Quanto à anemia, foram diagnosticadas 12 crianças, 6 rapazes e 6 raparigas; também com igual distribuição numérica entre os sexos foram diagnosticadas 10 crianças com dor abdominal; foram diagnosticadas dermatites em 35% das crianças, maioritariamente do sexo masculino.

Estado clínico e infecções parasitárias

A relação entre o estado clínico da população e a ocorrência de parasitoses intestinais encontra-se discriminada na Tabela 14.

Tabela 14- Relação entre o estado clínico e a presença de parasitas intestinais

Estado geral*	Parasitoses intestinais	
	Sim (n=71)	Não (n=45)
Bom	25,4% (18/71)	22,2% (10/45)
Razoável	73,2% (52/71)	73,3% (33/45)
Mau	1,4% (1/71)	4,5% (2/45)
Anemia*	Sim (n=71)	Não (n=45)
Sim	8,5% (6/71)	13,3% (6/45)
Não	91,5% (65/71)	86,7% (39/45)
Dor abdominal*	Sim (n=71)	Não (n=45)
Sim	8,5% (6/71)	8,9% (4/45)
Não	91,5% (65/71)	91,1% (41/45)
Dermatite**	Sim (n=70)	Não (n=45)
Sim	32,9% (23/70)	42,2% (19/45)
Não	67,1% (47/70)	57,8% (28/45)

*Ausência de 1 resposta; ** Ausência de 2 respostas

No geral não se observam diferenças significativas entre a frequência das características clínicas e a ocorrência ou não de parasitas intestinais. Observa-se que existem mais crianças não infectadas com parasitas que demonstram pior condição de saúde, em relação às crianças parasitadas.

5. Discussão

O estudo da prevalência de parasitoses intestinais e a sua relação com o estado nutricional infantil é uma ferramenta importante que permite o conhecimento do estado de saúde infantil de uma região ou país, assim como investigar a etiologia no geral da desnutrição. Através de estudos como este, é possível identificar e prevenir factores que possam influenciar tanto a normal trajectória do crescimento físico infantil, como o seu desenvolvimento intelectual. O presente estudo preocupou-se em estudar a prevalência das parasitoses intestinais em crianças nos grupos etários dos 0 aos 5 anos, dos 6 aos 10 anos e dos 11 aos 15 anos de idade, tanto por existir uma relação entre determinadas infecções e a idade, como pelo facto das crianças serem as mais afectadas com este tipo de patologia, face aos adultos.

Estudos epidemiológicos realizados em diferentes países têm demonstrado que o nível socioeconómico da sociedade pode afectar a incidência de parasitas intestinais. Factores como a baixa renda familiar, famílias numerosas, elevada taxa de iliteracia materna e o tipo de habitação, contribuem para o aumento da prevalência de parasitoses intestinais nas crianças (Östan I. et al, 2007). A Guiné-Bissau é um país em desenvolvimento ainda com sérios problemas a nível de parasitoses intestinais, que representam a quarta maior causa de morte de crianças com idade inferior a 5 anos. Facto justificado pelas fracas condições de saneamento (ou até mesmo em alguns casos ausência) devido à pobreza, especialmente nas zonas rurais e pela endemicidade de agentes patogénicos.

Relativamente ao inquérito dirigido aos responsáveis pelas crianças registou-se alguma ausência de respostas, nomeadamente na caracterização demográfica, em alguns casos justificada pela dificuldade na tradução para a linguagem local, noutros pela grande distância cultural entre os investigadores e a população.

Através da análise microscópica e molecular das fezes, foi identificado pelo menos um parasita intestinal em 60,7% das amostras, com uma incidência semelhante entre os sexos. No geral as crianças entre os 6 e os 10 anos foram as mais afectadas com parasitas (63,8%). O principal agente infectante na população foi *Giardia intestinalis*, com uma prevalência (33,3%) semelhante à encontrada num estudo em Bissau (34,7%) em crianças dos 4 aos 12 anos (Steenhard N. et al 2009) e semelhante à frequência encontrada na Turquia (31,4%) em crianças dos 1 aos 15 anos (Balci Y. et al, 2009); foi

superior à encontrada na Costa do Marfim (13,9%) em crianças dos 6 aos 12 anos (Ouattara et al, 2010); e inferior à encontrada na Etiópia (35,3%) em crianças com idade inferior a 14 anos (Ayalew D. et al, 2008) e à encontrada no Egipto (34,6%) (Foronda P. et al 2008). As diferentes prevalências encontradas nestes estudos podem ser explicadas com base nos diferentes métodos de detecção utilizados. Os estudos epidemiológicos baseados apenas nos métodos morfológicos subestimam a prevalência real dos parasitas devido à sua baixa sensibilidade (Abreu A. et al, 2007).

