

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES
MESTRADO ACADÊMICO EM SAÚDE PÚBLICA

Jennifer Sabrina Ferreira da Silva Pereira

EFEITO DO TRATAMENTO EM MASSA COM DIETILCARBAMAZINA NA
MICROFILAREMIA, ANTIGENEMIA E ANTICORPOS ANTIFILARIAIS EM UMA
ÁREA ENDÊMICA DO MUNICÍPIO DE OLINDA – PE

RECIFE
2014

Jennifer Sabrina Ferreira da Silva Pereira

**EFEITO DO TRATAMENTO EM MASSA COM DIETILCARBAMAZINA NA
MICROFILAREMIA, ANTIGENEMIA E ANTICORPOS ANTIFILARIAIS EM UMA
ÁREA ENDÊMICA DO MUNICÍPIO DE OLINDA – PE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, para obtenção do grau de mestre em Ciências.

Orientadores:

Prof^a. Dr^a. Maria Cynthia Braga

Prof. Dr. Abraham Rocha

RECIFE

2014

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

P436e Pereira, Jennifer Sabrina Ferreira da Silva.
Efeito do tratamento em massa com dietilcarbamazina na microfilaremia, antigenemia e anticorpos antifilarioses em uma área endêmica do município de Olinda - PE / Jennifer Sabrina Ferreira da Silva Pereira. - Recife: [s.n.], 2014.
72 p. : ilus., graf., tab.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2014.
Orientadores: Maria Cynthia Braga, Abraham Rocha.

1. Filariose Linfática. 2. Dietilcarbamazina. 3. Wuchereria bancrofti. 1. Braga, Maria Cynthia. III. Título.

CDU 616.995.132

Jennifer Sabrina Ferreira da Silva Pereira

**EFEITO DO TRATAMENTO EM MASSA COM DIETILCARBAMAZINA NA
MICROFILAREMIA, ANTIGENEMIA E ANTICORPOS ANTIFILARIAIS EM UMA
ÁREA ENDÊMICA DO MUNICÍPIO DE OLINDA – PE**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, para obtenção do grau de mestre em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Dra. Maria Cynthia Braga
(Orientadora)
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

Dra. Cristine Bonfim
(Titular Externo)
Fundação Joaquim Nabuco

Dra. Haiana Charifker Schindler
(Titular Interno)
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

À Deus, aos meus amados pais
e ao meu querido esposo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as conquistas que tenho alcançado e pela permissão de mais uma etapa concluída.

Aos meus pais e grandes amigos, Suelene e Orlando, pela educação, paciência, amor, incentivo e por tudo que sou hoje.

Ao meu esposo, Neyton, pelo incentivo, cuidado, paciência e, sobretudo o amor dedicado a mim.

A toda minha família, pela união, incentivo e por ser sempre o alicerce da minha vida. Vocês são meus exemplos!

A minha orientadora, Dra Cynthia Braga, pelo aprendizado e pela oportunidade concedida.

Ao meu orientador, Dr. Abraham Rocha, pelo incentivo, por mais este trabalho e por acreditar em minha capacidade.

Aos membros da banca, pelas considerações. Obrigada pela força, incentivo e cuidado.

A Felipe Duarte, pelos cuidados estatísticos.

A todos meus amigos do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, em especial a Cristiane, Josué, João Quaresma e Alberon que me deram tanta força nessa caminhada.

A toda equipe do Serviço de Referência Nacional em Filarioses, pelo esforço e disponibilidade no desenvolvimento deste trabalho.

A todos participantes da A.S.P. que são meus amigos de toda vida, Suzanne, Neto, Marcelle, Armando, Michelly, Paulo, Gisely, Hugo, Jean, Ivaldo, Priscilla, Felipe e Everton Felipe, obrigada pelos ótimos momentos de descontração. Vocês são muito importantes!

Ao Mestrado em Saúde Pública, pelo aprendizado

A todos que fazem parte da Secretaria Acadêmica, em especial a Glauco, sempre solícito.

A todos que contribuíram com a realização deste trabalho.

“Ninguém pode construir em teu lugar as pontes
que precisarás passar para atravessar o rio da vida –
ninguém exceto tu, só tu.”
(Nietzsche)

Pereira, Jennifer Sabrina Ferreira da Silva. Efeito do tratamento em massa com dietilcarbamazina na microfilaremia, antigenemia e anticorpos antifilarioses em uma área endêmica do município de Olinda – PE. 2014. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2014.

RESUMO

Este trabalho analisou o efeito do tratamento em massa com doses únicas anuais de Dietilcarbamazina (DEC), no período de 2007 a 2012, em indivíduos infectados por *Wuchereria bancrofti*, residentes em Olinda – PE. Para essa análise foram utilizadas as técnicas de filtração em membrana, na detecção da microfilaremia, o teste do cartão ICT e o Og4C3-ELISA, na detecção do antígeno circulante filarial, e o teste BM14 na avaliação dos níveis de anticorpos antifilarioses. Os resultados obtidos indicam redução nas características avaliadas: após a quarta dose de DEC, a microfilaremia reduziu 100% e a antigenemia pelo cartão ICT atingiu 78,1% de redução após a quinta dose. A mediana do Og4C3 caiu significativamente de 7117 ua, para 1715 ua após a terceira dose, último ano que o teste foi realizado. Observou-se curva de redução também nos níveis de Bm14, com mediana da densidade ótica caindo de 2,1 para 0,1 após a quinta dose. A diminuição nas taxas das características estudadas indica que o tempo preconizado pela Organização Mundial de Saúde para a eliminação da transmissão da FL na área é suficiente para a negativação das microfíliarias. Os resultados desse estudo mostram a elevada eficácia do esquema terapêutico utilizado no clareamento da microfilaremia e tratamento dos infectados, e sugerem que a utilização desse esquema na população possivelmente tenha levado a interrupção da transmissão na área. Sugere-se que haja um acompanhamento maior que cinco anos da população submetida ao tratamento para uma melhor avaliação dos níveis de anticorpos e de antigenemia filarial circulante.

PALAVRAS-CHAVE: Filariose Linfática, Dietilcarbamazina, *Wuchereria bancrofti*,

PEREIRA, Jennifer Sabrina Ferreira da Silva. The effect of mass drug administration with single doses of diethylcarbamazine in microfilaremia, antigenemia e antifilarial antibodies in a endemic area in Olinda – PE. 2014. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2014.

ABSTRACT

This study analyzed the effect of annual mass treatment with single doses of diethylcarbamazine (DEC) in the period 2007-2012 , in individuals infected with *Wuchereria bancrofti* , residents in Olinda - PE . The techniques used for this, were polycarbonate membrane filtration, in detection of microfilaremia , ICT card test and Og4C3 - ELISA for detection of circulating filarial antigen, and BM14 in assessing the levels of antibodies antifilarias . The results indicate a reduction in the evaluated characteristics: after the fourth dose of DEC, microfilaremia decreased 100 % and antigenemia by ICT card test reached 78.1 % reduction after the fifth dose. The median fell significantly from 7117 Og4C3 water to water in 1715 after the third dose, the last year that the test was performed. We observed reduction curves in Bm14 rates, where median was 2,1 to 0,1 after the fifth cycle. The decrease in the rates of the studied characteristics indicates that the time recommended by the World Health Organization (WHO) to eliminate transmission of LF in the area is sufficient to negative the microfilariae . The results of this study show the high effectiveness of the treatment regimen used in whitening of microfilaraemia and treatment of infected patients and suggest that the use of this scheme in the population has possibly led to interruption of transmission in the area . There is a greater than five years of monitoring population undergoing treatment for a better assessment of the levels of antibodies and circulating filarial antigenemia is suggested.

KEYWORDS: Lymphatic filariasis, Diethylcarbamazine, *Wuchereria bancrofti*,

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Tempo de tratamento em massa implantado nos países endêmicos, 2011	15
Figura 2 – Ciclo Biológico da <i>Wuchereria bancrofti</i>	17
Quadro 1 – Classificação das prioridades para o tratamento em massa	25
Figura 3 – Localização dos Altos da Bondade e da Conquista	32
Figura 4 – Fluxograma de seleção dos indivíduos portadores de <i>Wuchereria bancrofti</i>	34
Quadro 2 – Variáveis utilizadas no estudo	38
Figura 5 – Fluxograma de acompanhamento.....	44
Figura 6 – Percentual de microfilarêmicos no período de acordo com ciclo de tratamento na população de estudo	46
Figura 7 – Médias de densidade microfilarêmicas no período de acordo com ciclos de tratamento na população de estudo	47
Figura 8 – Percentual de ICT positivos de acordo com ciclo de tratamento na população de estudo	47
Figura 9 – Antigenemia filarial (Og4C3) de acordo com ciclos de tratamento na população de estudo	48
Figura 10 – Anticorpos antifilariais (Bm14) de acordo com o ano de tratamento. Olinda, 2007 a 2012	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACF	Antígeno Circulante Filarial
ACS	Agente Comunitário de Saúde
ALB	Albendazol
Bm14	Pesquisa de anticorpo antifilarial
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CPqAM	Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
DEC	Dietilcarbamazina
DO	Densidade Ótica
DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
EDTA	Etilenodiaminotetracético
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
EPT	Eosinofilia Pulmonar Tropical
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FL	Filariose Linfática
ICT	Pesquisa qualitativa de antígeno
IgG4	Imunoglobulina G tipo 4
IVM	Ivermectina
L3	Larva Infectante
MF	Microfilaremia
ml	mililitro
MS	Ministério da Saúde
Og4C3	Pesquisa quantitativa de antígeno
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PE	Pernambuco
PGEFL	Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática
PNEFL	Programa Nacional de Eliminação da Filariose Linfática
RMR	Região Metropolitana do Recife
SRNF	Serviço de Referência Nacional em Filarioses
UA	Unidade de Antígeno
VA	Verme Adulto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Epidemiologia da Filariose Linfática	14
1.2 Ciclo Biológico e Espectro Clínico	16
1.3 Tratamento da Filariose Linfática	19
1.4 Cinética de Microfilaremia, Antigenemia e Níveis de Anticorpos Antifilariosais Após Tratamento em Massa.....	22
1.5 Programa de Eliminação da Filariose em Pernambuco	24
2 PERGUNTA CONDUTORA	28
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo Geral.....	30
3.2 Objetivos Específicos	30
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	32
4.1 Tipo de estudo.....	32
4.2 Área de estudo	32
4.3 População de estudo	33
4.4 Seguimento da coorte.....	34
4.5 Padronização das técnicas.....	35
4.5.1 Filtração em Membrana de Policarbonato.....	35
4.5.2 Teste do Cartão ICT	35
4.5.3 Og4C3-ELISA.....	36
4.5.4 CELISA-Bm14	37
4.6 Variáveis.....	38
4.7 Análise dos dados.....	39
4.8 Limitações do estudo.....	39
5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	41
6 RESULTADOS	43
7 DISCUSSÃO	51

8 CONCLUSÃO	57
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS.....	61
ANEXO A – CARTA DE ANUÊNCIA DO SERVIÇO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM FILARIOSES (SRNF)	69
ANEXO B – CARTA DE ANUÊNCIA DA SECRETARIA MUNICIPAL DE OLINDA (SMSO)	70

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da Filariose Linfática

A filariose linfática (FL) constitui uma das doenças parasitárias crônicas de larga abrangência mundial, afetando indivíduos residentes em regiões tropicais e subtropicais de todos os continentes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010). Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam a ocorrência dessa parasitose em 73 países, havendo cerca de 1,4 bilhão de pessoas em risco e 120 milhões de infectados, a maioria nos continentes Asiático e Africano. (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2013).

Nas Américas, aproximadamente 11 milhões de pessoas estão sob risco de adquirir a doença e 720 mil estão infectadas em países com registros de transmissão ativa como a República Dominicana, Guiana, Brasil e Haiti, sendo este último responsável pela maioria dos casos (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2010).

No Brasil, a maior parte das áreas endêmicas existentes na década de 1950 foi extinta. Dentre os focos de transmissão de grande magnitude identificados no século passado, a cidade de Belém, no Pará, atingiu a meta de eliminação, segundo avaliações recentes do programa no país (FONTES et al., 2012). Em outra área de transmissão reconhecida, a cidade de Maceió, em Alagoas, inquéritos de microfilaremia e antigenemia filarial realizados entre 2007 a 2008 em mais de 20 mil estudantes, não detectaram a presença de nenhum caso, sugerindo a eliminação da transmissão nesse município (FONTES et al., 2012; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2010).

Atualmente os focos de transmissão ativa se localizam na Região Metropolitana do Recife (RMR), em Pernambuco: Jaboatão dos Guararapes, Paulista, Olinda e Recife, com mais de 1,7 milhão de pessoas em risco de adquirir a Filariose nesses municípios (FONTES et al., 2012; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2010).

