

**Universidade Federal de Alagoas**  
**Instituto de Química e Biotecnologia**  
**Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia - PPGQB**



**Uso de imunocromatografia rápida e outras técnicas  
parasitológicas para o diagnóstico laboratorial da *Wuchereria  
bancrofti* (Cobbold, 1877) em área endêmica de filariose linfática em  
Maceió, Alagoas**

Valckicia Andréa Nascimento Silva

**Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fontes**

**Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliana M. Mauricio da Rocha**

**Maceió / AL**

**2006**

**Universidade Federal de Alagoas**  
**Instituto de Química e Biotecnologia**  
**Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia - PPGQB**

**Uso de imunocromatografia rápida e outras técnicas  
parasitológicas para o diagnóstico laboratorial da *Wuchereria  
bancrofti* (Cobbold, 1877) em área endêmica de filariose linfática em  
Maceió, Alagoas**

Valckicia Andréa Nascimento Silva

Dissertação apresentada por Valckicia Andréa do Nascimento Silva ao Instituto de Química da Universidade Federal de Alagoas, para a obtenção do Título de Mestre em Química e Biotecnologia.

**Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fontes**

**Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliana M. Mauricio da Rocha**

**Maceió / AL**

**2006**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária Responsável: Dilma Maria dos Santos Cunha**

S586u Silva, Valkícia Andréa Nascimento.  
Uso de imunocromatografia rápida e outras técnicas parasitológicas para o diagnóstico laboratorial da *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) em área endêmica de filariose linfática em Maceió, Alagoas / Valkícia Andréa Nascimento Silva. – Maceió, 2006.  
xv, 64 f. : il., grafs.

Orientador: Gilberto Fontes.

Co-Orientadora: Eliana M. Mauricio da Rocha.

Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2006.

Bibliografia: f. 56-64.

Anexos: f. 52-55

1. Filariose. 2. Filariose – Maceió. 3. Diagnóstico laboratorial. I. Título.

CDU: 616.995.132(813.5)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - IQB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
E BIOTECNOLOGIA - PPGQB

Campus A. C. Simões  
Cidade Universitária  
57072-970 - Maceió-AL  
Brasil  
Tel. (082) 214 - 1384  
Fax. (082) 214 - 1615

Membros da Comissão julgadora da Dissertação de Mestrado de Valckicia Andréa Nascimento Silva, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 26 / 04 / 2006.

Comissão:

(Dr. Gilberto Fontes / UFAL – Orientador - ICBS/UFAL)

(Dr<sup>a</sup> Eliana Maria Mauricio da Rocha – Co-orientadora - ICBS/UFAL)

(Dr<sup>a</sup> Marília Oliveira Fonseca Goulart – Titular - IQB/UFAL)

(Dr<sup>a</sup> Vânia Sousa Andrade – Titular - ICBS/UFAL)

***“O conhecimento vem com lágrimas e dor. Isso é justo, pois o homem não pode compreender Deus quando é jovem, feliz e ignorante”.***

*O médico de Homens e Almas (Taylor Caldwell)*

## DEDICATÓRIA

*A minha “mainha” Tânia Lúcia Santos do Nascimento (in Memoriam), mulher forte e batalhadora que nunca mediu esforços, para que seus filhos fossem felizes e hoje onde quer que esteja, olha e guia nossos passos. Nunca te esquecerei sempre te amarei.*

*A meu querido pai José Valditon Cavalcante Silva que sempre me apoiou e me ajudou e ao meu filho amado Carlos Eduardo, razão da minha vida e da minha luta.*

## **AS INSTITUIÇÕES FINANCEIRAS**

Este trabalho contou com o apoio financeiro das seguintes instituições:

Universidade Federal de Alagoas (UFAL);  
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);  
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);  
Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL);  
Secretaria Municipal de Saúde de Maceió-AL (SMS);  
Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS);  
Organização Mundial de Saúde (OMS).

A todas, o meu muito obrigada.

## AGRADECIMENTOS

- \* A Deus, por ter sido meu apoio, nas horas mais difíceis;
- \* Ao meu companheiro Sivalmir da Silva Santana, meu grande amor e pai do meu filho, meus dois tesouros;
- \* À Dona Telma e Seu Agnaldo, por terem me acolhido e me tratado como uma filha, serei eternamente grata;
- \* A minha sogra Maria Cícera, por ter cuidado tão bem do seu neto (meu filho), enquanto eu me dedicava ao mestrado, abrindo mão dos seus compromissos e afazeres, ao meu sogro Onildo o vô, que também ajudou-me bastante nesta batalha; aos cunhados Carlos, Sidalmir e Lúcia e meu sobrinho lindo Italo;
- \* As minhas sobrinhas Vivian e Thayane; e ao meu sobrinho André, coisas mais fofas, que a titia ama tanto, e que nas horas de tristeza com um beijo e um carinho me fazem esquecer qualquer dor;
- \* Aos meus irmãos Vanderson Henrique Nascimento Silva e Wagner André nascimento Silva, que sempre torceram por mim e apoiaram-me em todas as minhas decisões;
- \* A minha irmãzinha Naline, que mesmo tendo convivido pouco tempo a seu lado, tenho grande carinho e amor;
- \* As minhas cunhadas Jossecleide e Dirlene Maria, por serem companheiras e amigas sinceras;
- \* Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Gilberto Fontes meu “anjo”, pela dedicação, paciência, amizade, conselhos e ensinamentos. Pessoa a quem passei a conhecer e admirar, por sua paixão e responsabilidade no que faz, por ser um grande homem e principalmente por ser justo e prestativo;
- \* À Prof<sup>a</sup>. Eliana Maria Maurício da Rocha, exemplo de mulher a quem tenho uma enorme admiração, por sua paciência, sua inteligência e humildade;
- \* Aos Professores das disciplinas cursadas: Prof<sup>o</sup>. Dr. Gilberto Fontes, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Maria Maurício da Rocha, Prof<sup>o</sup>. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant’Ana, Prof<sup>o</sup>. Dr. Luiz Carlos Caetano, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Oliveira Fonseca Goulart, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sônia Salgueiro, pela grande contribuição a minha formação profissional;
- \* À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Oliveira Fonseca Goulart e a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carmem Lúcia de Paiva e Silva Zanta, por me ajudarem e me incentivarem quando mais precisei;

- \* Aos participantes da banca de Qualificação, pelo enriquecimento do trabalho com suas observações e opiniões;
- \* Aos participantes da banca de Dissertação, por se disponibilizarem a participar e com certeza ajudarão a engrandecer o trabalho;
- \* Ao Dr. Abraham Rocha, do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOcruz, Recife, pela realização dos ensaios imunoenzimáticos;
- \* À pessoas muito queridas como: Tereza, Náu, Madalena, Thiago, Patrícia, Cristiana, Othelina, Cícera, Maria, Jaíse e Lurdes pelos conselhos, ajudas e incentivos;
- \* À Dona Ivete, pelos conselhos e ombro amigo. Realmente uma grande mãe para todos nós que convivemos com ela;
- \* Ao Eurivan, pela amizade e grande ajuda nos levantamentos de dados;
- \* À Lizete por sempre me escutar, me aconselhar e me levantar com palavras bonitas e sinceras;
- \* À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvana Ayres por ter sido prestativa e atenciosa, sempre que precisei de ajuda;
- \* À Lídia por ter sido de grande ajuda para a realização do meu estágio de docência e a Cícera, por ser uma ótima companheira de laboratório;
- \* As minhas amigas Lapevianas Isis e Carla, pela sincera amizade, pelos conselhos e por me escutarem sempre que preciso;
- \* Aos meus amigos Abel e Tamila por me ajudarem na elaboração das figuras, e ao Abel novamente por também ter me ajudado a usar o programa estatístico;
- \* À Norma e Ricardo que participavam do projeto de Filariose quando eu cheguei e foram sempre muito amigos, e sempre se prontificaram a ajudar-me. Hoje não encontram-se mais no projeto, porém são Lapevianos inesquecíveis;
- \* Ao Rafael pelos momentos de descontração;
- \* Ao meu amigo Anderson, por ter contribuído muito para realização deste trabalho, ajudando-me na elaboração de figuras, utilização do programa estatístico, e principalmente a produção da linda foto da microfilária;
- \* À minha amiga Ana Rachel, por ser muito prestativa e ter colaborado muito durante os exames realizados em crianças;

\* Ao Herbert Charles, pela amizade, pelo sorriso alegre e contagiante e por sua grande ajuda para a realização deste trabalho;

\* Aos grandes amigos, que ganhei junto com a pós-graduação: Brancilene de Araújo, Andréia, Daniel Melo, Carolina Tavares, Milena Lima, Edmilson, Amaro, Carlos Eduardo, Charles Estevam, Tiago e Cícero, pois são pessoas, com as quais sempre pude contar;

\* As minhas amigas irmãs Ana Lucila e Maria Emília, pela bonita amizade, pela confiança, pela dedicação, pela cumplicidade, por tudo;

\* Aos meus eternos amigos Walfrido Bispo, James Bispo, Rui Reys, Fabiana, Lívia, Daniela, Aislane, Natália Velasquez, Aline Fidelis; pela amizade que perdura desde a graduação;

\* Ao Curso de Pós-Graduação em Química, e aos funcionários da Secretária da Pós-Graduação do Instituto de Química pela ajuda na condução dos procedimentos burocráticos durante o mestrado;

\* Ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, onde foi realizado todo meu trabalho;

\* Aos funcionários da Prefeitura Municipal de Maceió, por serem os grandes responsáveis pelas coletas de dados, informações sobre o projeto, encontro dos quarteirões, entre outras coisas. Em especial Pinto, Fábio e Verçosa, pessoas alegres e dedicadas ao trabalho;

\* Aos antigos e novos Lapevianos, uma grande e eterna família, pela amizade e companheirismo durante todo o mestrado;

\* As pessoas que abriram suas portas, muitas vezes à noite, para que pudéssemos realizar os exames;

\* A todos muitíssimo obrigada.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xiii
<b>RESUMO</b>	xiv
<b>ABSTRACT</b>	xv
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	4
2.1 Histórico	4
2.2 Distribuição geográfica	5
2.3 Bancroftose no Brasil	6
2.4 Bancroftose em Maceió (AL)	7
2.5 O parasito	9
2.6 Ciclo evolutivo da <i>W. bancrofti</i>	10
2.7 Periodicidade das microfilárias de <i>W. bancrofti</i>	12
2.8 Vetores da bancroftose e fatores que interferem na transmissão da enfermidade	13
2.9 Manifestações clínicas	13
2.10 Terapêutica da bancroftose	15
2.11 Diagnóstico	18
<b>3. OBJETIVOS</b>	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos	22
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	23
4.1 Área geográfica estudada: Maceió - Alagoas	23
4.2 População estudada	23
4.3 Amostras de crianças com idade entre 5 a 10 anos residentes na área endêmica de filariose linfática	24
4.4 Amostra de indivíduos com idade acima de 10 anos residentes na área endêmica de filariose linfática	24
4.5 Variáveis estudadas	25
4.6 Treinamento de recursos humanos	25
4.7 Técnicas de colheita das amostras de sangue	25

4.7.1 Punção digital	25
4.7.2 Punção venosa	26
4.8 Horário da colheita das amostras de sangue	26
4.9 Técnicas de diagnóstico parasitológico	26
4.9.1 Gota espessa qualitativa	26
4.9.2 Filtração em membrana de policarbonato	27
4.10 Técnicas de coloração	28
4.10.1 Coloração pela técnica da eosina-Giemsa para gota espessa de sangue	28
4.10.2 Coloração pela técnica de Giemsa para membrana de policarbonato	28
4.11 Técnica de diagnóstico por imunocromatografia rápida (“ICT <i>card test</i> ”)	28
4.11.1 Princípios gerais da imunocromatografia rápida para filariose	29
4.12 Ensaio imunoenzimático (ELISA)	30
4.12.1 Princípios gerais do ensaio imunoenzimático (ELISA) para filariose	31
4.13 Revisão das leituras das lâminas de gota espessa e quantificação de microfilárias	32
4.14 Autoctonia dos indivíduos parasitados pela <i>W. bancrofti</i>	32
4.15 Validação da técnica de imunocromatografia rápida para avaliação antigênica em diferentes horários ao longo de 24 horas	32
4.16 Comparações entre técnicas laboratoriais para o diagnóstico da bancroftose	33
4.17 Avaliação da interrupção da transmissão ativa de filariose bancroftiana em região endêmica em Maceió, AL	34
4.18 Tratamento	34
4.19 Análise dos dados	34
<b>5. RESULTADOS</b>	35
5.1 Prevalência de <i>Wuchereria bancrofti</i> em amostras de crianças com idade entre 5-10 anos, residentes em área endêmica de filariose linfática em Maceió-AL	35
5.2 Prevalência de <i>Wuchereria bancrofti</i> em amostras de indivíduos com idade acima de 10 anos, residentes em área endêmica de filariose linfática em Maceió	37
5.3 Validação da técnica de imunocromatografia rápida “ICT <i>card test</i> ” para realização de exames em diferentes horários	39
5.4 Comparação entre a técnica parasitológica da gota espessa de sangue e técnica de imunocromatografia rápida “ICT <i>card test</i> ” em crianças de 5-10 anos	40
5.5 Comparação entre a técnica parasitológica da gota espessa de sangue e técnica	

de imunocromatografia rápida “ICT <i>card test</i> ” em indivíduos com idade > 10 anos	40
5.6 Comparação da prevalência de antigenemia de <i>Wuchereria bancrofti</i> através da imunocromatografia rápida, em diferentes faixas etárias	40
5.7 Comparação da prevalência de microfilarêmicos para <i>Wuchereria bancrofti</i> através da gota espessa de sangue, em diferentes faixas etárias	41
5.8 Avaliação dos indivíduos antígeno-positivo para bancroftose pela imunocromatografia rápida, através da técnica da filtração em membrana de policarbonato	41
5.9 Avaliação dos indivíduos microfilarêmicos para bancroftose pela gota espessa de sangue, através da técnica da filtração em membrana de policarbonato	41
5.10 Avaliação dos indivíduos antígeno-positivo para bancroftose pela imunocromatografia rápida, através da técnica imunoenzimática ELISA	42
5.11 Avaliação dos indivíduos microfilarêmicos para bancroftose pela gota espessa de sangue, através da técnica imunoenzimática ELISA	42
5.12 Avaliação da autoctonia dos indivíduos parasitados pela <i>W. bancrofti</i>	42
5.13 Estudo da interrupção da transmissão de filariose bancroftiana na cidade de Maceió-AL	42
<b>6. DISCUSSÃO</b>	43
<b>7. CONCLUSÕES</b>	50
<b>8. ANEXOS</b>	52
8.1 ANEXO A: Termo de consentimento livre e esclarecido	52
8.2 ANEXO B: Parecer do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Alagoas sobre a pesquisa proposto	53
8.3 ANEXO C: Soluções utilizadas	54
C.1 Solução anticoagulante de EDTA	54
C.2 Solução salina fosfatada tamponada 0,15 M pH 7,2	54
C.3 Solução estoque de eosina 2%	54
C.4 Solução estoque de Giemsa	54
C.5 Água destilada tamponada - solução estoque pH 6,8	54
8.4 ANEXO D: Questionário para verificação de casos autóctones	55
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	56

## LISTA DE FIGURAS

### 2. REVISÃO DA LITERATURA

- Figura 1. Distribuição geográfica da filariose linfática 5
- Figura 2. Microfilária de *Wuchereria bancrofti* corada em eosina-Giemsa (aumento 1000 X) encontrada em sangue de paciente de Maceió/AL 9
- Figura 3. Mosquito fêmea de espécie *Culex quinquefasciatus* 11
- Figura 4. Larvas infectantes (aumento 40 X 2,5) de *Wuchereria bancrofti* saindo da probóscida de *Culex quinquefasciatus* (inseto capturado na área endêmica de Maceió-AL) 11
- Figura 5. Paciente de Maceió/AL, com forma clínica crônica de filariose linfática: elefantíase de membro inferior 15

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

- Figura 6. Região endêmica de filariose linfática em Maceió. Em destaque o canal do Reginaldo 23
- Figura 7. Gota espessa de sangue corada pela técnica de eosina-Giemsa 26
- Figura 8. Holder (suporte da membrana em formato de funil invertido) e membrana de policarbonato em detalhe; Seringa conectada ao holder por onde passará o sangue a ser filtrado; Membrana de policarbonato corada pelo Giemsa e montada em lâmina de microscopia 28
- Figura 9. Cartão para teste de imunocromatografia rápida (ICT *card test* BINAX<sup>®</sup>); Cartão teste aberto após seu uso; Teste positivo (duas bandas); Teste negativo (uma banda) 29
- Figura 10. Esquema da reação de imunocromatografia rápida “ICT *card test*” 30
- Figura 11. Esquema da reação imunoenzimática (ELISA) 32

### 4. RESULTADOS

- Figura 12. Percentagem de examinados em relação aos gêneros, nas diferentes faixas etárias 39

## LISTA DE TABELAS

### 4. RESULTADOS

Tabela 1. Resultado do teste de imunocromatografia rápida para <i>Wuchereria bancrofti</i> em crianças examinadas em quatro diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL	35
Tabela 2. Frequência de idade das crianças examinadas e relação de exames positivos através de imunocromatografia rápida	35
Tabela 3. Resultado da gota espessa de sangue em crianças examinadas em quatro diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL	36
Tabela 4. Frequência de idade das crianças examinadas e relação de microfilarêmicos através de gota espessa de sangue	36
Tabela 5. Resultado do teste de imunocromatografia rápida para <i>Wuchereria bancrofti</i> em indivíduos examinados em diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL	37
Tabela 6. Frequência de indivíduos examinados em diferentes faixas de idade e relação de positividade para bancroftose através de imunocromatografia	37
Tabela 7. Resultado da gota espessa de sangue em indivíduos examinados em diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL	38
Tabela 8. Frequência de indivíduos examinados em diferentes faixas de idade e relação de microfilarêmicos através de gota espessa de sangue	38
Tabela 9. Distribuição de microfilarêmicos para <i>Wuchereria bancrofti</i> de acordo com o gênero em amostras de indivíduos com idade acima de 10 anos, residentes na região endêmica de filariose linfática em Maceió	39
Tabela 10. Número de crianças (5-10 anos) examinadas por duas diferentes técnicas de diagnóstico laboratorial e positividade para <i>Wuchereria bancrofti</i>	40
Tabela 11. Número de indivíduos acima de 10 anos examinados por duas diferentes técnicas de diagnóstico laboratorial e positividade para <i>Wuchereria bancrofti</i>	40
Tabela 12. Número de examinados por faixa etária, através do teste de imunocromatografia rápida e antigenemia para <i>Wuchereria bancrofti</i>	41
Tabela 13. Número de examinados por faixa etária, através do teste parasitológico da gota espessa de sangue e microfilarêmicos para <i>Wuchereria bancrofti</i>	41

## RESUMO

A filariose linfática é uma doença de grande impacto, pois pode incapacitar seus portadores para o trabalho e dificultar seu convívio social, sendo de grande importância o diagnóstico ainda na fase inicial para que o tratamento seja eficaz. O objetivo do presente trabalho foi identificar em população definida, a prevalência de *Wuchereria bancrofti*, causadora de filariose linfática, utilizando testes de imunocromatografia rápida em cartão e gota espessa de sangue; comparar a imunocromatografia rápida frente ao método parasitológico da gota espessa de sangue, e avaliar diferentes técnicas parasitológicas. Foram examinados moradores da região endêmica de filariose linfática, definida anteriormente em Maceió, AL (parte dos bairros centrais e contíguos Feitosa, Jacintinho e Pitanguinha, ao longo do canal do Reginaldo). Através da imunocromatografia rápida foram avaliadas 3.000 crianças com idade entre 5-10 anos, sendo 10 (0,33%) antígeno-positivo; e entre 411 indivíduos > 10 anos examinados, apenas um (0,24%) foi antígeno-positivo. Através da gota espessa de sangue e na mesma área endêmica, foram examinadas 5.261 crianças com idade entre 5-10 anos, sendo 4 (0,076%) microfilarêmicas, e examinados 19.875 indivíduos > 10 anos, sendo 25 (0,13%) microfilarêmicos. A utilização de imunocromatografia rápida como forma de diagnóstico, através da pesquisa de antígenos do parasito, possibilitou a realização dos exames em horários matutino e vespertino, fato que se opõe ao método tradicional através de gota espessa. Fazendo-se uma comparação entre os resultados obtidos pela imunocromatografia rápida com os da gota espessa pode-se observar uma maior capacidade de detecção dos parasitados pelo método imunológico quando avaliadas crianças de 5-10 anos de idade sendo a “odds” relativa igual a 4,4 (I.C. 95% = 1,3 – 16,6); já em indivíduos com > 10 anos não houve diferença significativa na capacidade de detecção de parasitados entre essas técnicas. Todos os indivíduos antígeno-positivo pela imunocromatografia rápida foram submetidos a exames pela filtração de sangue em membrana e nenhum foi microfilarêmico. Os indivíduos positivos através da imunocromatografia e da gota espessa de sangue, foram submetidos ao teste imunoenzimático, sendo todos positivos por essa última técnica. A técnica imunoenzimática mostrou igual capacidade na detecção de antígenos circulantes de *W. bancrofti* quando comparada com a imunocromatografia rápida. Através dos exames realizados, utilizando a imunocromatografia rápida na faixa etária de 5 a 10 anos (idade preconizada pela OMS para verificação de transmissão ativa da filariose linfática), foi detectada uma prevalência muito baixa da parasitose na área demarcada, mostrando que em pouco tempo a cidade de Maceió-AL poderá estar livre da transmissão da filariose linfática.

## ABSTRACT

Lymphatic filariasis is a highly impact disease because it can impair workers and make difficult their social life. Early diagnosis is very important for efficacy of the treatment. The aim of this study was to establish, in a defined population, the prevalence of *Wuchereria bancrofti*, the causative agent of lymphatic filariasis, using rapid immunochromatographic card test and thick blood smears; compare the immunochromatographic test with the thick blood smear parasitological method, and evaluate different parasitological techniques. Inhabitants of lymphatic filariasis endemic area were examined in Maceió, Alagoas State, Northeast Brazil (at the edge of a channel - Reginaldo Canal - that crosses the city sectors Feitosa, Jacintinho and Pitanguinha). The examination of 3,000 children between 5 and 10 years old by immunochromatographic test revealed 10 (0,33%) antigen-positive, and of 411 individuals older than 10 years of age only one (0,24%) was antigen-positive. By thick blood smear method, in the same endemic area, among 5,261 children examined between 5 and 10 years old 4 (0,076%) microfilaremic were detected, and 25 (0.13%) from 19,875 individuals older than 10 years of age were found to be microfilaraemic. The parasite antigen assay using rapid immunochromatographic for diagnosis made possible to carry out tests during daytime, in opposition of the traditional thick blood smears method. Comparing the results from immunochromatographic test and thick smears, a increased ability for parasite detection by the immunological method was observed when children between 5-10 years old were examined, being *odds relative* 4.4 (I.C. 95% = 1.3 - 16.6). However, with individuals older than 10 years of age, no significant difference on parasites detection ability between these techniques was observed. All antigen-positive individuals by immunochromatographic test were examined by membrane blood filtration and none of them were microfilaraemic. Positive individuals by immunochromatographic test and thick blood smears were also positive when submitted to the enzyme-linked immunosorbent assay. The enzyme-linked immunosorbent assay was better than immunochromatographic test in detected *W. bancrofti* antigen. From the results of immunochromatographic test with children between 5 and 10 years old (age group preconized by WHO to verify active transmission of lymphatic filariasis) it was possible to show a very low prevalence of parasitism in the delimited area, meaning that in a short time Maceió can be free from lymphatic filariasis transmission.