Foram as crianças dos 0 aos 5 anos que registaram maior número de infecções com *Giardia intestinalis*, a reflectir a má qualidade da água e alimentos consumidos desde a primeira infância. Estudos associam a infecção com *G. intestinalis* a crianças em idade pré-escolar, especialmente nos países em desenvolvimento (Teixeira J. et al, 2007). Em seguida foram os helmintas Ancilostomídeos (28,2%) os mais predominante na faixa etária dos 6 aos 10 anos, frequência semelhante à encontrada numa comunidade rural no Uganda (33,2%) em crianças dos 5 aos 15 anos (Pullan R. et al, 2010). Este é de facto o parasita mais prevalente em adultos trabalhadores nas zonas rurais (Muniz-Junqueira M. and Queiróz, 2002); os nossos dados podem indicar que a infestação por este tipo de agente ocorre desde cedo na população estudada, provavelmente por este ser o grupo etário mais exposto devido ao hábito das crianças brincarem em contacto com o solo e a distúrbios como a geofagia. Estes dados sugerem que os cuidados no fornecimento de água e alimentos seguros, bem como na higiene (lavagem das mãos) destas crianças mais novas, não foram certamente os mais adequados.

Foi encontrada uma prevalência considerável de infecções mistas (7,8%), possivelmente devido à exposição simultânea de ambientes de risco para os helmintas, (solo contaminado com ovos) e para os protozoários (água e comida contaminados). A ausência neste estudo de ascarídeos entre outras espécies de helmintas frequentes em crianças parasitadas, poderá ser justificada por não se ter realizado técnicas de concentração de ovos nas fezes frescas no local.

A observação microscópica detectou 36/117 das amostras como positivas ou suspeitas para o complexo *Entamoeba* spp. o diagnóstico molecular confirmou 18/36 como sendo a espécie *E. dispar*. As espécies *E. histolytica* e *E. moshkovskii*, identificadas apenas nas amostras de fezes negativas escolhidas ao acaso, obtiveram uma frequência de 4/36 e 3/36 respectivamente. Apesar de no total se terem testado

72/117 crianças com a técnica PCR, o número das infectadas com pelo menos uma das espécies do complexo *Entamoeba* (20,5%; 24/117) foi inferior ao obtido por Ouattara et al. (2010) na Costa do Marfim (18,8%) e inferior ao registado em Bissau (26,6%) por Steenhard N. et al (2009). O facto de estes estudos terem recorrido apenas ao diagnóstico microscópico, método menos sensível que os métodos moleculares para identificação das amebas, explica esta diferença na frequência destes parasita; possivelmente poderão ter considerado falsos positivos ou negativos.

A diferença na frequência de *E. dispar* e *E. histolytica* foi semelhante ao estudo de Samie A. et al (2006) na África do Sul e de Samie A. et al (2005) no Zimbabué, onde *E. dispar* surgiu sempre com maior frequência. Isto pode ser justificado talvez pelo facto da espécie patogénica ser invasiva e encontrar-se menos presente no lúmen do intestino delgado, com isto menos eliminada juntamente com as fezes (Mbuh J. et al, 2010). O contraste dos resultados microscópicos e moleculares veio salientar a importância do diagnóstico molecular, para determinar correctamente a etiologia de uma infecção com *Entamoeba spp.* de modo a garantir o correcto tratamento, visto que são espécies morfológicamente idênticas e apenas *E. histolytica* é patogénica. No entanto a aplicação deste tipo de método para diagnóstico no terreno está ainda muito longe de poder ser aplicado.