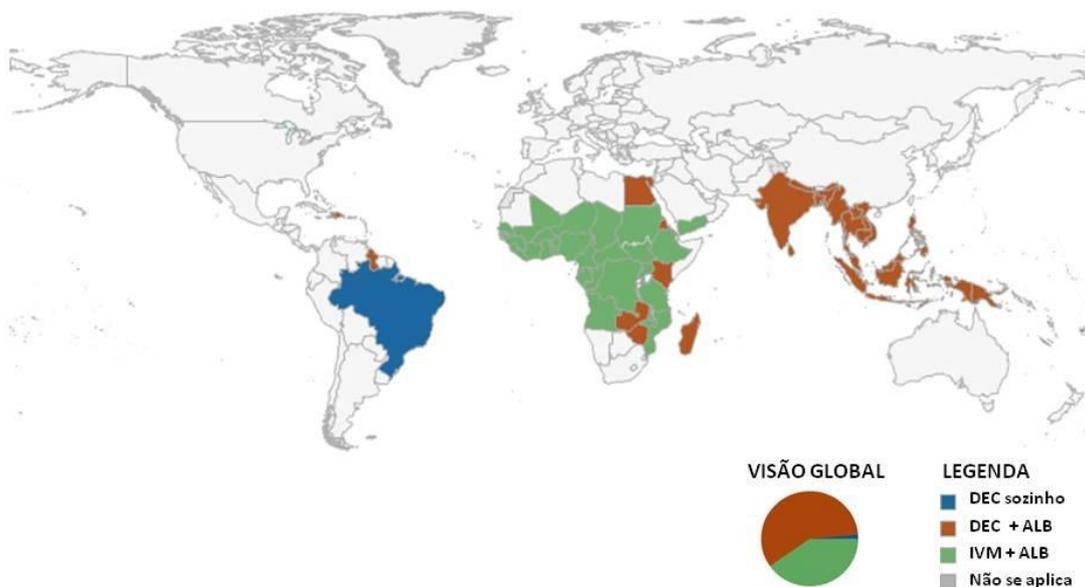
Após avanços no diagnóstico e tratamento da doença, a OMS considerou a FL, juntamente com outras cinco doenças infecciosas, uma doença potencialmente eliminável (OTTESEN et al., 1997) e lançou o Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática (PGEFL), no ano 2000. A meta é a eliminação global até o ano de

2020 via prestação de assistência aos portadores de morbidade filarial e o tratamento em massa com drogas antilárias das populações residentes em áreas endêmicas, durante um período suficientemente longo para garantir a interrupção da transmissão, cerca de quatro a seis anos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010).

Levantamentos da OMS apontam que até o ano de 2009, aproximadamente 385 milhões de pessoas haviam recebido pelo menos uma dose de tratamento em 53 países, resultando em uma importante redução da prevalência de microfilaremia e na prevenção de novos casos de filariose (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2010). Na Região Metropolitana do Recife foram mais de 176 mil pessoas tratadas em 2009. Além disso, em Recife e Olinda as medidas de controle contra os vetores também ajudam a diminuir a prevalência da infecção em ambas regiões.

Até 2012, dos 73 países endêmicos, 56 haviam instituído o tratamento em massa com drogas antilárias, e o Brasil é o único que utiliza a dietilcarbamazina (DEC) como única droga de escolha para o tratamento da FL, conforme mostra a figura 1.

Figura 1 - Tipo de tratamento em massa implantado nos países endêmicos, 2012.



Fonte: Adaptado da Organização Mundial de Saúde (2013)

Nota: Tradução da autora.

1.2 Ciclo Biológico e Espectro Clínico

Entre as espécies de filárias existentes, nove são agentes da filariose em seres humanos, das quais três tem predileção pelos vasos linfáticos e linfonodos e são causadores da Filariose linfática (FL): a *Wuchereria bancrofti*, que é responsável por 90% dos casos da infecção filarial no mundo e a única que possui relevância médica nas Américas, a *Brugia malayi* responsável por 10% dos casos e a *Brugia timori*, restrita a ilhas de Timor na Indonésia (MELROSE, 2004; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010; SHENOY, 2008; SIMONSEN, 2009).

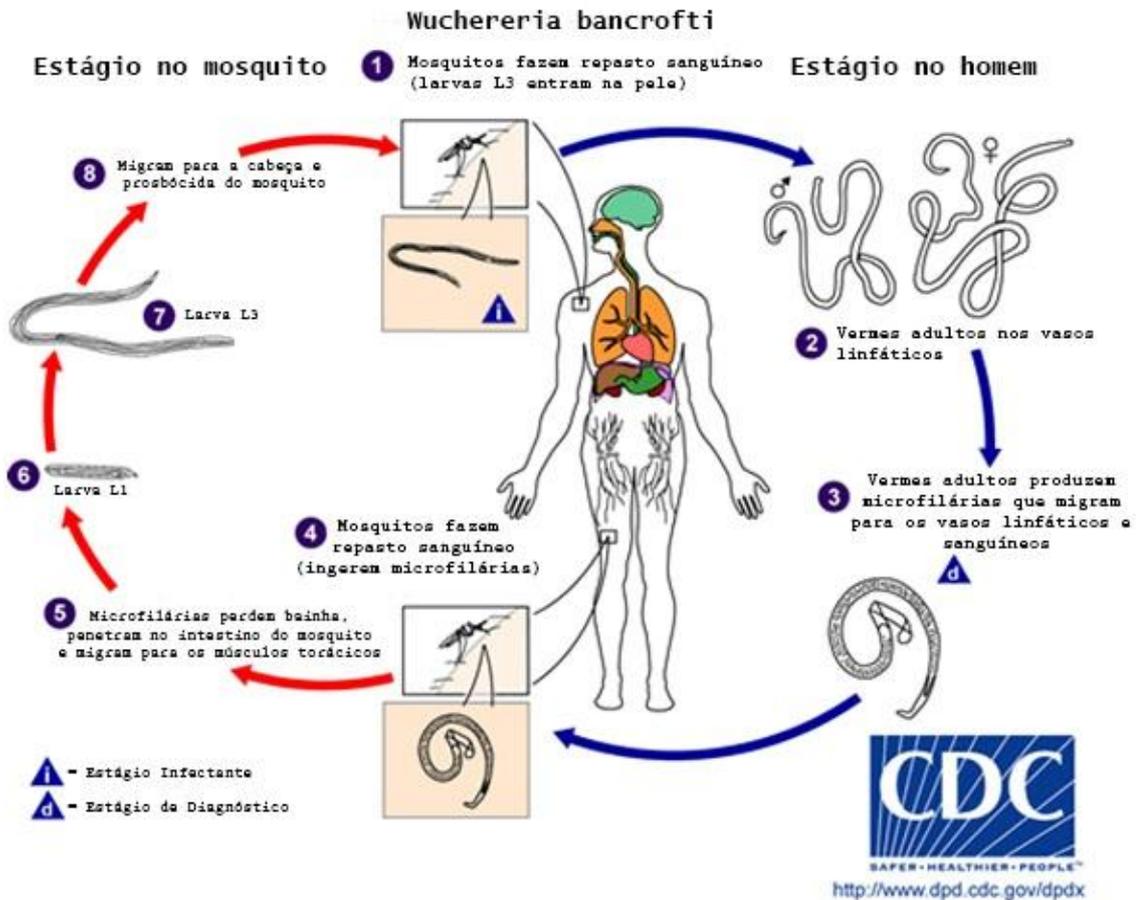
Uma das características marcantes do ciclo evolutivo da *Wuchereria bancrofti* consiste na obrigatoriedade do estágio de maturação deste helminto em um inseto artrópode hematófago e o fato de se reproduzirem apenas no seu hospedeiro vertebrado definitivo, que é o homem (DREYER, 1994). Essas características dificultam a sua transmissão e, conseqüentemente aumentam o potencial de eliminação dessa doença.

O *Culex quinquefasciatus* é o principal vetor responsável pela transmissão da doença na maioria das regiões do mundo e o único transmissor da doença no Brasil (MELROSE, 2004; RACHOU, 1954).

A transmissão da FL se inicia quando as fêmeas do mosquito sugam o sangue de um humano infectado contendo as formas embrionárias da *Wuchereria bancrofti*, conhecidas como microfilárias (MF). No organismo do vetor, as MF ingeridas evoluem para a forma de larva infectante (L3), em um período de 14 a 21 dias, dependendo das condições de temperatura e umidade. Na oportunidade de uma nova hematofagia, as larvas L3 contidas na probóscida do mosquito são depositadas na pele do indivíduo, e por meio de movimentos ativos, penetram no organismo do hospedeiro através da solução de continuidade da pele ocasionada pela picada do mosquito. Em seguida, as larvas L3 ganham a corrente sanguínea e se dirigem aos vasos linfáticos e linfonodos, onde sofrem duas mudas até se tornarem vermes adultos (VA), machos e fêmeas, em um período aproximado de seis meses. Após o acasalamento, a fêmea grávida passa a produzir diariamente milhares de MF durante cerca de 10 anos, ou até a sua morte natural (MELROSE, 2004). As microfilárias permanecem nos capilares pulmonares e são liberadas para a circulação periférica de acordo com o horário de sua periodicidade. Em locais cujos vetores possuem hábitos noturnos, como o *Culex quinquefasciatus* no Brasil, a

periodicidade das microfilárias é noturna com pico de microfilarémia entre 23h00 e 01h00 (DREYER et al., 1996). O ciclo de transmissão da filariose linfática é apresentado na figura 2.

Figura 2 - Ciclo Biológico da *W. bancrofti*.



Fonte: Center of Disease Control and Prevention (2013)

Nota: Tradução da autora

A FL pode afetar indivíduos de todas as idades e ambos os sexos, possuindo baixo ou nenhum potencial letal (COX, 2000). Porém a prevalência e intensidade tendem a aumentar com a idade, apresentando pico entre 15 e 25 anos e diminuindo na idade adulta (MELROSE, 2004). A infecção filarial se caracteriza pelo amplo espectro de manifestações clínicas, que está geralmente relacionado ao estágio evolutivo do parasito, a frequência de exposição à picada pelos vetores e à resposta imunológica do indivíduo (FONTES; ROCHA, 2005; OTTESEN, 1993).

Em áreas endêmicas podem ser encontrados indivíduos que não apresentam manifestações clínicas ou microfilárias. Nesse grupo, estão incluídos os que não foram suficientemente expostos para serem infectados, os indivíduos com infecção

pré-patente ou com presença de vermes adultos sem microfilaremia, e os que já curaram a infecção (MELROSE, 2004; SIMONSEN, 2009) Porém, os testes que detectam ACF (Antígeno Circulante Filarial) têm demonstrado que muitos desses indivíduos amicrofilarêmicos residentes nessas áreas são na verdade portadores de vermes adultos (SIMONSEN, 2009)

Outro grupo é dos microfilarêmicos assintomáticos, a forma mais frequente encontrada em áreas endêmicas. Uma vez infectado, o indivíduo pode permanecer assintomático por décadas, sem apresentar progressão para a doença clínica. Os indivíduos microfilarêmicos (assintomáticos ou não), possuem grande importância epidemiológica, pois são responsáveis pela manutenção da transmissão da doença em áreas onde há a presença do inseto transmissor. Dessa forma, essa população constitui um dos alvos principais dos programas de eliminação (MELROSE, 2004; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011; SIMONSEN, 2009).

O espectro clínico da filariose é amplo, variando desde as formas assintomáticas até as formas crônicas de caráter irreversível. As manifestações mais comuns são a adenolinfagite aguda, a hidrocele, o linfedema e a elefantíase (KUMARASWAMI, 2000; MELROSE, 2004; SIMONSEN, 2009).

A doença aguda filarial pode estar associada ou não a microfilaremia, e se caracteriza pela ocorrência de episódios repetidos de adenite ou adenolinfagite, acompanhados de mal-estar, febre e calafrios. Esses episódios podem ser seguidos pelo aparecimento de linfedema que pode desaparecer espontaneamente após aproximadamente uma semana, e pode ocorrer várias vezes dentro de um ano. (KUMARASWAMI, 2000; MELROSE, 2004; SIMONSEN, 2009).

A doença filarial crônica, de caráter debilitante e estigmatizante, é a forma mais grave e irreversível da doença. Semelhante a forma aguda, pode se manifestar com ou sem microfilaremia, sendo as manifestações mais comuns a hidrocele e o linfedema ou elefantíase de membros (GYAPONG et al., 1998; SIMONSEN, 2009).

A Eosinofilia Pulmonar Tropical é a forma mais rara da doença e se manifesta principalmente por quadros de tosse noturna e broncoespasmo decorrentes de uma doença intersticial pulmonar ocasionada pela acentuada hipersensibilidade do hospedeiro às microfilárias localizadas no pulmão (MELROSE, 2004).

1.3 Tratamento da Filariose Linfática

Três drogas são recomendadas para o tratamento em massa da filariose linfática – a Dietilcarbamazina, o Albendazol e a Ivermectina, as quais visam interromper a transmissão da infecção em áreas endêmicas, além de prevenir e deter a progressão da doença (ADDIS; DREYER, 2000).

A Dietilcarbamazina (DEC) pode ser administrada sob a forma de comprimidos ou adicionada ao sal de cozinha. Desde a sua descoberta em 1947 constitui a droga de primeira escolha no tratamento da filariose linfática, sendo utilizada sozinha no programa de eliminação da FL no Brasil (BOCKARIE; DEB, 2010; MELROSE, 2004; SIMONSEN, 2009).

A DEC é sintetizada como 1-diethylcarbamyl-4-methylpiperazine e constitui um derivado da piperazina. Esta droga é altamente solúvel em água, rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal, atinge o pico no sangue entre uma a duas horas após a ingestão oral e não se concentra em nenhum órgão específico. A excreção da DEC é principalmente renal, com meia vida que pode variar de seis a oito horas, dependendo do pH urinário (DREYER; NORÕES, 1997; MELROSE, 2002; OTTESEN, 1985).

O mecanismo de ação da DEC sobre os parasitas filariais ainda não é totalmente esclarecido, porém há comprovação da sua intensa ação microfilaricida, que se inicia nas primeiras horas após sua ingestão, e que se caracteriza pela acentuada e rápida redução da microfilaremia ao longo de pelo menos um ano após o tratamento (BOCKARIE et al., 2009; SIMONSEN, 2009).

Quanto a ação da DEC sobre a forma adulta do parasito é uma questão controversa, onde alguns autores concluem que existem evidências de que essa droga possui uma ação limitada sobre os vermes. Essa suposição é reforçada por estudos de seguimento de indivíduos infectados, que mostram a persistência de níveis detectáveis de antigenemia filarial após o tratamento (BOCKARIE; DEB, 2010; FREEDMAN et al., 2001; MALLA et al., 2007; McCARTHY, 2000; MELROSE, 2003; SIMONSEN et al., 2005; SUNISH et al., 2006; WAMAE et al., 2011; WEIL; RAMZY, 2006).