## 1. INTRODUÇÃO

A filariose linfática, causada no Brasil pelo parasito da espécie *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), é uma doença que inicialmente pode ser assintomática e o paciente pode levar alguns anos para manifestar os sintomas. Porém, a enfermidade ao manifestar, torna-se séria, podendo ser debilitante, tendo grande impacto sócio-econômico já que incapacita seus portadores para o trabalho e dificulta seu convívio social. Quando diagnosticada na fase inicial, tem tratamento terapêutico, podendo ocorrer reversão de quadros agudos e redução do desenvolvimento de lesões obstrutivas (FONTES & ROCHA, 2005).

A *W. bancrofti* é transmitida por mosquitos fêmeas da espécie de *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823). Estes, quando contaminados pelo parasito, possuem larvas infectantes (L<sub>3</sub>) em sua probóscida. Quando o mosquito exerce hematofagismo, as larvas L<sub>3</sub> penetram através da solução de continuidade da pele do hospedeiro (não são inoculadas pelos mosquitos), migram para os vasos linfáticos, transformam-se em vermes adultos, macho e fêmea e, sete a oito meses depois, as fêmeas grávidas produzem as primeiras microfilárias, sendo este um período pré-patente considerado longo. Quando o mosquito exerce novo repasto sanguíneo, ingere as microfilárias, e estas transformam-se em larvas L<sub>1</sub> que após mudas dão origem a larvas L<sub>3</sub> infectantes (NAPIER, 1944; MEYERS *et al.*, 1976; WHO, 1984). As microfilárias da espécie *W. bancrofti* apresentam periodicidade noturna no sangue periférico do hospedeiro, na região em análise (FONTES *et al.*, 2000). Isto coincide com o horário preferencial de hematofagismo do mosquito transmissor, na maioria das regiões endêmicas no mundo (WHITE, 1989; WHO, 1992).

O diagnóstico clínico da filariose linfática bancroftiana é difícil devido à semelhança das alterações provocadas pela *W. bancrofti* com aquelas produzidas por outras infecções com efeitos parecidos. Seu diagnóstico é feito por diferentes métodos laboratoriais parasitológicos, imunológicos e moleculares. Entre as técnicas disponíveis, a mais utilizada em inquéritos epidemiológicos é a gota espessa de sangue, colhida por punção capilar digital, seguindo horário compatível com a periodicidade das microfilárias do parasito no sangue do hospedeiro (ROCHA & FONTES, 2000). A contagem de microfilárias em hemocítômetro é outro método parasitológico sensível, de fácil execução que proporciona resultados rápidos além de mostrar microfilárias vivas (DENHAM *et al.*, 1971). Também se utilizam técnicas de concentração, no caso de baixas densidades de microfilárias, para exame de volumes maiores de sangue, como a filtração de sangue em membrana de policarbonato, que é bastante sensível e normalmente utilizada para diagnóstico individual, ou controle de cura pós-tratamento

(ROCHA & FONTES, 2000). No entanto, o custo elevado do material necessário para sua execução, associado ao tempo gasto pelo técnico, restringe seu uso rotineiro na maioria das áreas endêmicas (WEIL *et al.*, 1997). Uma técnica alternativa na falta de membrana de policarbonato, é a descrita por Knott (1939), que consiste em diluir o sangue do paciente na proporção de 1:10 com formol a 2% e centrifugar. Esta técnica é menos sensível que a filtração em membrana de policarbonato em pacientes com baixas parasitemias, pois as microfilárias ficam misturadas em um sedimento viscoso dificultando sua análise (ROCHA & FONTES, 2000).

Os testes sorológicos para pesquisa de anticorpos séricos, apresentam um grande problema já que não conseguem distinguir indivíduos parasitados daqueles já curados, ou indivíduos não infectados, mas que já entraram em contato com antígenos do parasito por viverem em áreas endêmicas (ROCHA & FONTES, 2000). Outra dificuldade reside nas reações cruzadas que podem ocorrer devido a infecções por outros helmintos (OLIVER-GONZALEZ & MORALES, 1945; LAL & OTTESEN, 1988; YAZDANBAKHSI, 1990). Devido a estes problemas, as técnicas de pesquisa de anticorpos foram substituídas por pesquisas de antígenos circulantes de *W. bancrofti*, utilizando anticorpos monoclonais para sua captura. Os métodos baseados na pesquisa de antígenos são mais sensíveis e específicos que aqueles baseados na pesquisa de anticorpos.

A pesquisa de antígenos circulantes é feita pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) com soro do paciente, sendo esta uma técnica semiquantitativa, ou pelo teste de imunocromatografia rápida (ICT) com resultado qualitativo, usando soro ou sangue total do paciente. A pesquisa de antígenos circulantes tem a vantagem da colheita diurna de sangue, devido à presença de níveis constantes de antígenos na circulação, ao contrário da pesquisa de microfilárias pela gota espessa de sangue, no qual o material deve ser colhido a noite, na maioria das regiões endêmicas, devido a periodicidade das microfilárias no sangue do hospedeiro. A técnica de ELISA foi desenvolvida a partir da produção de um anticorpo monoclonal anti-*Onchocerca gibsoni* (filarídeo de bovinos) denominado Og<sub>4</sub>C<sub>3</sub>, que se mostrou específico para a captura de antígenos circulantes de *W. bancrofti* no soro humano (TURNER *et al.*, 1993). Entretanto, os testes imunoenzimáticos para antigenemia filarial são difíceis de serem executados no campo e isto limita seu uso em países endêmicos (WEIL *et al.*, 1997). A técnica de imunocromatografia rápida, realizada em um cartão, utiliza o anticorpo monoclonal AD12, para detecção de antígeno de *W. bancrofti*. É um teste rápido, com alta especificidade, pode ser efetuado tanto no laboratório como no campo, sendo sua maior desvantagem o custo elevado (FONTES & ROCHA, 2005).

Estudos recentes têm mostrado que a reação em cadeia da polimerase (PCR) é bastante sensível para detectar DNA de *W. bancrofti* no sangue, na urina e até na saliva de pacientes. É capaz de detectar DNA em amostras coletadas no período diurno, e diagnosticar especificamente infecções pela *W. bancrofti* em áreas onde co-existem outros filarídeos (FISCHER *et al.*, 2003).

Um avanço no diagnóstico de vermes adultos do parasito é o uso da ultra sonografia para detectar a presença e localização dos mesmos. Vermes adultos de ambos os sexos são encontrados nos vasos linfáticos de pacientes, mesmo naqueles assintomáticos. É uma técnica não invasiva, útil para detectar infecções antes do aparecimento de manifestações clínicas e contribui para o controle de cura mais eficiente, podendo medir diretamente a ação de fármacos sobre os parasitos pelo acompanhamento de sua perda de motilidade (AMARAL *et al.*, 1994; DREYER *et al.*, 1994; 1995).

No intuito de conhecer a técnica de imunocromatografia rápida “ICT card test” utilizada para o diagnóstico de filariose linfática causada pela *W. bancrofti*, bem como compará-la com outras técnicas conhecidas (gota espessa de sangue, técnica de filtração de sangue em membrana de policarbonato e ELISA), foram realizados inquéritos e exames em amostras de populações de áreas endêmicas conhecidas da bancroftose em Maceió.

O encontro de uma técnica com boa especificidade e sensibilidade para o diagnóstico eficiente da infecção da *W. bancrofti* é importante, já que o resultado do teste irá definir a necessidade do tratamento do indivíduo. Um resultado falso-positivo poderá levar o paciente a uso desnecessário de medicamentos, e pior, um resultado falso-negativo poderá levá-lo no futuro, a quadros crônicos e irreversíveis da doença. Nesse último caso o paciente continuará sendo importante fonte de infecção da parasitose durante algum tempo (enquanto microfilarêmico).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Histórico

A filariose linfática humana é uma doença séria e debilitante, causada por hemintos Nematoda das espécies *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), *Brugia malayi* (Bucley & Edeson, 1950) e *Brugia timori* (Partono, 1977). Também é conhecida como elefantíase em uma de suas manifestações na fase crônica, sendo o *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) seu principal transmissor.

A enfermidade já era conhecida desde a antiguidade pelos hindus e persas, existindo relatos de sua existência desde 600 a.C. (ORIHÉL, 1985). Segundo Laurence (1968), é originária da Polinésia e existem evidências que foi introduzida mais tarde na China e outras regiões da Ásia, chegando em seguida ao continente Africano. Foi introduzida nas Américas, principalmente Antilhas e norte da América do Sul, através do tráfico de escravos da África (ORIHÉL, 1985).

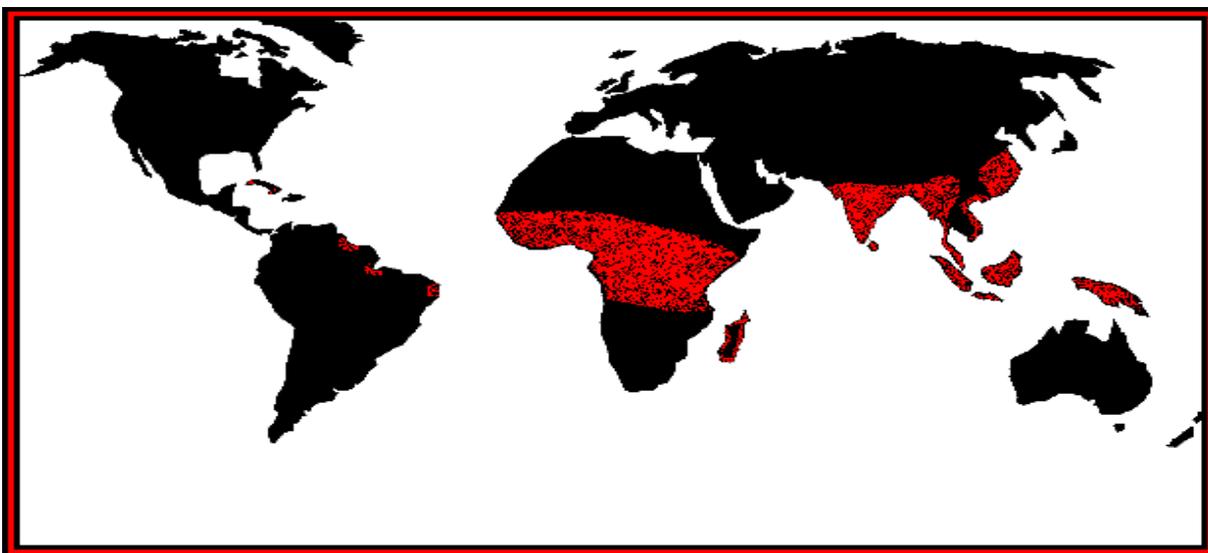
Demarquay em 1863, em Paris, foi o primeiro a demonstrar formas do parasito ou seja, “embriões” (mais tarde conhecidos como microfilárias) em líquido de hidrocele de um paciente procedente de Havana, Cuba (WENK, 1990). Em 1866, Otto Wucherer, na Bahia, Brasil, observou microfilárias na urina de um paciente com quilúria, e em 1872, T. R. Lewis, na Índia, identificou microfilárias no sangue periférico de um paciente e as denominou *Filaria sanguinis hominis* (WENK, 1990). Joseph Bancroft em 1876, foi o primeiro a observar os vermes adultos fêmeas, sendo os adultos machos primeiramente observados por Bourne em 1877, ambos extraídos de abscessos linfáticos humanos na Austrália e classificados por Cobbold em 1877 como *Filaria bancrofti* (FEIJÓ *et al.*, 1986; WENK, 1990). Silva Araújo, no Brasil, também em 1877, antes de Cobbold, descreveu o gênero e denominou a espécie como *Wuchereria bancrofti* em homenagem a Otto Wucherer e a Joseph Bancroft, que descreveram as microfilárias e os vermes adultos, respectivamente (FRANCO & SILVA-LIMA, 1967).

Em 1878, na China, Manson, após várias observações, concluiu que a transmissão desse filarídeo entre seres humanos ocorria através de mosquitos, sendo que naquela época se acreditava que a transmissão da parasitose ocorria quando o indivíduo ingeria água contaminada com mosquitos mortos que albergavam o parasito (COOK, 1993). Ainda Manson, em 1879, observou pela primeira vez o fenômeno da periodicidade noturna das microfilárias no sangue periférico humano (ORIHÉL, 1985). Finalmente Bancroft, em 1899,

na Austrália e Low, em 1900, na Inglaterra, demonstraram que a transmissão ocorria por ocasião da picada de mosquitos infectados (SERVICE, 1978).

## 2.2. Distribuição Geográfica

A filariose linfática é endêmica em várias regiões de clima tropical ou subtropical da Ásia, África, Américas e Oceania (**Figura 1**), sendo sério problema de saúde pública em países como China, Índia e Indonésia (WHO, 1992). Nestes países se localizam 2/3 do total das pessoas infectadas no mundo; mas também é problema severo em muitos outros países da Ásia, notadamente Bangladesh, Myanmar, Malásia, Filipinas, Sri Lanka, Tailândia e Vietnã (WHO, 1992). Focos localizados de infecção são também comuns nas partes leste, central e oeste da África, no Egito, em Madagascar e ilhas vizinhas, e ilhas do Pacífico. É estimada em um bilhão a população que vive em áreas de risco de contrair a infecção, já o número de parasitados se encontra em 120 milhões. Destes, aproximadamente 112 milhões são portadores de *W. bancrofti*, sendo esta a causadora exclusiva no continente americano, e oito milhões são portadores de *Brugia malayi* ou *B. timori* (WHO, 2000).



**Figura 1:** Distribuição geográfica da filariose linfática.

(<http://www2.dekker.com/sdek/abstract~content=a713544832~db=enc> - Acesso em: 12/01/2006).

Nas Américas, os focos de maior prevalência de infecção se encontram no Haiti, República Dominicana, Guiana, Brasil, Trinidad & Tobago, Costa Rica e Suriname (OPAS, 2003). Atualmente, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) considera que a interrupção da transmissão nas Américas ainda tem que ser confirmada em Trinidad &

Tobago, Costa Rica e Suriname, áreas consideradas endêmicas em passado recente (OPAS, 2003).

### 2.3. Bancroftose no Brasil

O único agente etiológico da filariose linfática no Brasil é a *W. bancrofti* e foi provavelmente introduzida no país com os escravos vindos da África durante o período colonial (ORIHÉL, 1985). Esse parasito tem como vetor em nosso meio o *Culex quinquefasciatus*. Embora raros exemplares de mosquitos de outras espécies tenham sido encontrados naturalmente infectados – *Anopheles darlingi*, *A. aquasalis*, *A. bellator* e *Aedes scapularis* – não são considerados de importância na transmissão da bancroftose no país (RACHOU, 1957).

Apesar da descrição das microfilárias de *W. bancrofti* ter sido feita por Wucherer, no Brasil, em 1866, os primeiros estudos a respeito de distribuição e prevalência da bancroftose em nosso país só foram realizados a partir de 1942 (CAUSEY *et al.*, 1945).

Até o início da década de 1950, pouco se sabia sobre a parasitose no país, a não ser a existência de casos de elefantíase em várias localidades e referências a alguns inquéritos isolados de prevalência, os quais permitiram que cidades como Salvador (BA) e Belém (PA) fossem consideradas como importantes focos de transmissão (FRANCO & SILVA-LIMA, 1967).

No Brasil, durante o período de 1951 a 1958 foram realizados vários inquéritos hemoscópicos e entomológicos para se conhecer a distribuição da bancroftose. Foram pesquisadas 852 localidades de 24 Unidades da Federação, totalizando 811.361 pessoas examinadas. Inquéritos entomológicos foram também realizados em 12 estados e territórios, tendo sido dissecados 120.399 exemplares de diferentes espécies de mosquitos (FRANCO & SILVA-LIMA, 1967). Nestes inquéritos foram encontrados portadores de *W. bancrofti* em 89 localidades de oito diferentes Unidades da Federação. Com base nestes resultados a transmissão autóctone da filariose bancroftiana foi detectada nas seguintes cidades com suas respectivas prevalências: São José da Ponta Grossa (SC), 13,9%; Belém (PA), 9,8%; Barra de Laguna (SC), 9,4%; Recife (PE), 6,9%; Castro Alves (BA), 5,9%; Florianópolis (SC), 1,4%; São Luís (MA), 0,6%; Salvador (BA), 0,4%; Maceió (AL), 0,3%; Manaus (AM), 0,2% e Porto Alegre (RS), 0,1% (RACHOU, 1960). Nesta mesma década, a partir deste conhecimento, foram desencadeadas ações de controle da bancroftose, empreendidas primeiramente pelo Serviço Nacional de Malária que veio a se tornar Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu) e, depois de 1970, pela Superintendência de Campanhas de

Saúde Pública (SUCAM). Este Programa tinha como meta erradicar ou controlar a bancroftose nas áreas endêmicas, tratando os indivíduos parasitados com o medicamento Citrato de Dietilcarbamazina, combatendo as formas adultas e larvárias dos insetos vetores e eliminando os criadouros de mosquitos através de obras de saneamento (FRANCO & SILVA-LIMA, 1967; SCAFF & GUEIROS, 1967). Em algumas áreas endêmicas com população menor, como Barra de Laguna (SC), foi feito o tratamento em massa da população (SCHLEMPER Jr. & FERREIRA, 1985).

Com as medidas tomadas no Brasil, a parasitose atualmente apresenta distribuição urbana e focal, sendo detectada em Recife e cidades da região metropolitana (PE), Maceió (AL) e Belém (PA). Em Belém (PA), o índice de lâminas positivas apresenta-se em franco declínio (9,8% em 1951, 4,3% em 1962, 0,01% em 1993 e, 0,0% em 2003 e 2004) (FONTES *et al.*, 2005). Assim, a situação de Belém deve ser analisada por critérios definidos pela OMS, para verificação da interrupção da transmissão da parasitose no município. Na região metropolitana de Recife (PE), especialmente Olinda, Jaboatão e Paulista, a parasitose está ainda em expansão com índices de microfilarêmicos variando de 2% até 15%, em comunidades de baixo nível sócio-econômico (MACIEL *et al.*, 1996).

#### **2.4. Bancroftose em Maceió (AL)**

Em Maceió, no início da década de 1950, Deane e cols. (1953) realizaram um inquérito hemoscópico, sendo examinadas 6.052 pessoas (6% da população da área urbana) em 11 diferentes bairros e encontrados 18 portadores de microfilárias de *W. bancrofti* (0,3%). Cinco dos 11 setores investigados abrigavam indivíduos infectados com microfilárias, indicando uma distribuição focal de 67% no bairro do Farol. Para verificar a transmissão local, os autores dissecaram 4.975 exemplares fêmeas de *C. quinquefasciatus*, sendo encontrados cinco (0,1%) com larvas de *W. bancrofti*, mas somente um exemplar (0,02%) com larva infectante. Embora não tivesse sido realizado nesta cidade um novo inquérito epidemiológico após a década de 1950, o Ministério da Saúde considerava, nos anos de 1980, como extinto o foco de bancroftose em Maceió (MS, 1985).

Em 1990 foi realizado nesta cidade um inquérito hemoscópico piloto em uma população de 731 soldados do 59º Batalhão de Infantaria do Exército. Desses, dois soldados autóctones de Maceió apresentavam alta densidade de microfilárias no sangue, significativa para uma área onde a transmissão estaria sobre controle (DREYER *et al.*, 1991). O resultado deste trabalho, aliado ao conhecimento da existência do vetor em potencial (*C. quinquefasciatus*) na região mostrou a necessidade de uma ampla reavaliação epidemiológica

da parasitose na cidade. Num primeiro momento, entre 1991 e 1995 foram avaliados, através de inquérito hemoscópico, escolares noturnos de 1º e 2º grau, da rede pública de ensino. Foram examinados 10.857 (36,7%) escolares noturnos dos 33 diferentes bairros da cidade, sendo detectados 73 (0,7%) parasitados por *W. bancrofti*, que estavam concentrados em três regiões centrais e contíguas, Feitosa, Pitanguinha e Jacintinho, com prevalências de 5,3%, 3,5% e 1,2% respectivamente (FONTES *et al.*, 1998). Posteriormente, o inquérito foi estendido à população geral dos 3 bairros mais endêmicos de Maceió, sendo examinados 8.726 indivíduos de todas as faixas etárias e detectados 226 microfilarêmicos, com prevalências nos bairros variando de 1,1% (Jacintinho) a 5,4% (Feitosa) (ROCHA *et al.*, 2000). Ainda foram avaliados os familiares e vizinhos de parasitados para detectar a prevalência da bancroftose ao nível domiciliar e peridomiciliar (FONTES, 1996). Este amplo estudo epidemiológico em Maceió provou que a filariose linfática tem uma distribuição nitidamente focal na cidade, e que nas áreas endêmicas as prevalências de microfilarêmicos entre familiares de parasitados são significativamente maiores que as detectadas na população geral ou entre escolares e também maiores que as detectadas entre vizinhos destes.

O conhecimento da situação levou ao planejamento de condutas profiláticas em nível individual e de saúde pública para conter a expansão da doença em Maceió. Assim, foi criado um Programa de Controle da Parasitose no município em 1999, ainda hoje existente, que é realizado por órgãos da Saúde Pública, como Ministério da Saúde, Secretaria Municipal de Saúde e Universidade Federal de Alagoas. Este programa tem sido o responsável pela queda da prevalência e tratamento dos parasitados, evitando o aparecimento de casos crônicos irreversíveis.

A prevalência de microfilarêmicos que era de 5,8% em 1995, na área endêmica de Maceió, tem apresentado uma redução significativa: em 1999, 0,74%; em 2000, 0,54%; em 2001, 0,49%; em 2002, 0,10% e, em 2003, 0,07% (FONTES *et al.*, 2003). Provavelmente, esta diminuição na prevalência se deve a implementação do programa de controle da enfermidade, e detecção e tratamento de parasitados.