Quanto ao estado nutricional, a desnutrição aguda (ZIMC/I) afectou 17,3% da população, enquanto a desnutrição crónica (ZA/I) afectou 24,1% ($Z\text{-score} \leq -2$) com uma diferença significativa entre as faixas etárias ($p=0,023$). As crianças dos 0 aos 5 anos foram as mais afectadas pela desnutrição crónica ($Z\text{-score} \leq -2$), 41,5%, valor semelhante à prevalência esperada nos países em desenvolvimento da África subsariana, que indicam *stunting* em pelo menos 42% das crianças com idade inferior a 60 meses (Hautvast J. et al, 2000). Factores pré-natais, nascimento com baixo peso, pobres condições socioeconómicas e reduzida educação parental são importantes condicionantes que podem originar *stunting* (Nakamori M. et al, 2010). Nesta população rural verifica-se uma elevada taxa de iliteracia entre as mães participantes e em média 6 filhos por família, podendo isto sugerir um cenário de risco para estas crianças. Já a prevalência de desnutrição aguda ($Z\text{-score} \leq -2$) foi superior nas crianças dos 6 aos 10 anos (23,4%).

Registou-se ainda que o baixo-peso ($Z\text{-score} \leq -2$) afectou mais as crianças dos 0 aos 5 anos (23,9%), facto este possivelmente justificado por estas crianças apresentarem baixa estatura, enviesando portanto o peso para a idade que supostamente seria esperado de possuírem. Os valores de $Z\text{-score}$ P/I foram reduzidos para o grupo dos 0 aos 10 anos, indicando uma elevada frequência da desnutrição crónica nestas crianças, dado semelhante ao ocorrido num estudo com crianças na Zâmbia, realizado por Hautvast J. et al (2000).

Relativamente à associação entre o estado nutricional e as infecções com parasitas intestinais, foi encontrada uma associação significativa ($p=0,027$) entre a desnutrição crónica e a presença de parasitas, pois com desnutrição a percentagem de crianças infectadas foi maior, em relação às crianças não infectadas. No caso da desnutrição aguda (ZIMC/I), o número de crianças não infectadas foi superior ao número de crianças infectadas.

Observou-se uma associação entre a desnutrição crónica e a infecção com *G. intestinalis* nas crianças dos 0 aos 5 anos e dos 6 aos 10 anos. Este facto veio comprovar o que foi referido na nota introdutória, que esta infecção causa perturbações no processo de absorção dos nutrientes, afectando o gradual crescimento físico, nomeadamente a altura para a idade. O estudo de Costa F. et al (2007), realizado com crianças da Amazônia, apresenta uma associação significativa entre a desnutrição crónica e a giardíase e semelhante prevalência de *G. intestinalis* na população. Outro aspecto que se observou foi a frequência da relação entre infecções com Ancilostomídeos e a desnutrição (aguda e crónica), superior à relação entre infecção com *G. intestinalis* e ambas as desnutrições. Possíveis razões para a associação entre infecções com Ancilostomídeos e a desnutrição podem ser devido à interrupção da absorção de nutrientes e a redução do apetite. Embora vários estudos associam a ancilostomose a casos de anemia por deficiência de ferro, como referido na introdução, um estudo realizado por Botelho A. et al (2008) registou um comprometimento da massa de gordura corporal em crianças infectadas com este parasita, sugerindo uma importante associação entre a ancilostomose e a desnutrição.

Do ponto de vista antropométrico, no geral observou-se que foi o sexo feminino que registou médias mais negativas dos índices antropométricos e do ponto de vista clínico foram novamente elas que apresentaram maior incidência história de: malária, infecção

respiratória aguda, diarreia, anemia, dor abdominal e a classificação de Mau no estado geral. Este facto possivelmente é justificado por ser o sexo feminino o mais sacrificado na lida doméstica e na distribuição dos alimentos, em comparação com o sexo masculino, facto que acontece em muitas culturas islâmicas, como o caso da Guiné-Bissau, onde a figura masculina fica no topo da hierarquia. Os sistemas sociais dos diferentes grupos étnicos da Guiné-Bissau resultam em diversidade quanto às estruturas familiares e graus de "superlotação social", o que pode ter influenciado o estado de saúde infantil. Das várias etnias presentes na Guiné-Bissau, os Mandingas, seguidos de Fulas (as etnias da população em estudo) encontram-se nos extremos, com muitas crianças pequenas, elevado grau de poligamia e famílias grandes (Tome C., 1999).