O Albendazol (ALB) é uma droga eficaz contra parasitas nematóides, que tem sido utilizada no tratamento de helmintíases há quase 20 anos. As evidências de sua ação sobre as microfilárias e vermes adultos são ainda controversas. Alguns autores

que propõe o uso de drogas combinadas sustentam que seu uso potencializa o efeito microfilaricida e macrofilaricida do tratamento, o qual garantiria a interrupção da transmissão (OTTESEN et al., 1997; RAJENDRAN et al., 2004). Por outro lado, estudos demonstram não haver evidências suficientes que comprovem o efeito do Albendazol isolado ou em combinação com DEC ou Ivermectina no tratamento da infecção filarial, tendo, portanto nenhum efeito ou nenhuma diferença significativa quando comparado com o tratamento com DEC sozinho (CRITCHLEY et al, 2004; RIZZO et al., 2007).

A Ivermectina (IVM), outra droga disponível para o tratamento da filariose, tem sido recomendada no tratamento individual ou em massa, em áreas onde haja co-infecção com a *Ochocerca volvulus*, devido ao risco de reações adversas graves com o uso da DEC, fato que contra-indica seu uso em regiões endêmicas de bancroftose (SIMONSEN et al, 2013). É um anti-helmíntico utilizado na medicina veterinária desde 1981, que teve seu uso estendido para os seres humanos poucos anos depois (MELROSE, 2003). Esta droga apresenta potente e prolongado efeito microfilaricida, porém sem ação sobre as formas adultas sendo administrado tanto sozinho quanto em administração com DEC (MELROSE, 2003; REY, 2001). É utilizado na dose de 150 a 200µg/kg em co-administração com 400mg/kg de Albendazol.

A OMS preconiza o esquema de doses únicas anuais de DEC, na dose de 6mg/kg e Albendazol, na dose de 400mg/kg, por um período de quatro a seis anos e um percentual de cobertura de tratamento mínimo de 65% para garantir a interrupção da transmissão na área (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011). A administração do ALB em combinação com a DEC se justifica, segundo a OMS, pela sua eficácia no tratamento de várias geohelmintoses, as quais usualmente possuem elevadas prevalências nas áreas endêmicas de filariose (FONTES; ROCHA, 2005).

A maioria das pesquisas recentes que avaliam os parâmetros de infecção da FL é relativa à combinação de DEC e ALB, já que esse é o tratamento preconizado pela OMS. Porém, como atualmente o Brasil é o único país que adota a monoterapia com DEC como esquema de tratamento, torna-se necessária a avaliação desse tratamento em relação à microfilaremia, antigenemia e níveis de anticorpos. Além disso, a eficácia desse esquema de tratamento, nas doses administradas, ainda não foi avaliada no país, tornando-se indispensável se avaliar o êxito dessa medida e

corrigir rapidamente possíveis falhas ou redirecionar os objetivos em função da realidade atual (REY, 2001).

De Rochars et al. (2004) sustentam que a utilização de duas drogas que apresentem mecanismos de ação distintos reduz a probabilidade de desenvolvimento de resistência às drogas. Por outro lado, alguns autores afirmam que a associação DEC+ALB reduziria o efeito macrofilaricida da primeira (DREYER et al., 2006), enquanto outros concluíram não haver evidências do maior efeito filaricida do esquema combinado em relação a DEC sozinho (ADDIS et al., 2005; RIZZO et al., 2007). Portanto, as evidências da superioridade do esquema de tratamento em massa combinado DEC+ALB em relação a monoterapia com DEC ainda não estão plenamente estabelecidos (FERNANDO et al., 2011).

Apesar das controvérsias quanto à eficácia dos esquemas de tratamento em massa, a maioria dos programas de eliminação em andamento no mundo, como na Índia (BABU; MISHRA, 2008; LAHARIYA; MISHRA, 2008; MASSA et al., 2009), Quênia (NJENGA et al., 2008) e Sri Lanka (WEWRASOORIYA et al., 2007), tem adotado o esquema DEC+ALB, conforme recomendação da OMS. Nas Américas, há relatos de experiência do tratamento combinado no Haiti e na República Dominicana (DE ROCHARS et al., 2004; FOX et al., 2005; LAMMIE et al., 2007; MATHIEU et al., 2004; McLAUGHLIN et al., 2003).

Com o início do Programa de tratamento preventivo integrado para controlar as doenças tropicais negligenciadas (DTNs), os programas nacionais de eliminação da FL têm sido implementados de forma integrada a programas para eliminação ou controle de outras doenças, como a oncocercose, a esquistossomose, geohelmintíases e tracoma (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011). Nessa situação, o tratamento em massa com a DEC tem sido feito em associação com medicamentos dirigidos ao tratamento de outras DNTs. Esses esquemas de tratamento têm sido definidos de acordo com a situação epidemiológica de cada país, ficando a critério dos gestores locais dos programas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

1.4 Cinética de Microfilaremia, Antigenemia e dos Níveis de Anticorpos Antifilariais após Tratamento em Massa

As ferramentas diagnósticas preconizadas pela OMS para monitorar a efetividade do tratamento em massa na população são as técnicas parasitológicas, que têm como princípio a detecção da microfilaremia, os ensaios para a detecção de antigenemia filarial e de anticorpos específicos circulantes, além da técnica de PCR para detectar o DNA do parasita em humanos e mosquitos. A seleção do teste depende principalmente da sensibilidade e especificidade das técnicas, assim como da viabilidade do seu uso nos locais de implementação, competências técnicas necessárias e custos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

Os métodos parasitológicos têm como princípio a detecção das microfírias em sangue periférico devendo a coleta de amostras de sangue ser realizada respeitando-se a periodicidade do parasito. Esses testes apresentam como limitação o fato de não serem capazes de identificar os indivíduos portadores de vermes adultos amicrofilarêmicos, o que ocasiona a subestimação das medidas de prevalência em áreas onde os níveis de parasitemia são baixos na população (ROCHA, 2000; WITT; OTTENSEN, 2001). O percentual de redução da prevalência de microfilarêmicos e densidades microfilarêmicas após o tratamento variam de acordo com a ferramenta diagnóstica empregada, a prevalência de microfilaremia pré-tratamento e a cobertura de tratamento (HELMY et al., 2006; WAMAE et al., 2011; WEIL et al., 2008).

Estudos conduzidos em áreas endêmicas que avaliaram mudanças dos marcadores de infecção filarial em populações submetidas a tratamento em massa com o esquema combinado DEC+ALB e com DEC sozinho mostraram que o clareamento da microfilaremia ocorre em torno da terceira ou quarta dose, a depender do nível de microfilaremia pré-tratamento (FRASER, 2005; HELMY et al., 2006; RAJENDRAN et al, 2006; RAMAIAH et al., 2011; SIMONSEN et al., 2005; TISCH et al., 2008; WEIL et al, 2008).

As técnicas disponíveis para detecção de antigenemia filarial circulante são os testes do cartão ICT e o Og4C3-ELISA, as quais apresentam maior sensibilidade do que as técnicas parasitológicas, uma vez que também permitem a identificação das infecções amicrofilarêmicas ou com baixas parasitemias, além dos microfilarêmicos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011; WEIL; RAMZY, 2006). O

acompanhamento de portadores de infecção filarial mostra que a antigenemia declina mais lentamente do que a microfilaremia, observando-se níveis detectáveis de ACF até cinco doses ou mais de tratamento (NJENGA et al., 2011; RAJENDRAN et al., 2004; ROCHA et al., 2009; WAMAE et al., 2011; WEIL et al., 2008).

Em geral a queda dos níveis de antigenemia é observada aproximadamente após a terceira dose de tratamento anual, porém esse percentual de redução se apresenta em torno de 80% quando comparado aos níveis de base no momento pré-tratamento (NJENGA et al., 2011; RAJENDRAN et al., 2004; WAMAE et al., 2011; WEIL et al., 2008). Essa redução da antigenemia necessariamente não indica a persistência da infecção ativa, tornando difícil estabelecer o real status de infecção dos indivíduos e dificultando o uso desses testes no acompanhamento pós-tratamento e critério de cura (FREEDMAN et al., 2001; MALLA et al., 2007; McCARTHY, 2000; SIMONSEN et al., 2005; SUNISH et al., 2006; WAMAE et al., 2011; WEIL; RAMZY, 2006).

Os testes para pesquisa de anticorpos são úteis para o mapeamento e monitoramento da FL em áreas que já iniciaram o tratamento em massa na população. A pesquisa do anticorpo antifilarial IgG4 tem mostrado níveis de sensibilidade maiores do que 90% na identificação de indivíduos expostos a filariose por *Brugia* ou *W. bancrofti* (LAMMIE et al., 2004; WEIL et al., 2011). Este anticorpo é produzido em abundância durante a infecção filarial, e sua pesquisa constitui um bom marcador de infecção da intensidade e duração da exposição filarial em populações endêmicas (CHANDRASHEKAR et al., 1994; JOSEPH; MELROSE, 2010; LAMMIE et al., 2004; MELROSE, 2002; WEIL et al., 1999;). Alguns autores observaram a correlação dos níveis de IGg4 com a densidade de microfilaremia, e concluem ser uma importante ferramenta para a avaliação da efetividade do tratamento em massa e verificação da eliminação da filariose nessas áreas (MAIZEL et al., 1995; WEIL et al., 2011).

Estudos que avaliaram a cinética dos anticorpos antifilariais têm observado que o declínio desses anticorpos ocorre mais lentamente quando comparado às curvas observadas na microfilaremia e na antigenemia filarial, nunca atingindo níveis próximos ou igual a zero (TISCH et al., 2008; WAMAE et al., 1992). A redução constante dos anticorpos antifilariais na população sob tratamento é indicativa da ausência de exposição dos indivíduos à picada de vetores infectados, o que torna

esse anticorpo um marcador útil para se monitorar a transmissão filarial durante os programas de tratamento em massa (HELMY et al., 2006; TISCH et al., 2008;).

1.5 Programa de Eliminação da Filariose em Pernambuco

A filariose é um problema presente em Pernambuco desde 1918, com focos de transmissão ativa na RMR (BRASIL, 2000). O avanço da doença no estado possivelmente está relacionado ao processo de urbanização que se intensificou desde a década de 1940, época em que trabalhadores rurais migravam para a capital em busca de melhores condições de vida e emprego (ALBUQUERQUE, 1993). Os imigrantes formavam assentamentos em áreas de difícil acesso, sem rede elétrica, de água, ou esgoto, provocando forte impacto na saúde da população. Além disso, esse adensamento populacional em áreas com precárias condições sanitárias favoreceram a permanência de focos antigos e o surgimento de outros. A endemicidade da filariose está relacionada diretamente a fatores como: pobreza, desinformação, desorganização, baixa escolaridade, favelização e ausência de esgotamento sanitário (BRASIL, 2000).

Dentro da RMR, o tratamento em massa iniciou em Recife no ano de 2003, no bairro do Alto de Santa Terezinha. A estratégia utilizada foi a mobilização da comunidade durante três ou quatro dias, através de minipostos de medicação instalados em vários pontos do bairro (ROCHA et al., 2010).

O município de Olinda constitui uma das áreas endêmicas de filariose remanescentes no Brasil. Inquéritos parasitológicos e de antigenemia mostravam médias de prevalência no município de 1,3% e de 31,7%, respectivamente (BRAGA et al., 2001; BRAGA et al., 2003), levantando a hipótese de que cerca de 60% da população estava sob risco de adquirir a doença (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2010). Diante disto, e como parte do Programa de Eliminação da Filariose Linfática no Brasil, o município elaborou um plano de eliminação, sob orientação do Ministério da Saúde (MS) e da OPAS, com ações integradas contra o parasito e o vetor.

A implementação do tratamento foi realizada após a identificação dos critérios de seleção das áreas. Para essa definição foram utilizadas a situação de transmissibilidade local (prevalência \geq 1% de microfilaremia) e o risco socioambiental. A definição desse risco está associada ao percentual de domicílios não ligados à

rede geral de esgotamento sanitário ou sem fossa séptica, e o percentual de domicílios sem destino adequado para o lixo e a média de habitantes por dormitório (BRAGA et al. 2001; ROCHA et al, 2010). A partir disso, as áreas foram classificadas em quatro níveis de prioridade (figura 3).

Quadro 1 - Classificação das prioridades para o tratamento em massa

PRIORIDADE 1	PRIORIDADE 2	PRIORIDADE 3	PRIORIDADE 4
Alto/Médio Risco ambiental Transmissão Reconhecida	Médio/Baixo Risco ambiental Transmissão Reconhecida	Baixo Risco ambiental Não Transmissão Reconhecida	Baixo Risco Ambiental Sem Transmissão

Fonte: A Autora

O programa de eliminação da filariose em Olinda teve início em 2005 com o tratamento em massa porta-a-porta, iniciando pela população do bairro do Alto do Sol Nascente, uma área contígua à área do estudo, e em seguida se estendeu para as outras áreas endêmicas do município. Em 2009, nove bairros que tiveram prevalência acima de 1% no mapeamento, estavam sendo tratados, com população total alvo de 18.200 pessoas (OLINDA, 2009). O programa de eliminação incluiu ações de controle integrado do vetor (*C. quinquefasciatus*) e o tratamento em massa da população com doses únicas anuais de DEC (6mg/kg de peso) nas áreas com maior risco de transmissão socioambiental ou com transmissão ativa da doença (BRASIL, 2012; ROCHA et al., 2010).

O tratamento em massa na área de estudo foi iniciado em novembro e dezembro de 2007, atingindo uma cobertura de tratamento de 86% para o Alto da Bondade e 92% para o Alto da Conquista no primeiro ciclo de tratamento (OLINDA, 2009; ROCHA et al., 2010).