É objetivo da Organização Mundial de Saúde (OMS) e da Organização Pan Americana de Saúde (OPAS), a eliminação da filariose linfática como problema de saúde pública no mundo até 2020, uma vez que esta enfermidade é incluída entre as doenças potencialmente elimináveis (FONTES *et al.*, 2005). Pela situação atual da distribuição da parasitose, o continente americano pode atingir esta meta antes da data proposta.

## 2.5. O Parasito

Os vermes adultos de *W. bancrofti* possuem corpo delgado de cor branco-leitoso, apresentam dimorfismo sexual e são encontrados juntos nos vasos linfáticos humanos, vivendo em média 8 a 10 anos. Os machos medem de 3,5 a 4 cm de comprimento e as fêmeas de 7 a 10 cm de comprimento (FIGUEREDO-SILVA *et al.*, 1993). Ambos são cilíndricos, com a superfície cuticular lisa e boca sem lábios; o macho possui a extremidade anterior afilada e posterior enrolada ventralmente, enquanto que a fêmea possui órgãos genitais duplos, com exceção da vagina que é única e se localiza em uma vulva próximo a extremidade anterior. As microfilárias (**Figura 2**), que são embriões liberados pela fêmea grávida durante a postura, possuem uma membrana delicada que funciona como uma “bainha flexível”, se movimentam ativamente na corrente sanguínea do hospedeiro, e medem de 250 a 300  $\mu\text{m}$  de comprimento e 5,3 a 9,2  $\mu\text{m}$  de diâmetro. As microfilárias eliminadas pelas fêmeas grávidas saem dos ductos linfáticos e ganham a corrente sanguínea (CARVALHO, 1955). De acordo com algumas citações na literatura, o tempo de vida das microfilárias no sangue é de 6 semanas até 12 meses (NASASIMHAM *et al.*, 1984; ORIHÉL, 1985; OTTESEN, 1985). A presença da bainha é importante, pois alguns filarídeos encontrados no sangue não possuem tal estrutura, sendo este um dos critérios morfológicos para o diagnóstico diferencial.



**Figura 2:** Microfilária de *Wuchereria bancrofti* corada em eosina-Giemsa (aumento 1000 X) encontrada em sangue de paciente de Maceió/AL. Em destaque a bainha de revestimento (seta). (Original de Anderson B. Leite e Valckicia Andréa N. Silva).

As larvas são encontradas no inseto vetor. A larva de primeiro estágio (L<sub>1</sub>) mede em torno de 300 µm de comprimento e é originária da transformação da microfilária. Essa larva se diferencia em larva de segundo estágio (L<sub>2</sub>), duas a três vezes maior, e sofre nova muda originando a larva infectante (L<sub>3</sub>), que tem entre 1,5 a 2,0 mm de comprimento (FONTES & ROCHA, 2005).

A classificação taxonômica da *W. bancrofti*, agente etiológico da filariose linfática em nosso meio, segundo Schacher (1973) e Chabaud (1976) é:

Filo:	Nemathelminthes
Classe:	Nematoda
Sub classe:	Secernentea
Ordem:	Spirurida
Sub ordem:	Spirurina
Superfamília:	Filarioidea
Família:	Onchocercidae
Sub família:	Onchocercinae
Gênero:	<i>Wuchereria</i>
Espécie:	<i>Wuchereria bancrofti</i> (Cobbold, 1877)

## 2.6. Ciclo evolutivo da *W. bancrofti*

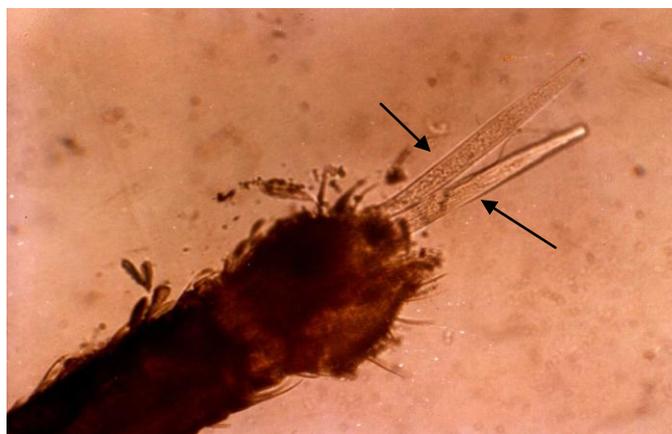
Somente o ser humano é hospedeiro definitivo desse parasito, albergando vermes adultos. Tentativas de infecção experimental já foram feitas e em nenhum outro animal ocorreu o desenvolvimento da *W. bancrofti*, sendo todos refratários à infecção (WHO, 1992). O parasito é transmitido pelo mosquito fêmea da espécie *Culex quinquefasciatus* (**Figura 3**) que funciona como hospedeiro intermediário. Este, ao exercer o hematofagismo em pessoas parasitadas, ingere microfilárias que no estômago do mosquito, após 2 a 6 horas, perdem a bainha, atravessam a parede do estômago do inseto, caem na cavidade geral e migram para o tórax, onde se alojam nos músculos torácicos, e transformam-se em larvas salsichóides conhecidas como L<sub>1</sub> que medem cerca de 300 µm de comprimento e apresentam movimentos lentos, tendo uma fina cauda conspícua, característica deste estágio. Seis a 10 dias após o repasto infectante, ocorre a primeira muda originando as L<sub>2</sub>. Estas crescem muito medindo em torno de 700 µm de comprimento e apresentam maior atividade que a L<sub>1</sub>. Estas larvas são reconhecidas por suas caudas curtas e uma ou duas papilas na extremidade posterior. A segunda muda ocorre 10-15 dias depois, transformando-se em larvas infectantes (L<sub>3</sub>) (**Figura 4**), que medem aproximadamente 2 mm, possuem três papilas globulares na extremidade

posterior e são extremamente móveis. Estas migram pelo inseto até alcançarem a probóscida (aparelho picador), concentrando-se no lábio do mosquito (NAPIER, 1944; MEYERS *et al.*, 1976; WHO, 1984). O ciclo no hospedeiro invertebrado é de 15-20 dias em temperatura de 20-25°C mas, em temperaturas mais elevadas, pode ocorrer em menor período. Em condições de laboratório, este ciclo ocorre em 12-15 dias (BRITO *et al.*, 1996). Quando o inseto vetor vai fazer novo repasto sanguíneo, as larvas L<sub>3</sub> escapam do lábio, penetram pela solução de continuidade da pele do hospedeiro (não são inoculadas pelos mosquitos) migram para os vasos linfáticos onde se tornam vermes adultos e, sete a oito meses depois, as fêmeas grávidas produzem as primeiras microfírias, sendo este um período pré-patente considerado longo (NAPIER, 1944; MEYERS *et al.*, 1976; WHO, 1984).



**Figura 3:** Mosquito fêmea de espécie *Culex quinquefasciatus*.

([http://www.waterandhealth.org/newsletter/new/fall\\_2003/west\\_nile.html](http://www.waterandhealth.org/newsletter/new/fall_2003/west_nile.html) - Acesso em : 02/03/2006).



**Figura 4:** Larvas infectantes (aumento 40 X 2,5) de *Wuchereria bancrofti* (setas) saindo da probóscida de *Culex quinquefasciatus* (inseto capturado na área endêmica de Maceió/AL. (Original de Prof<sup>a</sup> Eliana M. Mauricio da Rocha e Prof. Gilberto Fontes).

## 2.7. Periodicidade das microfilárias de *W. bancrofti*

Uma importante característica deste parasito, verificado na maioria das regiões onde é encontrado, é a periodicidade noturna de suas microfilárias no sangue periférico do hospedeiro humano, pois durante o dia, essas formas se localizam nos capilares profundos, principalmente nos pulmões, e, durante a noite, aparecem no sangue periférico do paciente, apresentando o pico de microfilaremia em torno de meia-noite, decrescendo novamente no final da madrugada (HAWKING *et al.*, 1981; FONTES *et al.*, 2000).

Desde a observação de Manson em 1879, de que as microfilárias de *W. bancrofti* eram encontradas em grande quantidade durante a noite, no sangue periférico de pacientes parasitados, mas se tornam escassas ou ausentes no sangue periférico durante o dia, foi despertado o interesse, de um grande número de pesquisadores, de desvendar este interessante fenômeno biológico. Os fatores responsáveis por essa periodicidade não são claros, embora existam investigações que procuram relacionar a periodicidade noturna com fatores físicos e químicos alterados durante o sono, com a inatividade do hospedeiro vertebrado durante a noite e também com liberação de substâncias quimiotáticas pela picada do mosquito, mas nenhuma delas é inteiramente satisfatória (NAPPIER, 1944; EDESON *et al.*, 1957; HAWKING *et al.*, 1981). O pico da microfilaremia periférica coincide, na maioria das regiões endêmicas, com o horário preferencial de hematofagismo do principal inseto transmissor, o *Culex quinquefasciatus*, que possui hábitos noturnos. Nas regiões do Pacífico Sul e Sudeste da Ásia, onde o principal transmissor é o mosquito *Aedes polynesiensis*, que exerce a hematofagia durante o dia, as microfilárias podem ser detectadas no sangue periférico humano a qualquer hora, com maior concentração em torno das 16 horas (WHITE, 1989; WHO, 1992). Talvez esta coincidência reflita a adaptação evolutiva do parasito aos hábitos alimentares do inseto vetor, aumentando assim as chances de transmissão e, conseqüentemente garantindo a sobrevivência da espécie (FREEDMAN & NUTMAN, 1989).

A *W. bancrofti* pode ser classificada de acordo com a periodicidade de suas microfilárias, em forma periódica noturna, cosmopolita, largamente encontrada nas zonas tropicais e sub tropicais, com pico de microfilaremia em torno de meia-noite, encontrada em Maceió-AL; a forma não periódica ou sub periódica diurna, encontrada nas ilhas do Pacífico Sul, com pico de microfilaremia em torno de 16h00; e a forma sub periódica noturna, descrita no oeste da Tailândia e com pico de microfilaremia em torno de 20h30 (HARINASUTA *et al.*, 1970a; HARINASUTA *et al.*, 1970b; WHO, 1992, FONTES *et al.*, 2000).

## 2.8. Vetores da bancroftose e fatores que interferem na transmissão da enfermidade

Dependendo da localização do foco, os vetores da filariose bancroftiana podem ser uma variedade de mosquitos dos gêneros *Culex*, *Anopheles*, *Aedes*, e *Mansonia*. Vários fatores influenciam na adaptação da *W. bancrofti* aos vetores, já que uma determinada espécie de mosquito em uma área pode não ser necessariamente um bom vetor, e ser um bom transmissor em outra região (RAMACHANDRAN, 1970; TOWNSON & CHAITHONG, 1991). O *C. quinquefasciatus* é o principal transmissor em quase todas as regiões onde ocorre a bancroftose. No entanto, existem transmissores de importância pronunciada como *Ae. funestus* e membros do complexo *An. gambiae* na Tanzânia (WHITE, 1971), o *Ae. poicilius* no sul da Ásia e o *Ae. polynesiensis* na Polinésia (WHO, 1987). No continente Americano, inclusive no Brasil, o *C. quinquefasciatus* é considerado o principal vetor da filariose bancroftiana (RACHOU *et al.*, 1954; WHO, 1992). Entretanto, já foram encontrados em nosso país, raros exemplares de mosquitos dos gêneros *Anopheles* e *Aedes* naturalmente infectados, mas sem importância epidemiológica (CAUSEY *et al.*, 1945; RACHOU *et al.*, 1955; RACHOU *et al.*, 1956). Esses gêneros não apresentam interesse epidemiológico pelo fato de serem refratários à transmissão em nosso país, não completando o ciclo do parasito em seu interior (CALHEIROS *et al.*, 1998).

Entre os fatores que interferem na epidemiologia da *W. bancrofti* em nosso meio, destacam-se: a presença do mosquito doméstico *C. quinquefasciatus*, conhecido como pernilongo, muriçoca ou carapanã (somente as fêmeas são hematófagas obrigatórias); o ser humano que é a única fonte de transmissão (ausência de animais reservatórios); a temperatura ambiente elevada (25 a 30°C); a umidade relativa do ar também alta (80 a 90%) o suficiente para o desenvolvimento das larvas no mosquito e penetração das mesmas na pele do hospedeiro; a pluviosidade mínima que deve estar em cerca de 1.300mm<sup>3</sup> por ano; a altitude baixa e o tempo de residência na área endêmica que deve ser longo (FONTES, 1996). Além disso, a vida média do mosquito adulto é curta (em torno de um mês), comparada ao tempo do ciclo biológico do parasito em seu interior (15 a 20 dias), sendo muito pequeno o período no qual o vetor pode estar transmitindo larvas infectantes do parasito ao ser humano.

## 2.9. Manifestações clínicas

As manifestações clínicas que caracterizam a bancroftose, podem ser causadas por vermes adultos no sistema linfático ou por hiper reatividade imunológica do hospedeiro humano contra as microfilárias e contra os antígenos do parasito. Portanto, os quadros clínicos estão relacionados com fenômenos inflamatórios, obstrutivos e alérgicos (WHO, 1984).

As quatro principais formas clínicas da filariose linfática são: assintomática ou doença subclínica; manifestações agudas; manifestações crônicas; e eosinofilia pulmonar tropical (EPT). Indivíduos assintomáticos são aqueles com microfilárias no sangue e sem sintomatologia aparente. As manifestações agudas são principalmente a linfangite retrógrada localizada principalmente nos membros e a adenite, associadas com febre e mal-estar (DREYER *et al.*, 2000).

As manifestações crônicas são: linfedema, hidrocele, quilúria e elefantíase (**Figura 5**), e iniciam-se, em geral, alguns anos após o início dos ataques agudos em moradores de áreas endêmicas. Durante esta fase as microfilárias estão freqüentemente ausentes no sangue periférico dos parasitados. As manifestações clínicas crônicas da enfermidade são caracterizadas por ausência de dor física, quando não estão associadas com adenolinfangite. Entretanto, quadros já adiantados, levando a casos de hidrocele e elefantíase têm conseqüências sociais e econômicas, incapacitando portador para o trabalho e dificultando o convívio social dos parasitados, devido às alterações de caráter irreversível. A hidrocele é a manifestação clínica mais comum da filariose linfática. Até 40% dos homens ativamente ou previamente infectados com *W. bancrofti* exibem hidrocele em países com altos índices de prevalência, em alguns destes países a hidrocelectomia conta para 25% de todos os procedimentos cirúrgicos (EIGEGE *et al.*, 2002). Foi em Uganda, no ano de 1951 que Burkitt desenvolveu a técnica cirúrgica para hidrocelectomia, envolvendo inversão da túnica vaginal para prevenir a recorrência da hidrocele, que agora é largamente usada, nas áreas endêmicas com filariose, em todo o mundo (ONAPA *et al.*, 2001). A hidrocele freqüentemente desenvolve-se na ausência de reações inflamatórias prévias, e seus pacientes podem apresentar microfilárias no sangue periférico. A elefantíase, um outro quadro crônico, geralmente se localiza nos membros inferiores e região escrotal, e está associada a episódios inflamatórios recorrentes. Esta pode aparecer em alguns casos crônicos com até mais de 10 anos de parasitismo e também podem ter outras causas que não a *W. bancrofti* (hanseníase, estafilococcus ou outra causa que perturbe o fluxo linfático). Em geral, a seqüência dos eventos nos casos da elefantíase é a seguinte: linfangite, adenite, linfangiectasia (dilatação e varizes linfáticas), linforragia (extravasamento de linfa), linfedema (edema linfático), esclerose da derme e hipertrofia da epiderme, dando a aparência típica da elefantíase: aumento exagerado do volume do órgão (principalmente pernas, escroto, ou mamas) com queratinização e rugosidade da pele. Infecções bacterianas ou fúngicas secundárias agravam o quadro de elefantíase (DREYER *et al.*, 2000).



**Figura 5:** Paciente de Maceió/AL, com forma clínica crônica de filariose linfática: elefantíase de membro inferior. (Original de Prof. Gilberto Fontes e Prof<sup>a</sup> Eliana M. Mauricio da Rocha).

A eosinofilia pulmonar tropical (EPT) é uma síndrome caracterizada por sintomas de asma brônquica, sendo uma manifestação relativamente rara. Este quadro é caracterizado por hiper reatividade imunológica do hospedeiro a antígenos do parasito, especialmente as microfilárias, com aumento considerável na produção de anticorpos das classes IgG e IgE e uma pronunciada hiper-eosinofilia (OTTESEN *et al.*, 1979; WHO, 1987). Este quadro pode levar ao aparecimento de abscessos eosinofílicos com microfilárias e posterior aparecimento de fibrose nos pulmões, comprometendo a função do órgão (FONTES & ROCHA, 2005).

Em Maceió, Fontes (1996) demonstrou que entre 239 microfilarêmicos 42 (17,6%) apresentavam algum tipo de sintoma relacionado à fase aguda ou crônica da filariose linfática, sendo a prevalência de manifestações agudas significativamente maior que a prevalência de manifestações crônicas. As manifestações agudas mais encontradas foram dores na bolsa escrotal e membros inferiores. Já as manifestações crônicas mais comumente observadas foram linfedema de bolsa escrotal e membros inferiores.

## **2.10. Terapêutica da bancroftose**

O tratamento da filariose bancroftiana tem como objetivo reduzir ou prevenir a morbidade em indivíduos com infecção ativa, corrigir alterações causadas pela presença do parasito e impedir transmissão a novos hospedeiros.

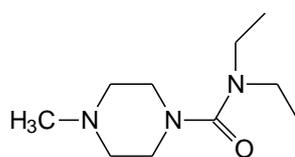
Os compostos com atividade antifilarial mais promissores são os derivados de piperazina, dos quais a Dietilcarbamazina (DEC) (1) é o mais importante (HAWKING, 1979). Este foi sintetizado como N,N-dietil-4-metilpiperizinassorboxamina e estabilizado na forma

de citrato (BINA, 1998). A Dietilcarbamazina é o agente de primeira linha para controle e tratamento da filariose linfática e para a terapia da eosinofilia pulmonar tropical causada pela *W. bancrofti* (OTTESEN & RAMACHANDRAN, 1995). A dose usual para o tratamento individual é de 6 mg/Kg de peso/dia, via oral, durante 12 dias (WHO, 1984). Estudos demonstraram que em indivíduos microfilarêmicos tratados com DEC, e observados durante algum tempo, pode ocorrer inicialmente o desaparecimento da microfilaremia, seguido de seu reaparecimento em período variável de 1 a 12 meses; ou ainda, a redução do número de microfilárias sangüíneas inicialmente, com ou sem aumento subsequente de seus níveis (OTTESEN, 1985). Por isso, o tratamento poderá ser repetido várias vezes até o desaparecimento da parasitemia. No tratamento em massa, realizado em áreas com elevada endemicidade, o medicamento é usado em dose única de 6mg/kg de peso de 6 em 6 meses ou anualmente (WHO, 1992). Para tratamento em massa, a adição de dietilcarbamazina ao sal de cozinha reduziu bastante a prevalência, a gravidade e a transmissão da filariose linfática em muitas áreas endêmicas (GELBAND, 1994). A DEC possui considerável ação sobre os vermes adultos e sobre as formas embrionárias ou microfilárias. No entanto, às vezes nem todos os vermes são mortos, mesmo após repetidos tratamentos. O mecanismo de ação deste medicamento ainda é desconhecido (BINA, 1998).

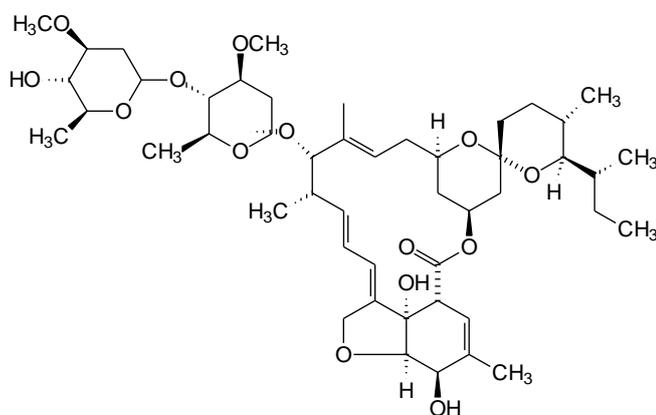
A Ivermectina (2), um antiparasitário semi-sintético de amplo espectro, tem sido utilizado em diferentes regiões endêmicas, sendo este eficaz na redução da microfilaremia em dose única de 200 - 400 µg/Kg de peso (KAZURA *et al.*, 1993). Diferentemente da DEC, a Ivermectina, apesar do seu potente efeito microfilaricida, não tem ação sobre os vermes adultos de *W. bancrofti* (DREYER & NORÕES, 1997). Tem-se observado que meses após o tratamento com Ivermectina, microfilárias reaparecem em um grande número de pacientes (DREYER & NORÕES, 1997). Outro medicamento que tem sido estudado para o tratamento da filariose linfática é o Albendazol (3). O efeito do Albendazol contra vermes adultos e microfilárias de *W. bancrofti*, só ou em combinação com outros fármacos antifilariosos merece ainda maiores estudos (CRITCHLEY *et al.*, 2005). A combinação da DEC ou da Ivermectina com o Albendazol pode, também, aumentar a supressão da microfilaremia a curto e a longo prazo (ADDISS *et al.*, 1997; OTTESEN *et al.*, 1999). Ultimamente preconiza-se, em programas de eliminação da bancroftose, o tratamento do hospedeiro com dois fármacos, simultaneamente (DEC + Ivermectina, DEC + Albendazol ou Ivermectina + Albendazol (OTTESEN *et al.*, 1999).

Em casos de manifestações crônicas como o linfedema, o que se recomenda é limpeza local com água e sabão, como também combater infecções bacterianas e fúngicas utilizando

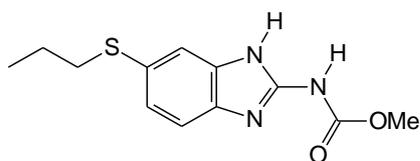
antibióticos e antifúngicos, respectivamente (DREYER *et al.*, 2002). Estágios avançados do linfedema podem melhorar com fisioterapia ativa, drenagem e uso de compressas, diminuindo as chances de evoluir para elefantíase. O uso da DEC pode reverter quadros agudos e reduzir o desenvolvimento de lesões obstrutivas em fase inicial, porém pacientes com intensa hidrocele ou elefantíase não apresenta melhora com seu uso. Para esses casos o tratamento deve ser cirúrgico. A cirurgia plástica é a última alternativa para quadros avançados da elefantíase, e mesmo assim na maioria das vezes não é obtido resultado satisfatório.