Relativamente à associação entre o estado clínico e a ocorrência de parasitas intestinais, não se observaram relações significantes. Neste estudo não foi encontrada associação entre os casos de anemia (avaliada apenas clinicamente) e a infecção com *Ancilostomídeos* e não foi elaborada uma análise mais detalhada da relação entre os aspectos clínicos e as parasitoses, por ser considerada uma área fora da formação académica da autora.

Em conclusão, apesar de se tratar de uma amostra pequena, verificou-se uma prevalência elevada de parasitoses intestinais assim como de desnutrição crónica. Este estudo foi importante pois permitiu estudar a frequência de infecções por parasitas intestinais numa comunidade de crianças rurais, pois ainda existem poucos estudos sobre este tema na Guiné-Bissau, e relembrar a problemática da desnutrição que pode ter várias origens entre as quais as recorrentes infecções parasitárias. A mortalidade infantil na Guiné-Bissau é considerada elevada segundo os dados da OMS, portanto é necessário com isto salientar a importância de sensibilizar as comunidades locais para oferecerem mais e melhores cuidados de higiene às crianças, evitar fontes de água contaminadas, lavar correctamente os alimentos antes de os ingerir entre outros cuidados que poderão fazer a diferença na redução da prevalência das parasitoses. É igualmente importante focar a necessidade da sensibilização das entidades de saúde locais para um problema que são as helmintoses e as protozooses, de modo a garantir que as comunidades juvenis mais afectadas sejam devidamente tratadas.

6. Referências bibliográficas

- Abreu N. (2007); *Cryptosporidium* spp. in patients with diarrhoea in Tenerife, Canary Islands, Spain; Annual Tropical Medical Parasitology, 101: 1-7.
- Adaptado (2010); http://pasantialab.blogspot.com/2008_05_01_archive.html (acedido a 22/10/2010)
- Ahmed T., Rahman S. e Cravioto A. (2009); Oedematous malnutrition; Indian Journal of Medical Research, 130: 651-654.
- Akisu C., Aksoy U., Cetin H., Ustun S., Akisu M. (2004); Effect of human milk and colostrum on *Entamoeba histolytica*; World Journal of Gastroenterology, 10 (5):741-742.
- Ali I., Clark C. and Petri W. (2008); Molecular epidemiology of Amebiasis; Infection, Genetics and Evolution 8: 698–707.
- Al-Mekhlafi H. , Azlin M., Aini U. Shaik A., Sa'iah A., Fatmah M., Ismail M., Ahmad F., Aisah M., Rozlida A. and Norhayatiy M. (2005); Protein-energy malnutrition and soil-transmitted helminthiasis among Orang Asli children in Selangor, Malaysia; Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 14 (2): 188-194.
- Ayalew D., Boelee E., Endeshaw T. and Petros B. (2008); *Cryptosporidium* and *Giardia* infection and drinking water sources among children in Lege Dini, Ethiopia; Tropical Medicine & International Health, 13 (4): 472–475.
- Balci Y., Turk M., Polat Y., and Erbil N. (2009); The distribution of intestinal parasites among children in Denizli; Turkiye Parazitolo Derg. 33 (4): 298-300.
- Bansal D, Ave P, Kerneis S, Frileux P, Boche´ O, et al (2009) An ex-vivo Human Intestinal Model to Study *Entamoeba histolytica* Pathogenesis. PLoS Neglected Tropical Disease 3 (11): e551.
- Bethony J., Brooker S., Albonico S., Geiger S., Loukas A., Diemert D. and Hotez P. (2006); Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm; Seminar, 367: 1521-1532.
- Boschi-Pinto C., Velebit L. and Shibuya K. (2008); Estimating child mortality due to diarrhea in developing countries; Bulletin of the World Health Organization, 86:710–717.
- Botelho A., Brooker S., Geiger S., Fleming F., Lopes A., Diemert D., Oliveira R. and Bethony J. (2008); Age patterns in undernutrition and helminth infection in a rural area of Brazil: associations with ascariasis and hookworm; Tropical Medicine and International Health, 13 (4) : 458–467.
- Botero-Garcés J., García-Montoya G., Griasales-Patiño D. et al (2009); *Giardia intestinalis* and nutritional status in children participating in the complementary nutrition program, Antioquia, Colombia, May to October 2006; Revista do Instituto de Medicina Tropical S. Paulo 51 (3): 155-162.