O tratamento dos indivíduos foi realizado por meio de visita domiciliar (porta a porta), sob a observação direta dos agentes comunitários de saúde (ACS). A população elegível foram indivíduos com idade entre quatro e 65 anos de idade, de qualquer sexo, sendo excluídos do tratamento as gestantes, nutrizes e portadores de doenças crônicas de acordo com a recomendação da OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011). O esquema de tratamento foram doses únicas anuais

de DEC (6mg/kg de peso), de acordo com a faixa etária e sexo. As doses ajustadas por grupo etário e sexo foram descritas em estudo anterior (LIMA et al., 2012). Informações sobre a ingestão do medicamento foram extraídas das planilhas de campo dos ACS, cedidas pela Secretaria Municipal de Saúde de Olinda.

Antes do início do tratamento, realizou-se um inquérito nessas áreas para estabelecer uma linha de base para avaliação do impacto da intervenção sobre a transmissão e identificar os portadores de *Wuchereria bancrofti* para a avaliação da efetividade do tratamento nessa coorte. Esse estudo analisa a cinética de microfilaremia, antigenemia e anticorpos antifilarioses nos portadores de infecção filarial diagnosticados no momento da investigação. Foram submetidos a cinco doses de tratamento que possuem os resultados dos testes diagnósticos armazenados no banco de dados do Serviço de Referência Nacional em Filarioses (SRNF).

Os resultados vão permitir avaliar o impacto desse esquema de tratamento, expressos pelo clareamento das microfilárias e declínio dos níveis de antigenemia e anticorpos antifilarioses, e servirá de apoio aos gestores dos programas no processo de avaliação e decisão.

2 PERGUNTA CONDUTORA

2 PERGUNTA CONDUTORA

Qual o efeito do tratamento em massa com doses únicas anuais de dietilcarbamazina nos níveis de microfilaremia, antigenemia e anticorpos antifilariais em portadores de infecção filarial em uma área endêmica do município de Olinda – PE?

3 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito do tratamento em massa com doses únicas anuais de dietilcarbamazina na microfilaremia, antigenemia e nos níveis de anticorpos antifilariosos em uma coorte de infectados residentes em uma área endêmica do município de Olinda – PE num período de cinco anos.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Descrever a proporção de positivos por meio da microfilaremia, antigenemia e anticorpos antifilariosos e a distribuição segundo variáveis sócio-demográficas (sexo e grupo etário) no momento pré-tratamento;
- b) Analisar o declínio na prevalência da microfilaremia e antigenemia filarial na população de estudo, de acordo com o número de ciclos de tratamento;
- c) Analisar o declínio das médias de densidade de microfilaremia, antigenemia filarial circulante e anticorpos antifilariosos, ao longo da série de cinco doses de tratamento.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 Tipo de estudo

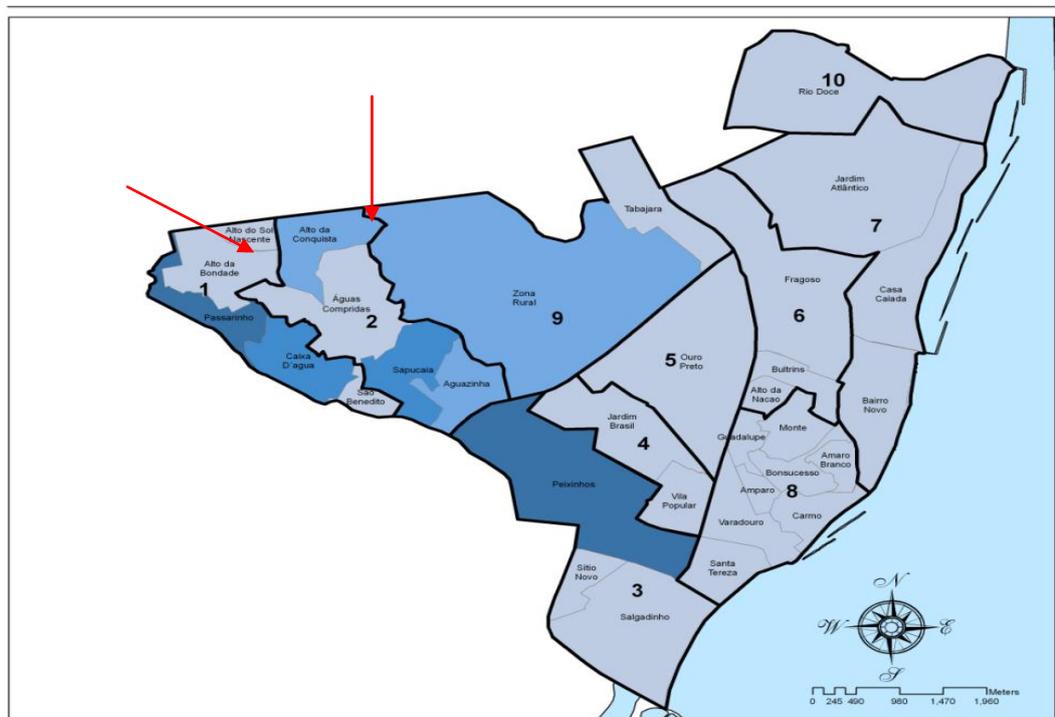
Trata-se de um estudo longitudinal prospectivo, de grupo único, avaliando o efeito do tratamento em massa com doses únicas anuais de dietilcarbamazina por cinco anos.

4.2 Área de estudo

O município de Olinda localiza-se na Região Metropolitana do Recife (RMR), em Pernambuco e limita-se ao norte com o município do Paulista, ao sul e oeste com Recife e ao leste com o Oceano Atlântico. Possui uma população estimada de 377.779 habitantes e uma área territorial de aproximadamente 42km², com densidade demográfica de 9.063,58 hab/km² (IBGE, 2010).

A área de estudo compreendeu os bairros do Alto da Bondade e Alto da Conquista, localizados no distrito sanitário I do município, com uma população de 8951 e 5670 habitantes, respectivamente (Figura 3).

Figura 3 - Localização dos bairros Alto da Bondade e Alto da Conquista



Fonte: Olinda (2010)

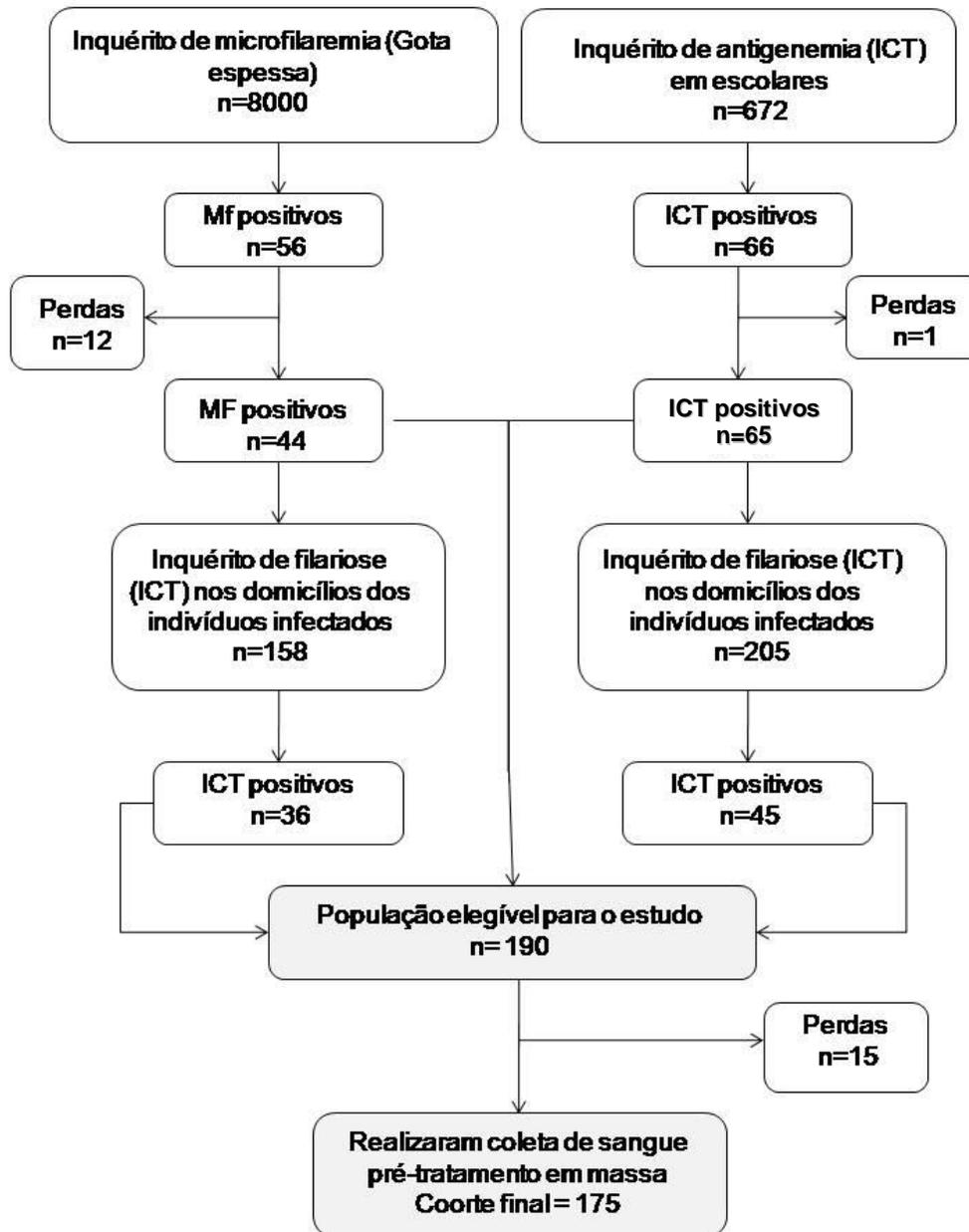
O bairro Alto da Conquista apresentou a maior prevalência no inquérito realizado em 1999 (BRAGA, 2001) e foi selecionado para o início do tratamento em 2007. O Alto da Bondade não participou desse inquérito, mas por serem bairros contíguos e possuírem características socioeconômicas e ambientais semelhantes, também foi escolhido para iniciar a intervenção no mesmo ano.

4.3 População de estudo

A coorte de estudo foi formada pelos casos de filariose bancroftiana identificados a partir dos inquéritos realizados pela presença de antigenemia filarial, detectada pelo teste do cartão ICT, e pela presença de microfilaremia, através da técnica da gota espessa, conduzidos concomitantemente, no semestre que antecedeu o início do tratamento em massa. Após a seleção da coorte, os indivíduos foram submetidos à coleta de amostras de sangue capilar e venoso para o estabelecimento da linha de base do estudo no trimestre anterior ao início do tratamento e aplicação do questionário para levantamento de informações individuais, como nome, endereço, idade e sexo.

O fluxograma de recrutamento da população de estudo é apresentado a seguir (Figura 4).

Figura 4 - Fluxograma de seleção da população de estudo, 2007.



Fonte: A autora

4.4 Seguimento da coorte

As coletas de sangue e avaliações dos indivíduos foram realizadas nos trimestres que antecederam os cinco ciclos anuais da administração de DEC, no horário entre 23:00 e 1:00 hora, respeitando-se o período de pico da microfilaremia (DREYER et al., 1996), entre 2007 e 2012.

Amostras de sete ml de sangue venoso foram coletadas de cada indivíduo, utilizando seringas e agulhas descartáveis. Em seguida, a amostra de sangue foi

dividida em alíquotas de quatro, um e dois ml, as quais foram acondicionadas em tubos contendo anticoagulante (EDTA), para realização da técnica de filtração em membrana, em tubo contendo 9ml de formalina para a realização da técnica de Knott, não utilizada nessa pesquisa, e em tubo seco, para retração do coágulo e obtenção do soro. Após a coleta de sangue venoso, uma amostra de aproximadamente 160µl de sangue capilar foi obtida via punção digital, com auxílio de uma lanceta descartável, para a realização do teste do cartão ICT (100µl) e confecção da gota espessa (60µl), esta última não utilizada no seguimento do estudo. A leitura do cartão ICT foi feita no campo, por técnicos treinados, 10 minutos após a realização do exame. As amostras de sangue venoso foram acondicionadas em recipientes térmicos, transportadas ao laboratório e armazenadas em geladeira (temperatura de 2 a 8°C) para serem processadas no dia seguinte.

As amostras acondicionadas em tubo seco foram centrifugadas, tendo o soro sido separado em alíquotas que foram estocadas a -20°C.

4.5 Padronização das técnicas

4.5.1 Filtração em membrana de polycarbonato

Esta técnica tem como princípio a identificação e quantificação das microfilárias em sangue periférico. As amostras de sangue foram filtradas em membranas de 13mm e poros de 3µm de diâmetro. Os filtros foram lavados com solução salina e água destilada (água tipo II) até que a membrana ficasse com o mínimo de resíduos. As membranas foram colocadas em lâminas e deixadas para secar a temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram fixadas com álcool metílico e coradas com Hematoxilina de Carrazi e lidas em microscópio óptico, sendo a técnica sido interpretada como positiva quando havia visualização da microfilária.

4.5.2 Teste do cartão ICT

Este teste (BinaxNOW *filariasis*) é produzido pela BINAX INC – Princeton – EUA, em forma de teste rápido em cartão, e contém o anticorpo AD12 que reconhecem antígenos filariais no sangue de indivíduos infectados. Os cartões são

armazenados em geladeira (2 a 8°C) e são levados a campo em caixas térmicas. Após a coleta de 100µl de sangue capilar em tubo heparinizado, a amostra foi gotejada na parte interna do cartão, que contém uma área impregnada pelo anticorpo AD12, que ao reagir com os antígenos filariais presentes na amostra de sangue exibem uma linha visível mais clara ou mais escura na área teste do cartão que é indicativo de positividade. Os cartões que exibem a linha do controle são considerados válidos. A leitura e interpretação do cartão foram feitas imediatamente após a realização do teste, seguindo a orientação do fabricante, que relata: “Qualquer linha visível na área do teste indica o resultado positivo. Este teste é positivo quando a linha na área do teste aparece mais clara ou mais escura do que a linha do controle”. Então, a presença de qualquer linha visível na área T do cartão, após 10 minutos de deposição da amostra, é interpretada como positivo.