**1**



**2**



**3**

## 2.11. Diagnóstico

O diagnóstico clínico da filariose linfática bancroftiana é difícil devido à semelhança de alterações provocadas pela *W. bancrofti* com aquelas produzidas por outras infecções. Porém numa área endêmica, a história clínica de febre recorrente associada com adenolinfangite pode ser indicativo de infecção filarial. Pacientes com alteração pulmonar, eosinofilia sanguínea e altos níveis de IgE total no soro leva a suspeita de EPT (eosinofilia pulmonar tropical) (ROCHA & FONTES, 2000).

O diagnóstico laboratorial da filariose linfática bancroftiana é feito rotineiramente por diferentes métodos parasitológicos, em que se pesquisa microfilárias no sangue periférico do hospedeiro, colhido em horário compatível com a periodicidade das microfilárias do parasito no sangue (ROCHA & FONTES, 2000). A gota espessa de sangue é a técnica mais utilizada em inquéritos epidemiológicos, sendo preparada com volume de sangue do paciente variando de 20 a 100  $\mu\text{L}$ , colhido por punção capilar digital. Esta técnica é importante, pois possibilita a visualização da bainha da microfilária de *W. bancrofti*, fato que a diferencia de outros filarídeos sanguíneos em áreas onde ocorrem infecções mistas, além de oferecer preparações permanentes e permitir estudos quantitativos da parasitose (WHO, 1987). A gota espessa tem boa sensibilidade quando a parasitemia se encontra acima de 10 microfilárias/mL de sangue, e para aumentar a sensibilidade desta técnica recomenda-se preparar mais de uma lâmina do mesmo paciente, obedecendo ao horário noturno para a colheita do sangue, evitando resultados falso-negativos (ROCHA & FONTES, 2000). Como a filariose linfática é encontrada em países pobres, este método continua sendo uma boa opção, pois é prático, rápido e econômico para obtenção de amostras de sangue colhidas durante a noite em inquéritos epidemiológicos.

A contagem de microfilárias em hemocítmetro é uma técnica que se baseia no uso de 100  $\mu\text{L}$  de sangue conservado com 900  $\mu\text{L}$  de ácido acético 3 % colocados em um tubo para depois serem examinadas em microscópio (SIMONSEN & DUNYO, 1999; ONAPA *et al.*, 2001). Esta técnica além de mostrar microfilárias vivas é outro método parasitológico sensível e de fácil execução, proporcionando resultados rápidos (DENHAM *et al.*, 1971). No entanto a identificação da espécie é difícil ou impossível e a preparação não é permanente (McMAHON *et al.*, 1979).

Também se utilizam técnicas de concentração, no caso de baixas densidades de microfilárias, com o exame de volumes maiores de sangue, como a técnica de filtração de sangue em membrana de policarbonato, usando filtros com 3 ou 5  $\mu\text{m}$  de porosidade. É uma

técnica bastante sensível e normalmente utilizada para diagnósticos individuais ou no controle pós-tratamento, podendo ser analisadas amostras com 10 mL ou mais de sangue (CHULARERK & DESOWITZ, 1970). No entanto, o alto custo associado ao tempo gasto pelo técnico impossibilita seu uso rotineiro na maioria das áreas endêmicas (WEIL *et al.*, 1997). Outra técnica alternativa na falta de membrana de policarbonato, é a descrita por Knott (1939). Esta consiste em diluir 5 mL de sangue na proporção de 1:10 com formol a 2%, para ocorrer lise das hemácias, e centrifugar. As microfilárias serão encontradas no sedimento, que será analisado após preparo de gotas espessas e coloração com Giemsa. Esta técnica é menos sensível que a filtração em membrana de policarbonato, em baixas parasitemias, pois as microfilárias ficam misturadas em um sedimento viscoso dificultando sua análise. As técnicas de concentração também devem ser usadas nos casos em que as microfilárias não são encontradas no sangue, e sim na urina (quilúria e hematúria) ou líquidos de hidrocele. Através dos métodos parasitológicos é difícil detectar microfilárias em pacientes com manifestações crônicas e quadro de eosinofilia pulmonar, pois as mesmas estão em pequenas quantidades ou até ausentes na circulação sanguínea (ROCHA & FONTES, 2000).

Testes sorológicos para pesquisa de anticorpos séricos, apresentam um grande problema já que não conseguem distinguir indivíduos parasitados daqueles já curados, ou indivíduos não infectados, mas que já entraram em contato com antígenos do parasito por viverem em áreas endêmicas (ROCHA & FONTES, 2000). Outra dificuldade reside nas reações cruzadas com anticorpos presentes no soro de pacientes infectados com outros helmintos não filariais, geralmente encontrados em áreas endêmicas de bancroftose (OLIVER-GONZALEZ & MORALES, 1945; LAL & OTTESEN, 1988; YAZDANBAKHSH, 1990). Muitas reações cruzadas entre nematodas estão relacionadas à imunodominância de determinantes antigênicos contendo fosforilcolina, comum a vários helmintos (AMBROISE-THOMAS, 1974; LAL & OTTESEN, 1988). A fosforilcolina aparentemente não estimula a produção de anticorpos da subclasse IgG<sub>4</sub>. Então testes usando antígenos específicos para detectar subclasses de imunoglobulinas IgG<sub>4</sub>, melhoraram a especificidade de técnicas imunológicas para filariose linfática (WHO, 1992). O resultado da pesquisa feita por Muck e cols. (2003) sugere que antígenos recombinantes filariais específicos devem ser utilizados ao invés do extrato bruto filarial, para aumentar a especificidade dos testes sorológicos para filariose linfática, já que as infecções por *Strongyloides stercoralis* (outro nematoda) parecem induzir no hospedeiro, a produção de anticorpos da subclasse IgG<sub>4</sub> que pode dar reação cruzada nos ensaios com antígenos usando extratos brutos de vermes adultos de *W. bancrofti*.

Devido a estes problemas, as técnicas de pesquisa de anticorpos foram substituídas por pesquisas de antígenos circulantes de *W. bancrofti*, utilizando anticorpos monoclonais para sua captura. Os métodos baseados na pesquisa de antígenos são mais sensíveis e específicos que aqueles baseados na pesquisa de anticorpos.

A pesquisa de antígenos circulantes é feita pela técnica imunoenzimática (ELISA) com soro, sendo este um resultado semiquantitativo, ou por imunocromatografia rápida (ICT) com resultado qualitativo, usando soro ou sangue do paciente. Ambas as técnicas já foram padronizadas e estão disponíveis comercialmente. Uma das vantagens dessas técnicas é que podem ser realizadas com sangue colhido durante o dia, devido a presença de níveis constantes de antígenos na circulação. Além disso, um teste positivo indica infecção, uma vez que os anticorpos monoclonais reconhecem antígenos de vermes adultos, mesmo na ausência de microfílaras. A técnica de ELISA foi desenvolvida a partir da produção de um anticorpo monoclonal anti-*Onchocerca gibsoni* (filarídeo de bovinos) denominado Og<sub>4</sub>C<sub>3</sub>, que se mostrou específico para a captura de antígenos circulantes de *W. bancrofti* no soro humano (TURNER *et al.*, 1993). Entretanto, os testes imunoenzimáticos para antigenemia filarial são difíceis de serem executados no campo e isto limita seu uso em países endêmicos (WEIL *et al.*, 1997). A técnica de imunocromatografia rápida, utiliza o anticorpo monoclonal AD12, para detecção de antígeno de *W. bancrofti* (WEIL *et al.*, 1997). É um teste rápido, com alta especificidade, podendo ser realizado tanto no laboratório como no campo, sendo sua maior desvantagem o custo elevado (FONTES & ROCHA, 2005).

Com o melhoramento da técnica de imunocromatografia rápida para uma versão que usa sangue total ao invés de soro do paciente (como anteriormente), foi possível fazer a transição do laboratório de pesquisa para o campo, pois o resultado é obtido poucos minutos depois da coleta de sangue, não sendo necessário outro tipo de análise no laboratório, proporcionando mais uma vantagem a este diagnóstico.

Estudos recentes têm mostrado que a reação em cadeia da polimerase (PCR) é bastante sensível para detectar DNA de *W. bancrofti* no sangue, na urina e até na saliva de pacientes. Sua aplicação para diagnóstico parece ser bastante promissora para os diversos líquidos biológicos uma vez que é capaz de detectar DNA em amostras coletadas no período diurno, e diagnosticar especificamente infecções pela *W. bancrofti* em áreas onde co-existem outros filarídeos (FISCHER *et al.*, 2003).

A ultra sonografia foi um avanço para o diagnóstico de vermes adultos de *W. bancrofti*. Esta é uma técnica não invasiva de visualização dos vermes adultos, permitindo que se conheçam os prejuízos da filariose bancroftiana subclínica. Geralmente o resultado da

ultra-sonografia é alterado depois da terapêutica com dietilbarbamazina, com o desaparecimento dos vermes adultos em movimento e também pode se observar desenvolvimento de calcificações escrotais ou hidrocele (FARIS *et al.*, 1998). Esta técnica é utilizada como suporte para levantamentos epidemiológicos, em decorrência de ser cara e exigir aparelhos e técnicos especializados.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Utilizar o teste de imunocromatografia rápida em cartão (“ICT *card test*”) e gota espessa de sangue para identificar a prevalência de *Wuchereria bancrofti* na população da área endêmica de filariose linfática em Maceió e comparar a imunocromatografia rápida com outras técnicas utilizadas para o diagnóstico laboratorial da filariose linfática, oferecendo suporte para o Programa de eliminação da filariose linfática no Brasil, proposto pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

#### 3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a prevalência da filariose bancroftiana em amostra de crianças de 5-10 anos, residentes na região endêmica de filariose linfática em Maceió, utilizando a técnica de imunocromatografia rápida e também a técnica da gota espessa de sangue.

- Avaliar a prevalência da filariose bancroftiana em amostra de indivíduos com idade acima de 10 anos, residentes na região endêmica de filariose linfática em Maceió, utilizando a técnica de imunocromatografia rápida e também a técnica da gota espessa de sangue.

- Comparar a técnica de diagnóstico da gota espessa de sangue com a de detecção de antígeno da *Wuchereria bancrofti* pela imunocromatografia rápida.

- Comparar a prevalência de parasitados entre duas diferentes faixas etárias, através das técnicas de imunocromatografia rápida e gota espessa de sangue.

- Avaliar através das técnicas de filtração de sangue em membrana de policarbonato e ensaio imunoenzimático (ELISA), os indivíduos diagnosticados antígeno-positivo para bancroftose através da imunocromatografia rápida e os microfilarêmicos através da gota espessa de sangue.

- Avaliar a transmissão de filariose bancroftiana na área estudada.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Área geográfica estudada: Maceió - Alagoas

Maceió capital do Estado de Alagoas, está situada no litoral médio do estado entre os meridianos 35° 44' W e 35° 56' W e os paralelos 9° 35' e 9° 24' S. A cidade é constituída por uma área urbana de 208 Km<sup>2</sup> e possui uma população urbana de 903.464 habitantes (IBGE, 2005). A capital apresenta clima quente e úmido praticamente todo o ano e longos períodos de fortes chuvas ocorrem de março a agosto, com a precipitação média anual variando de 1.500 mm a 2.000 mm. A temperatura média mensal varia de 24°C a 28°C e a umidade de 60% a 80% (IMPAR, 1995). A área é urbana composta por 50 bairros, divididos em sete distritos sanitários (SMS, 2005).

Neste estudo foram amostradas quatro diferentes regiões da área definida de filariose linfática em Maceió (FONTES *et al.*, 1998), sendo uma região na margem do canal do Reginaldo (**Figura 6**) e outras três regiões na área baixa próxima ao canal do Reginaldo correspondendo a parte dos bairros contíguos Feitosa, Jacintinho e Pitanguinha, áreas com microfilarêmicos no passado.



**Figura 6:** Região endêmica de filariose linfática em Maceió. Em destaque o canal do Reginaldo (Original de Prof<sup>a</sup> Eliana M. Mauricio da Rocha e Prof. Gilberto Fontes).

### 4.2. População estudada

A população estudada foi constituída por indivíduos de diferentes faixas etárias, de ambos os gêneros, residentes nas quatro diferentes regiões amostradas da área definida de filariose linfática em Maceió, sendo moradores da margem do canal do Reginaldo e

moradores de outras três regiões na área baixa próxima ao canal do Reginaldo correspondendo a parte dos bairros contíguos Feitosa, Jacintinho e Pitanguinha.

Os indivíduos examinados foram informados sobre o propósito do estudo, para obtenção do livre consentimento (**Anexo A**). No caso das crianças, o consentimento foi dado pelos pais ou responsáveis. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas e a permissão para examinar a população foi solicitada, recebendo parecer favorável (**Anexo B**).

#### **4.3. Amostras de crianças com idade entre 5 a 10 anos residentes na área endêmica de filariose linfática**

Através de testes de imunocromatografia rápida “ICT *card test*” Binax<sup>®</sup> foram avaliadas 3.000 crianças na área endêmica estudada, escolhidas aleatoriamente. O tamanho da amostra, faixa etária e tipo de exame foram previamente estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para verificar a existência de transmissão ativa de filariose linfática em área endêmica (WHO, 2000). Segundo a OMS, prevalências de até 0,1% de antigenemia, utilizando essa técnica, nessa faixa etária entre 5 a 10 anos, indica que a transmissão de filariose linfática na área em análise foi interrompida. Para a obtenção da amostra de crianças, foi definido em cada região analisada, e em cada quarteirão, a casa mais ao Norte. A partir desse ponto selecionado, foram examinadas as crianças na faixa etária definida, em casas alternadas dentro de cada quarteirão.

Através da gota espessa de sangue foram avaliadas 5.261 crianças, escolhidas aleatoriamente, da mesma faixa etária anterior, na mesma área, residentes em casas selecionadas como descrito anteriormente. O cálculo do tamanho da amostra foi baseado na população de crianças nessa faixa etária residentes na área endêmica estudada e na estimativa de prevalência (estudos anteriores), com nível de significância de 5% e erro máximo tolerável de 20%. Para isso foi utilizado o pacote estatístico Epi-Info version 6.04 (DEAN *et al.*, 1996).

#### **4.4. Amostra de indivíduos com idade acima de 10 anos residentes na área endêmica de filariose linfática**

Através de testes de imunocromatografia rápida “ICT *card test*” foram avaliados 411 indivíduos com idades acima de 10 anos, na área endêmica estudada, escolhidos aleatoriamente. O cálculo do tamanho da amostra foi baseado na população de indivíduos nessa faixa etária residentes na área endêmica estudada e na estimativa de prevalência

(estudos anteriores), com nível de significância de 5% e erro máximo tolerável de 20%. Para isso foi utilizado o pacote estatístico Epi-Info version 6.04 (DEAN *et al.*, 1996).

Para a obtenção da amostra de indivíduos maiores de dez anos, foi definido em cada região analisada, e em cada quarteirão, a casa mais ao Norte. A partir desse ponto selecionado, foram examinados os moradores na faixa etária definida, em casas alternadas dentro de cada quarteirão.

Através da gota espessa de sangue foram avaliados 19.875 indivíduos acima de dez anos na mesma área, residentes em casas selecionadas como descrito anteriormente. O cálculo do tamanho da amostra foi baseado na população de moradores nessa faixa etária residentes na área endêmica estudada e na estimativa de prevalência (estudos anteriores), com nível de significância de 5% e erro máximo tolerável de 20%. Para isso foi utilizado o pacote estatístico Epi-Info version 6.04 (DEAN *et al.*, 1996).

#### **4.5. Variáveis estudadas**

Durante as colheitas de sangue foram levantados dados como: idade, gênero, naturalidade, tempo de residência na área e endereço das pessoas examinadas.

#### **4.6. Treinamento de recursos humanos**

Foi formada uma equipe composta por estudantes dos cursos de Medicina, Biologia e Farmácia da UFAL, bem como por professores, funcionários, bolsistas e monitores da UFAL envolvidos no projeto, que foram responsáveis pela colheita de sangue, realização das técnicas de diagnóstico e aplicação de questionários. Agentes de Saúde da Secretaria Municipal de Saúde de Maceió, devidamente treinados, fizeram a divulgação, conscientização dos moradores a respeito da parasitose e do trabalho proposto, e também o cadastramento destes moradores por residência e quarteirão.

#### **4.7. Técnicas de colheita das amostras de sangue**

##### **4.7.1. Punção digital**

O sangue foi obtido por punção capilar digital (polpa do dedo indicador), usando lancetas descartáveis, e colocado diretamente sobre lâminas de microscopia previamente lavadas com água e sabão e desengorduradas em solução álcool-éter (1:1), para a realização da gota espessa de sangue. Para a imunocromatografia rápida o sangue foi colocado diretamente em tubos capilares (tubos para microhematócrito) com capacidade de 100 µL.

#### 4.7.2. Punção venosa

O sangue utilizado na técnica quantitativa de diagnóstico (filtração em membrana de policarbonato) foi obtido por punção da veia mediana cubital, usando agulhas 25 X 7 e seringas descartáveis, e foi colocado diretamente em tubos plásticos com tampas rosqueáveis, usando ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA) (**Anexo C.1**) como anticoagulante. Para o método de diagnóstico semiquantitativo ELISA (com uso de soro) a colheita de sangue foi feita da mesma forma que para a filtração em membrana, porém sem anticoagulante nos tubos.

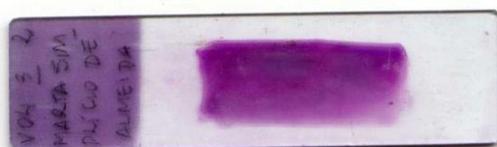
#### 4.8. Horário da colheita das amostras de sangue

As colheitas de amostras de sangue para pesquisa de microfilárias, por punção digital ou venosa, foram sempre realizadas entre 22h00 e 24h00, horário compatível com a maior concentração de parasitos no sangue periférico de pacientes na região (FONTES *et al.*, 2000). Já as colheitas de sangue para a pesquisa de antígenos solúveis do parasito, por punção digital, foram realizadas em horários diurno e noturno.

#### 4.9. Técnicas de diagnóstico parasitológico

##### 4.9.1. Gota espessa qualitativa

Com sangue obtido por punção da polpa digital foram preparadas gotas espessas em lâminas de microscopia, com volumes entre 60 a 100  $\mu$ L, e deixadas secar a temperatura ambiente. Entre 12 a 15 horas depois de preparadas, as gotas espessas de sangue foram cuidadosamente submersas em cubas com água destilada por 10 minutos, para que ocorresse a desmembramento (lise das hemácias). Após secas, as lâminas foram cobertas com metanol por dois minutos para fixação e coradas em eosina-Giemsa (**Figura 7, Anexos C.3 e C.4**). A leitura das lâminas foi feita em microscópio óptico, usando objetiva de 10X (aumento de 100X) e utilizando maior ampliação (400 X) para a confirmação do diagnóstico.



**Figura 7:** Gota espessa de sangue corada pela técnica de eosina-Giemsa (Original de Prof. Gilberto Fontes e Prof<sup>a</sup> Eliana M. Mauricio da Rocha).

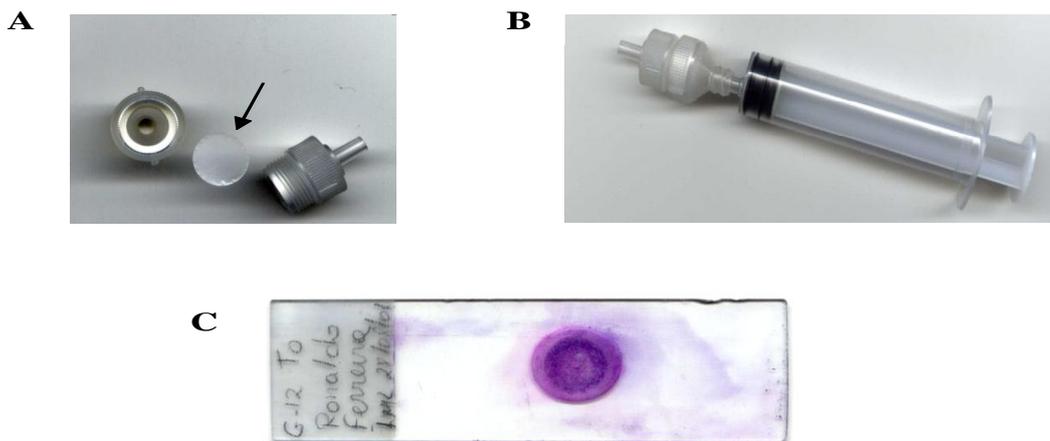
#### 4.9.2. Filtração em membrana de policarbonato

Em todos os indivíduos com diagnóstico positivo pela imunocromatografia rápida ou pela gota espessa de sangue, foi realizada punção venosa para obtenção de sangue para a quantificação da microfilaremia pela técnica da filtração em membrana de policarbonato (CHULARERK & DESOWITZ, 1970; DENNIS & KEAN, 1971).

Antes de filtrar o sangue venoso, tomavam-se 20 µL da amostra, bem homogeneizada, e fazia-se uma contagem imediata do número de microfilárias a fresco entre lâminas e lamínula. Isso foi feito com o objetivo de estimar a microfilaremia em 1 mL de sangue, o que foi calculado multiplicando-se o resultado obtido na contagem a fresco por 50. A partir daí, o volume a ser filtrado foi determinado de acordo com o quadro a seguir:

Estimativa do número de microfilárias/mL de sangue	Volume de sangue a ser filtrado
1 – 250	1 mL
251 – 500	500 µL
501 – 1000	200 µL
> 1000	100 µL

Para a filtração tomava-se em uma seringa, o volume de sangue venoso pré-determinado conforme a densidade de microfilárias estimada previamente, seguindo os padrões descritos no quadro acima. O sangue foi diluído na proporção de 1:10 em solução salina fosfatada tamponada (PBS) (**Anexo C.2**). Essa suspensão foi filtrada, pressionando levemente o êmbolo da seringa contra uma membrana de policarbonato (Nuclepore Corporation, Pleasanton, CA, USA) de 13 mm de diâmetro e poros de 3 µm (retém as microfilárias mas não as hemácias), que foi montada em um suporte de filtro apropriado (Nuclepore Corporation, Pleasanton, CA, USA), adaptado na extremidade da seringa (**Figuras 8 A e 8 B**). Após a filtração, a seringa foi preenchida com cerca de 10 mL de solução de PBS que foi passada através da membrana, usada para lavar o filtro. Em seguida, o mesmo volume de água destilada foi passado através da membrana a fim de promover a lise das hemácias porventura retidas no filtro. A membrana foi então removida do suporte e colocada sobre uma lâmina para microscopia. Após seca, a membrana foi fixada com metanol e corada pelo Giemsa (**Figura 8 C**). A contagem de microfilárias foi feita com o auxílio de um microscópio óptico (aumento de 100X) e os resultados expressos em número de microfilárias/mL de sangue.