Busatti H., Santos J. and Gomes M. (2009); The old and new therapeutic approaches to the treatment of giardiasis: Where are we?; *Biologics Targets & Therapy*, 3: 273–287.

CDC, 2010. <http://www.cdc.gov/crypto/> (acedido a 26.08.10)

Chen X., Keithly J., Paya C. and LaRusso N. (2002); Cryptosporidiosis; *The New England Journal of Medicine*, vol. 346, no. 22: 1723–1731.

Cook G. and Zumla A. (2009); *Manson's P. Tropical Diseases*; Saunders Elsevier, Twenty-second Edition.

Cooper P., Alexander N., Moncayo A., et al (2008); Environmental determinants of total IgE among school children living in the rural Tropics: importance of geohelminth infections and effect of anthelmintic treatment; *BMC Immunology*, 9: 33.

Costa F., Gonçalves A., Lassance S., Neto L., Salmazo C. and Bóia M. (2007); *Giardia lamblia* and other intestinal parasitic infections and their relationship with nutritional status in Brazilian Amazon; *Revista Instituto de Medicina tropical de S. Paulo* 49(3): 147-153.

Dasgupta P. and Hauspie R. (2001); *Perspectives in human growth, development and maturation*; Kluwer Academic Publishers, 45-53.

Del Coco V., Cordoba M. and Basualdo J. (2009); Criptosporidiosis: una zoonosis emergente; *Revista Argentina de Microbiología*, 41: 185-196.

Dias L. (2006); Diagnóstico sobre as mutualidades de saúde na Guiné-Bissau; UEMOA.

Duggan M. (2010); Anthropometry as a tool for measuring malnutrition: impact of the new WHO growth standards and reference; *Annals of Tropical Paediatrics*, 30: 1-17.

Eckmann L. and Gillin F. (2001); Microbes and Microbial Toxins: Paradigms for Microbial-Mucosal Interactions I. Pathophysiological aspects of enteric infections with the lumen-dwelling protozoan pathogen *Giardia lamblia*; *American Journal of Physiology Gastrointestinal Liver Physiology*, 280: G1–G6.

Foronda P., Bargues M. & Abreu-Acosta A., Periago M. (2008); Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* of human isolates in Egypt; *Parasitology Research*, 103: 1177–1181.

Getaneh A., Medhin G. and Shimelis T. (2010); *Cryptosporidium* and *Strongyloides stercoralis* infections among people with and without HIV infection and efficiency of diagnostic methods for *Strongyloides* in Yirgalem Hospital, southern Ethiopia; *BMC Research Notes*, 3: 90.

Guerrant R., Oriá R., Moore S. et al. (2008); Malnutrition as an enteric infectious disease with long-term effects on child development; *Nutrition Reviews*, 66 (9): 487-505.

Guiné-Bissau (2010); <http://www.republica-da-guine-bissau.org> (acedido a 23/07/2010)

Hall A., Hewitt G., Tuffrey V. and Silva N (2008); A review and meta-analysis of the impact of intestinal worms on child growth and nutrition; *Maternal and Child Nutrition*, 4: 118–236.

Hawrelak J. (2003); Giardiasis: Pathophysiology and Management; *Alternative Medical Ver.*, 8 (2): 129-142.

Hunter P. and Nichols G. (2002); Epidemiology and Clinical Features of *Cryptosporidium* Infection in Immunocompromised Patients; *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 15: 145–154.

Hautvast J., Tolboom J., Kafwembe E., Musonda R., Mwanakasale V., van Staveren W., van 't Hof M., Sauerwein R., Willems J., Monnens L. (2000); Severe linear growth retardation in rural Zambian children: the influence of biological variables; *American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (2): 550-9.