4.5.3 Og4C3-ELISA

O teste Og4C3-ELISA está disponível em formato de kit (Trop-ag® *W. bancrofti*), produzido pela JCU Tropical Biotechnology Pty., Townsville, Queensland, Austrália e comercializado mundialmente. A técnica consiste na pesquisa de antígenos do parasita filarial através de um ensaio imunoenzimático. A execução e interpretação do resultado do Og4C3-ELISA foi feita de acordo com a orientação dos fabricantes. Resumidamente, as amostras de soro foram descongeladas e uma alíquota de 100µl foi adicionada a 300µL da solução diluente contida no kit. Em seguida, esta mistura foi fervida durante 5 minutos à temperatura de 100°C e centrifugada a 10.000g por 5 minutos. Posteriormente, uma alíquota de 50µl foi retirada do sobrenadante dessa solução e adicionada a um dos poços da placa de ELISA previamente sensibilizada pelo anticorpo monoclonal Og4C3. Alíquotas de 50µl dos sete padrões e do branco foram colocadas em duplicata na placa. Após a incubação da placa em câmara úmida por uma noite, essa placa foi lavada por três vezes, com incubações de 1 hora cada, acrescentando primeiro uma solução diluída de anticorpo anti-*Onchocerca* de coelho, conjugado e cromógeno que acompanham o kit. Depois do último período de incubação (1 hora), a placa foi lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 414 e 492nm, onde os resultados foram expressos em absorbância (densidade ótica). Os valores expressos em

densidade ótica foram convertidos em unidade de antígeno em um programa específico no Excel. Valores de UA ≥ 128 foram interpretados como positivos.

4.5.4 CELISA Bm14

O teste para detecção de anticorpos vem sendo úteis para mapear e monitorar a distribuição da filariose em regiões que implementaram o tratamento em massa na população. Segundo alguns autores, as taxas de prevalência de anticorpos e os títulos em indivíduos residentes em áreas endêmicas sugerem que muitos destes indivíduos possuem infecções ativas, pode refletir infecção pré-patente, ou simplesmente uma exposição excessiva ao parasita, sem estabelecimento de parasitose (RAMZY et al., 1995; TISCH et al., 2008). Os anticorpos antifilariosais (IgG4 específico) foram mensurados utilizando o teste CELISA Bm14, produzido por Cellabs Pty Ltd. e foi realizado de acordo as instruções do fabricante. As amostras de soro foram diluídas na proporção de 1:100 com a solução diluente presente no kit. Em seguida, 100 μ l dessa diluição, juntamente com os controles de referência (positivo, negativo e branco) foram adicionados nos poços da placa de ELISA previamente sensibilizada com o antígeno. Após incubação em câmara úmida a 37°C por uma hora, a placa passou por quatro lavagens. Após essa lavagem, 100 μ l do conjugado diluído foi adicionado em cada poço e permaneceu incubada por 45 minutos a 37°C, conforme instruções do fabricante. Em seguida, a placa foi novamente lavada e após esse procedimento, foi adicionado 100 μ l do substrato (preparado de acordo com as instruções do fabricante) em cada poço. Finalmente, a placa foi colocada em câmara escura e agitada manualmente a cada cinco minutos (por três vezes). Por fim, a interrupção da reação antígeno anticorpo foi realizada, com a adição de 100 μ l da solução de parada. A leitura da placa foi feita em espectrofotômetro, com densidade ótica (DO) medida em comprimento de onda de 450 e 620nm. O Cut-off foi calculado a partir das médias de amostras de áreas não endêmicas sabidamente livres da infecção, onde os valores somados a 3 desvio-padrões para mais eram considerados positivos, para menos considerados negativos e os valores contidos nesse intervalo como indeterminados. Esses indeterminados foram excluídos da análise.

4.6 Variáveis

As variáveis do estudo estão especificadas de acordo com o quadro a seguir:

Quadro 2 – Variáveis utilizadas no estudo

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO	CATEGORIZAÇÃO
Sexo		Masculino Feminino
Idade	Idade em anos completos no início do estudo	5 a 70
Tratamento	Tratamento com DEC	Não recebeu Recebeu
Antigenemia qualitativa (Teste do cartão ICT)	Teste imunocromatográfico para diagnóstico da filariose através de antígeno de <i>W. bancrofti</i> .	Negativo Positivo
Microfilaremia quantitativa (Filtração em membrana)	Quantidade de microfilárias em 1ml de sangue venoso pela técnica de filtração	Quantitativa
Microfilaremia qualitativa (Filtração em membrana)	Microfilárias em 1ml de sangue venoso pela técnica de filtração	Negativo (ausência de microfilária) Positivo ($\geq 1mf/ml$)
Antigenemia quantitativa (Og4c3-ELISA)	Quantidade de antígenos detectados em 100 μ l da amostra de soro	Quantitativo (UA ou DO)
Níveis de anticorpo quantitativa (BM14)	Quantidade de antígenos detectados em 2 μ l da amostra de soro	Densidade ótica (DO)

Fonte: A autora

4.7 Análise dos dados

Realizou-se uma análise descritiva das principais características da população de estudo no início do seguimento e de adesão ao tratamento. As variáveis contínuas foram sumarizadas sob a forma de tabelas e gráficos, com o uso de algumas medidas descritivas como mínimo, máximo, média, desvio padrão e amplitude de variação, e qualitativas, sob a forma de proporções.

Os percentuais de tratados em cada ciclo de tratamento foram descritos. Devido a problemas técnicos com os kits Og4C3-ELISA, as amostras coletadas nos momentos pós quarta e a quinta doses não foram testadas por esta técnica.

Foram incluídos na análise, os indivíduos que foram avaliados no momento pré-tratamento e tomaram ao menos a primeira dose de tratamento em massa. Os percentuais de queda da frequência de positivos entre as avaliações (T_0 a T_5), pelas técnicas pelo ICT e pela Filtração, foram calculados e a significância estatística testada pelo qui-quadrado de tendência.

As médias de densidade microfilarêmicas foram estimadas utilizando o método da regressão binomial negativa, tendo em vista a larga dispersão dos valores. A comparação entre as médias de DO dos testes Og4C3 e BM14 observadas em cada avaliação foi feita utilizando o teste Friedman.

A entrada e análise dos dados foram realizadas utilizando o software SPSS e Epiinfo 3.5.1. Todas as conclusões foram tomadas com nível de significância de 5%.

4.8 Limitações do estudo

As principais limitações desse estudo são as perdas de seguimento, devido à dificuldade de realização de coletas noturnas, além do período relativamente grande (em média um ano) entre as avaliações e o longo tempo de acompanhamento dos indivíduos (seis anos). Esse problema pode resultar em viés de seleção, caso a população que permaneceu no estudo seja diferente da população que saiu. Outro possível problema é o viés de informação sobre o tratamento, que provavelmente ocorreu nas duas primeiras doses, devido à ausência desses registros na secretaria de saúde e que, conseqüentemente, foram relatadas pelos próprios participantes.

5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Essa pesquisa é parte de um estudo conduzido pelo Serviço de Referência Nacional em Filarioses (SRNF), que foi anteriormente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ: 74/06 e CAEE: 0069.0.095.000-06). Todas as informações obtidas para essa pesquisa foram gentilmente cedidas pelo SRNF e Secretaria Municipal de Saúde de Olinda (SMSO) de acordo com as cartas de anuência em anexo (Anexo A e B, respectivamente).

6 RESULTADOS

6 RESULTADOS

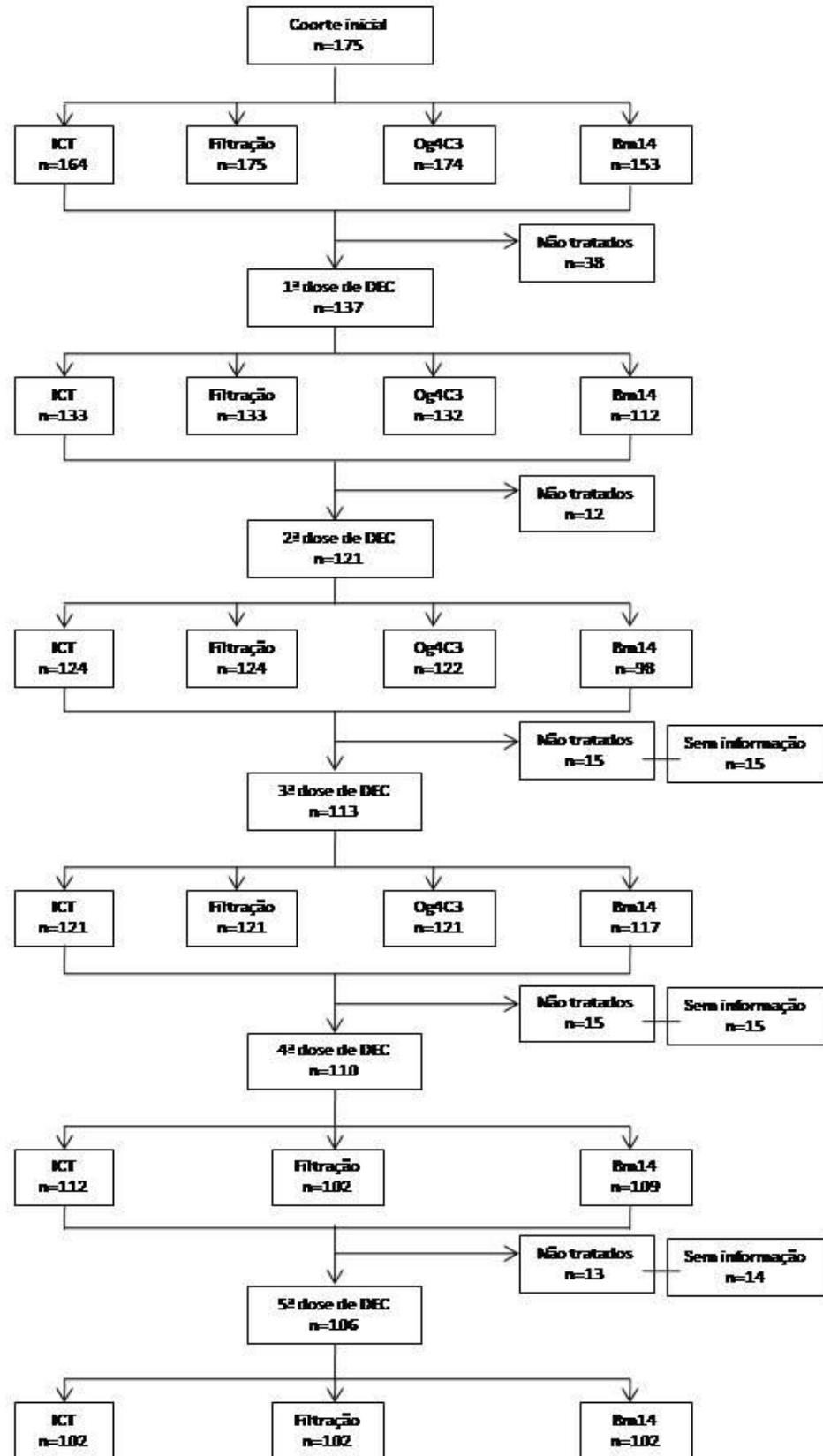
Do total de 190 portadores de infecção filarial identificados antes do início do tratamento em massa, 175 concordaram em ser seguidos e foram submetidos à coleta de sangue. Destes, todos foram submetidos à pesquisa de microfilárias pela técnica da filtração e 79 foram positivos. Entre os 164 indivíduos da coorte testados pelo cartão ICT, todos foram positivos por essa técnica e 73 foram igualmente positivos pela filtração. A figura 6 apresenta o fluxograma de seguimento da coorte de estudo de acordo com o método laboratorial e período de avaliação.

Quanto às características dos indivíduos que constituíram a linha de base do estudo, a maior parte era do sexo masculino, com média de idade de 24 anos, e variação entre 5 e 70 anos. A densidade de microfilárias variou de 1 a 1.834 mf/mL, com mediana de 88 mf/mL (Tabela 1).

Com relação à adesão ao tratamento, mais de 50% dos participantes receberam todas as cinco doses de DEC, enquanto que cerca de 40% foram tratados pelo menos uma vez. Um total de 10 não tomou nenhuma dose de tratamento.

A tabela 2 mostra a frequência de tratados segundo ciclo de tratamento em massa, observando-se que o percentual de tratados foi de cerca de 80% na maioria dos ciclos de tratamento.

Figura 5 - Fluxograma de acompanhamento, 2007-2012.