**Figura 8:** A. Holder (suporte da membrana em formato de funil invertido) e membrana de polycarbonato em detalhe; B. Seringa conectada ao holder por onde passará o sangue a ser filtrado; C. Membrana de polycarbonato corada pelo Giemsa e montada em lâmina de microscopia (original dos Profs Gilberto Fontes / Eliana M. M. da Rocha).

#### 4.10. Técnicas de coloração

##### 4.10.1. Coloração pela técnica da eosina-Giemsa para gota espessa de sangue

As lâminas com gota espessa de sangue, após desemoglobinização e fixação com metanol, foram coradas com eosina 0,05% (**Anexo C.3**) por três minutos e em seguida, após lavagem e retirada do excesso de corante, foram coradas pelo Giemsa (**Anexo C.4**), na diluição de uma gota de corante estoque para um mL de água destilada tamponada (**Anexo C.5**), durante 15 minutos. Após esse tempo, o excesso de corante foi retirado com água destilada e as lâminas, secas a temperatura ambiente. A eosina (0,05%) é útil para dar maior contraste à bainha e ao poro excretor existente na microfilária de *W. bancrofti*, facilitando o diagnóstico específico.

##### 4.10.2. Coloração pela técnica de Giemsa para membrana de polycarbonato

As lâminas para microscopia com membrana de polycarbonato após fixadas com metanol e secas, foram coradas com Giemsa, na proporção de uma gota de corante estoque para 1 mL de água destilada tamponada, durante 15 minutos. Após coradas, as lâminas foram lavadas com água destilada para retirar o excesso de corante e secas a temperatura ambiente.

#### 4.11. Técnica de diagnóstico por imunocromatografia rápida (“ICT card test”)

As amostras de sangue foram obtidas através de punção digital e colhidas em tubo capilar graduado de 100  $\mu$ L. O sangue foi obtido cuidadosamente assegurando que não houvesse formação de bolhas de ar no tubo capilar. Após a colheita, o sangue do tubo era dispensado lentamente na parte superior da almofada branca e cor-de-rosa existente no lado

esquerdo do cartão. Após 30 segundos a um minuto, tempo necessário para que a amostra se deslocasse pela almofada e molhasse completamente a área cor-de-rosa desta, com plasma, o adesivo existente no lado direito do cartão de imunocromatografia era retirado, e o cartão fechado. Assim, o plasma, contendo possíveis antígenos do parasito, entrava em contato com a coluna de imunocromatografia onde se encontravam os anticorpos monoclonais específicos para que ocorresse a reação. Após 10 minutos era feita a leitura do teste, diretamente no cartão. Após a leitura do teste, adicionavam-se gotas de metanol sobre a fita de nitrocelulose do cartão para fixar as bandas formadas, evitando mudanças posteriores e leituras tardias errôneas (ex: exame falso-positivo). Cartões apresentando duas bandas na coluna de nitrocelulose (Controle e Teste) foram considerados exames positivos; cartões apresentando apenas uma banda na coluna de nitrocelulose (Controle) foram considerados exames negativos (**Figura 9**).

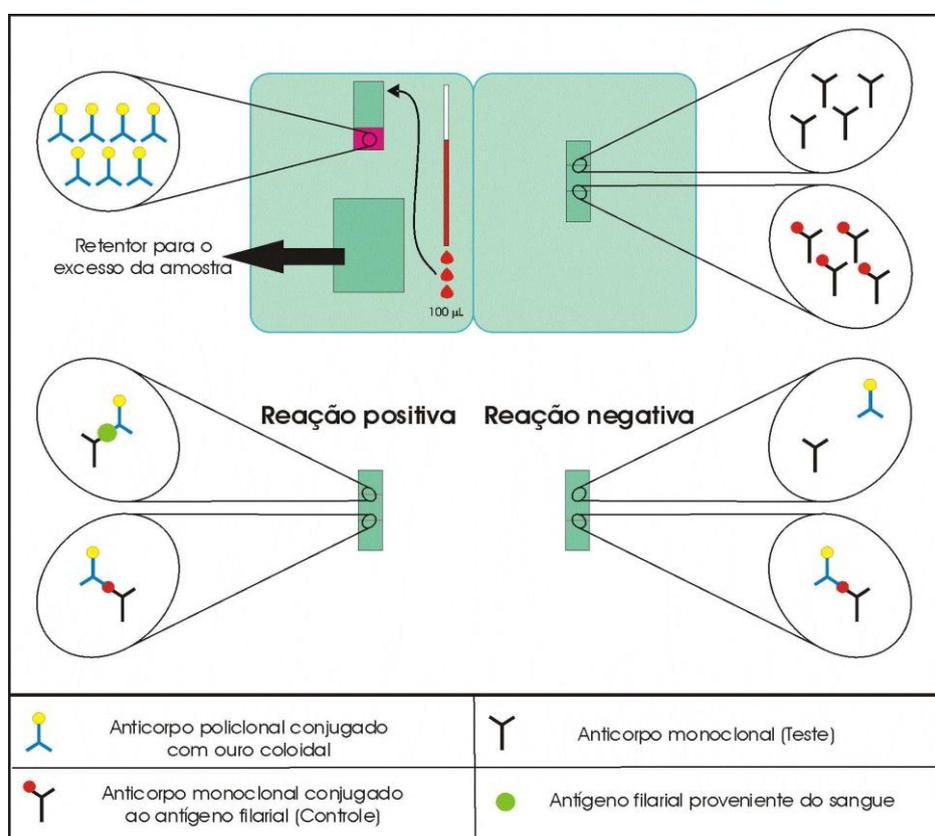


**Figura 9:** A. Cartão para teste de imunocromatografia rápida (ICT card test BINAX®). B. Cartão teste aberto após seu uso. C. Teste positivo (duas bandas). D. Teste negativo (uma banda). (original dos Profs Gilberto Fontes / Eliana M. M. da Rocha).

#### 4.11.1. Princípios gerais da imunocromatografia rápida para filariose

A imunocromatografia rápida para filariose é um teste de imunodiagnóstico *in vitro* para detecção de antígenos de *W. bancrofti* em sangue total, soro sanguíneo ou plasma. Este teste utiliza um anticorpo policlonal (Pab) e um anticorpo monoclonal (Mab) específico para *W. bancrofti*. O Pab é agregado a ouro coloidal (marcador), e impregnado em uma almofada branca e cor-de-rosa. Se utilizar sangue total, a maioria dos glóbulos vermelhos se manterá na parte branca da almofada, e o plasma deslizará para a parte cor-de-rosa por um tempo que permita que qualquer antígeno de *W. bancrofti* existente se fixe ao Pab devidamente

assinalado com ouro coloidal, formando um complexo. O Mab é imobilizado numa linha ao longo de uma membrana de nitrocelulose. Quando se fecha o cartão, a amostra e o Pab da parte cor-de-rosa da almofada entram em contato com a extremidade da membrana de nitrocelulose. Então a amostra e o Pab migram ao longo desta membrana atravessando a linha do Mab imobilizado. Se antígenos da *W. bancrofti* estiverem complexados com o Pab marcado com ouro e capturado pelo Mab presente na membrana, se formará uma linha cor-de-rosa, indicando teste positivo. Quando a amostra é negativa, nenhum dos anticorpos assinalado a ouro é capturado e não forma a linha cor-de-rosa. Se o teste tiver sido feito corretamente, aparecerá sempre uma linha de controle cor-de-rosa do teste na área C (área controle) (Figura 10).



**Figura 10:** Esquema da reação de imunocromatografia rápida “ICT card test”. (Original de Anderson B. Leite).

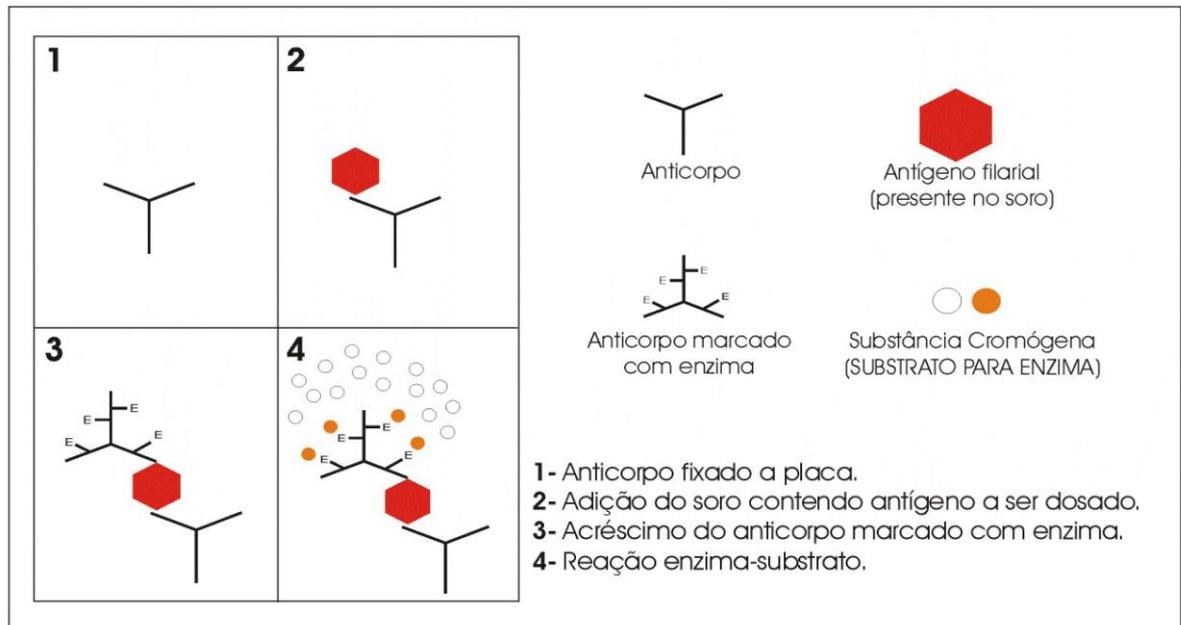
#### 4.12. Ensaio imunoenzimático (ELISA)

Os indivíduos positivos pela imunocromatografia rápida e gota espessa também foram analisados pelo método imunoenzimático, utilizando-se o soro. A colheita do material foi realizada através de punção venosa e o sangue colhido foi transferido para um tubo sem anticoagulante. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, o soro foi transferido para outro

tubo, que por sua vez foi centrifugado a 3.000 rpm/5min., para obtenção de soro límpido. Caso o teste não fosse feito de imediato, o soro era mantido a -20° C até processamento. Para a realização do teste, adicionava-se o soro em uma placa com 96 poços contendo anticorpo monoclonal fixado, adicionava-se também anticorpo marcado com enzima e depois juntava-se o substrato à enzima, formando uma reação colorimétrica. A intensidade da cor produzida pela união da enzima e do substrato era proporcional a quantidade de antígeno presente no soro. A leitura da intensidade da cor produzida pela reação enzima-substrato foi medida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 414 nanômetros e dada por Unidade de antígeno/mL de soro. A amostra era considerada positiva se fosse encontrado no mínimo 32 Unidades de antígeno/mL de soro.

#### **4.12.1. Princípios gerais do ensaio imunoenzimático (ELISA) para filariose**

O teste imunoenzimático (ELISA), utiliza o soro como material biológico e tem como objetivo a identificação da presença do antígeno de *W. bancrofti* utilizando anticorpo monoclonal específico (Og<sub>4</sub>C<sub>3</sub>). Nos poços da placa de ELISA, contendo anticorpo monoclonal específico para *W. bancrofti*, é adicionada amostra de soro que pode conter antígenos filariais. Posteriormente, anticorpos marcados por enzimas são adicionados ao sistema; os anticorpos não ligados são removidos por lavagem. Depois adiciona-se substrato cromógeno para que o anticorpo ligado seja detectado por uma reação de coloração enzima-dependente. A intensidade da cor produzida pela união do substrato com a enzima é diretamente proporcional a quantidade de antígeno presente no soro. A leitura da intensidade da cor produzida por esta reação é medida em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 414 nanômetros. Esta reação imunoenzimática pode ser descrita com o esquema mostrado na Figura 11.



**Figura 11:** Esquema da reação imunoenzimática (ELISA). (Original de Anderson B. Leite).

#### 4.13. Revisão das leituras das lâminas de gota espessa e quantificação de microfilárias

As lâminas de gota espessa qualitativas de sangue foram lidas por um técnico e depois revisadas por outro. Para a técnica quantitativa (filtração de sangue em membrana de policarbonato), as contagens de microfilárias foram feitas por três técnicos diferentes e os resultados foram expressos como a média das três contagens.

#### 4.14. Autoctonia dos indivíduos parasitados pela *W. bancrofti*

Todos os indivíduos que apresentaram exames positivos, responderam a um questionário (**Anexo D**) e foram investigados para obtenção de informações sobre sua mobilidade e residências anteriores. Só foram considerados autóctones aqueles que nasceram na área em estudo e que nunca viveram em outras áreas consideradas endêmicas para a bancroftose.

#### 4.15. Validação da técnica de imunocromatografia rápida para avaliação antigênica em diferentes horários ao longo de 24 horas

Os pacientes diagnosticados como antígeno-positivo repetiram o exame de imunocromatografia rápida nos períodos matutino, vespertino e noturno para verificar, na região, se a técnica tem a mesma eficácia, independente do horário do exame. A verificação da eficácia do método, independente do horário do exame, é necessária para que possam ser

realizados testes de imunocromatografia rápida em horários que se opõem à periodicidade noturna das microfilárias no sangue dos pacientes, característica do parasito na região (FONTES *et al.*, 2000).

#### **4.16. Comparações entre técnicas laboratoriais para o diagnóstico da bancroftose**

Estas comparações foram feitas através de exames realizados em indivíduos de diferentes faixas etárias residentes na região endêmica de filariose linfática já delimitada na cidade de Maceió.

Para comparação entre imunocromatografia rápida e gota espessa de sangue, foram analisadas 5.261 crianças através da gota espessa com idades entre 5-10 anos, com sangue colhido após 22h00 e também foram realizados exames em 3.000 crianças com a mesma faixa etária, na mesma região, para detecção de antígenos circulantes do parasito através da imunocromatografia rápida, em sangue colhido em horário matutino, vespertino ou noturno. Ainda nesta região foram feitos testes de imunocromatografia rápida em 411 indivíduos maiores de 10 anos e 19.875 exames de gota espessa de sangue em indivíduos na mesma faixa etária. Foram realizadas análises entre grupos com mesma faixa etária e diferentes técnicas de diagnóstico; como também grupos de diferentes faixas etárias utilizando as mesmas técnicas de diagnóstico.

De todos os pacientes diagnosticados antígeno-positivo pela imunocromatografia rápida ou microfilarêmicos por gota espessa, foi colhido sangue venoso para que pudesse ser realizado a quantificação de microfilárias pela técnica de filtração em membrana de policarbonato. O horário escolhido foi em torno de 23h00.

O teste imunoenzimático ELISA foi utilizado para quantificação da antigenemia em soros de pacientes diagnosticados antígeno-positivo pelo “ICT *card test*” e microfilarêmicos pela gota espessa de sangue.

A comparação das técnicas foi feita para avaliar a capacidade de detecção de *W. bancrofti* através de métodos parasitológicos qualitativo (gota espessa), frente ao método qualitativo da imunocromatografia rápida. Foi considerada a melhor técnica, aquela que mostrou maior capacidade de detectar pacientes verdadeiramente positivos, mesmo aqueles amicrofilarêmicos, mas portadores da infecção, ou seja, portadores de vermes adultos.

#### **4.17. Avaliação da interrupção da transmissão ativa de filariose bancroftiana em região endêmica em Maceió, AL**

Para que uma área de até 1.000.000 de habitantes seja considerada isenta de transmissão ativa de filariose linfática, a OMS preconiza que, utilizando o “ICT card test”, deve ser analisada uma amostra aleatória de 3.000 crianças na faixa etária de 5 a 10 anos e o índice de parasitados encontrado deve ser inferior a 0,1% (WHO, 2000). Nesse estudo foi examinada uma amostra aleatória de 3.000 crianças na faixa etária de 5 a 10 anos, através da técnica de imunocromatografia rápida, visando avaliar a existência de transmissão ativa de bancroftose na atualidade na região estudada.

#### **4.18. Tratamento**

Todos os indivíduos examinados receberam o resultado do exame por escrito e assinado pelo coordenador da pesquisa. Todos os pacientes antígeno-positivo para bancroftose, como também os microfilarêmicos, receberam o tratamento específico, ou seja, citrato de dietilcarbamazina (DEC) na proporção de 6 mg/Kg de peso durante 12 dias (WHO, 1992), com a devida prescrição, orientação e acompanhamento médico. Os comprimidos de DEC foram fornecidos pelo Ministério da Saúde. Indivíduos que não apresentavam cura parasitológica após o tratamento, foram submetidos a novos ciclos de DEC até apresentarem exames negativos.

#### **4.19. Análise dos dados**

Os dados foram analisados usando o pacote estatístico EPIINFO version 6.04 (DEAN *et al.*, 1996). O  $\chi^2$  e teste “t” de Student foram usados pra comparar proporções e médias, respectivamente; riscos foram estimados pela “odds” relativa (OR) (KAHN & SEMPOS, 1989). Sempre foi utilizado o nível de significância de 5%, ou seja, para diferenças significativas, o valor de p deve ser <0,05. A significância da “odds” relativa é dada pela análise de intervalo de confiança, sendo que o menor valor do intervalo de confiança nunca deve ser menor que a unidade.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Prevalência de *Wuchereria bancrofti* em amostras de crianças com idade entre 5-10 anos, residentes em área endêmica de filariose linfática em Maceió-AL

Em 2003, foram analisadas um total de 3.000 crianças (5-10 anos), com média de idade de  $7,4 \pm 1,7$  anos, distribuídas em quatro localidades dentro da área endêmica de filariose no canal do Reginaldo na cidade de Maceió-AL, sendo detectadas 10 (0,33%) antígeno-positivo para bancroftose, como mostrado na Tabela 1.

**TABELA 1:** Resultado do teste de imunocromatografia rápida para *Wuchereria bancrofti* em crianças examinadas em quatro diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL

Áreas amostradas	Nº de examinados	Nº de positivos (% de positivos)
Feitosa	1.203	6 (0,50)
Jacintinho	1.034	0 (0)
Pitanguinha	258	2 (0,78)
Reginaldo (margem do canal)	505	2 (0,40)
Total	3.000	10 (0,33)

A Tabela 2 mostra as relações entre idade, frequência de examinados e antigenemia entre crianças de 5-10 anos de idade da região endêmica de filariose analisada.

**TABELA 2:** Frequência de idade das crianças examinadas e relação de exames positivos através de imunocromatografia rápida

Idade (anos)	Frequência	ICT Positivos (%)
5	523	2 (0,38)
6	529	0 (0)
7	512	2 (0,39)
8	465	3 (0,65)
9	474	2 (0,42)
10	497	1 (0,20)
Total	3.000	10 (0,33)

Das 3.000 crianças examinadas, 1.521 (50,7%) eram do gênero masculino e 1.479 (49,3%) eram do gênero feminino. O número de crianças diagnosticadas antígeno-positivo foi de 5 para cada gênero. A prevalência de antigenemia entre crianças do gênero masculino

(0,33%) não foi significativamente diferente daquela verificada entre crianças do gênero feminino (0,34%) ( $p>0,05$ ).

Entre 2002 e 2003, na mesma área endêmica para filariose em Maceió, foram examinadas 5.261 crianças entre 5-10 anos, com média de idade de  $7,5 \pm 1,7$  anos, através da gota espessa colhida após 22h00, sendo detectadas 4 (0,076%) microfilarêmicas como mostrado na Tabela 3.

**TABELA 3:** Resultado da gota espessa de sangue em crianças examinadas em quatro diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL

Áreas amostradas	Nº de examinados	Nº de microfilarêmicos (%)
Feitosa	2.158	2 (0,09)
Jacintinho	2.569	1 (0,04)
Pitanguinha	501	1 (0,20)
Reginaldo (margem do canal)	33	0 (0)
Total	5.261	4 (0,076)

Das 5.261 crianças examinadas por gota espessa, 2.654 (50,45%) eram do gênero masculino e 2.607 (49,55%) eram do gênero feminino; o número de microfilarêmicos foi 2 para cada gênero. A prevalência entre crianças microfilarêmicas do gênero masculino (0,075%) não foi significativamente diferente daquela verificada entre crianças do gênero feminino (0,077%) ( $p>0,05$ ).

A Tabela 4 mostra as relações entre idade, frequência de examinados e microfilarêmicos para bancroftose, entre crianças de 5-10 anos de idade da região endêmica de filariose analisada.

**TABELA 4:** Frequência de idade das crianças examinadas e relação de microfilarêmicos através de gota espessa de sangue

Idade	Frequência	Nº de microfilarêmicos (%)
5	865	1 (0,16)
6	907	0 (0)
7	902	0 (0)
8	884	1 (0,11)
9	841	0 (0)
10	862	2 (0,23)
Total	5.261	4 (0,076)

## 5.2. Prevalência de *Wuchereria bancrofti* em amostras de indivíduos com idade acima de 10 anos, residentes na área endêmica de filariose linfática em Maceió

Em 2003, foram examinados 411 indivíduos acima de 10 anos, com média de idade de  $31,6 \pm 15,9$  anos, distribuídos nas localidades estudadas dentro da área endêmica de filariose no canal do Reginaldo na cidade de Maceió-AL, sendo detectado apenas 1 (0,24%) antígeno-positivo para bancroftose como mostrado na Tabela 5.

**TABELA 5:** Resultado do teste de imunocromatografia rápida para *Wuchereria bancrofti* em indivíduos examinados em diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL

Áreas amostradas	Nº de examinados	Nº de positivos (% de positivos)
Feitosa	99	1 (1,01)
Jacintinho	280	0 (0)
Pitanguinha	32	0 (0)
Total	411	1 (0,24)

A Tabela 6 mostra as relações entre faixas de idade, frequência de examinados e indivíduos antígeno-positivo para bancroftose, com idade acima de 10 anos na região endêmica.

**TABELA 6:** Frequência de indivíduos examinados em diferentes faixas de idade e relação de positividade para bancroftose através de imunocromatografia

Idade	Frequência	ICT Positivos (%)
11 – 15	63	1 (1,59)
16 – 20	51	0 (0)
21 – 30	105	0 (0)
31 – 40	77	0 (0)
41 – 50	50	0 (0)
> 50	60	0 (0)
Total	411	1 (0,24)

Dos 411 examinados, 161 (39,1%) eram do gênero masculino e 250 (60,9%) eram do gênero feminino. O único paciente diagnosticado antígeno-positivo tinha 11 anos de idade e era do gênero masculino.

Entre 2002 e 2003, na mesma área de filariose em Maceió, foram examinados 19.875 indivíduos acima de 10 anos, com média de idade de  $32,0 \pm 15,7$  anos, através da gota espessa colhida após 22h00, sendo detectados 25 (0,13%) microfilarêmicos como mostrado na Tabela 7.

**TABELA 7:** Resultado da gota espessa de sangue em indivíduos examinados em diferentes localidades na região endêmica de filariose linfática na cidade de Maceió-AL

Áreas amostradas	Nº de examinados	Nº de positivos (% de positivos)	
Feitosa	4.715	4	(0,08)
Jacintinho	13.577	20	(0,01)
Pitanguinha	1.566	1	(0,06)
Reginaldo (margem do canal)	17	0	( 0 )
Total	19.875	25	(0,13)

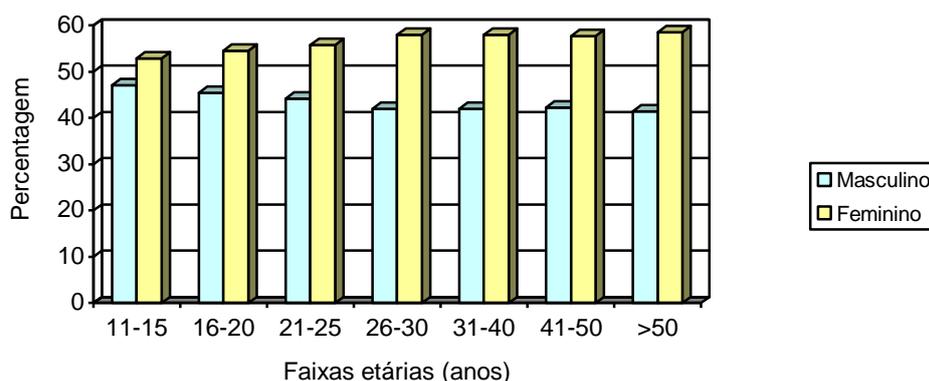
A Tabela 8 mostra as relações entre faixas de idade, frequência de examinados e microfilarêmicos, entre indivíduos com idade acima de 10 anos da região endêmica de filariose analisada.

**TABELA 8:** Frequência de indivíduos examinados em diferentes faixas de idade e relação de microfilarêmicos através de gota espessa de sangue

Idade	Frequência	Nº de microfilarêmicos (%)	
11 – 15	2.667	2	(0,08)
16 – 20	2.933	7	(0,24)
21 – 25	2.825	4	(0,14)
26 – 30	2.295	7	(0,31)
31 – 40	3.808	3	(0,08)
41 – 50	2.747	1	(0,04)
> 50	2.600	1	(0,04)
Total	19.875	25	(0,13)

Dos 19.875 examinados acima de 10 anos, 8.633 (43,4%) eram do gênero masculino e 11.242 (56,6%) eram do gênero feminino, cuja distribuição em cada faixa etária está apresentada na Figura 12. O número de microfilarêmicos foi 20 entre indivíduos masculinos (0,23%) e 05 entre indivíduos do gênero feminino (0,044%). Nesse grupo > 10 anos, a prevalência de microfilarêmicos no gênero masculino (0,23%) foi significativamente maior

que aquela verificada entre indivíduos do gênero feminino (0,044%) ( $p < 0,05$ ), sendo a “odds” relativa igual a 5,2 (IC 95% = 1,8 – 16,0) (Tabela 9). Isso mostra que existe uma probabilidade cinco vezes maior do indivíduo do gênero masculino ser microfilarêmico por *Wuchereria bancrofti* quando comparado com indivíduo do gênero feminino na área estudada.



**FIGURA 12:** Percentagem de examinados em relação aos gêneros, nas diferentes faixas etárias

**TABELA 9:** Distribuição de microfilarêmicos para *Wuchereria bancrofti* de acordo com o gênero em amostras de indivíduos com idade acima de 10 anos, residentes na região endêmica de filariose linfática em Maceió

Gênero	Nº de microfilarêmicos (%)	Nº de negativos (%)	“Odds” Relativa
Masculino	20 (0,23)	8.613 (99,77)	5,2
Feminino	5 (0,044)	11.237 (99,956)	(IC 95%: 1,8 – 16,0)

### 5.3. Validação da técnica de imunocromatografia rápida “ICT card test” para realização de exames em diferentes horários

Foram realizados exames de imunocromatografia rápida em nove indivíduos sabidamente antígeno-positivo para *W. bancrofti*. Os exames foram realizados em diferentes períodos ao longo de 24 horas (matutino, vespertino e noturno) com a finalidade de validar, em nossa região, a técnica e possibilitar análise antigênica durante o dia, fato que se opõe ao método tradicional no qual a pesquisa específica de microfilárias do parasito deve ser realizada exclusivamente à noite (FONTES *et al.*, 2000). Todos os nove indivíduos apresentaram exames de imunocromatografia positivos, na mesma intensidade, nos diferentes turnos de colheita de sangue.

#### 5.4. Comparação entre a técnica parasitológica da gota espessa de sangue e técnica de imunocromatografia rápida “ICT card test” em crianças de 5-10 anos

De acordo com os resultados apresentados no ítem 5.1, a prevalência de crianças com diagnóstico de infecção pela *W. bancrofti* foi significativamente maior quando o exame foi realizado pelo “ICT card test” (0,33%) que a prevalência estimada pelo exame de gota espessa de sangue (0,076%) ( $p < 0,05$ ); sendo a “odds” relativa igual a 4,4 (IC 95% = 1,3 – 16,6) (Tabela 10).

**TABELA 10:** Número de crianças (5-10 anos) examinadas por duas diferentes técnicas de diagnóstico laboratorial e positividade para *Wuchereria bancrofti*

Técnica	Nº de examinados	Nº de positivos (%)	“Odds” Relativa
Imunocromatografia	3.000	10 (0,33)	4,4
Gota espessa	5.261	4 (0,076)	(IC 95%: 1,3 – 16,6)

#### 5.5. Comparação entre a técnica parasitológica da gota espessa de sangue e técnica de imunocromatografia rápida “ICT card test” em indivíduos com idade > 10 anos

Entre indivíduos com idade acima de 10 anos, não houve diferença estatisticamente significativa na capacidade do “ICT card test” em detectar positivos para *W. bancrofti* (0,24%) quando comparado com o exame da gota espessa de sangue (0,13%) ( $p > 0,05$ ), encontrando  $p = 0,41$  para o teste exato de Fischer (Tabela 11).

**TABELA 11:** Número de indivíduos acima de 10 anos examinados por duas diferentes técnicas de diagnóstico laboratorial e positividade para *Wuchereria bancrofti*

Técnica	Nº de examinados	Nº de positivos (%)	Teste exato de Fisher
Imunocromatografia	411	1 (0,24)	$p = 0,41$
Gota espessa	19.875	25 (0,13)	

#### 5.6. Comparação da prevalência de antigenemia de *Wuchereria bancrofti* através da imunocromatografia rápida, em diferentes faixas etárias

Essa análise, com o uso de imunocromatografia rápida mostra que não houve diferença estatisticamente significativa na capacidade de detectar positivos para *W. bancrofti* entre o grupo de crianças de 5-10 anos (0,33%) e o grupo de indivíduos maiores de 10 anos (0,24%) ( $p > 0,05$ ), sendo a “odds” relativa igual a 1,37 (IC 95% = 0,18 – 28,71) (Tabela 12).

**TABELA 12:** Número de examinados por faixa etária, através do teste de imunocromatografia rápida e antigenemia para *Wuchereria bancrofti*

Faixa etária	Nº de examinados	Nº de positivos (%)	“Odds”Relativa
5-10 anos	3.000	10 (0,33)	1,37
>10 anos	411	1 (0,24)	(IC 95%: 0,18–28,71)

### 5.7. Comparação da prevalência de microfilarêmicos para *Wuchereria bancrofti* através da gota espessa de sangue, em diferentes faixas etárias

Essa análise, com o uso da gota espessa de sangue mostra que não houve diferença estatisticamente significativa na capacidade de detectar microfilarêmicos para *W. bancrofti* entre o grupo de crianças de 5-10 anos (0,076%) e o grupo de indivíduos maiores de 10 anos (0,13%) ( $p>0,05$ ), sendo a “odds” relativa igual a 1,66 (IC 95%= 0,55 – 5,6) (Tabela 13).

**TABELA 13:** Número de examinados por faixa etária, através do teste parasitológico da gota espessa de sangue e microfilarêmicos para *Wuchereria bancrofti*

Faixa etária	Nº de examinados	Nº de positivos (%)	“Odds”Relativa
>10 anos	19.875	25 (0,13)	1,66
5-10 anos	5.261	4 (0,076)	(IC 95%: 0,55–5,60)

### 5.8. Avaliação dos indivíduos antígeno-positivo para bancroftose pela imunocromatografia rápida, através da técnica da filtração em membrana de policarbonato

Os 11 indivíduos diagnosticados antígeno-positivo pela imunocromatografia rápida foram avaliados pela técnica de filtração em membrana de policarbonato. Destes 11 indivíduos, nenhum apresentou exame positivo para microfilárias no sangue através da técnica de filtração em membrana de policarbonato, quando foi filtrado 1 mL de sangue.

### 5.9. Avaliação dos indivíduos microfilarêmicos para bancroftose pela gota espessa de sangue, através da técnica da filtração em membrana de policarbonato

Os 29 indivíduos diagnosticados microfilarêmicos pela gota espessa de sangue foram avaliados pela técnica de filtração em membrana de policarbonato. Desses indivíduos, 27 apresentaram exames positivos para microfilárias no sangue através da técnica de filtração em membrana de policarbonato. A média da densidade de microfilárias desses indivíduos, analisados através da filtração em membrana, foi de 38,1 microfilárias/mL de sangue, com

valores que variaram de 1 microfilária/mL de sangue a 399,3 microfilárias/mL de sangue. Esse valor da média de parasitemia é considerado baixo pelos padrões da OMS (WHO, 1992).

#### **5.10. Avaliação dos indivíduos antígeno-positivo para bancroftose pela imunocromatografia rápida, através da técnica imunoenzimática ELISA**

Os 11 indivíduos diagnosticados antígeno-positivo pelo “ICT card test” foram avaliados pelo ensaio imunoenzimático (ELISA). Todos os pacientes foram antígeno-positivo através da técnica imunoenzimática ELISA. A média da densidade de antígenos desses indivíduos, analisados através do ensaio imunoenzimático foi de 3.678 Unidades de antígeno/mL de soro, com valores que variaram de 503 Unidades de antígeno/mL de soro a 7.580 Unidades de antígeno/mL de soro.

#### **5.11. Avaliação dos indivíduos microfilarêmicos para bancroftose pela gota espessa de sangue, através da técnica imunoenzimática ELISA**

Dos 29 indivíduos diagnosticados microfilarêmicos pela gota espessa, 8 foram avaliados através do ensaio imunoenzimático (ELISA), sendo esses 8, antígeno-positivo. A média da densidade de antígenos desses indivíduos analisados através do ensaio imunoenzimático, foi de 10.152 Unidades de antígeno/mL de soro, com valores que variaram de 110 Unidades de antígeno/mL de soro a 29.541 Unidades de antígeno/mL de soro.

#### **5.12. Avaliação da autoctonia dos indivíduos parasitados pela *W. bancrofti***

Todos os indivíduos que apresentaram exames positivos para *W. bancrofti*, pelas diferentes técnicas de diagnóstico, foram considerados autóctones já que nasceram na área em estudo e nunca viveram em outras áreas consideradas endêmicas para a bancroftose.

#### **5.13. Estudo da interrupção da transmissão de filariose bancroftiana na cidade de Maceió-AL**

Examinando 3.000 crianças com idades variando entre 5-10 anos, residentes na região endêmica de Maceió-AL, através da técnica de imunocromatografia rápida, foram encontrados 10 antígeno-positivo, verificando uma prevalência de 0,33%.

## 6. DISCUSSÃO

A técnica da gota espessa de sangue é o método de escolha para o diagnóstico da filariose linfática, utilizado nos inquéritos hemoscópicos desde os primeiros estudos realizados em Maceió-AL, por ser um método prático, rápido e econômico para obtenção de amostras de sangue colhidas durante a noite (DEANE *et al.*, 1953; FONTES, 1996). Também por isso, essa técnica de diagnóstico foi utilizada como padrão para avaliar uma nova técnica de detecção de antígenos circulantes de *W. bancrofti*, a imunocromatografia rápida (“ICT card test”), que é um método rápido e prático, podendo ser utilizado diretamente no campo e em qualquer hora do dia.

A população na faixa etária entre 5-10 anos foi escolhida porque, de acordo com a OMS, se o índice de exames positivos pela técnica de imunocromatografia for inferior a 0,1%, pode-se inferir que na área avaliada não há transmissão ativa da parasitose (WHO, 2000). A prevalência encontrada em 3.000 crianças, através da imunocromatografia rápida, na área endêmica de filariose em Maceió foi 0,33% e esse valor indica que possivelmente ainda há transmissão ativa da parasitose nesta área, ainda que baixa, pois se aproxima do valor máximo preconizado pela OMS para as áreas nas quais a transmissão foi interrompida. A prevalência de microfilarêmicos, através da gota espessa de sangue, entre 5.261 crianças na mesma faixa etária, residentes na mesma área endêmica, foi de 0,076%, sendo esta também, uma prevalência considerada baixa. Esta menor prevalência verificada através da gota espessa é devido a menor capacidade desta técnica de detectar parasitados quando comparada com a técnica da imunocromatografia rápida (RAMZY, *et al.*, 1999; BRAGA *et al.*, 2003). Rawlins e cols. (2004), em Trinidad & Tobago, não encontraram nenhum caso de antígeno positivo através do teste de imunocromatografia rápida, avaliando aproximadamente 3.000 escolares com idade entre 6-12 anos, confirmando uma aparente interrupção de transmissão de filariose linfática em áreas selecionadas deste país. Já no Haiti a realidade é outra; em algumas escolas de determinadas comunidades do país foi encontrada uma prevalência de 4,0% de antígeno-positivo para *W. bancrofti* entre crianças de 6-11anos, porém quando se analisa a população nesta faixa etária, em todo país, a prevalência de antígeno-positivo aumenta para 7,5%, mostrando uma alta transmissão da parasitose (ROCHARS *et al.*, 2004). Comparando-se os resultados obtidos em Maceió com os dos países citados acima, é possível dizer que a transmissão ativa é significativamente baixa na área endêmica de filariose linfática na capital alagoana.

A prevalência encontrada nos 411 examinados acima de 10 anos em Maceió, através da imunocromatografia rápida, retrata uma situação similar a encontrada nos inquéritos hemoscópicos realizados em 19.875 indivíduos, na mesma área endêmica e no mesmo tipo de população, analisados através da gota espessa de sangue.

Todos os casos de antígeno-positivo ou microfilarêmicos encontrados nesse estudo em Maceió foram considerados autóctones, uma vez que nasceram e se criaram na área endêmica estudada. No passado também eram autóctones os casos de microfilarêmicos detectados na mesma área (FONTES *et al.*, 1998; ROCHA *et al.*, 2000).

Quando se analisa a área endêmica de filariose linfática de Maceió, através da imunocromatografia rápida nos diferentes grupos etários estudados, verifica-se que as prevalências de 0,33% entre crianças e 0,24% entre maiores de 10 anos são baixas. Também são baixas as prevalências de 0,076% entre crianças e 0,13% entre maiores de 10 anos, quando se utiliza a técnica da gota espessa de sangue. Os dados atuais de prevalência indicam que em Maceió está ocorrendo um declínio da transmissão da filariose linfática com o passar dos anos. A percentagem de microfilarêmicos nesta mesma área sofreu uma redução de 5,8% em 1995, para 0,74% em 1999, 0,54% em 2000, 0,49% em 2001, 0,10% em 2002, e 0,07% em 2003 (FONTES *et al.*, 2003). Provavelmente, esta diminuição na prevalência se deve a implementação do programa de controle da enfermidade em Maceió, ocorrido em 1999, e detecção e tratamento de parasitados. Desde que o programa de eliminação da filariose seja executado e não sofra interrupção, espera-se em breve a eliminação da transmissão da bancroftose em Maceió.

Dentre os antigos focos conhecidos de filariose linfática no Brasil, Fontes e cols. (2005) retrataram a situação da enfermidade em Belém-PA, mostrando um decréscimo da parasitose desde a década de 1950 (9,8% em 1951, 4,3% em 1962, 0,01% em 1993), e nenhum exame hemoscópico e entomológico positivo encontrado nos anos de 2002 e 2003. Ainda em Belém, entre 3.000 crianças de 5-10 anos examinadas através de imunocromatografia rápida, não se detectou nenhuma antígeno-positivo para *W. bancrofti* (BRAUN *et al.* 2004). Baseado nestes dados, a situação epidemiológica de Belém deve ser analisada por critérios definidos pela OMS, para verificação da interrupção da transmissão da parasitose no município (FONTES *et al.*, 2005).

As médias das idades observadas nas amostras aleatórias entre crianças de 5 a 10 anos estudadas nos diferentes inquéritos, usando imunocromatografia rápida ou gota espessa de sangue, apresentaram concordância. Também apresentaram concordância as médias das idades entre amostras aleatórias de indivíduos com mais de 10 anos analisados através das

mesmas técnicas citadas anteriormente. Isto deixa claro a semelhança entre as amostras quando comparadas as mesmas faixas etárias e diferentes técnicas de diagnóstico.

Em relação ao gênero, pode-se observar que na faixa etária entre 5-10 anos não existe diferença significativa na prevalência de parasitados por diferentes técnicas, pois foram encontradas, respectivamente, 0,33% e 0,34% crianças infectadas do gênero masculino e feminino pela imunocromatografia rápida; e pela gota espessa a prevalência foi de 0,075% para meninos e 0,077% para meninas. Em um estudo anterior realizado na mesma área, quando se obteve 5,8% de prevalência de microfilarêmicos pela gota espessa de sangue, a frequência de parasitados de indivíduos do sexo masculino foi significativamente maior que do sexo feminino (ROCHA *et al.* 2000). A análise deste parâmetro feita com os dados obtidos no presente trabalho ficou prejudicada pelo pequeno número de parasitados detectados. Além disto, a média de idade da população estudada anteriormente foi  $23,1 \pm 14,1$  anos, e a média de idade nas crianças amostradas neste trabalho foi  $7,4 \pm 1,7$  anos. Já em indivíduos com mais de 10 anos de idade, examinados através de gota espessa neste trabalho, também pode-se verificar uma maior prevalência de microfilarêmicos do gênero masculino (0,23%) em relação ao gênero feminino (0,044%) ( $p < 0,05$ ), estando de acordo com Rocha e cols. (2000).

O presente estudo mostra que a técnica de imunocromatografia rápida pode ser utilizada com segurança em horários diurno e noturno, facilitando a realização de inquéritos em locais de difícil acesso, como é o caso da área estudada, onde a desigualdade social e o índice de violência são elevados. Esse fato está de acordo com trabalho realizado no sul da Índia (PANI *et al.* 2000) e confirma a possibilidade da realização do teste de imunocromatografia durante o dia, sem perda da sensibilidade, na nossa região.

Comparado-se a técnica da imunocromatografia rápida para pesquisa de antígenos circulantes com a técnica parasitológica da gota espessa de sangue para pesquisa de microfilárias, pode-se observar maior capacidade de detecção de *W. bancrofti* pelo método imunocromatográfico quando analisadas crianças entre 5-10 anos de idade. Essas crianças possuem probabilidade 4,4 vezes maior de serem diagnosticadas positivas pelo teste de imunocromatografia rápida, do que com a técnica da gota espessa. Essa diferença pode ocorrer pelo fato de que a imunocromatografia consegue detectar antígenos circulantes dos vermes adultos de *W. bancrofti*. Outro motivo é que nem sempre os pacientes possuem concentrações de microfilárias detectáveis pela gota espessa, e ainda, pode existir uma única forma de verme adulto (macho ou fêmea), não ocorrendo produção de microfilárias. Quando foram analisados indivíduos maiores de 10 anos não foi observada diferença significativa, em relação a capacidade de detecção de *W. bancrofti* entre as duas técnicas. Braga e cols. (2003)

estudando indivíduos com idade entre 5 e 65 anos na cidade de Olinda-PE, encontraram alta sensibilidade do teste de imunocromatografia rápida comparada com a gota espessa de sangue. Quando se avalia a população geral, ou seja, todas as faixas etárias, através da imunocromatografia rápida, o grupo de crianças talvez seja o mais importante para detectar parasitados por *W. bancrofti*, pois crianças geralmente apresentam infecções recentes. Sunish e cols. (2001), mostraram que num grupo de crianças com idade entre 2-5 anos, existia uma diferença muito grande entre microfilaremia e antigenemia encontradas para *W. bancrofti*, pois entre 52 crianças microfilarêmicas negativas, 48 foram positivas através da imunocromatografia rápida. O mesmo estudo também mostrou diferença semelhante num grupo entre 6-10 anos de idade.

O uso da técnica de filtração de sangue em membrana de policarbonato em pacientes diagnosticados antígeno-positivo comprovou a maior capacidade de detecção de parasitos de *W. bancrofti* pela imunocromatografia rápida “ICT card test” do que pela filtração em membrana, transformando a imunocromatografia rápida em uma referência na detecção de parasitados com baixas parasitemias ou amicrofilarêmicos. Estudos feitos em Sri Lanka por Chandrasena e cols. (2002) mostraram que 67 pacientes positivos através da filtração em membrana também foram positivos pelo ICT, e nesta mesma população endêmica, 12 microfilarêmicos negativos foram antígeno-positivo pelo ICT, apresentando um resultado concordante com o do presente trabalho.