Kucik C., Martin G. and Sortor B. (2004); Common intestinal parasites; *American Family Physician*, 69 (5): 1161-8.

Lebbad M. (2010); Molecular Diagnosis and Characterization of Two Intestinal Protozoa: *Entamoeba histolytica* & *Giardia intestinalis*; Thesis for doctoral degree (Ph.D.), Karolinska Institutet.

Macchiaverni L. and Filho A. (1998); Head circumference: why always measure it; *Medicina Ribeirão Preto*, 31: 595-609.

Mandomando I., Macete E., Ruiz J. et al (2007); Etiology of diarrhea in children younger than 5 years of age admitted in a rural hospital of southern Mozambique; *American Journal of Tropical Medical Hygiene*, 76 (3): 522-52.

Mascarini-Serra L., Telles C., Prado M. et al (2010); Reductions in the Prevalence and Incidence of Geohelminth Infections following a City-wide Sanitation Program in a Brazilian Urban Centre; *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 4: e588.

Mbuh J., Ntonifor H. and Ojong J. (2010); The incidence, intensity and host morbidity of human parasitic protozoan infections in gastrointestinal disorder outpatients in Buea Sub Division Cameroon; *Journal of Infected Development Countries*, 4 (1): 38-43.

Monte C. (2000); Undernourishment: a century old challenge to infant nutrition; *Jornal pediátrico do Rio Janeiro*, 76 (3): S285-S297.

Monteiro C., Benício M. e Gandra Y. (1981); Uso da medida do perímetro braquial na detecção do estado nutricional do pré-escolar; *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 15: 48-63.

Morenikeji O., Azubike N. and Ige A. (2009); Prevalence of intestinal and vector-borne urinary parasites in communities in south-west Nigeria; *J Vector Borne Dis*, vol 46: 164–167.

Müller O. and Krawinkel M. (2005); Malnutrition and health in developing countries; *JAMC*, 173 (3): 279-286.

Muniz-Junqueira M. and Queiróz (2002); Relationship between protein-energy malnutrition, vitamin A, and parasitoses in children living in Brasília; *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35 (2): 133-141.

Mupfasoni D., Karibushi B., Koukounsri A, et al. (2009); Polyparasite helminth infections and their association to anemia and undernutrition in northern Rwanda; PLoS Neglected Tropical Diseases 3 (9): e517.

Nakamori M., Ninh N., Khan N., Houg C., Tuan N., Mai L., Hien V., Nhung B., (2010); Nutritional status, feeding practice and incidence of infectious diseases among children aged 6 to 18 months in northern mountainous Vietnam; The Journal of Medical Investigation, 57: 45-53.

Neto L., Oliveira R., Totino P. et al. (2009); Enteroparasitosis Prevalence and Parasitism Influence in Clinical Outcomes of Tuberculosis Patients with or without HIV Co-Infection in a Reference Hospital in Rio de Janeiro (2000-2006); The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 13 (6): 427-432.

OMS and Nestlé nutrition (2002); Temas de nutrição em pediatria; Sociedade brasileira de pediatria, fascículo 2.

OMS and UNICEF (2009); Diarrhoea: Why children are still dying and what can be done.

OMS (2004); Estratégia de Cooperação da OMS com a República da Guiné-Bissau - Programa Estratégico da OMS.

OMS (2006a); Country Health System Fact Sheet - Guinea-Bissau.

OMS (2006b); www.who.int/childgrowth/en (acedido a 14/07/2010)

OMS (2009); Malnutrition in Humanitarian Emergencies. London school of Hygiene and tropical medicine.

OMS (2010); <http://www.who.int/childgrowth/standards/en/> (acedido a 11/07/2010)

Östan I., Kilimcioğlu A., Girginkardes N., Özyurt B., Limoncu M. and Ok Ü (2007); Health inequities: lower socio-economic conditions and higher incidences of intestinal parasites; BMC Public Health, 7: 342.