Fonte: A autora

Tabela 1 - Características sociodemográficas, *status* de infecção pré-tratamento segundo teste laboratorial e cobertura de tratamento anual na população de estudo. Olinda, Brasil. 2007

Características (n=175)	N	Media (DP), Mediana (intervalo) ou n(%)
Idade (anos)	175	23,8 ± 16,9
Sexo, n %		
Masculino	103	58,9
Feminino	72	41,1
Prevalência de microfilaremia (filtração)	79	45,1
Prevalência antigenemia filarial (cartão ICT)	164	93,7
Densidade de microfilárias (mf/mL) (filtração)*	78	88 (1 -1.834)
Antigenemia filarial (U.I) (Og4C3)**	169	7,477 (1-47.609)
Anticorpos antifilariais (BM14) (DO)***	153	2.066 (0.0030-2.5500)
Número de doses de tratamento. n %		
5 doses	99	56,6
1-4	66	37,7
Nenhuma	10	5,7

Fonte: A autora

Nota: *78mf+

**169 examinados

***153 examinados

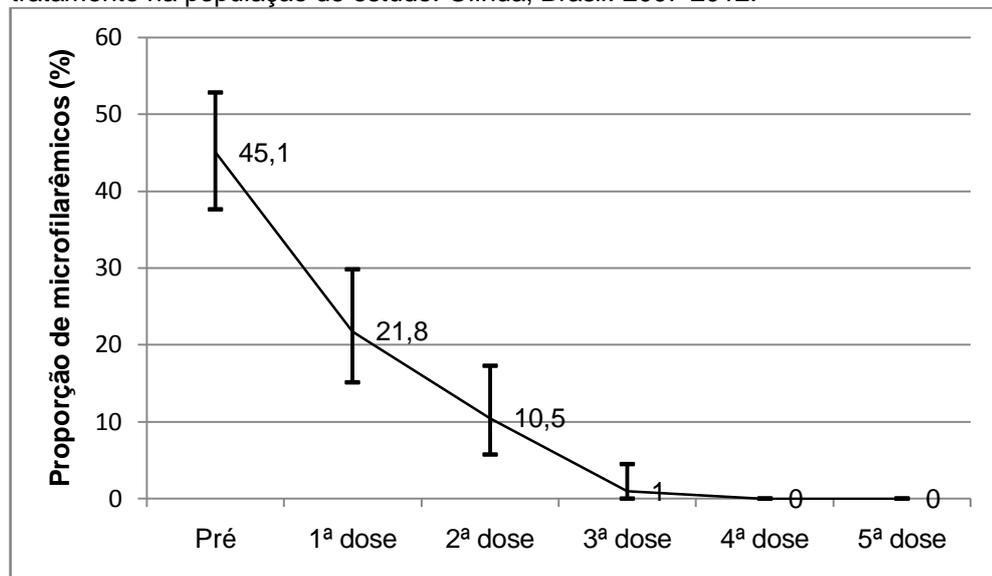
Tabela 2 - Frequência de tratados segundo ciclo de tratamento em massa na população de estudo. Olinda, Brasil. 2007-2012.

Ciclo de tratamento	Tratamento		Total
	Sim N (%)	Não N %	
1º	137 (78,3)	38 (21,7)	175
2º	121 (91,0)	12 (9,0)	133
3º	113 (88,3)	15 (11,7)	128
4º	110 (88,0)	15 (12,0)	125
5º	106 (89,1)	13 (10,9)	119

Fonte: A autora

A figura 6 mostra a curva de redução do percentual de microfilarêmicos de acordo com o ciclo de tratamento. Observa-se que a proporção de microfilarêmicos sofreu progressiva redução, após primeira dose, atingindo valores iguais a zero a partir da quarta dose de tratamento (χ^2 de tendência=147.97; $p=0.0000$). Essa queda foi mais acentuada após a primeira dose, quando se observou um declínio de 51,7%.

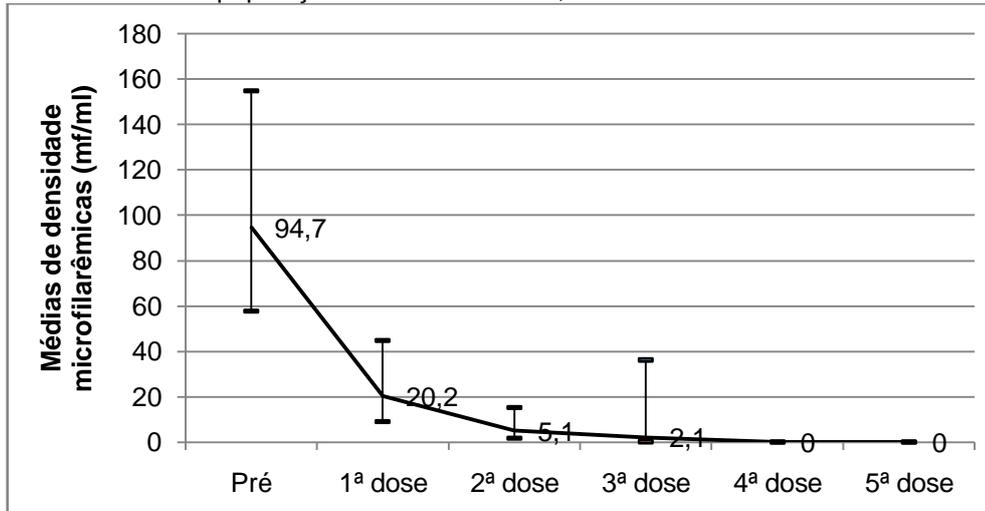
Figura 6 - Percentual de microfilarêmicos no período de acordo com ciclo de tratamento na população de estudo. Olinda, Brasil. 2007-2012.



Fonte: A autora

A figura 7 mostra a curva de redução das médias de densidade microfilarêmicas estimadas no modelo de regressão binomial negativa, de acordo com o ciclo de tratamento. Observou-se uma acentuada queda a partir da primeira dose de tratamento e o total clareamento após a quarta dose.

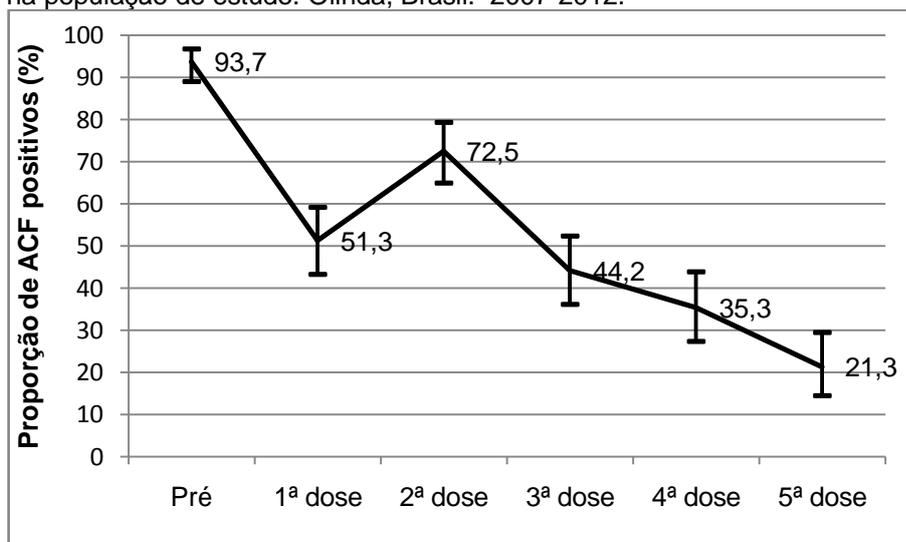
Figura 7 - Médias de densidade microfilarêmicas no período de acordo com ciclos de tratamento na população de estudo. Olinda, Brasil. 2007-2012.



Fonte: A autora

Quanto ao percentual de positivos pelo cartão ICT, observa-se uma acentuada redução após a primeira dose (44,6%), que foi seguida por uma elevação de 25% após a segunda dose, voltando a se observar tendência de queda após a terceira dose até atingir um percentual de positivos de cerca de 20% após a quinta dose ($\chi^2=183,40$; $p=0,0000$) (Figura 9). O percentual global de redução dos positivos após as cinco doses de tratamento foi de 78,1%.

Figura 8 - Percentual de ICT positivos de acordo com ciclo de tratamento na população de estudo. Olinda, Brasil. 2007-2012.

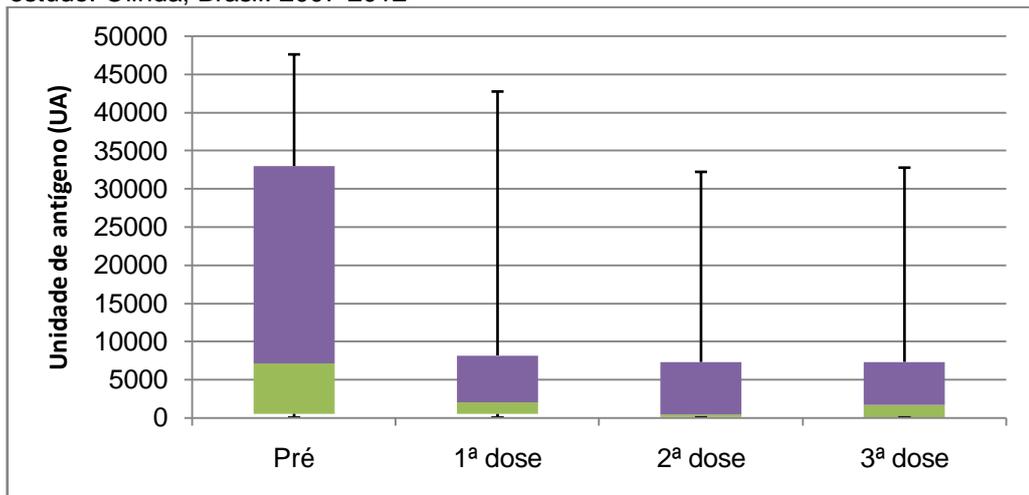


Fonte: A autora

Em relação aos níveis de Og4C3, constatou-se o significativo declínio dos níveis de antigenemia filarial a partir da primeira dose de tratamento. A mediana dos valores da U.A., que era 7.117 u.a. antes do tratamento, atingiu o nível de 1.715 u.a após terceira dose (Teste de Friedman=137,916; $p=0.000$).

(Figura 9)

Figura 9 - Antigenemia filarial (Og4C3) de acordo com ciclos de tratamento na população de estudo. Olinda, Brasil. 2007-2012

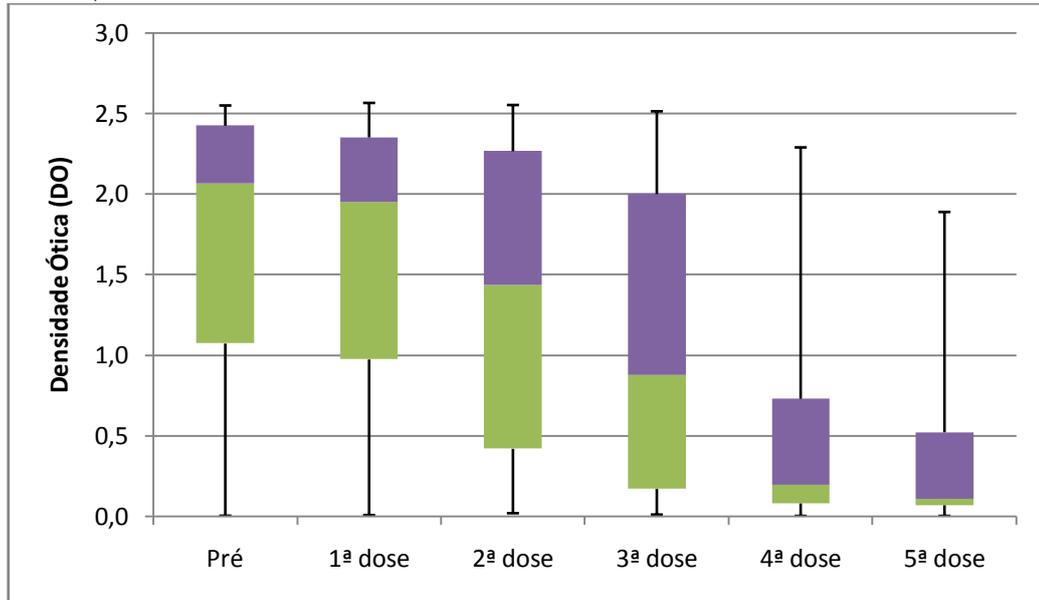


Fonte: A autora

Com relação aos anticorpos antifilariais IgG4, observou-se uma estabilidade dos níveis de anticorpos até a primeira dose, observando a redução progressiva dos níveis de anticorpos (D.O) da segunda dose de tratamento.

A mediana dos valores da D.O., que era 2,1 antes do tratamento declinou para níveis 0,1 D.O. após a quinta dose (Teste de Friedman=136,514; $p=0.000$) (Figura 10).

Figura 10 - Anticorpos antilariais (BM14) de acordo com o ano de tratamento. Olinda, Brasil. 2007 e 2012.



Fonte: A autora

7 DISCUSSÃO

7 DISCUSSÃO

Este estudo analisou o efeito de repetidos ciclos de tratamento em massa utilizando a monoterapia com DEC como esquema terapêutico fornecendo informações relevantes ao programa de controle e eliminação da Filariose Linfática no Brasil. Do grupo inicial de 190 indivíduos identificados nos inquéritos, 15 foram excluídos da análise por não terem realizado coleta de amostras no início do estudo (pré-tratamento). Da mesma forma, dos 175 que continuaram na análise, 38 foram excluídos por não terem recebido a primeira dose de tratamento e quatro indivíduos excluídos por não terem coletado pós primeira dose. Essas perdas poderiam ocasionar distorções nos resultados de nossa análise, caso as características da população que participou de todo o seguimento fosse diferente da encontrada nos que não foram acompanhados em todo o período. No entanto, a comparação entre a população que foi acompanhada em todos os ciclos de tratamento em relação aos que não permaneceram na coorte, não evidenciou diferença estatisticamente significativa entre sexo, faixa etária ou densidade microfilarêmica pré tratamento. Dessa forma, conclui-se que possivelmente não ocorreu viés de seleção neste estudo.

Nossos dados demonstraram o total clareamento das microfilarías após a quarta dose de tratamento. A prevalência de microfílaemia sofreu acentuada queda após a primeira dose de DEC, atingido níveis próximos a zero depois da terceira dose. Esse resultado concorda com alguns estudos conduzidos em áreas endêmicas que avaliaram a cinética da microfílaemia tanto com DEC sozinho ou com a terapia combinada DEC+ALB (FRASER, 2005; HELMY et al., 2006; RAMAIAH et al., 2011; RAJENDRAN et al., 2006; SIMONSEN et al., 2005; TISCH et al., 2008; WEIL et al., 2008) De qualquer forma, os estudos que compararam os dois tratamentos salientam que a superioridade do esquema combinado consiste no amplo espectro de ação do albendazol no tratamento dos helmintos intestinais, fornecendo assim, um benefício adicional para o bem estar dos indivíduos tratados que podem ou não ter filariose (ISMAIL et al., 2001; RANJENDRAN et al., 2004).

Essa tendência de queda da proporção de microfilarêmicos e da densidade de microfílaemia foi também observada em relação aos níveis de antígenemia e anticorpos filariais, todos apresentando significativa redução após esse período. Assim, nossos dados confirmam a eficácia da monoterapia com DEC, nas doses

administradas, no tratamento dos portadores de infecção por *Wuchereria bancrofti* em áreas submetidas ao tratamento em massa.

Semelhante ao observado com a microfilaremia, observou-se redução dos níveis de antigenemia filarial, mensurada pelo teste Og4C3 e da proporção de positivos pelo teste do cartão ICT. Contudo, a persistência de níveis detectáveis de antigenemia foi observada até o final do período de seguimento (cinco anos para o ICT e três anos para o Og4C3).

Embora tenha se observado uma redução próxima a 80% na prevalência de positivos pelo cartão ICT após a quinta dose de tratamento, constatou-se uma elevação dos níveis de prevalência após a segunda dose, tendo esse padrão se mantido quando se repetiu a análise em diferentes estratos, segundo número de doses tomadas (cinco doses versus pelo menos uma dose), sexo e grupo etário. Resultado semelhante foi observado por Hoti et al. (2010) após o segundo ano de acompanhamento de indivíduos microfilarêmicos tratados com três doses únicas de DEC, examinando a cinética de antígenos filariais pelo Og4C3. Os autores atribuíram esse resultado a re-infecção dos indivíduos tratados que continuam residindo em áreas endêmicas ou a reativação dos vermes adultos que provavelmente foram inativados pela droga.

Outros fatores a serem considerados são erros ou discordância na interpretação do resultado do cartão ICT entre as equipes de examinadores no campo, já que o ICT é um teste observador-dependente e a definição do diagnóstico pelos fabricantes torna o teste susceptível a erros de interpretação dos resultados, principalmente nos cartões que apresentam linhas fracas na área do teste. Segundo estudo realizado por Braga et al. (2003) apesar de não terem avaliado a reprodutibilidade do teste, os autores levantam a hipótese de que os resultados limítrofes podem levar a interpretações diferentes entre observadores ou grupos de pesquisas que podem resultar em diferentes índices de precisão. Ou ainda, outra possível explicação seria a ocorrência de variações na sensibilidade entre lotes de kits, já que vários lotes foram utilizados nessa pesquisa.

Com relação a antigenemia filarial mensurada pelo Og4C3, observou-se declínio significativo do antígeno, porém como essa ferramenta por problemas técnicos não pode ser realizada até o fim do estudo, cerca de 70% dos indivíduos ainda apresentava unidade de antígeno acima do ponto de corte considerado como positivo (128ua).

Apesar de ao final do estudo ainda termos indivíduos com antigenemia filarial circulante, a proporção de positivos apresentou um declínio significativo, e necessita ser acompanhado por um período mais longo, já que a persistência do antígeno tem sido observada em estudos prospectivos em indivíduos infectados submetidos a várias doses de tratamento com DEC ou DEC+ALB (FREEDMAN et al., 2001; RAJENDRAN et al., 2004; RAMAIAH et al., 2011; SUNISH et al., 2006; TISCH et al., 2008; WAMAE et al., 2011; WEIL et al., 2008). Segundo a literatura, a redução desse parâmetro decai mais lentamente do que a microfilaremia, podendo persistir por anos, tendo sido observado que em alguns indivíduos a conversão de antígeno positivo para antígeno negativo só ocorre após cinco anos de tratamento, porém a persistência do antígeno nesses indivíduos não necessariamente indica infecção ativa (LAMMIE et al., 2004; NJENGA et al., 2011; RAJENDRAN et al., 2004; ROCHA et al., 2009; TISCH et al., 2008; WAMAE et al., 2011; WEIL et al., 2008).

Os fatores envolvidos nesse fenômeno ainda não estão plenamente esclarecidos, porém uma das explicações se deva à incapacidade dos tratamentos em massa de eliminar completamente os vermes adultos (BOCKARIE; DEB, 2010; MELROSE, 2003; NICOLAS et al., 1997; WEIL et al., 2008;). Por outro lado, a permanência de antigenemia filarial, mesmo em indivíduos tratados com elevadas doses de DEC, sugere que esse não seja o marcador ideal para se diferenciar indivíduos com infecção ativa dos que tiveram infecção passada e, portanto, necessariamente não indique falha terapêutica (BOCKARIE; DEB, 2010; FREEDMAN et al., 2001; MALLA et al., 2007; McCARTHY, 2000; MELROSE, 2003; SIMONSEN et al., 2005; SUNISH et al., 2006; WAMAE et al., 2011; WEIL; RAMZY, 2006)

O acompanhamento dos anticorpos antifilariais, mensurados pelo teste Bm14, mostrou que os níveis se mantiveram em plateau após a primeira dose de tratamento, e em seguida sofreu progressivo declínio até atingir níveis próximos a zero após a quinta dose de tratamento. Chama a atenção o fato desse declínio mais acentuado ter coincidido com o período de clareamento das microfilárias, sugerindo a redução dos níveis de exposição à infecção filarial nesses indivíduos, e reforçando a hipótese de interrupção da transmissão.

Helmy et al (2006) defendem que a persistência de anticorpos positivos parece refletir em infecção ativa na área. Apesar dessa suposição, em seu estudo foi observado que alguns indivíduos antígeno positivos e/ou microfilarêmicos eram

negativos para anticorpos antifilariosais, enquanto outros que ao longo do tratamento tornaram-se amicrofilarêmicos e antígeno-negativo tinham altos níveis de anticorpos. Os autores justificaram esse achado, afirmando a existência de variabilidade no comportamento desse parâmetro em adultos após o tratamento. Tendo em vista as controvérsias, em de acordo com outros autores eles defendem a utilização desse teste nas crianças pequenas como um meio de acompanhamento da evolução da transmissão da filariose em áreas sob o tratamento. Segundo pesquisas, os menores nascidos após a interrupção da transmissão da doença não devem ter anticorpos antifilariosais (HELMY et al., 2006; LAMMIE et al., 2004; RAMZY, 2006; WEIL et al., 2008).

Contudo, deve-se ressaltar que as curvas de redução dos anticorpos e dos antígenos em nenhum momento atingiram o ponto zero, e essa redução mais branda poderia ser explicada pela lenta eliminação do antígeno na circulação que estimula a produção de anticorpos, e devido à incapacidade dos tratamentos em massa de eliminar completamente os vermes adultos (BOCKARIE; DEB, 2010; MELROSE, 2003; NICOLAS et al., 1997; WEIL et al., 2008). Por esse motivo, recomenda-se um maior tempo de acompanhamento desses indivíduos, além da utilização de outras ferramentas para avaliação do tratamento em massa, como por exemplo, o xenomonitoramento, para se garantir a interrupção da transmissão na área.

Os resultados desse estudo mostram a elevada eficácia do esquema terapêutico utilizado no clareamento da microfilaremia e tratamento dos infectados, e sugerem que a utilização desse esquema na população possivelmente tenha levado a interrupção da transmissão na área. Conclui-se, portanto, que a monoterapia com DEC é uma opção terapêutica eficaz a ser adotada em programas de eliminação da FL. Entretanto, devido ao efeito microfilaricida mais potente do esquema combinado DEC+ALB (FOX et al., 2005) o qual promove o clareamento das microfilárias dentro de um período mais curto, e com a instituição do Programa de tratamento preventivo integrado para controlar as doenças tropicais negligenciadas (DTNs), a terapia combinada DEC+ALB parece ser a medida mais apropriada, pois permite a eliminação ou controle de outras doenças, como as geo-helminthíases e tracoma (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2011).

Nossos achados mostraram também o uso potencial do teste BM14 como ferramenta de acompanhamento e vigilância de populações residentes em áreas

endêmicas de filariose bancroftiana e alvo de programas de eliminação e controle dessa doença, sendo capaz de avaliar o impacto do tratamento em massa sobre a transmissão da infecção filarial.

8 CONCLUSÕES

8 CONCLUSÕES

- a) O tratamento em massa com doses anuais de DEC (6 mg/kg) sem adição do Albendazol promoveu a rápida redução da microfilaremia e clareamento das microfilárias após a 4ª dose de tratamento;
- b) Conclui-se serem necessárias pelo menos quatro doses anuais de DEC para se garantir a interrupção da transmissão na área;
- c) Antígeno recombinante Bm14 demonstrou ser uma ferramenta útil na avaliação do impacto do tratamento, uma vez que o declínio dos seus níveis coincidiu com a negatização das microfilárias.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- a) Recomendamos um maior tempo de acompanhamento
- b) Utilização de outras ferramentas para avaliação do tratamento em massa e garantir a interrupção da transmissão na área

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ADDIS, D.; DREYER, G. Treatment of lymphatic filariasis. In: NUTMAN, T. B. **Lymphatic Filariasis**. London: Imperial College, 2000. cap. 5, p. 103-125.

ALVES, V. **Olinda dá início ao tratamento coletivo de Filariose**. Olinda, 2009. Disponível em: <<http://www.olinda.pe.gov.br/saude/olinda-da-inicio-ao-tratamento-coletivo-de-filariose>>. Acesso em: 28 mar. 2013

BABU, B. V.; MISHRA, S. Mass drug administration under the programme to eliminate lymphatic filariasis in Orissa, India: a mixed-methods study to identify factors associated with compliance and non-compliance. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 102, p.1207-1213, 2008.

BOCKARIE, M. J.; TAYLOR, M. J., GYAPONG, J. O. Current practices in the management of lymphatic filariasis. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, London, v. 7, n. 5, p. 595-605, 2009.

BOCKARIE, M. J.; DEB, R. M. Elimination of lymphatic filariasis: do we have the drugs to complete the job? **Current opinion in infectious diseases**, London, v. 23, p. 617-620, 2010.

BRAGA, C. et al. Evaluation of a social and environmental indicator used in the identification of lymphatic filariasis transmission in urban centers. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 1211-1218, 2001.

BRAGA, C. et al. Field evaluation of the whole blood immunochromatographic test for rapid bancroftian filariasis diagnosis in the northeast of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 125-129, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano Integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelmintíases: plano de ação 2011-2015**. Brasília, 2012.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (Estados Unidos). **Lymphatic Filariasis: Biology**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/lymphaticfilariasis/biology_w_bancrofti.html>. Acesso em: 30 out. 2013.

CHANDRASHEKAR, R. et al. Evaluation of a recombinant antigen-based antibody assay for diagnosis of bancroftian filariasis in Egypt. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 64, p. 261-271, 1994.

COX, F. Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem. **Parasitology Today**, Oxford, v. 16, p. 135, 2000.

CRITCHLEY, J. et al. Albendazole for lymphatic filariasis. **Cochrane Database Systematic Review (on line)**, Oxford, v. 4, p. 125-131, 2004.

DE ROCHARS, M. B. et al. Community-wide reduction in prevalence and intensity of intestinal helminths as a collateral benefit of lymphatic filariasis elimination programs. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 71, n. 4, p. 466-470, 2004.

DREYER, G. et al. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. **Tropical Medicine International Health**. Oxford, v. 1, n. 2, p.264-272, 1996.

DREYER, G.; NORÕES, J. Dietilcarbamazina no tratamento da filariose bancroftiana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília. v. 30, n. 3, p. 229-240, 1997.

FERNANDO, S. D.; RODRIGO, C.; RAJAPAKSE, S. Current Evidence on the Use of Antifilarial Agents in the Management of Bancroftian Filariasis. **Journal of Tropical Medicine**. London, v 17, p. 59-41. 2011.

FONTES, G.; ROCHA, E. M. M. Filariídea: *Wuchereria bancrofti* – Filariose linfática. In: NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 11. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005. cap. 35, p. 180-199.

FONTES, G. et al. Lymphatic filariasis in Brazil: epidemiological situation an Outlook for elimination. **Parasite & Vectors**, London, v. 5, p. 272-278. 2012

FOX, L. M. et al. Tolerance and efficacy of combined diethylcarbamazine and albendazole for treatment of *Wuchereria bancrofti* and intestinal helminth infections in Haitian children. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 73, n. 1, p.115-121, 2005.

FRASER, F. et al. Evaluation of the program to eliminate lymphatic filariasis in Vanuatu following two years of mass drug administration implementation: Results and methodologic approach. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.73, n 4, p. 753-758, 2005.

FREEDMAN, D. et al. Effect of aggressive prolonged diethylcarbamazine therapy on circulating antigen levels in bancroftian filariasis. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 6, p. 37-41, 2001.

GYAPONG, J. et al. Prevalence of hydrocele as a rapid diagnostic index for lymphatic filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.92, p. 40-43, 1998.

JOSEPH, H. M.; MELROSE, W. Applicability of the Filter Paper Technique for Detection of Antifilarial Antibodies Using the Bm14 Filariasis CELISA. **Journal of Parasitology Research**, (online) v. 6, p. 116-120, 2010.

HELMY, H. et al. Bancroftian filariasis: effect of repeated treatment with diethylcarbamazine and albendazole on microfilaraemia, antigenaemia and antifilarial

antibodies. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 100, p. 656-662, 2006.

HOTI SL et al. Effect of a single dose of diethylcarbamazine, albendazole or both on the clearance of *Wuchereria bancrofti* microfilariae and antogenaemia among microfilaria carriers: a randomized trial. **The National Medical Journal of India**, New Dehli, v. 23, n. 2 p. 72-76, 2010.

IBGE. **Censo demográfico 2010**: Características populacionais e domiciliares. Rio de Janeiro, 2010. <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 28 mar. 2013.

ISMAIL, M. M. et al. Long-term efficacy of single-dose combinations of albendazole, ivermectin and diethylcarbamazine for the treatment of bancroftian filariasis. **Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**. London, v. 95, p. 332-335, 2001.

KUMARASWAMI V. The clinical manifestations of Lymphatic Filariasis. In: NUTMAN T. B. **Lymphatic Filariasis**. 1. ed. London: Imperial College, 2000. p. 103–125.

LAHARIYA, C.; MISHRA, A. Strengthening of mass administration implementation is required to eliminate lymphatic filariasis from India: na evaluation study. **Journal Vector of Borne Disease**. Delhi, v.45, n. 4, p.313-320, 2008.

LAMMIE, P. et al. Recombinant antigen based assays for the diagnosis and surveillance of lymphatic filariasis - a multicenter trial. **Filaria Journal**, London, v. 3, n. 9, 2004.

LAMMIE, P.; MILNER, T.; HOUSTON, R. Unfulfilled potential: using diethylcarbamazine-fortified salt to eliminate lymphatic filariasis. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 85, p. 545-549, 2007.

LIMA P. et al. Adverse reactions following mass drug administration with diethylcarbamazine in lymphatic filariasis endemic areas in the Northeast of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Brasília, v. 45, n. 6, p. 745-750, 2012.

MAIZELS, R. M. et al. T cell activation and the balance of antibody isotypes in human Filariasis. **Parasitology Today**, Cambridge, v. 11, p. 50-56, 1995.

MALLA, N.; ELANGO, A.; PANI, S. P.; MAHAJAN, R. C. Kinetics of microfilaraemia e antigenaemia by Og4C3 ELISA in bancroftian filariasis. **Indian Journal of Medicine**. New Dehli, v.126, p. 567-574. 2007.

MASSA, K. A. et al. The combined effect of the Lymphatic Filariasis Elimination Programme and the Schistosomiasis and Soil-transmitted Helminthiasis Control Programme on soil-transmitted helminthiasis in schoolchildren in Tanzania. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 103, n. 1, p. 25-30, 2009.

MATHIEU, E. et al. Factors associated with participation in a campaign of mass treatment against lymphatic filariasis, in Leogane, Haiti. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 98, p. 703–714, 2004.

MCCARTHY, J. Diagnosis of lymphatic filarial infections. In: NUTMAN, T. B. **Lymphatic Filariasis**. 1. ed. London: Imperial College, 2000, cap. 6, p. 127-150.
McLAUGHLIN, S. I. et al. Frequency, severity, and costs of adverse reactions following mass treatment for lymphatic filariasis using diethylcarbamazine and albendazole in Leogane, Haiti, 2000. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 68, n. 5, p.568-573, 2003.

MELROSE, W. D. Lymphatic filariasis: new insights into an old disease. **International Journal for Parasitology**. New York, v. 32, n. 8, p. 947-960, 2002

MELROSE, W. D. Chemotherapy for lymphatic filariasis: progress but not perfection. **Expert Review Anti-infect Therapy**. London, v. 1, n. 4, p. 571-577, 2003.

MELROSE, W. D. **Lymphatic Filariasis: A review 1862-2002**. Australia, National Library of Australia, 2004.

NICOLAS, L. et al. Reduction of *Wuchereria bancrofti* Adult Worm Circulating Antigen after Annual Treatments of Diethylcarbamazine Combined with Ivermectin in French Polynesia. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 175, p. 489-492, 1997.

NJENGA, S. M. et al. Impact of two rounds of mass treatment with diethylcarbamazine plus albendazole on *Wuchereria bancrofti* infection and the sensitivity of immunochromatographic test in Malindi. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 102, p. 1017-1024, 2008.

NJENGA, SM et al. Sustained reduction in prevalence of lymphatic filariasis infection in spite of missed rounds of mass drug administration in an area under mosquito nets for malaria control. **Parasites & Vectors**. London, v.4; p.90-98, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global programme to eliminate lymphatic filariasis. **Weekly epidemiological Record**, Geneva, v.85, n. 38, p. 365-372, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Monitoring and epidemiological assessment of mass drug administration in the global programme to eliminate lymphatic filariasis: a manual for national elimination programmes**. Geneva, 2011

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Lymphatic Filariasis. **Fact sheet**, Geneva, n. 102, Mar. 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs102/en/#>>. Acesso em: 28 mar. 2013.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE. Regional Program Manager'S Meeting. **Lymphatic Filariasis elimination in the Americas**. Washington, 2010. v. 1.

OTTESEN, E. A. et al. Prominence of IgG4 in the IgG antibody response to human filariasis. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 134, p. 2707–2712, 1985.

OTTESEN, E. A. Filarial infections. **Infectious Diseases Clinics of North America**, New York, v. 7, p. 619-633. 1993

OTTESEN, E. A.; DUKE, B. O.; KARAM, M. Strategies and tools for the control/elimination of lymphatic filariasis. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 75, n. 6, p. 491-503, 1997.

RACHOU, R. G. Filariose nas capitais brasileiras, **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 6, p. 35-40, 1954.

RAMAIAH, K. D. et al. Effect of annual mass administration of diethylcarbamazine and albendazole on bancroftian filariasis in five villages in south India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 105, p. 431-437, 2011.

RAJENDRAN, R. et al. Impact of two annual single-dose mass drug administrations with diethylcarbamazine alone or in combination with albendazole on *Wuchereria bancrofti* microfilaraemia and antigenaemia in South India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 98, p. 174-181, 2004.

RAJENDRAN R. et al. Community-based study to assess the efficacy of DEC plus ALB against DEC alone on bancroftian filarial infection in endemic areas in Tamil Nadu, south India. **Tropical Medicine and International Health**. London, v. 11, n. 6, p. 851-861, 2006.

RAMZY, R. M. et al. Evaluation of a recombinant antigen-based antibody assay for diagnosis of bancroftian filariasis in Egypt. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**. London, v. 89, p. 443-446, 1995.

RAMZY, R. M. et al. Effect of yearly mass drug administration with diethylcarbamazine and albendazole on bancroftiana filariasis in Egypt: a comprehensive assessment. **Lancet**, London, v.367, p.992-999, 2006.

REY, L. *Wuchereria bancrofti* e filariose linfática. In: _____. **Parasitologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 542-552.

RIZZO, J. A. et al. Children and adolescents infected with *Wuchereria bancrofti* in Greater Recife, Brazil: a randomized, year-long clinical trial of single treatments with diethylcarbamazine or diethylcarbamazine-albendazole. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**. London, v. 101, n.5, p. 423-433, 2007

ROCHA, A. Métodos laboratoriais disponíveis para o diagnóstico da filariose linfática. **Revista da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 4, p. 265-270, 2000.

ROCHA, A. et al. Comparison of tests for the detection of circulating filarial antigen (Og4C3-ELISA and AD12-ICT) and ultrasound in diagnosis of lymphatic filariasis in

individuals with microfilariae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 4, p. 621-625, 2009.

ROCHA, A. et al. Programa de controle e eliminação da filariose linfática: uma parceria da Secretaria de Saúde de Olinda – PE, Brasil, com o Serviço de Referência Nacional em Filariose. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 3, p. 233-249, 2010.

SHENOY, R. K. Clinical and pathological aspects of filarial lymphedema and its management. **Korean Journal of Parasitology**, Seoul, v. 46, p119–125. 2005

SIMONSEN, P. E., et al. The effect of eight half-yearly single-dose treatments with DEC on *Wuchereria bancrofti* circulating antigenaemia. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 99, n. 7, p. 541-547, 2005.

SIMONSEN, P. E. Filariases. In: COOK, G. C.; ZUMLA, A. I. **Manson's Tropical Disease**. 22 ed., London, Elsevier Limited, 2009. cap. 84, p. 930-968.

SIMONSEN, P. E. et al. Lymphatic Filariasis Control in Tanzania: Effect of Repeated Mass Drug Administration with Ivermectin and Albendazole on Infection and Transmission. **PloS neglected tropical diseases**, San Francisco, v. 4, n. 6, p. 696-699, 2010.

SIMONSEN, P. E. et al. Lymphatic filariasis control in Tanzania: effect of six rounds of mass drug administration with ivermectin and albendazole on Infection and transmission. **BMC Infectious Diseases**, London, v. 21, p. 313-335, 2013.

SUNISH, L. P. et al. Impact of single dose of diethylcarbamazine and other antifilarial drug combinations on bancroftian filarial infection variables: Assessment after 2 years. **Parasitology International**. Amsterdam, v. 55, p. 233-236, 2006.

TISCH, D. J. et al. Mass Drug Administration Trial to Eliminate Lymphatic Filariasis in Papua New Guinea: Changes in Microfilaremia, Filarial Antigen, and Bm14 Antibody after Cessation. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 78, n.2, p. 289–293, Feb. 2008.

WAMAE, C. N. et al. Evaluation of effectiveness of diethylcarbamazine/albendazole combination in reduction of *Wuchereria bancrofti* infection using multiple infection parameters. **Acta Tropica**. Basel, v. 120, Suppl. 1, p. S 33-38, 2011.

WEIL, G. J.; LAMMIE, P. J.; WEISS, N. The ICT filariasis test: A rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. **Parasitology Today**, Cambridge, v. 13, p. 401-404, 1997.

WEIL, G. J.; RAMZY, R. M. R. Diagnostic tools for filariasis elimination programs. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 78-82, 2006.

WEIL, G. J. et al. The Impact of Repeated Rounds of Mass Drug Administration with Diethylcarbamazine Plus Albendazole on Bancroftian Filariasis in Papua New

Guinea. **PloS neglected tropical diseases**, San Francisco, v. 2, n. 12, p. e344, 2008.

WEIL, G. J. et al. A multicenter evaluation of a new antibody test kit for lymphatic filariasis employing recombinant *Brugia malayi* antigen Bm-14. **Acta Tropica**, Basel, v. 120, n. 1, p.19-22, 2011.

WEWRASOORIYA, M. V. et al. Social mobilisation, drug coverage and compliance and adverse reactions in a Mass Drug Administration (MDA) Programme for the Elimination of Lymphatic Filariasis in Sri Lanka. **Filaria Journal**, London, v. 6, p. 1-10, 2007.

WITT, C.; OTTESEN, E. A. Lymphatic filariasis: an infection of childhood. **Tropical Medicine and International Health**. Oxford, v. 6, n.8, p.582-606, 2001.

ANEXOS

Anexo A – Carta de anuência do Serviço de Referência Nacional em Filariose (SRNF).



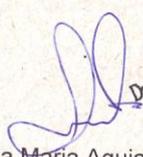
Departamento de Parasitologia
Serviço de Referência Nacional em Filariose



CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos, para os devidos fins, que concordamos com o desenvolvimento do projeto de pesquisa intitulado **Cinética de microfilaremia, antigenemia e anticorpos filariais em indivíduos infectados por *Wuchereria bancrofti*, tratados com doses únicas anuais de dietilcarbamazina em uma área endêmica no município de Olinda – PE**, orientada pela Prof^a Dra. Maria Cynthia Braga e do Dr. Abraham Rocha sob a responsabilidade da aluna do Mestrado Acadêmico em Saúde Pública desse Centro de Pesquisas, **Jennifer Sabrina Ferreira da Silva**, facultando-lhe o uso do laboratório do Serviço de Referência Nacional em Filariose (LSRNF) do referido centro, e a utilização do banco de amostras deste laboratório. Ressaltamos que esta concordância está condicionada a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ FIOCRUZ e que estamos fornecendo essa carta em virtude de todos os coordenadores e colaboradores do SRNF estarem diretamente envolvidos na pesquisa.

Recife, 03 de setembro de 2013


Dra. Ana Maria Aguiar dos Santos
SIAPE 420.001.01
Coordenadora Clínica do SRNF
Pesquisadora CPqam/ FIOCRUZ

Dr. Ana Maria Aguiar Santos
Pesquisador Titular,
Coordenadora Clínica do SRNF,

Abraham Rocha
rocha@cpqam.fiocruz.br
Coordenação do serviço

Ana Aguiar Santos
amas@cpqam.fiocruz.br
Coordenação clínica

Zulma Medeiros
medeiros@cpqam.fiocruz.br
Coordenação de epidemiologia

Eduardo Brandão
brandao@cpqam.fiocruz.br
Gestão da qualidade laboratorial

Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães
Av. Moraes Rego, s/n – CEP: 50670-420 Recife-PE
Fones: (81) 2101-2500 – Fax: (81) 3453-1911
<http://www.cpqam.fiocruz.br> - filariose@cpqam.fiocruz.br

**Anexo B – Carta de anuência da Secretaria Municipal de Saúde de Olinda
(SMSO).**



PREFEITURA MUNICIPAL DE OLINDA
Secretaria de Saúde

CARTA DE ANUÊNCIA PARA REALIZAÇÃO DE PESQUISA EM SAÚDE

Olinda, 29 de novembro de 2013.

Carta nº 042 / 2013

A Secretária de Saúde do Município de Olinda, considerando solicitação da estudante, **JENNIFER SABRINA FERREIRA DA SILVA**, responsável técnico pela pesquisa intitulada: **“Cinética de microfilaremia, antigenemia e anticorpos filariais em indivíduos infectados por Wuchereria bancrofti tratados com doses únicas anuais de dietilcarbamazina em uma área endêmica no município de Olinda – PE”**. resolve autorizar a realização da mesma no âmbito da Secretaria Municipal de Saúde, ao mesmo tempo em que solicita apoio dos Profissionais e Gestores para êxito da pesquisa.

Atenciosamente,

TEREZA ADRIANA MIRANDA DE ALMEIDA
Secretária Municipal de Saúde