Na avaliação de 29 pacientes microfilarêmicos (detectados pela gota espessa), utilizando a técnica da filtração de sangue em membrana de policarbonato, foi verificado que dois indivíduos microfilarêmicos pela gota espessa não foram detectados através da filtração em membrana, sendo este um resultado não concordante com a maioria da literatura (RAMZY, *et al.*, 1999; PANI *et al.* 2000; CHANDRASENA *et al.*, 2002). Porém, alguns autores já observaram casos semelhantes ao do nosso trabalho, quando relacionaram gota espessa de sangue capilar e filtração de sangue venoso em membrana de policarbonato, pois mostraram que a concentração de microfilárias no sangue capilar é maior que no sangue venoso (HAIRSTON & JACHOWSKI, 1968; FONTES, 1996). Assim, pacientes com muito baixa parasitemia podem apresentar gota espessa positiva (concentração de microfilárias nos capilares) e exame de filtração de sangue (venoso) negativo. Em nosso estudo os dois pacientes que foram negativos na filtração de sangue, apresentaram apenas 1 microfilária em cada lâmina de gota espessa examinada, apresentando portanto, muito baixa concentração de microfilárias sanguíneas. Comparando-se a técnica de filtração em membrana de policarbonato com a gota espessa de sangue, usando maior volume para filtração em

membrana, verificou-se que o número de microfilarêmicos detectados pela filtração é maior que pela gota espessa de sangue (SOUTHGATE, 1974; SCHEIBER *et al.*, 1976). Porém em amostras de sangue com iguais volumes, foi observado que não existia diferença significativa, principalmente em indivíduos com altas parasitemias (FELDMEIER *et al.*, 1986; SABRY, 1991). Em 2005, Leite e cols. relataram que em microfilarêmicos de Maceió, com densidade parasitaria  $\leq 10$  microfilárias/mL de sangue, a técnica da filtração em membrana de policarbonato é significativamente mais sensível que a gota espessa de sangue, já com densidade parasitaria  $\geq 10$  microfilárias/mL de sangue, a diferença de sensibilidade é insignificante. Chandrasena e cols. (2002) encontraram entre 213 indivíduos examinados, 67 microfilarêmicos para *W. bancrofti* através da filtração em membrana e 63 microfilarêmicos para *W. bancrofti* por gota espessa de sangue, com volumes de 1 mL e 60  $\mu$ L de sangue, respectivamente; mostrando uma pequena diferença de sensibilidade entre as técnicas. A pequena diferença entre as técnicas de gota espessa e filtração em membrana para detecção de microfilarêmicos para *W. bancrofti*, encontrada por Chandrasena e cols. (2002) é, provavelmente justificada pelo nível de parasitemia encontrado que foi entre 8 a 1.782 microfilárias/mL de sangue.

Frente a imunocromatografia rápida, uma outra técnica imunológica (ELISA) mostrou-se com igual capacidade para detecção de antígenos circulantes de *W. bancrofti* no soro. Isto mostra que a imunocromatografia rápida tem igual capacidade de detectar antígeno-positivo quando comparado a ELISA, em casos de indivíduos amicrofilarêmicos. Testes utilizando soros para diagnóstico de infecção por *W. bancrofti* baseados na detecção de antígenos circulantes, através de imunocromatografia rápida e ELISA, foram analisados e tiveram como resultado que a imunocromatografia era menos sensível que a ELISA para soros com níveis baixos de antígenos circulantes (WEIL *et al.*, 1997; SIMONSEN & DUNYO, 1999). Nuchprayoon e cols. (2003), estudando migrantes de Myanmar na Tailândia verificaram que a técnica de ELISA utilizando anticorpos monoclonais Og<sub>4</sub>C<sub>3</sub> para detecção de antígenos filariais foi significativamente mais sensível que a imunocromatografia rápida para filariose, em casos de pacientes amicrofilarêmicos. Em indivíduos microfilarêmicos Simonsen & Dunyo (1999) relataram igual sensibilidade (100%) para ambos os testes.

Em indivíduos microfilarêmicos detectados pela gota espessa nesse estudo, a densidade média de antígenos de *W. bancrofti* através de ensaio imunoenzimático, é bem maior que a densidade média de antígenos detectada em indivíduos positivos pela imunocromatografia. Isso mostra que a carga antigênica em indivíduos microfilarêmicos é consideravelmente maior que aquela verificada em indivíduos amicrofilarêmicos.

Em muitas áreas da África ocorrem infecções com *Dracunculus medinensis* co-existent com infecções por *Onchocerca volvulus* e *W. bancrofti*. Devido a isto, foi realizado um estudo por Bloch e cols. (1998) para observar a importância das infecções por *D. medinensis* em relação a especificidade e sensibilidade dos testes disponíveis para o diagnóstico baseado em antígeno circulante da filariose bancroftiana, usando o teste de cartão ICT e a técnica de ELISA (TropBio Pty Ltd, Queensland, Australia) que usa o anticorpo monoclonal Og<sub>4</sub>C<sub>3</sub>. Porém o resultado mostrou que ocorreu alguma reação imunológica cruzada do soro de pessoas infectadas com *D. medinensis* comparada com a *W. bancrofti*. Duas de 40 amostras de soro dos indivíduos com dracunculíase deram uma resposta falso-positiva para *W. bancrofti* com o teste ICT e uma também com o teste ELISA.

Dados da literatura mostram que a técnica de imunocromatografia rápida, apresenta até 100% de sensibilidade para o diagnóstico da *W. bancrofti* (BLOCH *et al.*, 1998; SIMONSEN & DUNYO, 1999; CHANDRASENA *et al.*, 2002). Testes baseados em imunocromatografia para detecção de antígenos também são utilizados no diagnóstico da malária, onde utilizam antígenos específicos para o *P. falciparum* (PfHRP-II) ou para todas as outras espécies de parasitos causadores da malária humana (PLDH). A sensibilidade destes testes mostram-se mais variáveis que as do “ICT card test” para antígenos de filariose bancroftiana, principalmente com a redução da densidade do parasito. Pharmed e cols. (2001) relataram 93% de sensibilidade em relação a detecção de *Plasmodium falciparum*. Em outro trabalho, Ferro e cols. (2002) relataram que a eficiência no diagnóstico de malária foi de 96,6%, enquanto Coleman e cols. (2002) encontraram que em densidades altas de parasitos, o ensaio era bastante sensível para o *P. falciparum*, porém a performance do ensaio caiu marcadamente com a redução da densidade dos parasitos.

Embora a imunocromatografia rápida para a detecção de antígenos circulantes de *W. bancrofti* seja mais sensível que a gota espessa para procura de microfilárias em avaliações sobre a prevalência e distribuição de filariose linfática, é preciso cautela, pois estudos demonstram que os antígenos circulantes persistem em pessoas amicrofilarêmicas por até 3 anos após tratamento (SCHUETZ *et al.*, 2000). Isto é uma limitação para a proposta de monitoramento da filariose em programas de eliminação e controle de cura, pois indivíduos tratados que não apresentam mais a parasitose, podem ser diagnosticados como antígeno-positivo durante certo tempo, apresentando um resultado falso-positivo. Outro problema é o elevado custo, em torno de US\$ 8.00 cada cartão, que dificulta seu uso para mapeamento de áreas endêmicas de bancroftose, em vários países pobres. Eigege e cols. (2002) conduziram um estudo para determinar se a frequência de hidrocele em indivíduos de vilas nigerianas

poderia ser utilizada como complemento ao uso de imunocromatografia rápida em amostras de população nas atividades de mapeamento para filariose, já que a hidrocele é uma das manifestações clínicas mais comuns desta enfermidade em áreas endêmicas. A pesquisa mostrou um resultado de “ICT *card test*” positivo 17 vezes maior que a frequência de hidrocele. Em análise total de vários vilarejos a prevalência média de hidrocele teve uma pequena correlação com o “ICT *card test*”. O resultado não foi consistente com as observações de Gyapong e cols. (1998), que encontraram uma excelente correlação entre prevalência de microfilárias encontradas em horários noturnos no sangue de parasitados e hidrocele em indivíduos de Gana. Esta diferença pode ser devido a uma maior sensibilidade do “ICT *card test*” em relação à análise microscópica de microfilária.

Em geral a técnica de imunocromatografia rápida oferece vantagens em relação a outras técnicas laboratoriais de diagnóstico para filariose linfática, pois possui alta capacidade de detecção de parasitados, mesmo quando amicrofilarêmicos. Além disso, não necessita de procedimentos adicionais no laboratório e nem uso de microscópio, podendo ser realizada durante qualquer hora do dia, com resultado imediato.

É objetivo da Organização Mundial de Saúde (OMS) e da Organização Pan Americana de Saúde (OPAS), a eliminação da Filariose linfática como problema de saúde pública no mundo até 2020 (WHO, 2000). Utilizando os padrões da OMS para verificar a ausência de transmissão em área endêmica definida (WHO, 2000), verificou-se que esta enfermidade, na atualidade, apresenta uma transmissão controlada na cidade de Maceió e que provavelmente caminhará para uma total ausência, atingindo essa meta antes da data proposta.

## 7. CONCLUSÕES

7.1 A prevalência de crianças antígeno-positivo e/ou microfilarêmicas por *W. bancrofti*, em Maceió, indicam baixa transmissão da parasitose.

7.2 A prevalência da filariose bancroftiana, em indivíduos acima de 10 anos antígeno-positivo e/ou microfilarêmicos por *W. bancrofti*, em Maceió, mostram-se em declínio quando comparadas com inquéritos realizados no passado.

7.3 Em crianças (5 a 10 anos de idade), a técnica de imunocromatografia rápida apresenta maior capacidade de detecção de positivos para bancroftose quando comparada com a técnica da gota espessa de sangue.

7.4 Em indivíduos maiores de 10 anos, a técnica de imunocromatografia rápida apresenta a mesma capacidade de detecção de positivos para bancroftose quando comparada com a técnica da gota espessa de sangue.

7.5 As prevalências de parasitados entre as faixas etárias de 5-10 anos e maiores de 10 anos, não apresentam diferença quando analisadas pelo método da imunocromatografia rápida e pelo método da gota espessa de sangue.

7.6 A imunocromatografia rápida possui capacidade superior que a técnica da filtração de sangue em membrana de policarbonato para detectar pacientes com baixas parasitemias ou amicrofilarêmicos.

7.7 A técnica da filtração de sangue em membrana de policarbonato não conseguiu detectar dois microfilarêmicos que foram positivos anteriormente pela gota espessa com baixíssima parasitemia (apenas 1 microfilária em toda a lâmina de gota espessa examinada).

7.8 A técnica imunoenzimática mostrou-se com igual capacidade na detecção de antígenos circulantes de *W. bancrofti*, quando comparada com a técnica de imunocromatografia rápida.

7.9 A técnica imunoenzimática também mostrou-se com igual capacidade na detecção de parasitados por *W. bancrofti*, quando comparada com a técnica da gota espessa de sangue.

7.10 A prevalência de filariose linfática entre crianças examinadas através da imunocromatografia rápida, sugere uma baixa transmissão da parasitose na região estudada em Maceió.

## 8.1 ANEXO A

### Termo de consentimento livre e esclarecido:

Eu, \_\_\_\_\_, C.I. \_\_\_\_\_ e/ou CPF: \_\_\_\_\_ residente no endereço: \_\_\_\_\_ fui esclarecido a respeito do Projeto de pesquisa: “Reavaliação da prevalência de parasitados por *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) em áreas endêmicas definidas de Filariose linfática em Maceió: Ações para auxiliar a eliminação da Bancroftose no Brasil”. Estou ciente que esta doença, conhecida popularmente como Elefantíase é transmitida em nosso meio pela picada do mosquito ou muriçoca contaminada. Após esclarecido da situação, participei e autorizo a participação de minha família no citado Programa que está sendo desenvolvido pela Universidade Federal de Alagoas e Secretaria Municipal de Saúde de Maceió.

O sangue a ser analisado, será colhido em minha residência, com o uso de lancetas descartáveis, sem risco nenhum ou desconforto para o participante e será encaminhado, via Prefeitura Municipal, para o exame laboratorial na Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Se for detectado algum parasitado em minha residência, novo material (sangue) será colhido com uso de seringas e agulhas descartáveis para ser analisado. Também estou ciente que receberei os resultados dos exames que serão mantidos em sigilo e que os familiares parasitados detectados irão fazer exame médico e serão imediatamente tratados e acompanhados por clínicos da Secretaria Municipal de Saúde de Maceió, sob acompanhamento de pesquisadores da UFAL, local onde a pesquisa será desenvolvida.

Autorizo a Universidade Federal de Alagoas (UFAL) a conservar, sob sua guarda, soros coletados, para serem usados em exames de laboratório, com objetivo futuro de pesquisa médica ou educacional. Autorizo ainda, que as informações médicas obtidas de minha pessoa, possam ser utilizadas em publicações científicas, preservando nesse caso minha identidade.

Atesto ainda que participei de uma palestra explicativa, dada por professores e estudantes da UFAL, sobre a Filariose (Elefantíase) e seus riscos à saúde humana e como evitar a contaminação.

Estou ciente que poderei recusar ou retirar meu consentimento, em qualquer momento da investigação, sem qualquer penalização.

Finalmente, estou ciente que terei o direito garantido à melhor conduta médica diante de uma intercorrência indesejável que possa ocorrer durante o acompanhamento ou desenvolvimento da pesquisa.

Este “termo de consentimento” me foi totalmente explicado e eu entendi seu conteúdo.

Maceió, AL, / / .

\_\_\_\_\_  
Assinatura do examinado

\_\_\_\_\_  
Testemunha: Membro da Equipe de Pesquisa

## 8.2 ANEXO B

## Parecer do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Alagoas

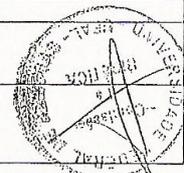


MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

## FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS (versão outubro/99)



1. Projeto de Pesquisa: REVALUAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE MICROFILARÊMICOS POR <i>Wuchereria bancrofti</i> EM INDÍGENAS DE INTERAÇÃO NATURAL DE LETORES EM ÁREAS ENDEMICAS DERIVADAS DE ATARIÇOS LÍQUIDS EM MACAÍPO: AÇÕES AUXILIAR A CULHARÃO DA SANITIZAÇÃO NO BRASIL			
2. Área do Conhecimento (Ver relação no verso) 2. CIÊNCIAS BIOLÓGICAS		3. Código: 2.13 PARASITOMIA (ETIOPATIA) MÓDULO 10	4. Nível: (Só áreas do conhecimento 2 a 4)
5. Área(s) Temática(s) Especial (s) (Ver fluxograma no verso)		6. Código(s):	7. Fase: (Só área temática 3) I ( ) II ( ) III ( ) IV ( )
8. Unitermos: (3 opções) FILARÍASE LINFÁTICA, EPIDEMIOLOGIA, <i>Wuchereria bancrofti</i>			
<b>SUJEITOS DA PESQUISA</b>			
9. Número de sujeitos No Centro: 35000 Total:		10. Grupos Especiais: <18 anos ( ) Portador de Deficiência Mental ( ) Embrião/Feto ( ) Relação de Dependência (Estudantes, Militares, Presidários, etc) ( ) Outros (X) Não se aplica ( ) POPULAÇÃO DEZIL DE ÁREAS ENDEMICAS PROV. MACAÍPO DEFINIDAS	
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>			
11. Nome: <u>GILBERTO FONTES</u>			
12. Identidade: M. 1013342 S/DPMG	13. CPF: 357.643.166-53	19. Endereço (Rua, nº): RUA DE GILBERTO FONTES 341/802	20. CEP: 57035-030
14. Nacionalidade: BRASILEIRA	15. Profissão: PROFESSOR UNIV. VERSO	21. Cidade: MACAÍPO	22. UF: AL
16. Maior Titulação: M.D. PRADO	17. Cargo: PROFESSOR ADJ. VOTO III	23. Fone: 327 1226	24. Fax: 2212501
18. Instituição a que pertence: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS		25. E-mail: gilfontes@ufal.br	
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Data: <u>1/1/01</u> Assinatura: <u>Gilberto Fontes</u> Assinatura: Prof.º Gilberto Fontes			
<b>INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO</b> Dept.º de Patologia			
26. Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS		29. Endereço (Rua, nº): RUA ASSIS CHATEAUBRIAND 2932	
27. Unidade/Orgão: CCB/DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA		30. CEP: 57010-020	31. Cidade: MACAÍPO
28. Participação Estrangeira: Sim ( ) Não (X)		33. Fone: 2235613	34. Fax: 2212501
35. Projeto Multicêntrico: Sim ( ) Não (X) Nacional (X) Internacional ( ) (Anexar a lista de todos os Centros Participantes no Brasil)			
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução Nome: <u>ROBSON ORALCAUTE DE MELO</u> Cargo: <u>DIRETOR - CCB</u> Data: <u>05/05/2001</u> Assinatura: <u>Robson Oralcaute de Melo</u> Assinatura: Prof.º Robson Oralcaute de Melo Méd. SIAPF - 1119335 Assinatura: Prof.º CCB			
<b>PATROCINADOR</b> Não se aplica ( )			
36. Nome: SECRETARIA MUNICIPAL SAÚDE MACAÍPO		39. Endereço: RUA ASSIS CHATEAUBRIAND 2932	
37. Responsável: GENILDA LEÃO		40. CEP: 57010-070	41. Cidade: MACAÍPO
38. Cargo/Função: SECRETARIA MUNICIPAL SAÚDE DE MACAÍPO		43. Fone: 3261994	44. Fax: 3262249
<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP</b>			
45. Data de Entrada: 05/03/01		46. Registro no CEP: 002883/2001-22	47. Conclusão: Aprovado (X) Data: 14/05/01
		48. Não Aprovado ( ) PENDÊNCIA Data: 07/05/01	
49. Relatório(s) do Pesquisador responsável previsto(s) para: A CADA 03 MESES Data: 21/08/01 Data: 21/11/01, etc.			
Encaminhamento a CONEP: 50. Os dados acima para registro (X) 51. O projeto para apreciação ( ) 52. Data: 14/05/01		53. Coordenador/Assinatura: Emiliana Medeiros Fontes Assinatura	
<b>COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA - CONEP</b>			
54. Nº Expediente: 56. Data Recebimento:		57. Registro na CONEP: Prof.ª Dr.ª Emiliana Medeiros Fontes Comitê de Ética em Pesquisa PRESIDENTE	
55. Processo:		58. Observações:	



## 8.3 ANEXO C

### Soluções utilizadas

#### C.1 - Solução anticoagulante de EDTA

Ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA)..... 10,0 g

Água destilada q.s.p..... 100 mL

Usar como anticoagulante na proporção de 1% em relação ao volume de sangue, ficando a concentração final cerca de 1 mg EDTA/mL de sangue.

#### C.2 - Solução salina fosfatada tamponada 0,15 M pH 7,2

Cloreto de sódio..... 8,0 g

Fosfato de sódio dibásico heptahidratado..... 2,18 g

Fosfato de potássio monobásico..... 0,20 g

Cloreto de potássio..... 0,20 g

Água destilada q.s.p..... 1.000 mL

Esterilizar em autoclave e armazenar a 4°C.

#### C.3 - Solução estoque de eosina 2%

Eosina amarela..... 2,0 g

Água destilada q.s.p..... 100 mL

Pesar e dissolver a eosina em água destilada. A solução estoque deve ser mantida em frasco âmbar. Diluir a solução estoque na proporção de 1:40 em água destilada, no momento de uso (eosina 0,05%).

#### C.4 - Solução estoque de Giemsa

Dissolver 1,0 g de Giemsa (Azur-eosina-azul de metileno seg. Giemsa, E. Merck, Darmstadt, Germany) em 54 mL de glicerina. Após resfriamento, adicionar 84 mL de metanol. Deixar 24 horas em estufa a 37°C com suave agitação periódica. Filtrar e armazenar à temperatura ambiente, em vidro âmbar. Diluir com tamponada pH 6,8 no momento de uso, na proporção de 1 gota de solução estoque para 1 mL de água tamponada.

#### C.5 - Água destilada tamponada - solução estoque pH 6,8

Fosfato de potássio monobásico ..... 9,30 g

Fosfato de sódio dibásico heptahidratado.....10,84 g

Água destilada q.s.p..... 500 mL

Filtrar e armazenar a 4°C. Diluir a solução estoque na proporção de 1:20 para uso.

## 8.4 ANEXO D

### Questionário para verificação de casos autóctones

Nome: \_\_\_\_\_ Nº de Registro: \_\_\_\_\_

Endereço atual: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

Endereço anterior: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

Nome do informante: \_\_\_\_\_ Parentesco: \_\_\_\_\_

Data nascimento do paciente: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Local de nascimento do paciente: \_\_\_\_\_

Há quanto tempo mora em Maceió: \_\_\_\_\_

Locais onde já morou (outros bairros de Maceió ou outras cidades): \_\_\_\_\_

Local (cidade/Estado)	Quando?	Quanto tempo

Já viajou para fora de Maceió? \_\_\_\_\_ Para onde? \_\_\_\_\_

Quando? \_\_\_\_\_ Quanto tempo fora? \_\_\_\_\_

Já esteve em Recife? \_\_\_\_\_ Quando e quanto tempo ficou lá? \_\_\_\_\_

Já esteve em Belém? \_\_\_\_\_ Quando e quanto tempo ficou lá? \_\_\_\_\_

Outras informações: \_\_\_\_\_

Entrevistador: \_\_\_\_\_

Data: / / .

Assinatura: \_\_\_\_\_

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDISS, D.G.; BEACH, M.J.; STREIT, T.G.; LUTWICK, S.; LECONTE, F.H.; LAFONTANT, J.G.; HIGHTOWER, A.W.; LAMMIE, P.J. Randomised placebo-controlled comparison of ivermectin and albendazole alone and in combination for *Wuchereria bancrofti* microfilaremia in Haitian children. **Lancet**, v.350, p.480-484, 1997.

AMARAL, F.; DREYER, G.; FIGUEREDO-SILVA, J.; NOROES, J.; CAVALCANTI, A.; SAMICO, S.C.; SANTOS, A.; COUTINHO, A. Live adult worms detected by ultrasonography in human bancroftian filariasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.50, n.6, p.753-757, 1994.

AMBROISE-THOMAS, P. Immunological diagnosis of human filariasis: present possibilities, difficulties and limitations (a review). **Acta Tropica**, v.31, p.108-128, 1974.

BINA, J. C. Anti-helmínticos. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 5ª ed., Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, cap.117, p.1.125-1.126, 1998.

BLOCH, P.; SIMONSEN, P.E.; WEISS, N.; NUTMAN, T.B. The significance of guinea worm infection in the immunological diagnosis of onchocerciasis and bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.92, p.518-521, 1998.

BRAGA, C.; DOURADO M.N.; XIMENES R.A de A.; ALVES L.; BRAYNER F.; ROCHA A.; ALEXANDER N. 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**, v.45, n.3, p.125-129, 2003.

BRAUN, R.F.; ROCHA, R.C.; PALHANO, R.N.; VIEIRA, J.B.F; FONTES, G.; AMORAS, W.W. Avaliação da transmissão da infecção pela *Wuchereria bancrofti* em Belém-PA pelo método de imunocromatografia para detecção de antígenos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37 (Supl I), p.74, 2004.

BRITO, A.C.; FONTES, G.; ROCHA, E.M.M. Criação de *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Biociências**, v.2, n.1, p.21-29, 1996.

CALHEIROS, C.M.L.; FONTES, G.; WILLIAMS, P.; ROCHA, E.M.M Experimental infection of *Culex (Culex) quinquefasciatus* and *Aedes (Stegomyia) aegypti* with *Wuchereria bancrofti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.93, n.6, p.855-860, 1998.

CARVALHO, G. Variações morfológicas em microfilárias sanguíneas. **Revista Brasileira de Medicina**, v.12, n.4, p.209-212, 1955.

CAUSEY, O.R.; DEANE, M.P.; COSTA, O.; DEANE, L.M. Studies on the incidence and transmission of filaria, *Wuchereria bancrofti*, in Belem, Brazil. **American Journal of Hygiene**, v.41, n.2, p.143-149, 1945.

CHABAUD, A.G. Class Nematoda: Keys to Subclasses, Orders and Superfamilies. **Commonwealth Agricultural Bureau**, Ed. England, 1976, v.8, 116p.

CHANDRASENA, T.G.A.N.; PREMARATNA, R.; ABEYEWICKREMA, W.; SILVA, N.R. de. Evaluation of the ICT whole-blood antigen card test to detect infection due to *Wuchereria bancrofti* in Sri Lanka. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.96, p.60-63, 2002.

CHULARERK, P.; DESOWITZ, R.S. A simplified membrane filtration technique for the diagnosis of microfilaremia. **Journal of Parasitology**, v.56, n.3, p.623-624, 1970.

COLEMAN, R.E.; MANEECHAI, N.; RACHAPAEW, N.; KUMPITAK, C.; SOYSENG, V.; MILLER, R.S.; THIMASARN, K.; SATTABONGKOT, J. Field evaluation of the ICT Malaria Pf/Pv Immunochromatographic test for the detection of asymptomatic malaria in a *Plasmodium falciparum/vivax* endemic area in Thailand. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.66, n.4, p.379-383, 2002.

COOK, G.C. History of infectious diseases: lymphatic filariasis and elephantiasis. **The Journal of Infection**, v.27, p. 325-333, 1993.

CRITCHLEY, J.; ADDISS, D.; EJERE, H.; GAMBLE, C.; GARNER, P.; GELBAND, H.; International Filariasis Review Group. Albendazole for the control and elimination of lymphatic filariasis: systematic review. **Tropical Medicine And International Health**, v.10, n.9, p.818-25, 2005.

DEAN A.G.; DEAN, J.A.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K.A.; SMITH, D.C.; BURTON, A.H.; DICKER, R.C.; SULLIVAN, K.; FAGAN, R.F.; ARNER, T.G.I. Epi Info, Version 6.04a: a word processing, database, and statistics for epidemiology in microcomputers. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA. World Health Organization, Geneva, Switzerland; 1996.

DEANE, L.M.; ROSA, D.; RACHOU, R.G.; MARTINS, J.S.; COSTA, A.; GOMES, H.M.; CARVALHO, M.E. A filariose bancroftiana em Maceió, Alagoas: Resultado de um inquérito realizado em 1952. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.5, n.1, p.17-22, 1953.

DENHAM, D.A.; DENNIS, D.T.; PONNUDURAI, T.; NELSON, G.S.; GUY, F. Comparison of a counting chamber and thick smear methods of counting microfilariae. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.65, n.4, p.521-526, 1971.

DENNIS, D.T.; KEAN, B.H. Isolation of microfilariae: report of a new method. **Journal of Parasitology**, v.57, n.5, p.1146-1147, 1971.

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

DREYER, G.; DREYER, P.; NORÕES, J. Recomendações para o tratamento da filariose bancroftiana, na infecção e na doença. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, n.1, p.43-50, 2002.

DREYER, G.; AMARAL, F.; NORÕES, J.; MEDEIROS, Z. Ultrasonographic evidence for stability of adult worm location in bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.88, p.558, 1994.

DREYER, G.; AMARAL, F.; NORÕES, J.; MEDEIROS, Z.; ADDIS, D. A new tool to assess the adulticidal efficacy in vivo of antifilarial drugs for bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.89, p.225-226, 1995.

DREYER, G.; MEDEIROS, Z.; BÉLIZ, F.; VERGETTI, G.; VERGETTI, A.; CAFÉ, T.; FONTES, G. Autochthonous *Wuchereria bancrofti* microfilaremia in the city of Maceió-Alagoas-Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.86, n.4, p.495-496, 1991.

DREYER, G.; NORÕES, J.; FIGUEREDO-SILVA, J.; PIESSENS W.F. Pathogenesis of lymphatic disease in bancroftian filariasis: A clinical perspective. **Parasitology Today**, v.16, n.12, p.544-548, 2000.

EDESON, J.F.B.; HAWKING, F.; SYMES, C.B. The periodicity of microfilariae. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.51, n.4, p.359-365, 1957.

EIGEGER, A.; RICHARDS JR., F.O.; BLANEY, D.D.; MIRI E.S.; GONTOR, I.; OGAH, G.;UMARU, J.; JINADU, M.Y.; MATHAI, W.; AMADIEGWU, S.; HOPKINS, D.R. Rapid Assessment for lymphatic filariasis in Central Nigeria: A Comparison of the immunochromatographic card test and hydrocele rates in an area of high endemicity. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.68, n.6, p.643-646, 2002.

FARIS, R.; HUSSAIN, O.; SETOUHY M. EL; RAMZY, R. M. R.; WEIL, G. J. Bancroftian filariasis in Egypt: visualization of adult worms and subclinical lymphatic pathology by scrotal ultrasound. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.59, n.6, p.864-867,1998.

FEIJÓ, R.B.; KURILENKO, N.K.; FIORI, A.M. Filariose: uma doença tropical ainda em expansão. **Revista Goiana de Medicina**, v.32, p.79-91, 1986.

FELDMEIER, H.; BIENZLE, U.; SCHUH, D.; GEISTER, R.; GUGGENMOOS-HOLZMANN, I. Detection of *Dirofilaria immitis* microfilariae in peripheral blood. **Acta Tropica**, v.43, p.131-138, 1986.

FERRO, B.E.; GONZÁLEZ, I.J.; CARVAJAL, F. de; PALMA, G.I.; SARAVIA, N.G. Performance of OptiMAL<sup>®</sup> in the Diagnosis of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infection in a Malaria Referral Center in Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.5, p.731-735, 2002.

FIGUEREDO-SILVA, J., ARAÚJO, A., SOUTO-PADRON, T., DREYER, G., DE SOUZA, W. *Wuchereria bancrofti* adult filariae. In: I. SEM. STRUCTURAL ANALYSIS. XIV COLÓQUIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA, Caxambu, MG. 1993. **Anais**, v.2, p.575-576.

FISCHER, P.; BOAKYE, D.; HAMBURGER, J. Polymerase chain reaction-based detection of lymphatic filariasis. **Medical Microbiology and Immunology**, v.192, n.1, p.3-7, 2003.

FONTES, G. **Aspectos epidemiológicos da filariose linfática causada pela *Wucheria bancrofti* no Estado de Alagoas**. Belo Horizonte, Minas Gerais, 1996. 181p. Tese de Doutorado – Departamento de Parasitologia do ICB/UFMG.

FONTES, G.; BRAUN, R.F.; NETO, H.F.; VIEIRA, J.B.F.; PADILHA, S.S.; ROCHA, R.C.; ROCHA, M.M. Filariose linfática em Belém, Estado do Pará, Norte do Brasil e a perspectiva de eliminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.2, p.131-136, 2005.

FONTES, G.; ROCHA, E.M.M. Filariídea: *Wuchereria bancrofti* - Filariose linfática. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W. **Parasitologia Humana**. 11<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro, Ed. Atheneu, cap.35, p.299-307, 2005.

FONTES, G.; ROCHA, E.M.M.; BRITO, L.M.; BARROS, H.C.S.; LIMA, A.D.S.; CAVALCANTE, A.L. Situação atual da Filariose linfática por *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) em áreas endêmicas definidas de Maceió-AL. In: XVIII Congresso Brasileiro de Parasitologia, Rio de Janeiro, RJ, 2003. **Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Parasitologia**, p.148, 2003.

FONTES, G.; ROCHA, E.M.M.; BRITO, A.C.; ANTUNES, C.M.F. Lymphatic Filariasis in Brazilian Urban Area (Maceió, Alagoas). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.93, n.6, p.705-710, 1998.

FONTES, G.; ROCHA, E.M.M.; BRITO, A.C.; FIREMAN, A.T.; ANTUNES, C.M.F. The microfilarial periodicity of *Wuchereria bancrofti* in northeastern Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.94, n.4, p.373-379, 2000.

FRANCO, O.; SILVA-LIMA, D.M. Alguns aspectos das atividades contra a filariose bancroftiana no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.19, n.1, p.73-89, 1967.

FREEDMAN, D.O.; NUTMAN, T.B. Filariasis. In: BULOWS, E. **Laboratory Diagnosis of Infections Diseases. Principles and Practice**. Philadelphia: Sawders, 1989, cap.91, p.863-871.

GELBAND, H. Diethylcarbamazine salt in the control of lymphatic filariasis. **American Journal of Tropical Medicine**, v.50, p.655-662, 1994.

GYAPONG J.O.; WEBBER R.H.; MORRIS J. BENNETT S. Prevalence of hydrocele as a rapid diagnostic index for lymphatic filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.98, p.40-43, 1998.

HAIRSTON, N.G.; JACHOWSKI, L.A. Analysis of the *Wuchereria bancrofti* population in the people of American Samoa. **Bulletin of the World Health Organization**, v.38, p.29-59, 1968.

HARINASUTA, C.; SUCHARIT, S.; DEESIN, T.; SURATHIN, K.; VUTIKES, S. Studies on the nocturnally subperiodic strain of *Wuchereria bancrofti* from West Thailand. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v.1, p.152-158, 1970a.

HARINASUTA, C.; SUCHARIT, S.; DEESIN, T.; SURATHIN, K.; VUTIKES, S. Bancroftian filariasis in Thailand, a new endemic area. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v.1, p.233- 239, 1970b.

- HAWKING, F. Diethylcarbamazine and new compounds for the treatment of filariasis. **Advances in Pharmacology and Chemotherapy**, v.16, p.129-194, 1979.
- HAWKING, F.; JENNINGS, T.; LOUIS, F.J.; TUIRA, E. The mechanisms which affect the periodic cycle of Pacific *Wuchereria bancrofti* microfilariae. **Journal of Helminthology**, v.55, p.95-100, 1981.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) – 2005. Material disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 06/02/2006.
- IMPAR – Instituto Municipal de Planejamento e Ação Regional – Prefeitura Municipal de Maceió, mimeog., 1995.
- KAHN, H.A.; SEMPOS, C.T. **Statistical Methods in Epidemiology**, 1989. Monographs in Epidemiology and Biostatistics, volume 12. Oxford University Press, New York, 292 pp.
- KAZURA, J.; GREENBERG, J.; PERRY, R.; WEIL, G.; DAY, K.; ALPERS, M. Comparison of single-dose diethylcarbamazine and ivermectin for treatment of bancroftian filariasis in Papua New Guinea. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.49, p.804-811, 1993.
- KNOTT, J. A method for making microfilarial surveys on day blood. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.33, n.2, p.191-196, 1939.
- LAL, R.B.; OTTESEN, E.A. Enhanced diagnostic specificity in human filariasis by IgG<sub>4</sub> antibody. **Journal Infectious Diseases**, v.152, n.5, p.1034-1037, 1988.
- LEITE, A.B.; FONTES, G.; BARROS, H.C.S.; LIMA, A.R.V.; ROCHA, A.; ALVES, S.; ROCHA, E.M.M. Comparação de técnicas laboratoriais para o diagnóstico da Filariose linfática causada pela *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38 (Supl. I): 471, 2005.
- LAURENCE, B.R. Elephantiasis and Polynesian origins. **Nature**, v.219, p.561-563, 1968.
- MACIEL, A.; ROCHA, A.; MARZOCHI, K.B.F.; MEDEIROS, Z.; CARVALHO, A.B.; REGIS, L.; SOUZA, W.; LAPA, T.; FURTADO, A. Epidemiological study of bancroftian filariasis in Recife, Northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.91, p.449-455, 1996.
- McMAHON, J.E.; MARSHALL, T.F.C.; VAUGHAN, J.P.; ABARU, D.E. Bancroftian filariasis: a comparison of microfilariae counting techniques using counting chamber, standard slide and membrane (nucleopore) filtration. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.73, n.5, p.457-464, 1979.
- MEYERS, W.M.; NEAFIE, R.C.; CONNOR, D.H. Diseases caused by filarial nematodes: Bancroftian and Malayan filariasis. In: BINFORD, C.H., CONNOR, D.H. **Pathology of Tropical and Extraordinary Disease**. Washington D.C., Armed Forces Institute of Pathology, 1976, v.2, cap.1, p.340-555.

MS (Ministério da Saúde). O controle das Endemias no Brasil (de 1979 a 1984). Brasília (DF): Superintendência de Campanhas de Saúde Pública, SUCAM, 154p., 1985.

MUCK, A.E.; PIRES, M.I., LAMMIE, P.J. Influence of infection with non-filarial helminths on the specificity of serological assays for antifilarial immunoglobulin G<sub>4</sub>. **Revista da arterior**, v.97, p.88-90, 2003.

NAPIER, L.E. Filariasis due to *Wuchereria bancrofti*. **Medicine**, v.23, p.149-179, 1944.

NARASIMHAM, M.V.V.L.; RAMALINGESWARA, R.K.; VENKATANARAYANA, P.; VISWANATHANAM, P. Longevity of *Wuchereria bancrofti* microfilaria. **Journal of Communicable Diseases**, v.16, p.326-327, 1984.

NUCHPRAYOON, S.; PORKSAKORN C.; JUNPEE A.; SANPRASERT V.; POOVORAWAN Y. Comparative Assessment of an Og4C3 ELISA and an ICT Filariasis Test: A Study of Myanmar Migrants in Thailand. **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**, v. 21, p. 253-257, 2003.

OLIVER-GONZALEZ, J.O.; MORALES, F.H. Common antigens among filarial and other nematode parasites of man. **Journal Infections Diseases**, v.72, p.91-95, 1945.

ONAPA, A.W.; SIMONSEN P.E.; PEDERSEN E.M.; OKELLO, D.O. Lymphatic filariasis in Uganda: baseline investigations in Lira, Soroti and Katakwi districts. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.95, p.161-167, 2001.

ORIHTEL, T.C. Filariae. In: BEAVER, P.C. & JUNG, R.C. **Animals Agents and Vectors of Human Disease**, 5<sup>a</sup> ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1985, cap.12, p.171-191.

OTTESEN, E.A. Description, mechanisms and control of reactions to treatment in the human filariasis. In: **Filariasis**. Ciba Foundation Symposium, n.127, Chichester, U.K., John Wiley & Sons, 1987, p.265-293.

OTTESEN, E.A. Efficacy of diethylcarbamazine in eradicating infection with lymphatic-dwelling filariae in humans. **Reviews of Infections Diseases**, v.7, n.3, p.341-356, 1985.

OTTESEN, E.A.; RAMACHANDRAN, C.P. Lymphatic filariasis, Infection and Disease: Control strategies. **Parasitology today**, v. 11, n. 4, p.129-131, 1995.

OTTESEN, E.A.; ISMAIL, M.M.; HORTON, J. The role of albendazol in programmes to eliminate lymphatic filariasis. **Parasitology today**, v. 15, p.382-386, 1999.

OTTESEN, E.A.; NEVA, F.A.; PARANJAPE, R.S.; TRIPATHY, S.P.; TRIRUVENGADAM, K.V.; BEAVEN, M.A. Specific allergic sensitisation to filarial antigens in tropical eosinophilia syndrome. **Lancet**, v.20, p.1158-1161, 1979.

PAHO – Pan-American Health Organization. Lymphatic filariasis elimination in the Americas. 4<sup>th</sup> Regional Program Manager's Meeting. Maceió, Brazil, **Proceedings** of the IV International Meeting of Lymphatic Filariasis Elimination Program Coordinators in the Americas. Washington D.C., USA. Pan American Health Organization / World Health Organization, 129p., 2003.

PANI, S.P.; HOTI, S.L.; ELANGO A.; YUVARAJ, J.; LALL R.; RAMAIAH, K.D. Evaluation of the ICT whole blood antigen card test to detect infection due to nocturnally periodic *Wuchereria bancrofti* in South India. **Tropical Medicine and International Health**, v.5, n.5, p.359-363, 2000.

PHARMD, G.H.E.; AFSHAR, A.; MOHSSENI, G. Rapid immunochromatography test “ICT Malaria Pf” in diagnosis of *Plamodium falciparum* and its application in the *in vivo* drug susceptibility test. **Archives of Iranian Medicine**, v.4, n.1, p.14-17, 2001.

RACHOU, R.G.; DEANE, L.M.; DAMASCENO, R.G.; LIMA, M.M. Relação entre a microfilaremia horária da *Wuchereria bancrofti* e a frequência domiciliar horária do *Culex fatigans* no norte e sul do Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.6, n.2, p.205-218, 1954.

RACHOU, R.G. Conceito e programa de profilaxia da filariose bancroftiana no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.12, n.1, p.11-40, 1960.

RACHOU, R.G. Distribuição geográfica das filarioses humanas no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.9, p.79-100, 1957.

RACHOU, R.G. Transmissores da filariose bancroftiana no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.8, n.3, p.267-268, 1956.

RACHOU, R.G.; LIMA, M.M.; NETO, J.A.F.; MARTINS, C.M. Inquérito epidemiológico de filariose bancroftiana em uma localidade de Santa Catarina, como fase preliminar de uma prova profilática. Constatação de transmissão extradomiciliária por um novo vetor, *Aedes scapularis*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.7, n.1, p.51-70, 1955.

RAMACHANDRAN, C.P. A guide to methods and techniques in filariasis investigations. Filariasis Research Officer. Institute for Medical Research Kuala Lumpur, buletin n.15, p.1-39, 1970.

RAMZY, R.M.R.; HELMY, H.; EL-LETHY, A.S.T.; KANDIL, A.M.; AHMED, E.S.; WEIL, G.J.; FARIS, R. Field evaluation of a rapid-format kit for the diagnosis of bancroftian filariasis in Egypt. **Eastern Mediterranean Health Journal**, v.5, n.5, p.880-887, 1999.

RAWLINS, S.C.; SIUNG-CHANG A.; BABOOLAL S.; CHADEE D.D. Evidence for the interruption of transmission of lymphatic filariasis among schoolchildren in Trinidad and Tobago. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.98, p.473-477, 2004.

ROCHA, E.M.M.; FONTES, G. Diagnóstico da Filariose linfática bancroftiana. **Revista de Patologia Tropical**, v.29, n.2, p.161-173, 2000.

ROCHA, E.M.M.; FONTES, G.; BRITO, A.C.; SILVA, T.R.C.; MEDEIROS, Z.; ANTUNES, C.M.F. Filariose bancroftiana em áreas urbanas do estado de Alagoas, Nordeste do Brasil: Estudo em população geral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n.6, p.545-551, 2000.

ROCHARS, M.V.E.B. de; MILORD, M.D.; JEAN, Y.ST.; DÉSORMEAUX, A.M.; DORVIL, J.J.; LAFONTANT, J. G.; ADDISS, D.G.; STREIT, T.G. Geographic distribution of lymphatic filariasis in Haiti. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.71, n.7, p.598-601, 2004.

SABRY, M. A quantitative approach to the relationship between *Wuchereria bancrofti* microfilaria counts by venous blood filtration and finger-prick blood films. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.85, n.4, p.506-510, 1991.

SCAFF, L.M., GUEIROS, Z.M. Prevalência e controle da filariose no Pará: estado atual. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v.19, n.2, p.245-252, 1967.

SCHACHER, J.F. Developmental patterns in filarial life cycles. World Health Organization WHO/FIL/73.104, 11p., 1973.

SCHEIBER, P.; BRAUN-MUNZINGER, R.A.; SOUTHGATE, B.A. Bancroftian filariasis in Togo. 1. A comparative field study of the membrane filtration concentration technique and conventional blood films. **Tropenmedizin und Parasitologie**, v.27, p.224-228, 1976.

SCHLEMPER Jr.; FERREIRA, J.A.N. Doenças parasitárias endêmicas em Santa Catarina: I-Filariose. **Arquivos Catarinense de Medicina**, v.14, n.2, p.107-114, 1985.

SCHUETZ, A.; ADDISS, D.G.; EBERHARD, M.I.; LAMMIE, P. J. Evaluation of the whole blood filariasis ICT test for short-term monitoring after antifilarial treatment. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.62, n.4, p.502-503, 2000.

SMS-Secretaria Municipal de Saúde-Manual para Endereçamento do SUS, 2005.

SIMONSEN, P.E.; DUNYO, S.K. Comparative evaluation of three new tools for diagnosis of bancroftian filariasis based on detection of specific circulating antigens. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.93, p.278-282, 1999.

SOUTHGATE, B.A. Problems of clinical and biological measurements in the epidemiology and control of filarial infections: A quantitative approach to parasitological techniques in Bancroftian filariasis and its effect on epidemiological understanding. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.68, n.2, p.177-186, 1974.

SUNISH, I.P.; RAJENDRAN, R. SATYANARAYANA, K.; MUNIRATHINAM, A.; GAJANANA, A. Immunochromatographic test (ICT) for estimation of true prevalence of bancroftian filariasis in an endemic area in southern India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.95, p.607-609, 2001.

TOWNSON, H.; CHAITHONG, U. Mosquito host influences on development of filariae. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.85, n.1, p.149-163, 1991.

TURNER, P.; COPEMAN, B.; GERISI, D.; SPERRE, R. A comparison of Og<sub>4</sub>C<sub>3</sub> antigen capture ELISA, the Knott test, an IgG<sub>4</sub> assay and clinical signs, in the diagnosis of bancroftian filariasis. **Tropical Medicine Parasitology**, v.44, p.45-48, 1993.

WEIL, G.J.; LAMMIE P.J.; WEISS N. The ICT Filariasis Test: A rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. **Parasitology Today**, v.13, n.10, p.401-404, 1997.

WENK, P. Filariasis Discovery. **Parasitology Today**, v.6, n.5, p.153, 1990.

WHITE, G.B. Lymphatic filariasis. In: **Geographical distribution of arthropod-borne diseases and their principal vectors**. World Health Organization, Vector Biology and Control Division. WHO/VBC/89.967, p.23-34,1989.

WHITE, G.B. Studies on the transmission of Bancroftian Filariasis in North-eastern Tanzania. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.65, p.817-829, 1971.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION - Control of lymphatic filariasis: A manual for health personnel. Geneva. 89p., 1987.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION – Control of lymphatic filariasis: A manual. 86p., 2000.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION - Filariasis linfática: Cuarto informe del Comité de Expertos de la OMS en Filariasis. Ginebra. Serie de Informes Técnicos, n. 702, 121p., 1984.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION - Lymphatic filariasis: the disease and its control. Fifth report of the WHO Expert committee on filariasis. Geneva. Technical reports series, n. 821, 75p., 1992.

YAZDANBAKHSH, M. Molecular biological approaches towards immunodiagnosis of filariasis. **Parasitology Today**, vol.6, n.7, p.207-208, 1990.