Ouattara M., N'Gue'ssan N., Yapi A., N'Gora E. (2010); Prevalence and Spatial Distribution of *Entamoeba histolytica/dispar* and *Giardia lamblia* among Schoolchildren in Agboville Area (Côte d'Ivoire); PLoS Neglected Tropical Disease 4 (1): e574

Parija S. and Khairnar K. (2007); A novel nested multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for differential detection of *Entamoeba histolytica*, *E. moshkovskii* and *E. dispar* DNA in stool samples. BMC Microbiology 7: 47.

Pullan R., Kabatereine N., Quinnell R., Brooker S. (2010); Spatial and Genetic Epidemiology of Hookworm in a Rural Community in Uganda; PLoS Neglected Tropical Disease 4 (6): e713.

Putignani L. and Menichella D. (2010); Global Distribution, Public Health and Clinical Impact of the Protozoan Pathogen *Cryptosporidium*; Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases, vol. 2010: 1-39.

Ricci K., Girosi F., Tarr L., et al. (2006); Reducing stunting among children: the potential contribution of diagnostics; Nature: 29-38.

Rigo C. and Franco R. (2002); Comparison between the modified Ziehl-Neelsen and *Acid-Fast-Trichrome* methods for fecal screening of *Cryptosporidium parvum* and *Isospora belli*; Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 35(3): 209-214

Saathoff E., Olsen A., Kvalsvig J. and Appleton C. (2004); Patterns of geohelminth infection, impact of albendazole treatment and re-infection after treatment in schoolchildren from rural KwaZulu-Natal/South-Africa; BMC Infectious Diseases, 4: 27.

Samie A., Obi L., Bessong P., et al (2006); Prevalence and species distribution of *E. histolytica* and *E. dispar* in the Venda region, Limpopo, South Africa; American Journal of Tropical Medicine Hygiene, 75 (3); 565-571.

Samie A., Mduluzi T., Sabeta C., et al (2005); Detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* from clinical samples by PCR and enzyme-linked immunosorbent assay; Journal of Tropical Microbiology Biotechnology, 5: 3-9.

Scrimshaw N. e SanGiovani J. (1997); Synergism of nutrition, infection and immunity: an overview; American journal of Clinical Nutrition, 66: 464S – 477S.

Secker D. and Jeejeebhoy K. (2007); Subjective Global Nutritional Assessment for children; American Journal of Clinical Nutrition, 85: 1083-9.

Singh A., Houpt E. and Petri W. (2009); Rapid Diagnosis of Intestinal Parasitic Protozoa, with a Focus on *Entamoeba histolytica*; Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases.

Speare D. (2008); Strongyloidiasis in personnel of the Regional Assistance Mission to Solomon Islands (RAMSI); MJA, 189 (4): 203-206.

Stanley S. (2003); Amoebiasis. *Lancet* 22: 1025-1034.

Steenhard N., Ørnberg N. and Mølbaek K. (2009); Concurrent infections and socioeconomic determinants of geohelminth infection: a community study of schoolchildren in periurban Guinea-Bissau; Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 103: 839-45.

Teixeira, J., Heller L. and Barreto M. (2007); *Giardia duodenalis* infection: risk factors for children living in sub-standard settlements in Brazil; Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 23(6):1489-1493.

Tome C. (1999), Determinantes das diferenças de mortalidade infantil entre as etnias da Guiné-Bissau, 1990-1995. [Mestrado] Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 91 pags.

Uecker M., Copetti C., Poleze L. e Flores V. (2007); Parasital Infection: immunologic diagnostic of enteroparasitosis; RBAC, 39 (1): 15-19.

Vargas M., Gasco´ N J., Casals C., et al (2004); Etiology of diarrhea in children less than five years of age in Ifakara, Tanzania; *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 70 (5): 536–539.

Vesey C. and Peterson W. (1999); Review article: the management of Giardiasis; Alimentary Pharmacology Therapy; 13: 843-850.

7. Anexos

Anexo 1- Inquérito

Avaliação do Estado Nutricional e Desenvolvimento Infantil

Chefe da Tabanca _____ **Ficha Nº** |_____|_____|_____|_____|

Local de Observação _____ Data __/11/09 Hora
|____|:____|

NOME(Mãe)

DATA DE NASCIMENTO __/__/__ **IDADE QUANDO DO ÚLTIMO**
ANIVERSÁRIO |_____|Anos

ETNIA: Beafada ☐ Fula ☐ Manjaco ☐ Papel ☐ Bijagós ☐ Mandinga ☐
Macanha ☐ Outra ☐ _____

IDADE ao: 1ºCasamento |_____|Anos **1ºFilho** |_____|Anos **Presente Casamento**
|_____|Anos

Quantas vezes esteve Grávida |_____|

Quantos Filhos teve |_____| **Quantos estão vivos** |_____|

ABORTOS: PROVOCADOS ☐ ☐ ESPONTÂNEOS ☐ ☐

Quanto tempo precisa para ir a pé: Buscar Água |____|:____| Quem vai?
Escola |____|:____| Serviços de Saúde |____|:____|

ESCOLARIDADE: Frequentou a Escola ☐ ☐ Sabe Ler e Escrever ☐ ☐

NÍVEL DE ENSINO: Pré-Escolar ☐ 1º Ciclo (4 ANOS) ☐ 2º Ciclo (6 ANOS) ☐
3º Ciclo (9 ANOS) ☐ Secundário (12 ANOS) ☐

Completo o Nível de Ensino Indicado ☐ ☐

Observações:

Crianças

Ficha Nº |_____|/_____|/_____|-_____|

NOME (Filho)_____ **NOME** (Mãe) _____

Local de Observação _____ **Data** ____/ ____ / ____ **Hora** | ____:____|

SEXO: | M | | F |

DATA DE NASCIMENTO: __/__/____

Quando foi o último aniversário? ____/ ____ / ____ **Quantos anos fez?** _____

Anda na Escola? | S | | N |; **Em que ano?** |_____| **Etnia?** _____

Aleitamento | S | | N |

Aleitamento Exclusivo:

≤ 4 Meses |_____|

Observações:

≤ 6 Meses |_____|

> 6 Meses |_____|

Aleitamento Não Exclusivo:

≤ 6 Meses |_____|

< 12 Meses |_____|

12-15 Meses |_____|

16≥24 Meses |_____|

ANTROPOMETRIA

Criança:

PESO |_____| Kg **ESTATURA** |_____| cm **PER.CEFÁLICO** |_____| cm

CIRCUNFERÊNCIAS:

PREGAS CUTÂNEAS:

Perímetro do Braço |_____| cm

Tricipital |_____| mm

Perímetro Abdominal |_____| cm

Subescapular |_____| mm

Força: |_____|

ALTURA

SENTADO

|_____| cm

Mãe: **PESO** |_____| Kg **Estatura** |_____| cm

OBSERVAÇÃO CLÍNICA

Ficha Nº |_____|_____|_____-_____|

Antecedentes patológicos		
Malária sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	Infecção Respiratória Aguda sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	Diarreia sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> com sangue <input type="checkbox"/>
Sarampo sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	Meningite sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	HIV sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>
Tuberculose sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	Hematúria sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	Perda de peso sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>
Prurido cercariano sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	Dor abdominal sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>	Outras Qual: _____ sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/>

Observação		
Estado geral B <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>	Anemia sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> Hg: ____	Dermatite sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> Especifique _____
Edemas Facial sim <input type="checkbox"/> MMII sim <input type="checkbox"/>	Adenopatias sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> Cadeias	Orofaringe Normal sim <input type="checkbox"/> Alteração
Cardiovascular Normal sim <input type="checkbox"/> Alteração _____	Pulmonar Normal sim <input type="checkbox"/> Alteração _____	Osteomuscular Normal sim <input type="checkbox"/> Alteração _____
Esplenomegalia sim ____ cm não <input type="checkbox"/>	Hepatomegalia sim ____ cm não <input type="checkbox"/>	Dor abdominal Especifique _____
Outras alterações Especifique _____	Outras alterações Especifique _____	Outras alterações Especifique _____
Diagnóstico clínico 1 _____	Diagnóstico clínico 2 _____	Diagnóstico clínico 3 _____

AVALIAÇÃO LABORATORIAL

Data	Resultado
Hematúria	
Parasitas nas fezes	
Parasitas na urina	
Outros	

OBSERVAÇÕES E COMENTÁRIOS ADICIONAIS

Assinatura:

Data: