

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ANA DALVA SAMPAIO LIMA**

**AÇÃO TERAPÊUTICA DA DIETILCARBAMAZINA, ALBENDAZOL E  
MEBENDAZOL EM INDIVÍDUOS MICROFILARÊMICOS POR *WUCHERERIA*  
*BANCROFTI* (COBBOLD, 1877)**

**MACEIO - AL**  
**2010**

ANA DALVA SAMPAIO LIMA

**AÇÃO TERAPÊUTICA DA DIETILCARBAMAZINA, ALBENDAZOL E  
MEBENDAZOL EM INDIVÍDUOS MICROFILARÊMICOS POR *WUCHERERIA  
BANCROFTI* (COBBOLD, 1877)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde na Universidade Federal de Alagoas – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fontes

MACEIÓ - AL

2010

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- L732d Lima, Ana Dalva Sampaio.  
Efeito terapêutico da dietilcarbomazina, albendazol e mebendazol em indivíduos microfilarêmicos por *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) / Ana Dalva Sampaio Lima. – 2010.  
84 f. : il.
- Orientador: Gilberto Fortes.  
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2010.
- Bibliografia: f. 70-77.  
Apêndices: f. 78-82.  
Anexos: f. 83-84.
1. Filariose linfática – Maceió (AL). 2. *Wuchereria bancrofti*. 3. Terapêutica. 4. Dietilcarbomazina. 5. Albendazol. 6. Mebendazol. I. Título.

CDU: 616-005.96(813.5)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Defesa da Dissertação de Mestrado da aluna Ana Dalva Sampaio Lima, intitulado: "Ação terapêutica da dietilcarbamazina, albendazol e mebendazol em microfilariêmicos por *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877)", orientado pelo Prof. Dr. Gilberto Fontes, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em 26 de fevereiro de 2010.

Os membros da Banca Examinadora, consideraram o candidato APROVADO

Banca Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Gilberto Fontes - Orientador (UFSJ)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes - titular (UFMT)

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Rosana Quintella Brandão Vilela - titular (FAMED/UFAL)

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Cláudia Maria Lins Calheiros - titular (ICBS/UFAL)

## **DEDICO**

A meu pai Geraldo Santos Lima (in Memoriam), pela sua dedicação à minha formação, que sempre foi uma de suas metas principais e pelo amor incondicional que ajudou a me tornar o ser humano que sou. Nunca te esquecerei sempre te amarei.

A minha querida mãe Ingrid Sampaio fonte de incentivo em todos meus projetos de vida, com amor e gratidão.

A minha filha amada Isadora, razão da minha vida e da minha luta.

A Gustavo, com carinho, pela constante companhia e compreensão.

A meu irmão e minha cunhada, minha avó Édila e meu avô Euro, primos e tios, pela primordial atenção e presença na minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gilberto Fontes – meu orientador amigo, a presença segura, competente e estimulante; que acreditou na minha capacidade de elaboração deste trabalho à distância e demonstrou que sabe ser não apenas um profissional de reconhecido saber científico, mas também um ser humano afetuoso e leal;

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;

A amiga Liliane Moraes de Brito e sua irmã Luciana Moraes de Brito, que com todo seu amor cedeu-me gentilmente sua casa durante a elaboração desta dissertação e pelo carinho e paciência dado a minha filha;

Aos professores do mestrado, pelos ensinamentos e pela amizade de que tive o privilégio de angariar durante o curso;

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, e a Eduardo Brandão, amigo e companheiro, pela realização dos ensaios imunoenzimáticos;

Aos colegas do curso pela confiança, apoio e reflexões críticas. Especialmente a Diogo, Anansa, Danielle e Rafael pelo carinho dedicado e pelos momentos de descontração e companheirismo durante todo o mestrado;

A D. Ivete (in memoriam), Klécia, Meirise, Cícera, Eurivan Melo, Wendel Almeida, David, Santana, Alessandro, Cecília Cordeiro, Ricardo Vasconcelos, Abel, Hidelbrando Júnior, Marcus Vinicius, Jeane Umbelino, Andréa Carla, Rodger Rocha, Tainá Leão, Ana Renata, Fábio Souza, Najara, Gustavo (Xuxa), Jean Botelho, Marcia Karine, Alessandro, Shyrlene Santana, Sharlyne Alves, Anderson Brandão, Ana Rachel que participavam do projeto de Filariose juntamente comigo e foram sempre muito amigos, e sempre se prontificaram a ajudar-me. Hoje não se encontram mais no projeto, porém são Lapevianos inesquecíveis;

Aos Atuais lapevianos, Rafael Vital, Paula Queiroz, Juliana Vasconcelos, Wagner Pimentel, Erlan Azevedo, Lívia Santiago, Ana Rúbia, Johnathan Leite, Alfredo Junior, Ana Paula e Gabriela;

Agradeço de forma muito especial a todas as pessoas que trabalham e que já trabalharam no LAPEVI, pelo afeto, convívio agradável e apoio incondicional que se traduz em uma palavra: AMIZADE;

A todos pacientes que gentilmente concordaram em participar desta pesquisa e que abriram suas portas, muitas vezes à noite, para que pudéssemos realizar os exames;

A UFAL e seus professores, pela oportunidade de ter realizado minha formação na área de ciências da saúde, que sem dúvida orientou as diretrizes da minha vida profissional, fornecendo-me os alicerces necessários para realização deste trabalho;

As instituições financeiras - Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL); Secretaria Municipal de Saúde de Maceió-AL (MACEIÓ, 2005); Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS); Organização Mundial de Saúde (OMS);

Finalmente, mais uma vez, à minha fonte de inspiração: Isadora por estar ao meu lado me estimulando constantemente e ter suportado o meu afastamento involuntário, mas necessário.

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfo e glória, mesmo expondo-se à derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito, nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota”.

(Theodore Roosevelt)



## RESUMO

A filariose bancroftiana é uma enfermidade provocada por helmintos nematóides da espécie *Wuchereria bancrofti*. Uma das estratégias propostas pela OMS para a eliminação da doença tem sido o tratamento em massa anual com fármacos antifilarias, em áreas com elevadas prevalências. O albendazol é recomendado pela OMS para tratar a filariose linfática, no entanto, estudos são necessários para avaliar sua real ação microfilaricida. No presente trabalho foi feita a avaliação da redução de microfilaremia e antigenemia em 201 pacientes microfilarêmicos por *Wuchereria bancrofti*, de ambos os sexos, residentes na área metropolitana de Maceió-AL, diagnosticados durante inquéritos hemoscópicos realizados na população geral da cidade e tratados com citrato de dietilcarbamazina (DEC), albendazol e mebendazol em diferentes dosagens. O objetivo foi avaliar a cura parasitológica dos pacientes e mostrar qual dos fármacos tem a melhor eficácia no tratamento da bancroftose e também verificar qual o melhor esquema. Os pacientes microfilarêmicos foram divididos em 6 grupos: O primeiro grupo recebeu DEC na dose de 6mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada/dia, durante 12 dias (tratamento preconizado pela OMS). O segundo grupo recebeu DEC na dose de 6mg/kg de peso/dia, via oral em uma tomada/dia, durante 6 dias. O terceiro grupo, recebeu DEC na dose única de 6mg/kg de peso + albendazol na dose única de 400 mg/dia, via oral. O quarto grupo recebeu albendazol na dose de 400 mg, via oral (dose única) repetindo esse mesmo tratamento após duas semanas. O quinto grupo recebeu albendazol na dose de 400 mg/dia, via oral em única tomada/dia, durante três dias, repetindo o tratamento após duas semanas. O sexto grupo recebeu mebendazol na dose de 100 mg, duas vezes ao dia, via oral, durante 3 dias, repetindo esse tratamento após duas semanas. Uma parte dos pacientes do primeiro grupo e do segundo grupo foi acompanhada durante dois anos para verificar a redução da microfilaremia e da antigenemia, ao longo desse tempo. Todos os 201 microfilarêmicos completaram as etapas dos esquemas terapêuticos propostos e destes, 193 (96%) tiveram a microfilarêmia avaliada (punção antes do tratamento e após cada fase do tratamento). Desses 193 microfilarêmicos, 131 (68%) eram do gênero masculino e 62 (32%) eram do gênero feminino. A média da parasitemia antes dos tratamentos esquemas terapêuticos, observou-se que houve uma redução de 97,3% no primeiro grupo, 96,6% no segundo grupo, 71,9% no terceiro grupo, 0% no quarto grupo, 21,3% no quinto grupo, 29,5% no sexto grupo. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na redução da microfilaremia média nos quinto e sexto grupo ( $p > 0,05$ ). A eficácia dos fármacos e dos esquemas terapêuticos avaliados foi respectivamente de 40%, 36,1%, 12,5%, 0%, 3,0%, 3,7%. Com os resultados obtidos pode-se concluir que dietilcarbamazina é eficaz quanto seu efeito microfilaricida e também macrofilaricida e continua sendo o medicamento de escolha para o tratamento da filariose bancroftiana, sendo o esquema terapêutico durante 6 dias tão eficaz na redução da microfilaremia quanto o esquema de 12 dias preconizado pela OMS. O albendazol e o mebendazol nos esquemas utilizados possuem pouco efeito microfilaricida.

**Palavras-chaves:** Filariose linfática. *Wuchereria bancrofti*. Terapêutica. Dietilcarbamazina. Albendazol. Mebendazol.

## ABSTRACT

Bancroftian filariasis is a disease caused by helminth nematodes of the *Wuchereria bancrofti* species. One of the strategies proposed by the WHO for elimination of disease has been the annual mass treatment with antifilarial drugs in areas with high prevalence. albendazole is recommended by the WHO to treat lymphatic filariasis, but nevertheless, studies are necessary to assess its actual microfilaricidal action. This study evaluated the reduction of microfilaremia and antigenemia in 201 microfilaremic patients by *Wuchereria bancrofti*, both males and females, living in the metropolitan area of Maceió-AL, diagnosed during haemoscopic surveys conducted in the general population of the city and treated with Citrate de diethylcarbamazine (DEC), albendazole and mebendazole in different strengths. The objective was to evaluate the parasitological cure of the patients and to show which of the drugs has the best efficacy in the treatment of bancroftose. The microfilaremic patients were divided into 6 groups: the first group received DEC at 6 mg / kg body weight / day, orally in a single intake / day, for 12 days (WHO recommended treatment). The second group received DEC at a dose of 6mg / kg of body weight / day, orally in one intake / day, for 6 days. The third group received DEC at a single dose of 6 mg / kg body weight + albendazole at a single oral dose of 400 mg / day. The fourth group received albendazole 400 mg oral dose (single dose) repeating this same treatment after two weeks. The fifth group received albendazole at a dose of 400 mg / day, orally in a single intake / day, for three days, repeating the treatment after two weeks. The sixth group received mebendazole at a dose of 100 mg twice daily orally for 3 days, repeating this treatment after two weeks. A portion of the patients in the first group and the second group were followed up for two years to check the reduction of microfilaraemia and antigenic over that time. All microfilariae patients completed the stages of the proposed therapeutic regimens and of these, 193 (96%) had microfilariaemia evaluated (puncture before treatment and after each treatment phase). Some of the microfilaremic individuals of the first and second groups still had microfilariaemia evaluated during the treatment. Of these 193 microfilaremic patients, 131 (68%) were male and 62 (32%) were female. The mean parasitemia before treatment regimens showed a reduction of 97.3% in the first group, 96.6% in the second group, 71.9% in the third group, 0% in the fourth group, 21, 3% in the fifth group, 29.5% in the sixth group. No statistically significant difference was observed in the reduction of mean microfilariaemia in the fourth, fifth and sixth groups ( $p > 0.05$ ). The efficacy of the evaluated drugs was 40%, 36.1%, 12.5%, 0%, 3.0%, 3.7%, respectively. With the results obtained it can be concluded that diethylcarbamazine is effective as its microfilaricidal and also macrofilaricidal effect and remains the drug of choice for the treatment of bancroftian filariasis, the therapeutic scheme for 6 days being as effective in reducing microfilaremia as the regimen of 12 days recommended by WHO. albendazole and mebendazole in the schemes used do not have a microfilaricidal effect.

**Keywords:** Lymphatic filariasis. *Wuchereria bancrofti*. Therapeutics. Diethylcarbamazine. Albendazole. Mebendazole.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Microfilárias de <i>Wuchereria bancrofti</i> coradas em eosina-Giemsa (aumento 1000 X) encontrada em sangue de paciente de Maceió/AL.....	17
<b>Figura 2</b> - Mosquito fêmea da espécie <i>Culex quinquefasciatus</i> (Say, 1823) ingurgitado durante repasto sanguíneo.....	19
<b>Figura 3</b> - Larvas infectantes (aumento 40 X 2,5) de <i>Wuchereria bancrofti</i> saindo da probóscida de <i>Culex quinquefasciatus</i> (inseto capturado na área endêmica de Maceió/AL).....	19
<b>Figura 4</b> - Distribuição geográfica da filariose linfática no mundo.....	21
<b>Figura 5</b> - Pacientes de Maceió/AL, com forma clínica crônica de filariose linfática: elefantíase de membro inferior.....	22
<b>Figura 6</b> - Mapa da cidade de Maceió dando destaque à área endêmica de filariose linfática.....	32
<b>Figura 7</b> - Punção venosa em veia mediana cubital.....	35
<b>Figura 8</b> - Materiais utilizados para a filtração de sangue.....	37
<b>Figura 09</b> - Esquema dos grupos de tratamento.....	39
<b>Figura 10</b> - Cartão para teste de imunocromatografia rápida.....	41
<b>Figura 11</b> - Microplaca com 96 poços sensibilizada com anticorpo monoclonal Og4C3 para ensaio imunoenzimático (ELISA).....	42

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Frequência do gênero entre os pacientes microfilarêmicos avaliados e tratados em Maceió, AL .....45
- Gráfico 2** - Média da microfilaremia em portadores de *Wuchereria bancrofti* em relação ao sexo e faixa etária na cidade de Maceió-AL.....46
- Gráfico 3** - Média geométrica da microfilaremia em portadores de *Wuchereria bancrofti* em relação ao sexo e faixa etária na cidade de Maceió.....47
- Gráfico 4** - Percentual de pacientes amicrofilaremicos 30 dias após tratamento.....53
- Gráfico 5** - Comparação da percentagem de pacientes que se tornaram amicrofilarêmicos em diferentes tempos após o início do tratamento com a DEC em diferentes esquemas terapêuticos.....57
- Gráfico 6** - Antigenemia antes do tratamento com DEC 6 mg/kg durante 12 dias e em diferentes períodos após tratamento.....58
- Gráfico7** - Antigenemia antes do tratamento com DEC 6 mg/kg durante 12 dias e em diferentes períodos após tratamento.....60
- Gráfico 8** - Cinética da antigenemia dos pacientes microfilarêmicos agrupados por quantidade de microfilárias antes do tratamento com DEC 6 mg/kg durante 12 dias e até 2 anos após tratamento.....60

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Volume de sangue utilizado para filtração, de acordo com estimativa do número de microfilárias/mL realizada pela leitura a fresco de 20 µL de sangue.....36
- Tabela 2** - Classificação da microfilaremia por *Wuchereria bancrofti* adotada pela Organização Mundial de Saúde.....37
- Tabela 3** - Número de parasitados por gênero de acordo com a microfilaremia apresentada.....46
- Tabela 4** - Média de microfilaremia antes (at) e após (pt) o tratamento com diferentes fármacos e diferentes esquemas terapêuticos utilizados.....50
- Tabela 5** - Avaliação da eficácia do tratamento com dietilcarbamazina (DEC), albendazol e mebendazol.....52
- Tabela 6** - Pacientes agrupados de acordo com a microfilaremia residual após tratamento com a droga dietilcarbamazina em relação a microfilaremia inicial.....55
- Tabela 7** - Quantidade de antígenos antes do tratamento e 2 anos após tratamento em pacientes microfilarêmicos.....61
- Tabela 8** - Reavaliação dos pacientes após 10 anos de tratamento com diferentes técnicas.....62

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>O parasito.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Ciclo evolutivo.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>Epidemiologia.....</b>	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>Aspectos clínicos.....</b>	<b>21</b>
<b>2.5</b>	<b>Diagnóstico.....</b>	<b>23</b>
2.5.1	Diagnóstico clínico.....	23
2.5.2	Diagnóstico parasitológico.....	23
2.5.3	Imunodiagnóstico.....	24
2.5.4	Diagnostico molecular.....	25
<b>2.6</b>	<b>Tratamento.....</b>	<b>26</b>
2.6.1	Tratamento com DEC.....	26
<b>2.7</b>	<b>Tratamento com outras drogas.....</b>	<b>28</b>
2.7.1	Ivermectina.....	28
2.7.2	Benzimidazóis.....	29
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral .....</b>	<b>30</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>30</b>

<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>Caracterização da área.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2</b>	<b>Desenho do estudo.....</b>	<b>33</b>
<b>4.3</b>	<b>Grupos de tratamento.....</b>	<b>33</b>
<b>4.4</b>	<b>Considerações éticas .....</b>	<b>34</b>
<b>4.5</b>	<b>Amostra.....</b>	<b>34</b>
<b>4.6</b>	<b>Variáveis estudadas.....</b>	<b>34</b>
<b>4.7</b>	<b>Colheita das amostras de sangue.....</b>	<b>35</b>
<b>4.8</b>	<b>Quantificação da microfilaremia.....</b>	<b>36</b>
<b>4.9</b>	<b>Coloração pela técnica da Eosina-Giemsa.....</b>	<b>38</b>
<b>4.10</b>	<b>Controle de qualidade da microfilaremia.....</b>	<b>38</b>
<b>4.11</b>	<b>Protocolo de tratamento.....</b>	<b>38</b>
<b>4.12</b>	<b>Avaliação da densidade parasitária após administração da DEC, mebendazol e do albendazol.....</b>	<b>39</b>
<b>4.13</b>	<b>Determinação da eficácia do tratamento.....</b>	<b>40</b>
<b>4.14</b>	<b>Determinação da redução da antigenemia.....</b>	<b>40</b>
4.14.1	Avaliação antigênica das amostras de parasitados antes e após os tratamentos terapêuticos.....	40
<b>4.15</b>	<b>Reavaliação de ex-pacientes microfilarêmicos utilizando técnicas de diagnóstico parasitológico e imunológico.....</b>	<b>42</b>
<b>4.16</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>43</b>

<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1</b>	<b>Comparação da redução da microfilaremia antes e após o tratamento com diferentes esquemas terapêuticos de dietilcarbamazina, mebendazol e albendazol.....</b>	<b>47</b>
<b>5.2</b>	<b>Eficácia dos tratamentos .....</b>	<b>50</b>
<b>5.3</b>	<b>Microfilaremia associada ao sucesso terapêutico.....</b>	<b>54</b>
<b>5.4</b>	<b>Cinética das microfilárias em diferentes intervalos de tempo após o tratamento (PT).....</b>	<b>55</b>
<b>5.5</b>	<b>Cinética da antígenemia.....</b>	<b>59</b>
<b>5.6</b>	<b>Reavaliação de pacientes após 10 anos de tratamento.....</b>	<b>61</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>78</b>
	<b>ANEXO.....</b>	<b>83</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A filariose linfática humana, também conhecida como elefantíase na sua fase sintomática mais avançada, é causada por helmintos da classe Nematoda das espécies *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), *Brugia malayi* (Bucley & Edeson, 1956) e *Brugia timori* (Partono, 1977). É encontrada em países pouco desenvolvidos, de clima tropical e subtropical principalmente em áreas urbanas e peri-urbanas que sofreram ocupação desordenada (RAJJAPAN e SADANARD, 1974; ALBUQUERQUE, 1993).

Geograficamente, a parasitose é encontrada em 84,8% dos países do continente africano, em 16 países da região do Pacífico, em 5 países no Sub-contidente indiano (onde vive cerca de 33% da população mundial sob risco), no Sudeste Asiático, no Mediterrâneo e no continente americano (que representa apenas 1% dos casos de filariose linfática no mundo) (ROCHA e FONTES, 1998; MOLINEUX e ZAGARIA, 2002).

A filariose bancroftiana acomete principalmente adultos jovens e serve como indicador de subdesenvolvimento, sendo a forma crônica da doença, prolongada e debilitante, com importantes consequências sociais e econômicas para as populações afetadas (WHO, 1992). Apesar da gravidade da enfermidade, devido a características biológicas do parasito e as estratégias de intervenção disponíveis, a Força Tarefa Internacional para Erradicação de Doenças declarou a filariose linfática como uma das seis doenças passíveis de erradicação no mundo (CDC, 1993).

Em 1997, a Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou um Plano Global para a Eliminação da Filariose Linfática (PGEFL), que tem como meta a eliminação da filariose linfática em todo o mundo até o ano de 2020, por meio de utilização da estratégia de tratamento em massa da população residente em áreas de risco para adquirirem a filariose, utilizando fármacos antifilarioses como a dietilcarbamazina (DEC), a ivermectina ou o albendazol, isoladas ou combinadas (MOLYNEUX e TAYLOR, 2001).

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 microfílarias sangüíneas inicialmente, com ou sem aumento subsequente de seus níveis (OTTESEN, 1985). No tratamento em massa o medicamento é usado em dose única de 6mg/kg de peso de 6 em 6 meses ou anualmente (WHO, 1992). Ou pode ser adicionado dietilcarbamazina ao sal de cozinha, o que reduziu bastante a prevalência,

a gravidade e a transmissão da filariose linfática em muitas áreas endêmicas (GELBAND, 1994).

Até o final de 2006, 44 dos 83 países endêmicos tinham aplicado o tratamento em massa. Este tratamento foi direcionado a uma população de 258 milhões de pessoas, e destes, 115 milhões de pessoas receberam DEC ou ivermectina sozinha ou combinadas (citrato de dietilcarbamazina mais albendazol ou ivermectina mais albendazol), ou sal fortificado com DEC, como recomendado pela OMS (WHO, 2007).

O trabalho proposto visa à avaliação de fármacos e esquemas terapêuticos que possam apresentar eficácia no tratamento da filariose linfática através da obtenção de cura parasitológica de indivíduos infectados por *Wuchereria bancrofti*. Para tanto, foi determinada a microfilaremia em portadores da infecção, antes e após o tratamento com os medicamentos citrato de dietilcarbamazina (DEC), albendazol e mebendazol e também determinada a antigenemia antes e após o tratamento com dietilcarbamazina durante dois anos, visando avaliar a eficácia destes fármacos no processo de cura parasitológica. Neste sentido também foi realizada a reavaliação de ex-pacientes microfilarêmicos após 10 anos de tratamento.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

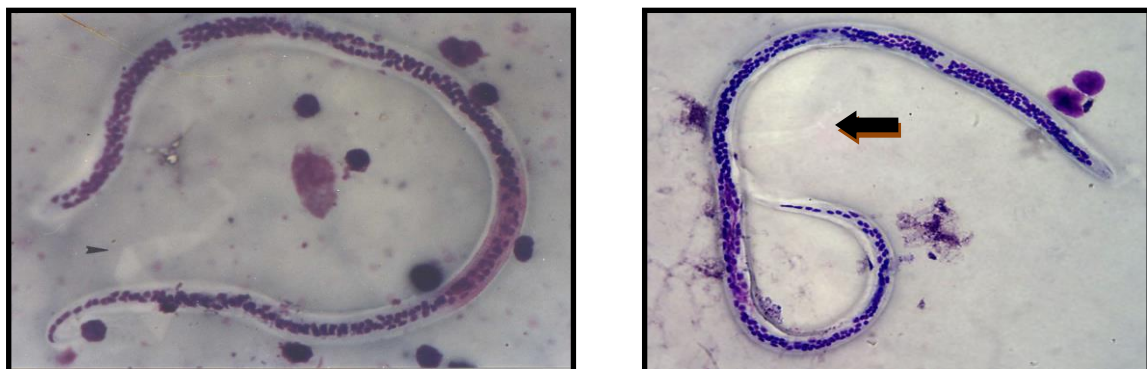
### 2.1 O parasito

A *Wuchereria bancrofti* é um parasito exclusivo do ser humano, sendo neste encontradas duas formas evolutivas: as formas embrionárias sangüíneas, também conhecidas como microfíliarias (Figura 1), e os vermes adultos, alojados nos vasos e nódulos linfáticos.

Os vermes adultos de *W. bancrofti* possuem corpo delgado de cor branco-leitosa, 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 (CARVALHO, 1955).

Ao atingir a maturidade sexual, o casal de *W. bancrofti* copula e a fêmea grávida libera microfíliarias para a corrente sangüínea, que medem entre 262 a 329  $\mu\text{m}$  de comprimento, com diâmetro que varia entre 5,3 a 9,2  $\mu\text{m}$  (CARVALHO, 1955). Apresentam como característica peculiar uma bainha de revestimento flexível que as distingue das microfíliarias de outras espécies de filarídeos (CARVALHO, 1955; FONTES e ROCHA, 2005; WHO,1997).

**Figura 1 - Microfíliarias de *Wuchereria bancrofti* coradas em eosina-Giemsa (aumento 1000 X) encontrada em sangue de paciente de Maceió/AL (original dos Profs. Eliana M. M. da Rocha / Gilberto Fontes).**



Fonte: ROCHA; FONTES, 2000.

## 2.2 Ciclo evolutivo

Esses parasitos apresentam como características marcantes do seu ciclo evolutivo, a obrigatoriedade de uma fase de desenvolvimento realizado em um artrópode hematófago (hospedeiro invertebrado) e também uma fase de desenvolvimento com atividade reprodutora no hospedeiro vertebrado (humanos).

No hospedeiro invertebrado (vetor), o ciclo evolutivo tem início quando o inseto, picando o ser humano infectado, ingere as formas embrionárias do parasito (microfilárias). Em geral o ciclo de vida da *W. bancrofti* nos artrópodes dura em média 15 a 20 dias.

O *Culex quinquefasciatus* (Figura 2) é o principal vetor da *Wuchereria bancrofti* periódica em todo o mundo, sendo vetor exclusivo nas Américas, Somente a fêmea é hematófaga e, portanto, responsável pela transmissão. O referido inseto possui hábitos domiciliares, proliferando-se, preferencialmente, em locais onde exista acúmulo de água com alto teor de matéria orgânica, em outras palavras, em áreas cujas condições sanitárias sejam precárias e o saneamento ambiental inadequado (OMS, 1988; ALBURQYERQUE, 1993; WHO, 1994). Nestes ambientes os ovos eclodem e liberam larvas de 1º estágio (L1), evoluindo posteriormente para larvas de 2º, 3º e 4º estágios (L2, L3 e L4) quando estas últimas se diferenciam em pupas que dão origem aos insetos adultos.

No ser humano, o ciclo evolutivo da *W. bancrofti* se inicia com a picada do vetor infectado, que libera na pele as larvas do terceiro estágio (L3) (Figura 3) que penetram por solução de continuidade.

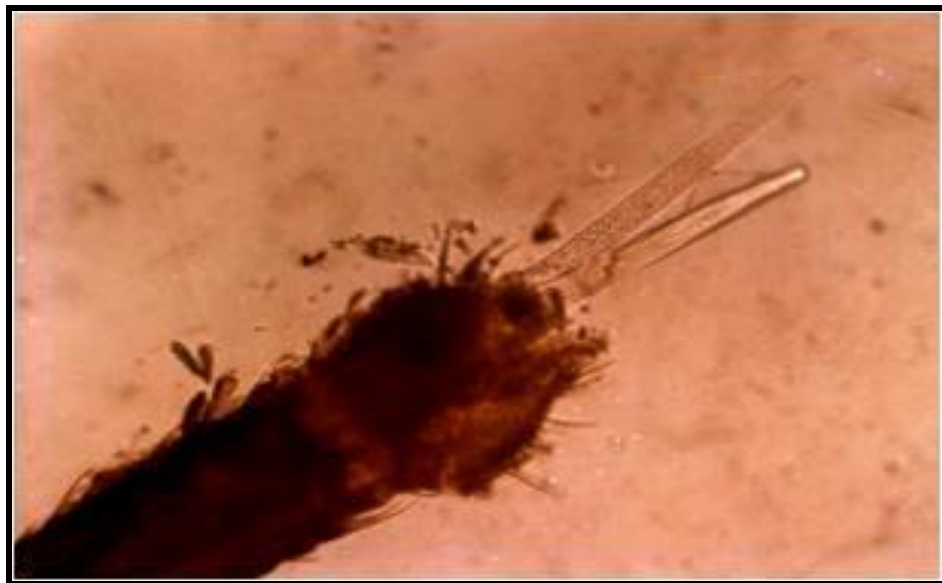
Após penetrarem no sistema linfático, essas larvas L3 sofrem duas mudas, transformando-se em vermes adultos, de sexo distinto, com as fêmeas produzindo as formas embrionárias (microfilárias), reiniciando-se o ciclo (ROCHA et al., 2002). Na maioria dos países onde se verifica a ocorrência dessa doença, as microfilárias apresentam uma periodicidade noturna no sangue periférico do hospedeiro humano, bem marcada e encontrando-se em maior número na circulação periférica entre aproximadamente 22 horas e 2 horas (OTTO, 1965; FONTES et al, 2000).

**Figura 2 - Mosquito fêmea da espécie *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) ingurgitado durante repasto sanguíneo.**



Fonte: GATHANY, 2003

**Figura 3 - Larvas infectantes (aumento 40 X 2,5) de *Wuchereria bancrofti* saindo da probóscida de *Culex quinquefasciatus* (inseto capturado na área endêmica de Maceió/AL).**



Fonte: ROCHA; FONTES, apud SILVA, V.A.N, 2006.

### 2.3 Epidemiologia

A filariose linfática é endêmica em 83 países localizados em regiões tropicais e subtropicais (Figura 4). Existem cerca de 120 milhões de indivíduos infectados, sendo 8 milhões por *Brugia malayi* ou *B. timori* e 112 milhões por *W. bancrofti*. Atualmente, cerca de um bilhão de pessoas vivem em áreas consideradas de risco para transmissão da filariose (WHO, 2000; 2006).

Nas Américas, uma população de aproximadamente 9 milhões de pessoas vive em área de risco de infecção por filariose linfática, dispersas em sete países (Costa Rica, Suriname, Trinidad & Tobago, Brasil, República Dominicana, Guiana e Haiti) (WHO, 2007). Na Costa Rica, Suriname e Trinidad & Tobago a bancroftose foi eliminada, não sendo encontrados novos casos autóctones há alguns anos, estando portanto, esses 3 países em vigilância epidemiológica (WHO, 2007). Desta forma, no continente Americano, a enfermidade está presente apenas na Guiana, Haiti, República Dominicana e Brasil (WHO, 2006).

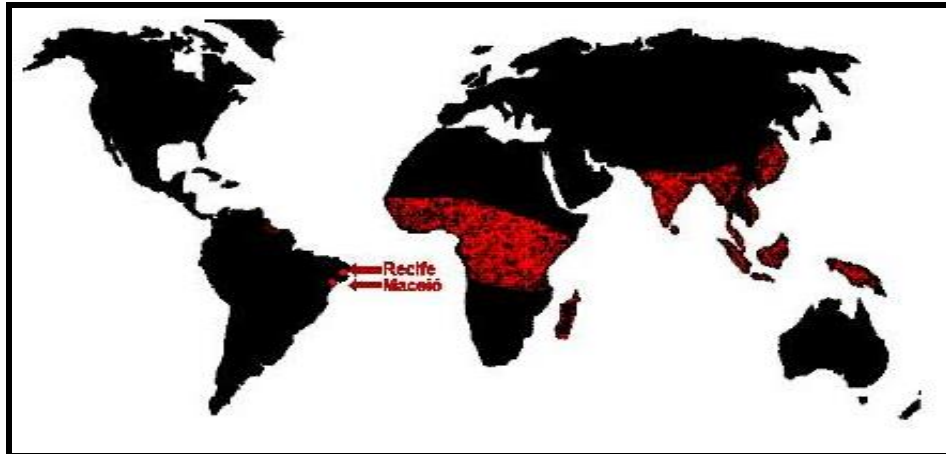
Em um amplo inquérito epidemiológico realizado no Brasil, entre 1950 e 1956, a filariose bancroftiana autóctone foi identificada em 11 cidades (RACHOU, 1960). Neste inquérito, os maiores índices de microfilarêmicos foram observados em Recife-PE (9,8%) e Belém-PA (6,9%), enquanto que Maceió-AL apresentava um índice de microfilarêmicos de 0,3% (DEANE et al., 1953; RACHOU, 1960). O tratamento das fontes de infecção, naquela época, levou a uma apreciável redução nas taxas de prevalência, sendo quase todos os focos considerados extintos no país, exceto, segundo o Ministério da Saúde, os existentes em Belém e Recife (BRASIL, 1985).

Em 1990, foi realizado em Maceió um inquérito, utilizando uma população de 731 soldados da Infantaria do Exército, sendo encontrados dois microfilarêmicos por *W. bancrofti* autóctones (DREYER et al., 1991). O aparecimento de casos autóctones, somando a existência do vetor em potencial *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823), em grande concentração na região, sugeriram a existência da bancroftose na capital alagoana. Este fato desencadeou um amplo estudo epidemiológico, sendo analisadas amostras de seus 33 bairros (FONTES et al., 1998). O resultado desse estudo mostrou que a bancroftose apresentava uma distribuição focal em Maceió, uma vez que quase todos os 72 microfilarêmicos detectados estavam concentrados em apenas três bairros centrais e contíguos, Feitosa, Pitanguinha e Jacintinho com prevalências de 5,3%, 3,5% e 1,2%, respectivamente (FONTES et al., 1998).

No Brasil, a transmissão ativa da parasitose, oficialmente, se restringe a duas áreas: a

região metropolitana de Recife (PE) e Maceió (AL) (WHO, 2007). Recentemente, Lima *et al* (2007) demonstraram que a transmissão de *W. bancrofti* em Maceió caminha para eliminação e que desde de 2004 não foi diagnosticado nenhum microfilarêmico, apesar de exaustivas buscas em toda área urbana da cidade.

**Figura 4 - Distribuição geográfica da filariose linfática no mundo**



Fonte: Autora, 2009 – Adaptada de <<http://www.dekker.com/sdek/abstract~content=a713544832~db=enc>> Acesso em: 12/01/2009).

## 2.4 Aspectos clínicos

As manifestações clínicas podem ser causadas tanto pelos vermes adultos quanto pelas microfilárias. Estas últimas produzem manifestações extralinfáticas enquanto aqueles causam lesões primariamente nos vasos linfáticos, sendo classificadas em agudas e crônicas (BUNGO, 2002). As manifestações agudas são caracterizadas por ataques episódicos de adenolinfangite acompanhados de febre e mal estar geral. Esses ataques podem repetir-se várias vezes ao ano no mesmo indivíduo. A adenolinfangite pode localizar-se nos órgãos genitais sob a forma de orquiepididimite aguda e adenites nas mamas, região inguinal, escroto e tecido subcutâneo são freqüentemente observadas nas manifestações agudas da filariose (WHO, 1992).

As manifestações clínicas crônicas da bancroftose normalmente surgem entre um período de dois a dez anos. Porém, entre indivíduos moradores de áreas indenes para bancroftose, além do relato da existência de um acometimento agudo mais precoce e intenso, observa-se uma evolução para formas crônicas em períodos de tempo relativamente curtos (OTTESEN, 1980). As principais manifestações crônicas são: hidrocele, linfedema, quilúria e elefantíase (Figura 5) e a incidência e gravidade destas manifestações tendem a aumentar com a idade (WHO, 1992).

**Figura 5 - Pacientes de Maceió/AL, com forma clínica crônica de filariose linfática: elefantíase de membro inferior.**



Fonte: FONTES; ROCHA, apud SILVA, V.A.N, 2006.

## 2.5 Diagnóstico

### 2.5.1 Diagnóstico clínico

É difícil e não específico devido à semelhança das alterações provocadas pela *W. bancrofti* com aquelas produzidas por outros agentes etiológicos com efeitos parecidos (ROCHA e FONTES, 2000). Deve-se considerar a história epidemiológica dos indivíduos avaliados. Nestes casos, a confirmação dos casos da enfermidade depende, quase que exclusivamente, de métodos diagnósticos que confirmem a presença do agente etiológico, uma vez que existe grande analogia entre as alterações clínicas provocadas pela filariose linfática e outras encontradas em diversas patologias. Recomenda-se que sejam investigados pacientes que residem ou residiram em áreas endêmicas e apresentem os seguintes sintomas: febre recorrente na presença de adenolinfangite, alteração pulmonar e/ou hiper-eosinofilia periférica, altas concentrações de IgE no soro, quilúria, hidrocele, linfedema, ou elefantíase (NANDURI e KAZURA, 1989).

### 2.5.2 Diagnóstico parasitológico

#### **Pesquisa de microfílarías (mf)**

O método parasitológico mais utilizado para diagnosticar a *W. bancrofti* é a pesquisa das mf no sangue periférico através da gota espessa. A coleta de sangue normalmente é feita por uma punção digital, com retirada de 20 a 100 µl de sangue capilar. O uso de sangue acrescido de anticoagulante não é recomendado, uma vez que se observa uma perda de até



69% das microfilárias quando a confecção da GE é realizada com a referida amostra (PARTONO e IDRIS, 1977).

Para a colheita de sangue deve-se obedecer sempre o horário noturno (entre 22-24h), para evitar resultados falso-negativos. Fontes et al (2000), examinando 45 indivíduos microfilarêmicos de Maceió, ao longo de 24 horas, verificaram que, em sangue colhido às 15 horas, 72% dos exames de gota espessa mensurada eram falso-negativos. Esses autores verificaram ainda que os poucos pacientes que apresentavam exames positivos às 15 horas tinham uma densidade de mf no sangue periférico 170 vezes menor quando comparados com o número de mf no horário de pico (noite) (FONTES et al., 2000).

A pesquisa de mf pode também ser feita utilizando-se técnicas de concentração, assim denominadas porque utilizam um volume maior de sangue a ser examinado. Têm a mesma especificidade da gota espessa, porém são mais sensíveis particularmente em pacientes com baixa microfilaremia, ou seja, menos de 10 mf/mL de sangue (FONTES, 1996). Uma das técnicas mais utilizadas é a filtração de sangue em membrana de policarbonato, na qual amostras com até 10 mL de sangue podem ser analisadas (CHULAREK e DESOWITZ, 1970). É uma técnica bastante sensível e normalmente utilizada para diagnóstico de casos individuais ou no controle pós-tratamento, quando a parasitemia pode se apresentar bastante reduzida (WHO, 1992).

Apesar das limitações da técnica da gota espessa em relação a sua sensibilidade, ainda é o método mais utilizado em áreas endêmicas para determinação da estimativa de prevalência, tanto pelo seu baixo custo como por sua relativa facilidade de execução (ROCHA e FONTES, 2000).

### **Ultra-sonografia**

Esta é uma técnica não invasiva para localizar os parasitos adultos vivos, úteis para detectar infecção antes do aparecimento de manifestações clínicas e verificar a eficácia da terapêutica pelo acompanhamento da perda de mobilidade dos vermes (ROCHA e FONTES, 2000).

Os vermes são encontrados formando verdadeiros “ninhos” e não se deslocam do local em que se encontram (DREYER et al., 1994). Nos homens, os vasos linfáticos intra-escrotais parecem ser a localização preferencial dos vermes adultos. Cerca de 80% dos homens infectados têm parasitos adultos nesse sítio. Nas mulheres e crianças, a frequência na visualização de vermes adultos é menor, parecendo não haver um local preferencial para a

permanência desses “ninhos”, embora já tenham sido detectados, por ultra-sonografia, em vasos linfáticos da região mamária feminina (DREYER et al., 1996). Entre as crianças, já foram registrados vermes na região axilar e cervical (DREYER et al., 1999).

### 2.5.3 Imunodiagnóstico

#### **Pesquisa de anticorpos**

As técnicas imunológicas de uso corrente para a pesquisa de anticorpos séricos, como a reação de imunofluorescência indireta ou ensaio imunoenzimático (ELISA), não são eficientes na bancroftose. Esses testes não permitem uma distinção da resposta imunológica humoral a antígenos filariais entre indivíduos parasitados, indivíduos já curados, e aqueles não infectados, mas constantemente expostos a antígenos do parasito na área endêmica e que podem desenvolver níveis detectáveis de anticorpos (PIESSENS e PARTONO, 1980; OTTESEN, 1989; WHO, 1992). Outro problema no imunodiagnóstico da filariose é que os testes normalmente não são suficientemente específicos para resolver o problema das reações cruzadas, observadas com soros de indivíduos infectados com outros helmintos, principalmente *Strongyloides stercoralis* e *Ascaris lumbricoides* (LAL e 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.

#### **Pesquisa de antígenos circulantes**

Na década de 1970, uma variedade de anticorpos policlonais foi usada para detectar antígenos nos soros de indivíduos infectados com *W. bancrofti* e *B. malayi*. Em geral, esses testes não foram suficientemente sensíveis e/ou específicos para serem utilizados como instrumento de diagnóstico (DREYER e ROCHA, 2001). Atualmente, o uso dos anticorpos policlonais foram substituídos pelos anticorpos monoclonais, melhorando a qualidade dos testes diagnósticos em pesquisa de antígenos circulantes filariais.

O teste para pesquisa de antígenos filariais circulantes (CFA) é feito através de ELISA com soro (resultado semiquantitativo) ou através de imunocromatografia rápida (ICT) com resultado qualitativo (positivo/negativo) usando sangue ou soro do paciente (WHO, 1998).

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). Uma das vantagens dessas técnicas é que podem ser realizadas com sangue colhido durante o dia, devido à 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 microfilárias. Isso decorre, primeiramente, porque a contagem de microfilárias e o nível de antígeno têm uma correlação fraca e, segundo, porque há um alto nível de antígeno circulante do parasito em pacientes amicrofilarêmicos com sinais clínicos (MORE e COPERMAN, 1990). 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 e ROCHA, 2005). Ambos os testes com anticorpos monoclonais parecem reconhecer antígeno(s) do estágio de verme adulto do parasito, devendo “a priori”, interpretar o teste positivo como sendo o resultado da presença do verme adulto, independente do “status” de microfilaremia do paciente (DREYER e ROCHA, 2001).

#### 2.5.4 Diagnóstico molecular

##### **Pesquisa do DNA genômico**

O genoma da *W. bancrofti* tem seqüências curtas que são distribuídas de forma altamente repetitiva e enfileiradas (em tandem), sendo designadas de “famílias repetitivas” (ZHONG et al., 1996). A reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido utilizada para amplificar essas seqüências, sendo sensível para detectar até 0,1 picograma de DNA, correspondente 1% do DNA contido numa microfilária ou larva infectante (CHANTEAU et al., 1994; ZHONG et al., 1996).

Por ser o PCR uma técnica que possibilita ampla aplicação no diagnóstico das doenças infecto-parasitárias, muitos pesquisadores estão trabalhando no sentido de detectar o DNA de *W. bancrofti* nos diversos líquidos biológicos humanos (ZHONG et al., 1996; LUCENA et al, 1998). Esta técnica apresenta uma alta sensibilidade e sua positividade está diretamente relacionada com a presença da microfilária no material analisado (WILLIAMS et al., 1996).

## 2.6 Tratamento

### 2.6.1 Tratamento com DEC

A dietilcarbamazina (DEC) é preconizada como o medicamento de escolha para o tratamento da filariose bancroftiana. A dose usual é 6mg/kg de peso/dia, via oral, durante 12 dias (WHO, 1992).

O fármaco é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, atingindo um pico no sangue entre 1 a 2 horas após a ingestão oral, não se concentrando em nenhum órgão específico e sendo sua excreção basicamente renal, com meia vida no sangue a depender do pH urinário (OTTESEN, 1985).

A interpretação mais consistente para o mecanismo microfilaricida da DEC, com base nos dados disponíveis, é a de que ela altera o metabolismo do ácido aracdônico nas microfilárias e nas células endoteliais do hospedeiro (MAIZELS e DENHAM, 1992). Essas modificações levariam a uma vasoconstrição amplificando a adesão endotelial, propiciando a imobilização do parasito circulante, aumentando a aderência e a atividade citotóxica das plaquetas e granulócitos do hospedeiro. Esses eventos poderiam representar a ativação do sistema imune inato não específico, independentemente da resposta imune adaptativa antígeno-específico. O mecanismo colocado dessa maneira explicaria o paradoxo entre o rápido desaparecimento da mf *in vivo* e a total falta de efeito *in vitro*, assim como sua eficácia em animais não imunes (MAIZELS e DENHAM, 1992).

Vários estudos têm demonstrado que a dietilcarbamazina (DEC) é o medicamento de escolha para o tratamento da filariose bancroftiana, causando a morte ou esterilização dos vermes adultos (OTTESEN, 1985; DREYER et al., 1995b). Porém, a ocorrência de reações adversas e o tempo prolongado de tratamento preconizado pela OMS têm contribuído para a falta de adesão do paciente ao tratamento e conseqüentemente dificultado o controle da filariose linfática (WHO, 1992). Segundo JAIN (1988), esquemas terapêuticos de curta duração são bem mais aceitos pela população, diminuindo-se a chance de desistência após o início do tratamento.

Estudos com seguimento de pacientes por longo prazo demonstraram que em indivíduos microfilarêmicos tratados com DEC pode ocorrer o desaparecimento da microfilaremia inicialmente, 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, o medicamento é usado em dose única de 6mg/kg de peso de 6 em 6 meses ou anualmente (WHO, 1992).

A DEC, apesar de bem tolerada pode produzir reações como, sonolência, náusea, febre, cefaléia, artralgia, linfangites, linfadenites, orquite, epididimite, dentre outras. (OTTESEN, 1985; DREYER e NORÕES, 1997). Essas reações podem ser devido a dois fatores: a toxicidade química do fármaco, que está relacionada à quantidade de dose ingerida (efeito colateral), ou reação decorrente da morte de microfilárias ou das formas adultas do parasito (reação adversa) (OTTESEN, 1985; DREYER e NORÕES, 1997).

Um outro fator atribuído ao surgimento de reações adversas após o tratamento é a liberação em massa de toxinas de uma bactéria endossimbiótica, a *Wolbachia sp*, presente no corpo da microfilária e do verme adulto, após a destruição dos parasitos pelo fármaco (BANDI et al, 2001; TAYLOR, 2002). Com a morte das microfilárias e/ou do verme adulto naturalmente ou devido a fármacos antifilariosos, a liberação dessa bactéria ativa o sistema imune do hospedeiro, sendo observado por esses autores, níveis séricos elevados de Interleucina 6 (IL6), Interleucina 1 (IL1), TNF  $\alpha$  e Interferon em indivíduos microfilarêmicos. Estes dados sugerem que a bactéria levaria à ativação de uma resposta imune específica em indivíduos com filariose linfática e induziria reações inflamatórias que, dependendo da quantidade de parasitos poderiam ser leves, moderadas ou graves (BANDI et al., 2001; TAYLOR, 2002).

Para dar início ao tratamento da bancroftose utilizando a DEC, deve-se considerar a possibilidade do paciente também encontrar-se parasitado pelo *Ascaris lumbricoides* (Linnaeus, 1758) (Ascaridida: Ascarididae). Nestes casos, a administração da DEC pode originar uma complicação denominada de *Ascaris* errático, produzida pela irritação do tegumento deste parasito, induzindo seu deslocamento do intestino delgado para outros locais, podendo até ocasionar a obstrução do ducto pancreático, o que pode levar o indivíduo a óbito. Para evitar esta complicação deve-se, anteriormente ao uso da DEC, realizar o tratamento do indivíduo com ascaridíase, utilizando albendazol (FONTES e ROCHA, 2005).

Apesar da DEC ser utilizada há mais de cinquenta anos e apresentar vastos efeitos colaterais e reações adversas, esse continua sendo o fármaco de escolha para o tratamento da filariose linfática, pois inexistente um fármaco que reúna efeitos micro e macrofilaricida para substituí-lo (DREYER e NORÕES, 1997).

## 2.7 Tratamento com outras drogas

### 2.7.1 Ivermectina (IV)

A ivermectina é uma potente lactona monocíclica, produzida pelo *Streptomyces avermitilis*, que causa paralisia em muitos nematódeos e artrópodes. Tem mostrado uma boa ação microfilaricida também em alguns outros filarídeos que infectam o ser humano (*W. bancrofti*, *B. malayi*, *Loa loa* e *Mansonella ozzardi*), porém é inativa contra a *Mansonella perstans*. Por outro lado, tem sido aparentemente ineficaz contra os vermes adultos. (COUTINHO et al, 1994; DREYER et al, 1995a; DREYER et al, 1996). Este fármaco apresenta boa ação contra *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* e *Larva migrans*. Tem pouca ou nenhuma atividade contra *Ancilostomídeos*. Estudos também indicam que a IV tem a potencialidade de se tornar a droga de escolha para tratar ectoparasitos em seres humanos (KAR et al., 1994).

Ampla revisão sobre esse fármaco foi feita por Ottesen e Campbell (1994), abrangendo farmacologia e modo de ação, estudos clínicos, ação em diversas filárias e em parasitos intestinais. Quando administrada em pacientes microfilarêmicos infectados pelo parasito filarial que habita os vasos linfáticos, provoca reação sistêmica, geralmente leve, em parte dos indivíduos, sendo os sintomas e sinais mais comuns à febre, a cefaleia, e a mialgia. A severidade da reação sistêmica depende da densidade de microfilaremia, sendo mais acentuada naqueles indivíduos portadores de altas parasitemias. A reação, por sua vez, é autolimitada, com duração de cerca de 48 horas e só ocorre praticamente na primeira tomada do medicamento (COUTINHO et al, 1994). A baixa considerável no número dos parasitos circulantes induzidos pelo primeiro ciclo de tratamento faz com que as tomadas subseqüentes não tenham praticamente nenhuma repercussão clínica para o indivíduo (DREYER e NORÕES, 1997).

### 2.7.2 Benzimidazóis

Os benzimidazóis foram desenvolvidos originalmente como fungicidas para plantas e mais tarde como o anti-helmíntico veterinário. O primeiro benzimidazol desenvolvido e liberado para o uso humano foi o tiabendazol, em 1962. Desde então outros quatro benzimidazóis (mebendazol, flubendazol, albendazol, triclabendazol) foram licenciados para o uso humano em várias partes do mundo. Todos são carbamato de benzimidazol e possuem um largo espectro de atividade anti-helmíntica (HORTON, 2000).

## Albendazol

O albendazol é um fármaco que tem um largo espectro de atividade, boa tolerância, e baixo custo (GYURIK et al, 1981; EVRARD et al, 2002). Contudo, este fármaco exibe usualmente baixa solubilidade em água (0,2 mg/mL a pH 7,4), o que reduz a sua absorção por via oral (CASTILHO et al, 1999). Seu mecanismo de ação está relacionado a uma degeneração seletiva de microtúbulos citoplasmáticos, em células intestinais e tegumentares de larvas e helmintos adultos, levando à diminuição na assimilação e metabolização da glicose. Isso levaria à diminuição de ATP, causando depleção de energia que imobilizaria e mataria os vermes (HARDMAN et al., 1996). Estudos realizados demonstraram que o albendazol além de matar os estágios adultos dos helmintos intestinais, também mata os ovos (MAISONNEUVE et al., 1985) e as larvas (CLINE et al., 1984), sendo portanto, ovicida, larvicida e adulticida.

Mak et al em 1984 mostraram que o albendazol era eficaz contra a filariose linfática causada pelo parasito do gênero *Brugia sp.* em animais de laboratório. Porém foi Jayakody et al em 1993 que realizaram o primeiro estudo sobre a eficácia do albendazol em filariose linfática causada por parasito da espécie *W. bancrofti* em seres humanos. Neste estudo os autores relatam que o albendazol dado em altas doses por um tempo prolongado (15 dias) tem um efeito macrofilaricida. No entanto, a frequência e gravidade de reações neste tratamento desencorajaram um estudo mais aprofundado desta terapêutica, embora a eficácia do albendazol contra infecções por *W. bancrofti* tenha sido claramente estabelecida (JAYAKODY et al, 1993).

De acordo com alguns autores, o albendazol dado em dose única (600mg), ou co-administrado com a ivermectina é tão eficaz quanto DEC no seu efeito microfilaricida a longo prazo (ADDISS et al., 1997; ISMAIL et al., 1998). Porém, o uso continuado do albendazol pode causar dores gastrointestinais, náuseas, vômitos, dores de cabeça, febre, fadiga, perda de cabelo, dores abdominais e degeneração hepática. Por ser teratogênico e embriotóxico, não deve ser administrado a gestantes (HARDMAN et al., 1996).

Sabe-se que o albendazol é um fármaco eficaz e seguro para tratamento de infecções por helmintos intestinais (incluindo ancilostomídeos). Por conseguinte, a sua inclusão nos dois regimes de tratamento associado a DEC ou Ivermectina pode ter um grande impacto sobre a saúde pública, pois além de tratar a filariose estará tratando também as geohelmintoses (OTTESEN et al., 1999).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar a redução de microfilaremia e antigenemia em indivíduos infectados por *Wuchereria bancrofti* tratados com citrato de dietilcarbamazina (DEC), albendazol e mebendazol em diferentes dosagens, com a intenção de avaliar a cura parasitológica e mostrar qual esquema tem a melhor eficácia no tratamento da bancroftose, bem como reavaliar pacientes tratados no passado.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Avaliar a densidade de microfilárias (mf) em portadores de *W. bancrofti*, antes e após o tratamento com diferentes esquemas dos medicamentos albendazol, mebendazol e DEC;

Avaliar a eficácia dos tratamentos com os esquemas testados, através da cura dos microfilarêmicos;

Estudar a cinética da redução das microfilárias em diferentes intervalos de tempo após tratamento específico dos pacientes;

Estudar a cinética da redução da antigenemia por *W. bancrofti* em diferentes intervalos de tempo após tratamento de pacientes com dietilcarbamazina;

Reavaliar ex-microfilarêmicos utilizando técnicas de diagnóstico parasitológico e imunológico.



## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Caracterização da área: Área geográfica estudada Maceió – Alagoas**

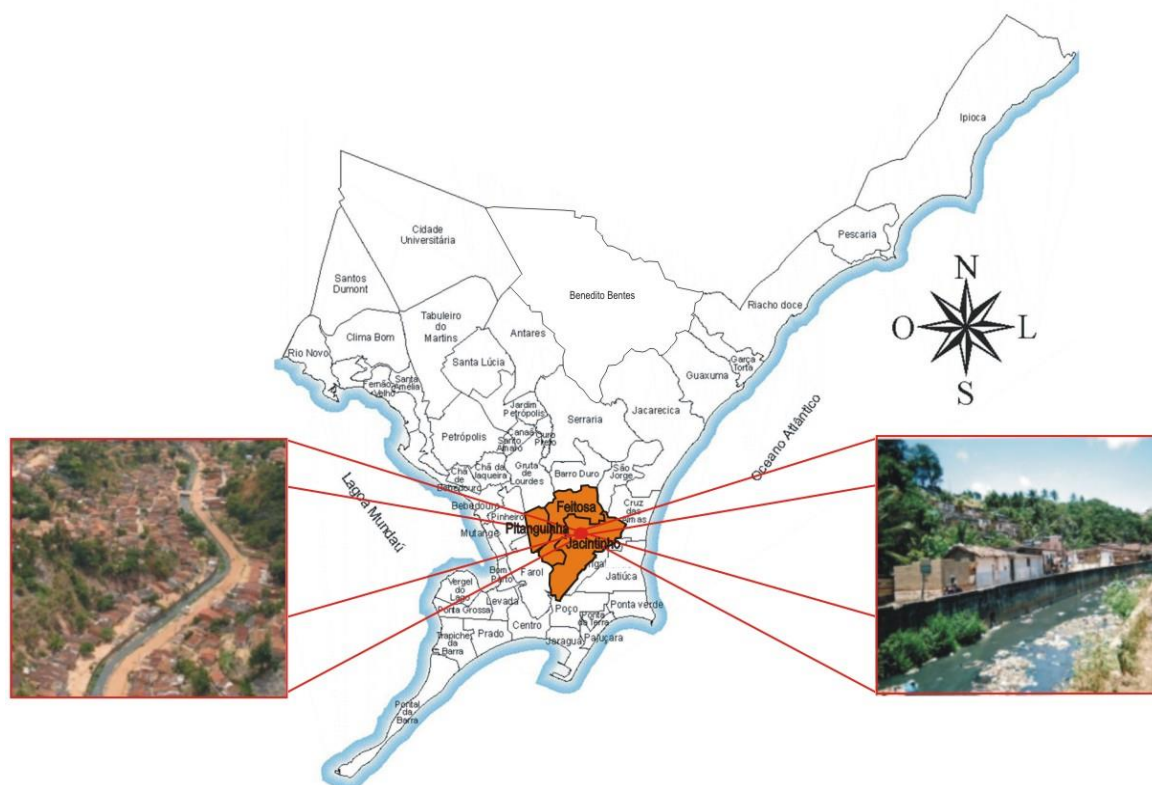
Maceió capital do Estado de Alagoas está situada no litoral médio do estado entre os meridianos 35° 44' W e 35° 56' W e os paralelos 9° 35' e 9° 24' S. A cidade é constituída por uma área urbana de 233 Km<sup>2</sup> e sua população urbana é composta por 896.965 habitantes (IBGE, 2009). Com relação ao sexo, 46,98% dos indivíduos pertencem ao sexo masculino e 53,02% ao sexo feminino (IBGE, 2009).

A cidade 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 urbana é composta por 50 bairros, distribuídos em sete distritos sanitários (MACEIÓ, 2005).

De acordo com a Companhia de Abastecimento e Saneamento do Estado de Alagoas, apenas 27% da população de Maceió (170.000 habitantes) encontra-se servida pelo sistema coletor de esgotos sanitários na cidade, e atualmente 83% está abastecida com água tratada (CASAL, 2008).

Este estudo foi realizado com indivíduos microfilarêmicos detectados na área endêmica de filariose linfática em Maceió, enfermidade que tem distribuição focal e é concentrada em três bairros centrais e contíguos, quais sejam, Feitosa, parte de Pitanguinha e Jacintinho, compreendendo o canal do riacho Reginaldo e adjacências, localizado no 5º Distrito Sanitário, representado em cor laranja na figura 6.

Figura 6 - Mapa da cidade de Maceió dando destaque à área endêmica de filariose linfática



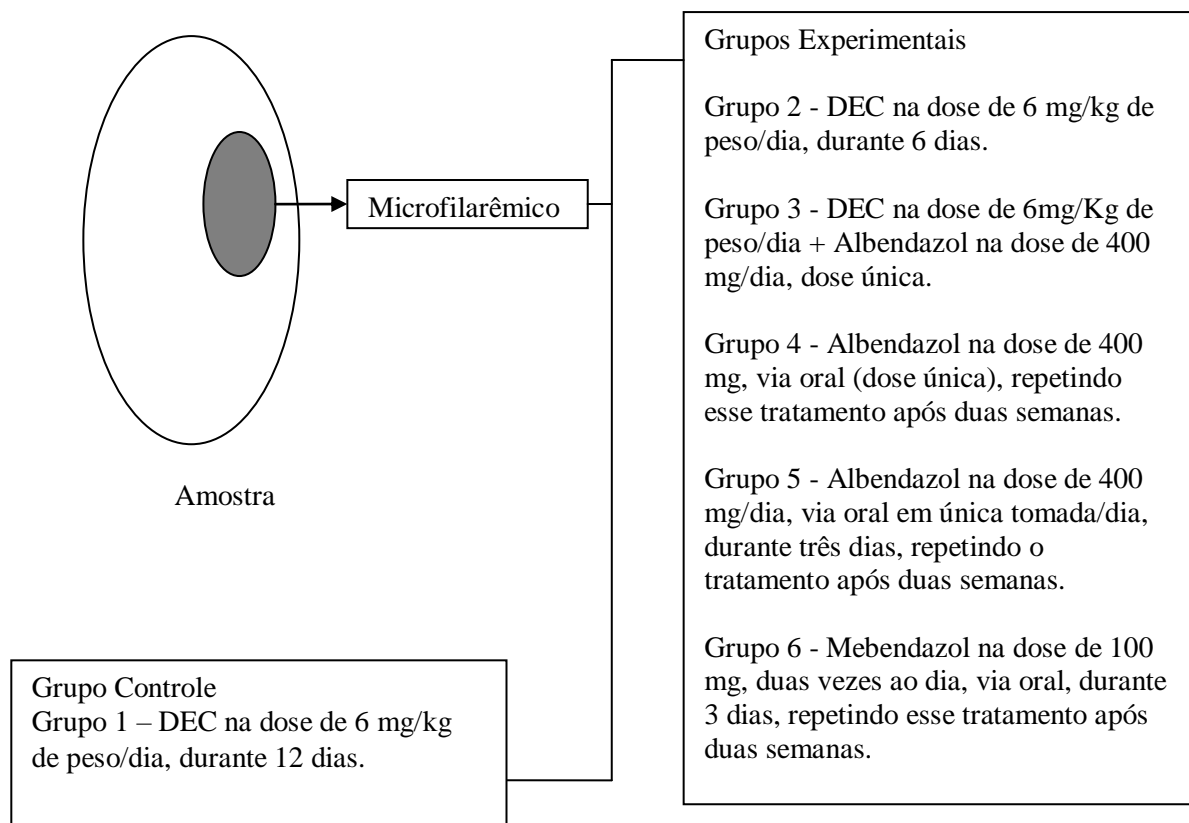
Fonte: Autora, 2010 – Adaptado de <[www.webbusca.com.br](http://www.webbusca.com.br)>. Acesso em 10 jan.2010.

## 4.2 Desenho do estudo

Considerando que o objetivo principal desse estudo foi avaliar a redução de microfilaremia e antigenemia em indivíduos infectados por *Wuchereria bancrofti* tratados com citrato de dietilcarbamazina (DEC), albendazol e mebendazol em diferentes dosagens, com a intenção de avaliar a cura parasitológica e mostrar qual esquema tem a melhor eficácia no tratamento da bancroftose, bem como reavaliar pacientes tratados no passado, optou-se por um ensaio clínico randomizado, controlado, sem placebo.

O período de tratamento e coleta dos dados foi de 2002 a 2007

## 4.3 Grupos de tratamento



Fonte: Autora, 2010.

#### 4.4 Considerações éticas

Foi obtido o consentimento escrito de cada indivíduo participante do estudo, ou de seu responsável legal (quando menores de idade), após esclarecimento sobre a transmissão, tratamento da parasitose e do compromisso da equipe executora, pelo acompanhamento clínico de todos os pacientes.

Os pacientes que não obtiveram a “cura parasitológica” após o término do experimento foram submetidos a novos ciclos de tratamento com a DEC 6mg/kg de peso/dia, via oral, em única tomada, durante 12 dias (WHO, 1992). A “cura parasitológica” foi definida como ausência de microfilárias no exame de filtração de dez mL de sangue em membrana de policarbonato.

O protocolo deste trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFAL (Registro CEP no 002884/2001-77) (Anexo A).

#### 4.5 Amostra

A população do estudo foi constituída de indivíduos microfilarêmicos por *W. bancrofti*, de ambos os sexos, residentes na área endêmica de Maceió, AL (ROCHA et al, 2000), diagnosticados durante inquéritos hemoscópicos realizados na população geral da cidade, através do “Programa de eliminação da Filariose linfática em Maceió”, ação conjunta da Universidade Federal de Alagoas, Secretaria Municipal de Saúde de Maceió, com apoio do Ministério da Saúde, OPAS/OMS.

Dos indivíduos microfilarêmicos detectados foram formados seis grupos. As mulheres grávidas e crianças menores de cinco anos foram excluídas do estudo.

#### 4.6 Variáveis estudadas

Durante a consulta clínica foram coletados dados como idade, sexo, procedência, residência e tempo de residência na área onde foram detectados. Os pacientes foram examinados e tratados por médicos da equipe do Programa de Saúde da Família (PSF) das localidades em estudo (bairros Feitosa, Pitanguinha, Jacintinho e área do canal do Reginaldo), ou por médicos participantes do grupo de pesquisa. Os desfechos estudados foram:

Variáveis dependentes:

➤ Redução da microfilaremia antes e após uso de DEC, mebendazol e albendazol.

- Redução da antigenemia antes e após uso de DEC, mebendazol e albendazol.
- Negativação após 30 dias.
- Cinética da antigenemia em diferentes intervalos de tempo após tratamento específico dos pacientes.
- Reavaliação de ex pacientes.

Variáveis explanatórias:

- Diferentes fármacos aos quais os pacientes foram submetidos.
- Nível de parasitemia.
- Sexo.
- Idade.

#### 4.7 Colheita das amostras de sangue

A punção venosa para colheita de amostras de sangue para quantificação da microfilaremia era feita na veia mediana cubital, de preferência do braço direito para que a coleta fosse facilitada, usando seringas descartáveis (Figura 7). O sangue era colocado diretamente em tubos plásticos com tampa rosqueável, contendo gotas de EDTA a 10% como anticoagulante.

A pesquisa de microfilárias foi sempre realizada entre 22h00 e 01h00, horário compatível com maior concentração dessas formas no sangue periférico de pacientes de Maceió-AL (FONTES et al., 2000).

**Figura 7** - Punção venosa em veia mediana cubital.



#### 4.8 Quantificação da microfilaremia

A densidade de microfílrias sangüíneas foi estimada usando-se a técnica de filtração em membrana de policarbonato e contagem do número de microfílrias (CHULARERK e DESOWITZ, 1970). Antes de filtrar o sangue venoso colhido antes do início do tratamento, era tomado 20  $\mu\text{L}$  da amostra, bem homogeneizada, e feita uma contagem do número de microfílrias a fresco entre lâmina e lamínula. Isso era feito com o objetivo de estimar a microfilaremia em um mL de sangue, o que era calculado, multiplicando-se o resultado obtido na contagem a fresco por 50. A partir daí, o volume de sangue a ser filtrado era determinado de acordo com a Tabela 1.

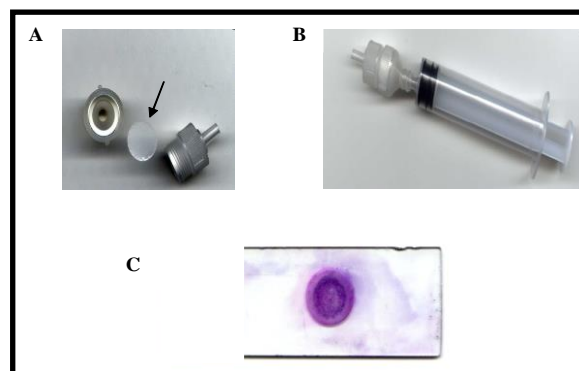
**Tabela 1 - Volume de sangue utilizado para filtração em membrana de policarbonato, de acordo com estimativa do número de microfílrias/mL (a partir de leitura a fresco de 20  $\mu\text{L}$  de sangue).**

ESTIMATIVA DO N° DE MICROFILÁRIAS/ML DE SANGUE	VOLUME DA AMOSTRA A SER FILTRADO
0 – 250	1 mL
251 – 500	500 $\mu\text{L}$
501 – 1000	200 $\mu\text{L}$
> 1000	100 $\mu\text{L}$

Para filtração, era tomado em uma seringa o volume de sangue venoso pré-determinado, conforme descrito, diluindo-o na proporção de 1:10 em solução salina tamponada. Essa suspensão era filtrada, pressionando levemente o êmbolo da seringa contra a membrana de policarbonato (Nuclepore Corporation, Pleasanton, CA, USA) de 13 mm de diâmetro e poros de três  $\mu\text{m}$  (que retém as microfílrias, mas não as hemácias), que era montada em um suporte de filtro apropriado (Nuclepore Corporation, Pleasanton, CA, USA) adaptado na extremidade da seringa. Após a filtração, a seringa era preenchida com cerca de 10 mL de solução salina tamponada usada para lavar o filtro. Em seguida, o mesmo volume de água destilada era passado através da membrana a fim de promover a lise das hemácias que

porventura se encontravam retidas no filtro. A membrana era então removida do suporte e colocada sobre uma lâmina de microscopia. Após seca, a membrana era fixada com metanol e corada com eosina-Giemsa que dá maior contraste à bainha e poro excretor das microfilárias. A contagem de microfilárias era feita com auxílio de um microscópio óptico (aumento de 100X) e os resultados expressos em número de microfilárias/mL de sangue. A Figura 8 mostra os materiais utilizados para a filtração de sangue.

**Figura 8 - Materiais utilizados para a filtração de sangue: 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 pela Eosina-Giemsa e montada em lâmina de microscopia**



Fonte: FONTES; ROCHA, 2000.

A classificação da microfilaremia foi determinada utilizando como referência os limites estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS), descritos na Tabela 2.

**Tabela 2 - Classificação da microfilaremia por *Wuchereria bancrofti* adotada pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2000).**

MICROFILÁRIAS/mL DE SANGUE	CLASSIFICAÇÃO DA MICROFILAREMIA
≤ 100	Baixa
101 a 500	Média
> 500	Alta

Fonte: WHO, 2000.

#### **4.9 Coloração pela técnica da eosina-Giemsa**

As membranas de policarbonato eram coradas com eosina 0,05% por três minutos e em seguida, após ligeira lavagem, eram coradas pelo Giemsa, na diluição de uma gota de corante estoque para um mL de água destilada tamponada, durante 10 a 15 minutos. Após esse tempo, o excesso de corante era retirado com água e as lâminas, com as membranas, secadas à temperatura ambiente.

#### **4.10 Controle de qualidade da determinação da microfilaremia**

Como controle de qualidade eram feitas as contagens de microfilárias por dois técnicos diferentes e os resultados foram expressos como a média das duas contagens. Quando houvesse discrepâncias entre as contagens, um terceiro técnico revisava as contagens anteriores.

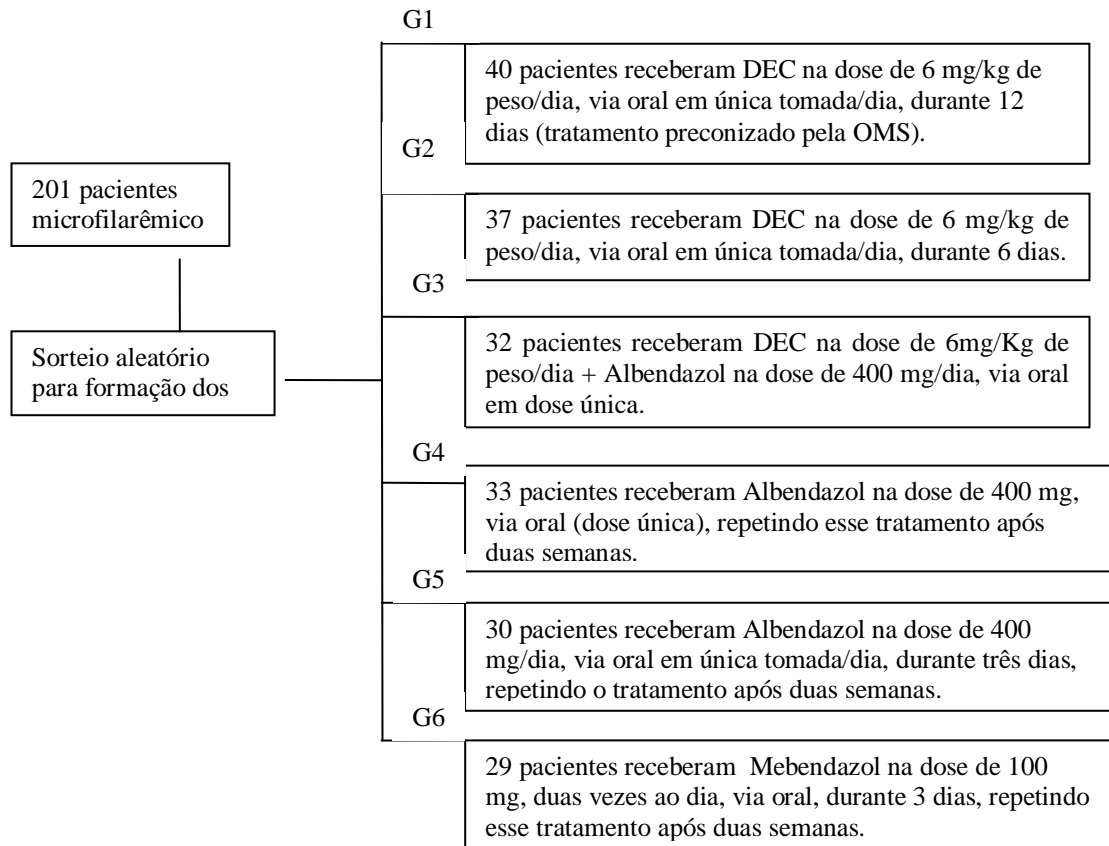
#### **4.11 Protocolo de tratamento**

Após exame físico dos indivíduos microfilarêmicos, realizado por médicos do PSF e médicos participantes do grupo de pesquisa em filariose da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), foram formados seis grupos de tratamento, por meio sorteio e foram tratados de acordo com o esquema abaixo. O protocolo de medida de eficácia do tratamento foi o mesmo para todos os grupos. Os tratamentos foram realizados entre 2002 a 2007.

A medicação foi entregue ao paciente diariamente, em sua residência, sempre no mesmo horário e a sua ingestão sempre foi acompanhada por um componente da equipe.



**Figura 09 - Esquema dos grupos de tratamento.**



\* G = Grupo

Fonte: Autora, 2010.

#### **4.12 Avaliação da densidade parasitária após administração da DEC, mebendazol e do albendazol.**

De todos os pacientes foi coletado sangue, como descrito anteriormente, para determinação da densidade de microfilárias antes do tratamento (AT) e no 30° dia após o término do tratamento (PT). O volume de sangue filtrado após o tratamento foi igual a dez mL, a fim de aumentar a sensibilidade do método. A redução percentual da microfilaremia após o tratamento foi calculada segundo a seguinte fórmula:

$$\text{Redução Percentual de microfilárias} = 100 - \frac{(\text{mf PT} \times 100)}{\text{mf AT}},$$

onde: mf AT = microfilaremia antes do tratamento  
mf PT = microfilaremia após tratamento

#### **4.13 Determinação da eficácia do tratamento**

Foi estimada a eficácia dos tratamentos nos seis grupos de microfilarêmicos tratados com DEC, mebendazol ou albendazol. A eficácia do tratamento foi medida pela percentagem de portadores de microfilárias de *W. bancrofti* que se tornaram amicrofilarêmicos no 30º dia após o término do tratamento. Para isso foi feita a pesquisa de microfilárias em dez mL de sangue pelo método de filtração em membrana de policarbonato.

Nos grupos tratados somente com DEC foi feita a cinética da microfilaremia em 50% da amostra. Foram analisadas as quantidades de microfilárias/mL presente nas amostras de sangue venoso antes do tratamento (AT), e 8 horas, 6 dias, 12 dias, 30 dias, 90 dias, 180 dias, 270 dias, 360 dias, 540 dias e 720 dias após o tratamento.

#### **4.14 Determinação da redução da antigenemia**

Para avaliação da redução da antigenemia após tratamento específico foram escolhidos dois grupos, o primeiro composto por 35 pacientes microfilarêmicos e o segundo por 10 pacientes amicrofilarêmicos, mas positivos para pesquisa de antígenos de *W. bancrofti* pela imunocromatografia rápida. Todos os componentes dos dois grupos foram tratados com DEC 6mg/kg/dia durante 12 dias e foram avaliados através de duas técnicas de diagnóstico para pesquisa de antígenos do parasito: imunocromatografia rápida (“ICT card test”) - qualitativo e teste imunoenzimático (ELISA) – semi-quantitativo.

##### **4.14.1 Avaliação antigênica das amostras de parasitados antes e após os tratamentos terapêuticos**

##### **Técnica de diagnóstico por imunocromatografia rápida (“ICT”)**

As amostras de soros dos indivíduos parasitados, obtidas antes e depois do tratamento, foram separadas em alíquotas e conservadas em freezer a -20°C. Com auxílio de um tubo capilar, 100µL de soro de cada amostra foram dispensados lentamente na parte superior da almofada branca e cor-de-rosa existente no lado esquerdo de cada cartão de imunocromatografia (Figura 10). Após 30 segundos a um minuto, tempo necessário para que a amostra de soro se deslocasse pela almofada e molhasse completamente a área cor-de-rosa desta, o protetor do adesivo existente no lado direito do cartão de imunocromatografia era retirado, e o cartão fechado. Assim, o soro 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. Depois de 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 vermelhas na coluna de nitrocelulose (Controle e Teste) foram considerados exames positivos; cartões apresentando apenas uma banda vermelha na coluna de nitrocelulose (Controle) foram considerados exames negativos (Figura 10, C e D). Os resultados foram analisados para verificar, ao longo de anos após tratamento, se existe e se foi significativa a redução de antígenos filariais circulantes e qual o tempo médio para que ocorra redução significativa de antigenemia nos parasitados após tratamento.

**Figura 10 - 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).**



Fonte: Autora, 2008.

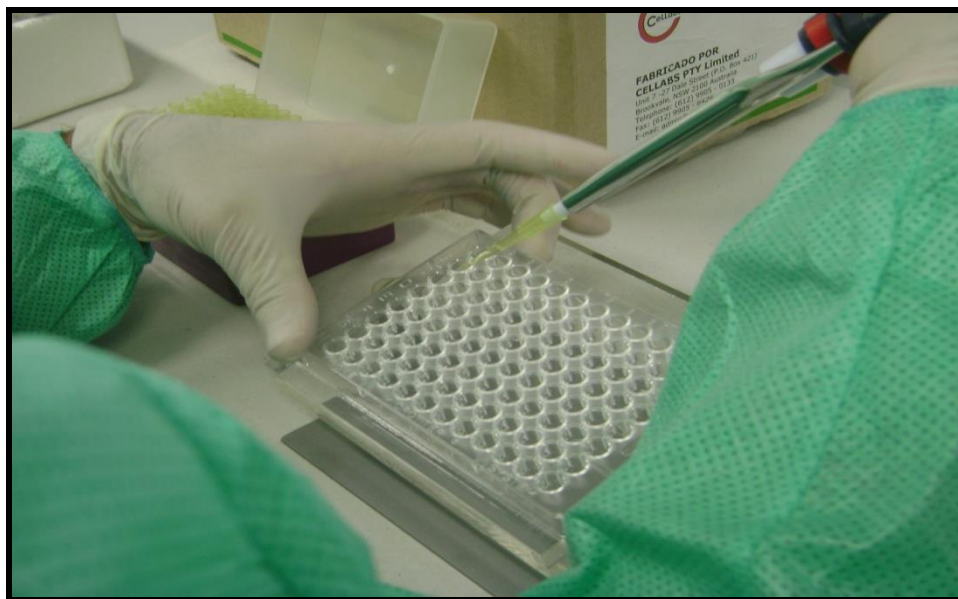
### **Ensaio imunoenzimático (ELISA)**

As amostras de soros obtidas antes e depois do tratamento que estavam conservadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  foram separadas em alíquotas de  $100\mu\text{L}$  que foram adicionadas a  $300\mu\text{L}$  de diluente, em tubo adequado. Em seguida os tubos foram levados ao banho-maria a  $100^{\circ}\text{C}$ , por cinco minutos; após a fervura, centrifugou-se as amostras a 14.000 RPM, por 10 minutos. O fluido sobrenadante transparente continha o antígeno estável. Deste sobrenadante retirou-se  $50\mu\text{L}$  e colocou-se no poço teste na microplaca sensibilizada com anticorpo monoclonal  $\text{Og}_4\text{C}_3$  para ensaio imunoenzimático (ELISA) padronizado pelo Instituto Aggeu Magalhães (Figura 11). Foram adicionados os padrões e o controle nas colunas 11 e 12. A placa foi colocada em câmara úmida e incubada durante a noite, para aumentar a sensibilidade. Após a incubação, as placas foram lavadas três vezes, com tampão de lavagem. Em seguida, o anticorpo anti-*Onchocerca* de coelho foi diluído, adicionando-se  $50\mu\text{L}$  a  $6\text{mL}$  do diluente.

Colocou-se 50µL deste anticorpo diluído em todos os poços e incubou-se, por uma hora. As placas foram lavadas três vezes, como anteriormente. Adicionou-se 50µL do conjugado a 6 mililitros do diluente de anticorpo; dessa diluição, 50µL foram adicionados a todos os poços e incubados, por uma hora. Lavou-se a placa três vezes, como anteriormente, e acrescentou-se 100µL do cromógeno em cada poço e incubou-se, por mais uma hora.

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 quando encontrado no mínimo 128 Unidades de antígeno/mL de soro (ponto de corte). Os resultados foram analisados para verificar ao longo de anos após tratamento, se existe e se foi significativa a redução de antígenos filariais circulantes e qual o tempo médio para que ocorra redução significativa de antigenemia nos parasitados após tratamento.

**Figura 11 - Microplaca com 96 poços sensibilizada com anticorpo monoclonal Og<sub>4</sub>C<sub>3</sub> para ensaio imunoenzimático (ELISA).**



Fonte: Autora, 2010

#### **4.15 Reavaliação de ex-pacientes microfilarêmicos utilizando técnicas de diagnóstico parasitológico e imunológico**

Foram selecionados aleatoriamente 25 pacientes para serem reavaliados após 10 anos do tratamento e, para isso, foram utilizadas as técnicas de filtração de sangue em membrana de policarbonato, “ICT” e ELISA (descritas nos **itens 4.8 e 4.14**).

#### **4.16 Análise estatística**

Para as análises e o armazenamento dos dados foi utilizado o Pacote Estatístico Epi-Info Versão 6.04 (DEAN *et al*, 1994). O teste exato de fisher e teste "t" de *Student* foram utilizados para comparar, respectivamente, proporções e médias. Foi utilizado o nível de significância de 5% (valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos).

## 5 RESULTADOS

Neste estudo foram avaliados 201 indivíduos microfilarêmicos entre 2002 a 2007 que receberam tratamento com dietilcarbamazina (DEC), DEC e albendazol, albendazol, e mebendazol. Destes, 193 (96,0%) pacientes completaram os esquemas terapêuticos propostos e respectivas avaliações (punção e avaliação antes do tratamento, tratamento e punção e avaliação pós-tratamento).

Dos 193 indivíduos que completaram o tratamento e avaliação, 131 (68,0%) eram do gênero masculino e 62 (32,0%) do gênero feminino (Gráfico 1). A idade dos tratados variou de 05 a 80 anos, sendo a média  $\pm$  desvio padrão (DP) de  $24,3 \pm 12,9$  anos. A microfilaremia (mf/mL de sangue) variou de 1 a 3.440 mf/mL, com média de  $256,52 \pm 586,61$  mf/mL. A densidade média  $\pm$  DP de parasitemia entre os indivíduos do gênero masculino foi igual a  $271,53 \pm 640,61$  mf/mL antes do tratamento (AT) e entre aqueles do gênero feminino foi de  $265,64 \pm 452,61$  antes do tratamento (AT), não sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

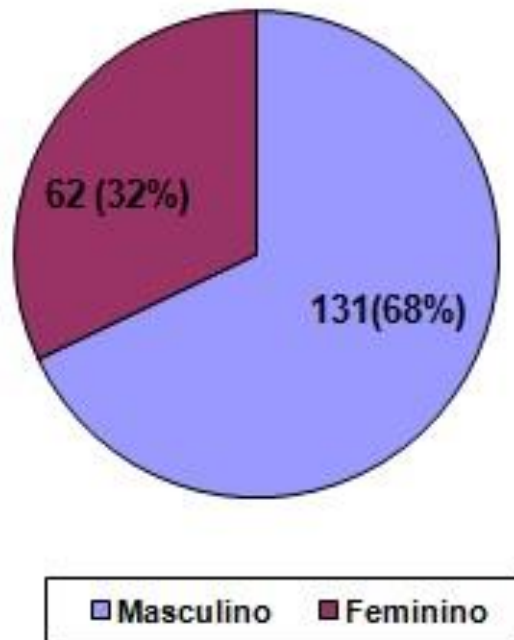
Devido à grande variação na distribuição das contagens de microfilárias por mL de sangue de um indivíduo para outro, os valores da parasitemias foram transformadas em seu logaritmo natural, obtendo-se então as médias geométricas dos números de mf/mL, passando a distribuição a ser mais homogênea. Assim, a média  $\pm$  DP geométrica da densidade de microfilárias entre os indivíduos parasitados foi  $2,40 \pm 2,76$  mf/mL. Entre os indivíduos parasitados do gênero masculino a média geométrica  $\pm$  DP de microfilaremia foi  $2,43 \pm 2,80$  mf/mL e entre os indivíduos parasitados do gênero feminino foi  $2,42 \pm 2,65$  mf/mL, não sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

A distribuição da frequência da densidade de microfilárias por sexo está apresentada na Tabela 3. Verificamos que entre os indivíduos parasitados do sexo masculino, 11,4% possuíam microfilaremia acima de 500 mf/mL, considerada de acordo com critérios pré-estabelecidos, como alta parasitemia, e entre os microfilarêmicos do sexo feminino, 9,6% eram portadores de alta parasitemia, não sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

As médias geométricas das densidades de microfilárias por mL de sangue encontradas em indivíduos parasitados, distribuídas por faixa etária e sexo estão apresentadas nos Gráficos 2 e 3. De acordo com o gráfico apresentado, o pico da microfilaremia é por volta dos 21 a 25 anos nos homens e de 11 a 15 anos nas mulheres. A partir dos 25 anos ocorre uma queda

gradual na densidade das microfilárias até os 40 anos quando volta a aumentar nos homens e diminui acentuadamente nas mulheres. As mais altas densidades das microfilárias foram detectadas em indivíduos parasitados, de ambos os sexos, com idade maior que 15 anos e menor que trinta anos. Não existe diferença estatística significativa entre microfilaremia e sexo em nenhuma das faixas etárias ( $p > 0,05$ ).

**Gráfico 1 - Frequência do gênero entre os pacientes microfilarêmicos avaliados e tratados em Maceió, AL.**



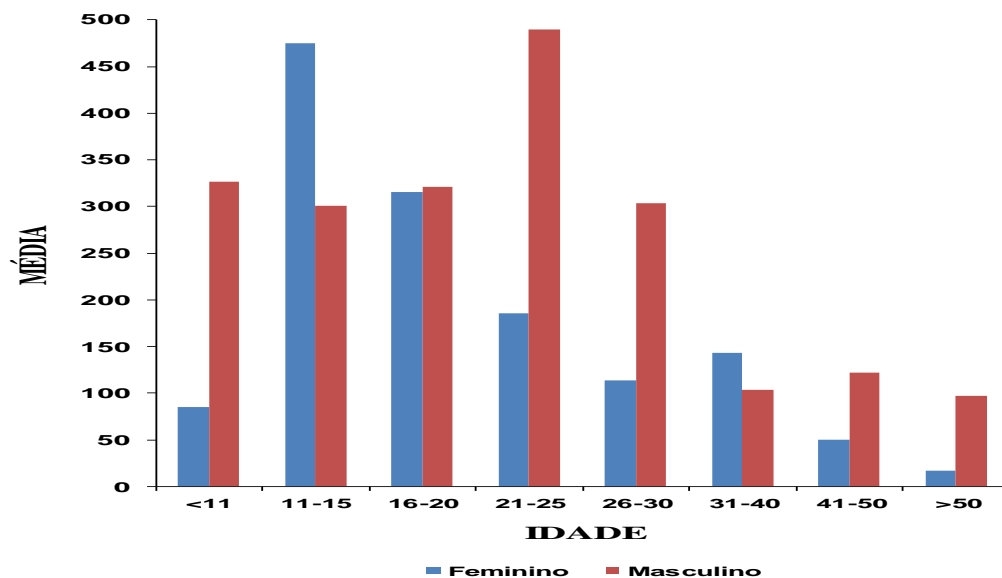
Fonte: Autora, 2010

**Tabela 3 - Número de indivíduos parasitados, por gênero, de acordo com o nível de microfilaremia apresentado antes do tratamento.**

MICROFILAREMIA	FEMININOS	MASCULINOS	TOTAL
	Nº PARASITADOS (%)	Nº DE PARASITADOS (%)	Nº PARASITADOS (%)
1-100	34 (54,9%)	84 (64,1%)	118 (61,1%)
100-500	22 (35,5%)	32 (24,5%)	54 (28,0%)
500-1000	4 (6,4%)	5 (3,8%)	9 (4,7%)
>1000	2 (3,2%)	10 (7,6%)	12 (6,2%)
<b>Total</b>	<b>62 (100%)</b>	<b>131 (100%)</b>	<b>193 (100%)</b>

Fonte: Autora, 2010

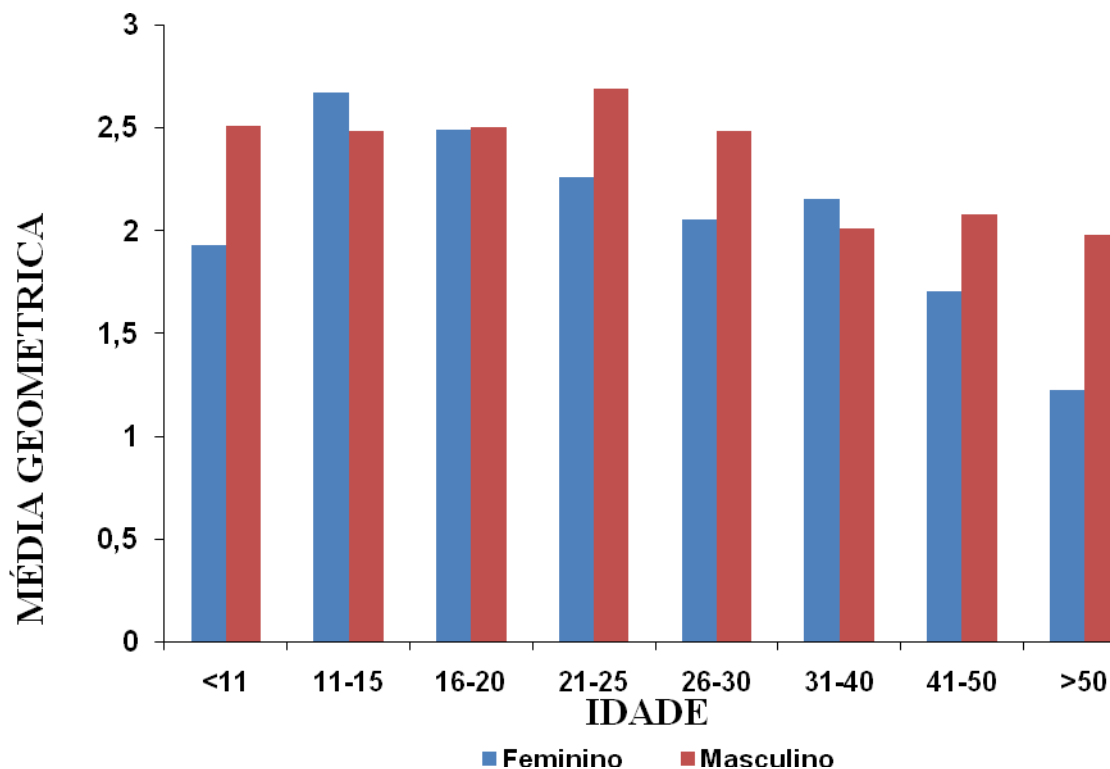
**Gráfico 2 - Média da microfilaremia em portadores de *Wuchereria bancrofti* em relação ao sexo e faixa etária na cidade de Maceió-AL.**



Fonte: Autora, 2010



**Gráfico 3 - Média geométrica da microfilaremia em portadores de *Wuchereria bancrofti* em relação ao sexo e faixa etária na cidade de Maceió-AL.**



Fonte: Autora, 2010

### **5.1 Comparações da redução da microfilaremia antes e após o tratamento com diferentes esquemas terapêuticos de dietilcarbamazina (DEC), mebendazol e albendazol.**

O primeiro grupo, constituído de 40 pacientes, recebeu DEC na dose de 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada/dia, durante 12 dias (tratamento preconizado pela OMS). A densidade de microfilárias sangüíneas antes do tratamento variou de 1 a 3.150 mf/mL de sangue, com média de  $544,17 \pm 795,91$  mf/mL. A densidade de microfilárias após tratamento variou de 0 a 126 mf/mL de sangue, com média de  $14,65 \pm 29,32$  mf/mL. Comparando a média de microfilaremia antes e após esse esquema terapêutico, observou-se que houve redução de microfilaremia de 97,30%.

A média geométrica da densidade de microfilaremia entre os indivíduos parasitados foi  $2,73 \pm 2,90$  mf/mL antes do tratamento e a média após o tratamento foi de  $1,16 \pm 1,46$  mf/mL, havendo uma diferença estatisticamente significativa entre essas médias ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4).

O segundo grupo, constituído de 36 pacientes, recebeu DEC na dose de 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada/dia, durante 6 dias. A densidade de microfilárias antes do tratamento variou de 2 a 3.440 mf/mL de sangue, com média de  $496,42 \pm 940,39$  mf/mL. A densidade de microfilárias após tratamento variou de 0 a 119 mf/mL de sangue, com média de  $16,65 \pm 29,67$  mf/mL. Comparando a média de microfilaremia antes e após esse esquema terapêutico, observou-se redução de microfilaremia de 96,64%.

A média geométrica da densidade de microfilaremia entre os indivíduos parasitados neste grupo foi  $2,69 \pm 2,97$  mf/mL antes do tratamento e de  $1,22 \pm 1,47$  mf/mL após o tratamento, havendo uma diferença estatisticamente significativa entre essas médias ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4).

O terceiro grupo, composto de 32 pacientes, recebeu DEC na dose de 6mg/Kg de peso/dia associado ao albendazol na dose de 400 mg/dia, via oral em dose única. A densidade de microfilárias antes do tratamento nesse grupo variou de 2 a 218,00 mf/mL de sangue, com média de  $66,34 \pm 55,33$  mf/mL. A densidade de microfilárias após tratamento variou de 0 a 77,60 mf/mL de sangue, com média de  $18,66 \pm 19,95$  mf/mL. Comparando a média de microfilaremia antes e após esse esquema terapêutico, observou-se redução de microfilaremia de 71,87%.

A média geométrica da densidade de microfilaremia entre os indivíduos parasitados neste grupo foi  $1,82 \pm 1,74$  mf/mL antes do tratamento e de  $1,27 \pm 1,29$  mf/mL após o tratamento, havendo uma diferença estatisticamente significativa entre essas médias ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4).

O quarto grupo, composto de 33 pacientes, recebeu albendazol na dose de 400 mg, via oral (dose única), repetindo esse tratamento após duas semanas. A densidade de microfilárias sanguíneas antes do tratamento nesse grupo variou de 1 a 413,25 mf/mL, com média de  $61,38 \pm 84,56$  mf/mL de sangue. A densidade de microfilárias após tratamento variou de 0 a 647,50 mf/mL, com média de  $89,71 \pm 128,41$  mf/mL de sangue. Comparando a média de microfilaremia antes e após esse esquema terapêutico, observou-se que não houve redução de microfilaremia.

A média geométrica da densidade de microfilaremia entre os indivíduos parasitados neste grupo foi  $1,78 \pm 1,92$  mf/mL antes do tratamento e de  $1,95 \pm 2,10$  mf/mL após o tratamento, não havendo uma diferença estatisticamente significativa entre essas médias ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4).

O quinto grupo, composto de 27 pacientes, recebeu albendazol na dose de 400 mg/dia, via oral em única tomada/dia, durante três dias, repetindo o tratamento após duas semanas. A densidade de microfilárias antes do tratamento nesse grupo variou de 1 a 923,50 mf/mL de sangue, com média de  $121,86 \pm 176,27$  mf/mL. A densidade de microfilárias após tratamento variou de 0 a 1.029 mf/mL de sangue, com média de  $95,84 \pm 203,55$  mf/mL. Comparando a média de microfilaremia antes e após esse esquema terapêutico, observou-se redução de microfilaremia de 21,35%.

A média geométrica da densidade de microfilaremia entre os indivíduos parasitados neste grupo foi  $2,08 \pm 2,24$  mf/mL antes do tratamento e de  $1,98 \pm 2,30$  mf/mL após o tratamento, não havendo uma diferença estatisticamente significativa entre essas médias ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4).

O sexto grupo, constituído de 25 pacientes, recebeu Mebendazol na dose de 100 mg, duas vezes ao dia, via oral, durante 3 dias, repetindo esse tratamento após duas semanas. A densidade de microfilárias antes do tratamento variou de 1 a 517,33 mf/mL de sangue, com média de  $104,88 \pm 132,79$  mf/mL. A densidade de microfilárias após tratamento variou de 1,66 a 256 mf/mL de sangue, com média de  $73,95 \pm 81,42$  mf/mL. Comparando a média de microfilaremia antes e após esse esquema terapêutico, observou-se redução de microfilaremia de 29,49%.

A média geométrica da densidade de microfilaremia entre os indivíduos parasitados neste grupo foi  $2,02 \pm 2,12$  mf/mL antes do tratamento e de  $1,86 \pm 1,91$  mf/mL após o tratamento, não havendo diferença estatisticamente significativa entre essas médias ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4).

**Tabela 4 - Média de microfilaremia antes (AT) e após o tratamento (PT) com diferentes fármacos e diferentes esquemas terapêuticos utilizados.**

	MÉDIA DE MF/ML sangue AT	MÉDIA DE MF/ML sangue PT	P	REDUÇÃO DE MICROFILAREMIA
Grupo 1	544,17	14,65	0,0001*	97,30%
Grupo 2	496,42	16,65	0,003*	96,64%
Grupo 3	66,34	18,66	0,00002*	71,87%
Grupo 4	61,37	89,70	0,23	Não houve
Grupo 5	121,86	95,84	0,61	21,35%
Grupo 6	104,88	73,95	0,32	29,49%

<sup>1</sup> DEC 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada, durante 12 dias.

<sup>2</sup> DEC 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada, durante 6 dias.

<sup>3</sup> DEC 6 mg/Kg peso/dia associado a Albendazol 400 mg, via oral em única tomada.

<sup>4</sup> Albendazol 400 mg/semana, via oral em única tomada, durante duas semanas.

<sup>5</sup> Albendazol 400 mg/dia, via oral em única tomada, durante 3 dias, repetindo após 2 semanas.

<sup>6</sup> Mebendazol 100mg/2x ao dia, via oral, durante 3 dias, repetindo após 1 semana.

\* Teste t-student, diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Eficácia dos tratamentos

A eficácia dos tratamentos foi medida pela percentagem de portadores de microfilárias de *W. bancrofti* que se tornavam amicrofilarêmicos após 30 dias do final do tratamento (Gráfico 4).

No primeiro grupo, que recebeu DEC na dose de 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada/dia, durante 12 dias (tratamento preconizado pela OMS), entre os 40 pacientes analisados, 16 (40%) apresentaram exames negativos para pesquisa de microfilárias, 30 dias após o tratamento (Tabela 5).

No segundo grupo que recebeu DEC na dose de 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada/dia, durante 6 dias entre os 36 pacientes analisados, 13 (36,1%) apresentaram exames negativos para pesquisa de microfilárias, 30 dias após o tratamento (Tabela 5). Quando comparada a eficácia do tratamento com dietilcarbamazina no grupo 2 (36,1% de pacientes negativos pós-tratamento) com o grupo 1 (40,0% de pacientes negativos pós-tratamento), a diferença observada não foi estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 0,01$ ;  $p = 0,91$ ).

No terceiro grupo que recebeu DEC na dose de 6mg/Kg de peso/dia associado ao albendazol na dose de 400 mg/dia, via oral em dose única, entre os 32 pacientes analisados,

04 (12,5%) apresentaram exames negativos para pesquisa de microfilárias, 30 dias após o tratamento (Tabela 5). Quando comparada a eficácia do tratamento com dietilcarbamazina associado ao Albendazol no grupo 3 (12,5% pacientes negativos pós-tratamento) com o grupo 1 (40,0% de pacientes negativos pós-tratamento), a diferença observada foi estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 5,40$ ;  $p = 0,02$ ). Quando comparada a eficácia do tratamento com dietilcarbamazina associado Albendazol Dose única no grupo 3 (12,5% de pacientes negativos pós-tratamento) com o grupo 2 (36,12% de pacientes negativos pós-tratamento), a diferença observada foi estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 3,86$ ;  $p = 0,04$ ).

No quarto grupo, que recebeu albendazol na dose de 400 mg, via oral (dose única), repetindo esse tratamento após duas semanas entre os 33 pacientes analisados, 01 (3,0%) apresentou exame negativo para pesquisa de microfilárias, 30 dias após o tratamento (Tabela 5). Quando comparada a eficácia do tratamento com Albendazol no quarto grupo (3,0% de pacientes negativos pós-tratamento) com o primeiro grupo (40,0% de pacientes negativos pós-tratamento), a diferença observada foi estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 11,84$  e  $p = 0,0005$ ). E quando comparado o quarto grupo (3,0% de pacientes negativos pós tratamento) com o terceiro grupo (12,5% de pacientes negativos pós tratamento), a diferença observada não foi estatisticamente significativa (teste exato de Fisher,  $p = 0,19$ ). De acordo com o estudo realizado por Pani e cols em 2002, dos 19 pacientes que foram submetidos a este mesmo protocolo de tratamento nenhum obteve a cura parasitológica. Quando feito o teste exato de fisher não houve diferença estatística significativa (teste exato de Fisher,  $p = 0,63$ ).

No quinto grupo que recebeu albendazol na dose de 400 mg/dia, via oral em única tomada/dia, durante três dias, repetindo o tratamento após duas semanas entre os 27 pacientes analisados, 01 (3,7%) apresentou exames negativos para pesquisa de microfilárias, 30 dias após o tratamento (Tabela 5). Quando comparada a eficácia do tratamento com albendazol no grupo 5 (3,7% de pacientes negativos pós-tratamento) com o grupo 1 (40,0% de pacientes negativos pós-tratamento), a diferença observada foi estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 9,38$  e  $p = 0,002$ ). E quando comparado o quinto grupo (3,7% de pacientes negativos pós tratamento) com o terceiro grupo (12,5% de pacientes negativos pós tratamento) e quarto grupo (3,0% de pacientes negativos pós tratamento), a diferença observada não foi estatisticamente significativa (teste exato de Fisher  $p = 0,61$ ) e (teste exato de Fisher  $p = 0,36$ ).

No sexto grupo que recebeu mebendazol na dose de 100 mg, duas vezes ao dia, via oral, durante 3 dias, repetindo esse tratamento após duas semanas entre os 25 pacientes analisados, nenhum apresentou exame negativo para pesquisa de microfilárias, 30 dias após o

tratamento (Tabela 5). Quando comparada a eficácia do tratamento com mebendazol no grupo 6 (nenhum paciente negativo pós-tratamento) com o grupo 1 (40,0% de pacientes negativos pós-tratamento), a diferença observada foi estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 11,20$  ;  $p = 0,0008$ ).

**Tabela 5 - Avaliação da eficácia do tratamento com dietilcarbamazina (DEC), albendazol e mebendazol.**

GRUPOS	MICROFILAREMIA AVALIADA 30 DIAS APÓS O INÍCIO DO TRATAMENTO	
	NEGATIVA*	POSITIVA
Grupo 1 (n=40)	16 (40,0%)	24 (60,0%)
Grupo 2 (n=36)	13 (36,1%)	23 (63,9%)
Grupo 3 (n=32)	4 (12,5%)	28 (87,5%)
Grupo 4 (n=33)	1 (3,0%)	32 (97,0%)
Grupo 5 (n=27)	1 (3,7%)	26 (96,3%)
Grupo 6 (n=25)	0	25 (100%)

<sup>1</sup> DEC 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada, durante 12 dias.

<sup>2</sup> DEC 6 mg/kg de peso/dia, via oral em única tomada, durante 6 dias.

<sup>3</sup> DEC 6 mg/kg de peso/dia associado ao albendazol 400 mg, via oral em única tomada.

<sup>4</sup> Albendazol 400 mg/semana, via oral em única tomada, repetindo após duas semanas.

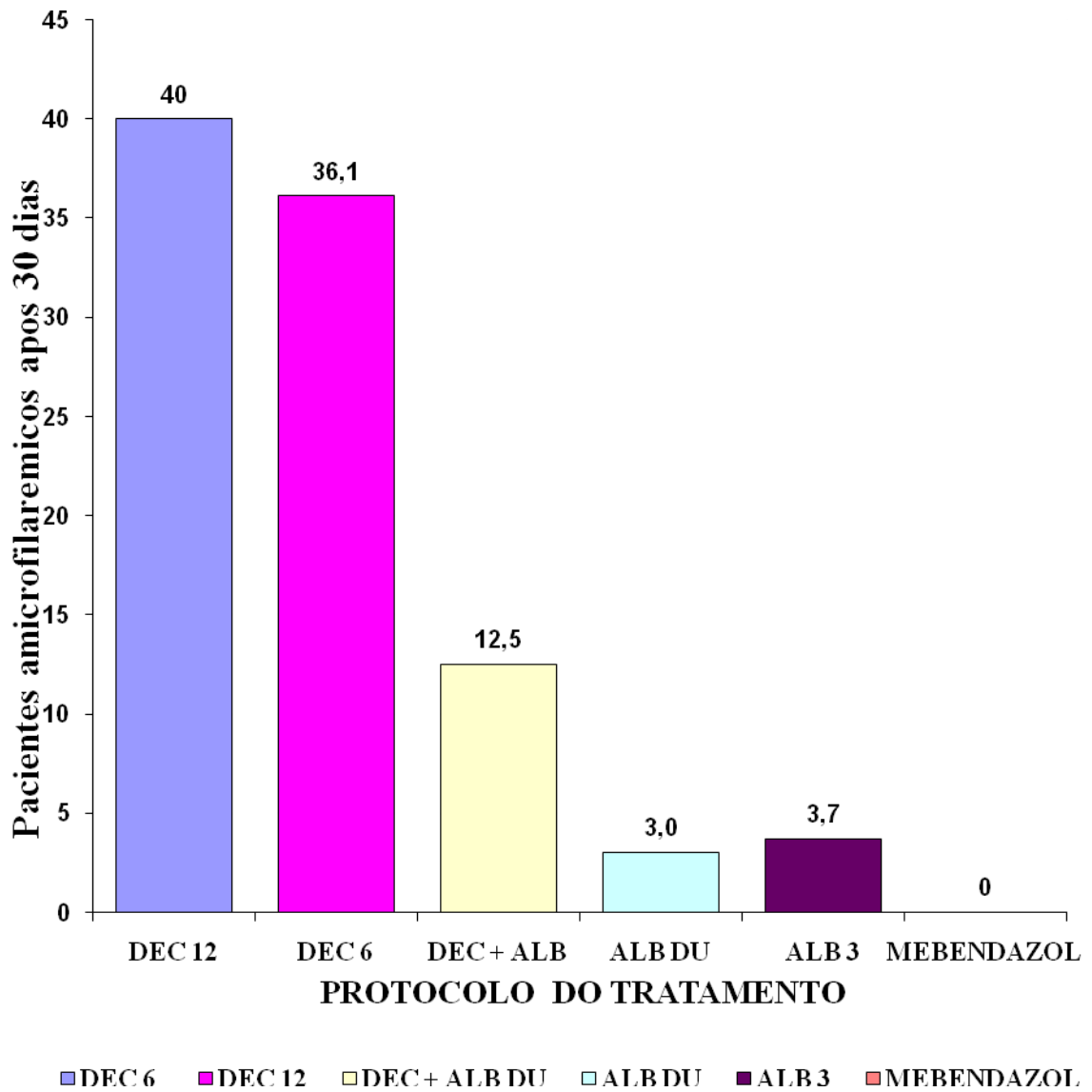
<sup>5</sup> Albendazol 400 mg/dia, via oral em única tomada, durante 3 dias, repetindo após duas semanas.

<sup>6</sup> Mebendazol 100mg/2x ao dia, via oral, durante 3 dias, repetindo após 1 semana.

\* Eficácia do tratamento.

Fonte: Autora, 2010

**Gráfico 4 - Percentual de pacientes amicrofilaremicos 30 dias após tratamento.**



Fonte: Autora, 2010

### 5.3 Microfilaremia associada ao sucesso terapêutico

No primeiro grupo (OMS) os 16 pacientes que se tornaram amicrofilarêmicos 30 dias após o início do tratamento apresentavam microfilaremia média AT igual a  $152,65 \pm 372,98$  mf/mL, enquanto os 24 que continuaram positivos tinham densidade média de microfilárias sanguíneas AT igual a  $805,184 \pm 897,61$  mf/mL, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

No segundo grupo os 13 pacientes que se tornaram amicrofilarêmicos 30 dias após o tratamento apresentavam microfilaremia média AT igual a  $195,66 \pm 333,03$  mf/mL, enquanto os 23 que permaneceram positivos apresentavam  $664,42 \pm 1123,71$  mf/mL, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

No terceiro grupo os 4 pacientes que se tornaram amicrofilarêmicos 30 dias após o tratamento apresentavam microfilaremia média AT igual a  $26,91 \pm 25,19$  mf/mL, enquanto os 28 que permaneceram positivos apresentavam  $71,97 \pm 56,40$  mf/mL, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

No quarto grupo o único paciente que se tornou amicrofilarêmicos 30 dias após o tratamento apresentava microfilaremia AT igual a 1 mf/mL, enquanto os 32 que permaneceram positivos apresentavam  $63,26 \pm 85,20$  mf/mL sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

No quinto grupo o único paciente que se tornou amicrofilarêmico 30 dias após o tratamento apresentava microfilaremia AT igual a 1 mf/mL, enquanto os 26 que permaneceram positivos apresentavam  $126,36 \pm 178,18$  mf/mL, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

No sexto grupo nenhum paciente se tornou amicrofilarêmico 30 dias após o tratamento.

Para análise comparativa, os pacientes dos 2 grupos que tomaram apenas DEC foram divididos em subgrupos de acordo com o resultado do exame para presença de microfilárias 30 dias após o tratamento, com relação a microfilaremia inicial ( $< 500$ mf/mL ou  $> 500$  mf/mL). Isso mostra que dos 29 pacientes que se tornaram amicrofilarêmicos 30 dias após o tratamento 26 (34,20%) apresentavam até 500 mf/mL de sangue antes do tratamento. No entanto, podemos observar que 3 (3,93%) pacientes considerados de alta microfilaremia se tornaram amicrofilarêmicos e ao contrário, 31 (40,86%) pacientes com contagem de



microfilárias baixa permaneceram microfilarêmicos. Quando comparados esses dois grupos houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 6 - Pacientes agrupados de acordo com a microfilaremia residual após tratamento com a droga dietilcarbamazina em relação a microfilaremia inicial.**

GRUPOS DE TERAPÊUTICA	NÍVEL DE MICROFILAREMIA ANTES DO TRATAMENTO	MICROFILAREMIA AVALIADA 30 DIAS APÓS O INÍCIO DO TRATAMENTO	
		Nº DE PACIENTES NEGATIVOS (%)	Nº DE PACIENTES POSITIVOS (%)
		Grupo 1 N= 40 pacientes	< 500
	≥ 500	01 (1,31%)	11 (14,47%)
Grupo 2 N = 36 pacientes	< 500	11 (14,47%)	18 (23,67%)
	≥ 500	02 (2,62%)	05 (6,57%)
Total N= 76 pacientes	< 500	26 (34,20%)	31 (40,86%)
	≥ 500	3 (3,93%)	16 (21,01%)

Fonte: Autora, 2010

#### 5.4 Cinética das microfilárias em diferentes intervalos de tempo após o tratamento (PT)

No primeiro grupo dos 20 pacientes escolhidos inicialmente para o estudo da cinética da microfilaremia apenas 11(55,00%) concluíram o estudo. A média de microfilaremia no grupo 1 (DEC 6mg/kg/12 dias) antes do tratamento foi de  $507 \pm 705,89$ , reduzindo para  $61,45 \pm 100,57$  depois de 8 horas após o tratamento (Gráfico 5) e a taxa de redução da microfilaremia foi de 87,44% (Gráfico 5). A partir do sexto dia a taxa de redução da microfilaremia foi superior a 95%, chegando a 100% após 2 anos (Gráfico 6).

Neste primeiro grupo, 4 pacientes apresentavam microfilaremia superior a 500 mf/mL e precisaram fazer em média 5 tratamentos para atingir a cura parasitológica, os outros 7 pacientes que tinham a microfilaremia inferior a 500 mf/mL, precisaram fazer em média 3 tratamentos.

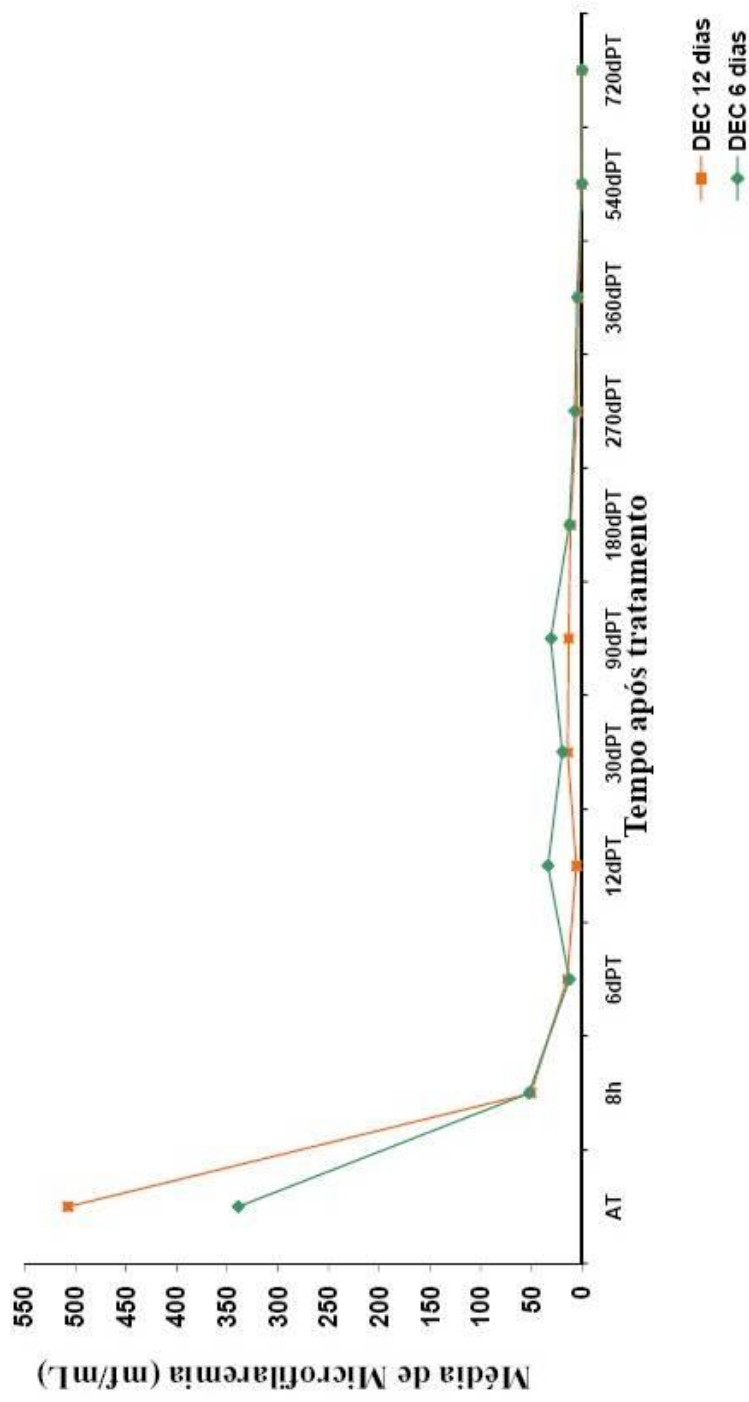
No grupo 2 (DEC 6mg/Kg/6 dias) dos 18 pacientes escolhidos inicialmente para participar do estudo da cinética apenas 13 (72,22%) concluíram o estudo. A média de microfilaremia antes do tratamento foi de  $334,23 \pm 318,55$ , reduzindo para  $52,23 \pm 81,20$  depois

de 8 horas após o tratamento (Gráfico 5) e a taxa de redução da microfilaremia foi de 80%. A partir do sexto dia após o tratamento a taxa de redução foi superior a 95%, chegando a 99,9% após 2 anos (Gráfico 6).

Neste segundo grupo, 3 pacientes apresentavam microfilaremia superior a 500 mf/mL e precisaram fazer em média 4 tratamentos para atingir a cura parasitológica, os outros 10 pacientes que tinham a microfilaremia inferior a 500 mf/mL, precisaram fazer em média de 3,8 tratamentos.

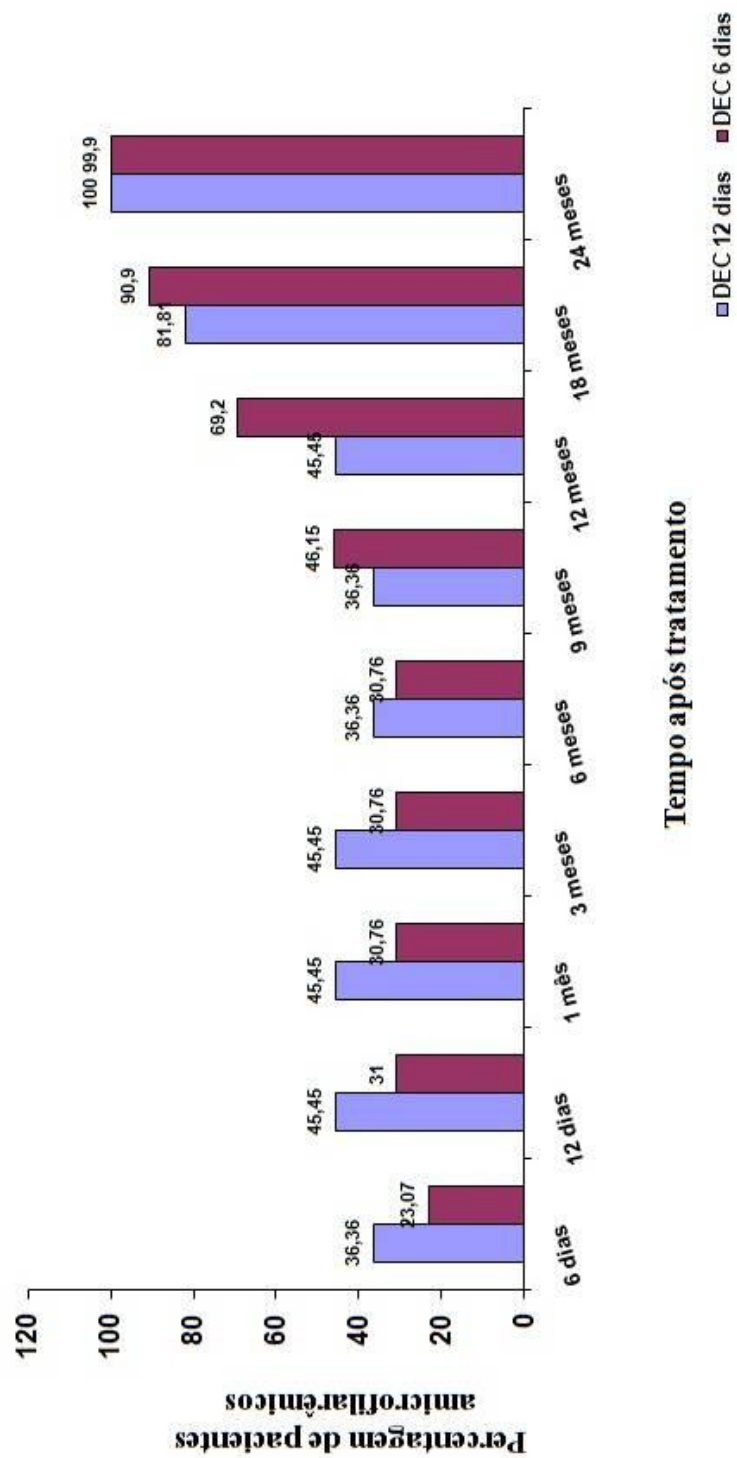
Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos quando comparado a média de microfílarias por mL de sangue (Gráfico 5) e quando comparado a percentagem de indivíduos que se tornaram amicrofilarêmicos durante todo o período de observação (Gráfico 6) ( $p>0,05$ ).

Gráfico 5 - Média da microfilarémia em diferentes períodos de tempo após os tratamentos com DEC 6mg/kg/peso/12 dias e DEC 6mg/kg/peso/6 dias.



Fonte: Autora, 2010

**Gráfico 6 - Comparação da percentagem de pacientes que se tornaram amicrofilarêmicos em diferentes tempos após o início do tratamento com a DEC em diferentes esquemas terapêuticos**



Fonte: Autora, 2010

## 5.5 Cinética da antigenemia

Os 35 pacientes microfilarêmicos avaliados antes do tratamento apresentaram em média  $28.823 \pm 11.530$  unidades de antígeno por mL de sangue e média de microfilaremia de  $446,54 \pm 550,40$  mf/mL de sangue, sendo que todos foram positivos na filtração de sangue em membrana de policarbonato, ELISA e ICT. Após 24 meses do tratamento a média de antigenemia caiu para  $8.075 \pm 10.700$  unidades de antígeno por mL de sangue e a média de microfilaremia caiu para  $0,11 \pm 0,556$  mf/mL, com redução da porcentagem de antígenos de 72%. Houve uma diminuição estatisticamente significativa quando comparadas as médias de antígenos e microfílarias antes do tratamento e nos diferentes períodos após tratamento ( $p < 0,05$ ). Sendo que 33 (94%) dos 35 pacientes foram avaliados, e destes 32 (97%) continuavam positivos para o ELISA, 27 (81%) para o ICT e apenas 2 (6,%) foram positivos na filtração. A curva da cinética da antigenemia está representada no gráfico 7.

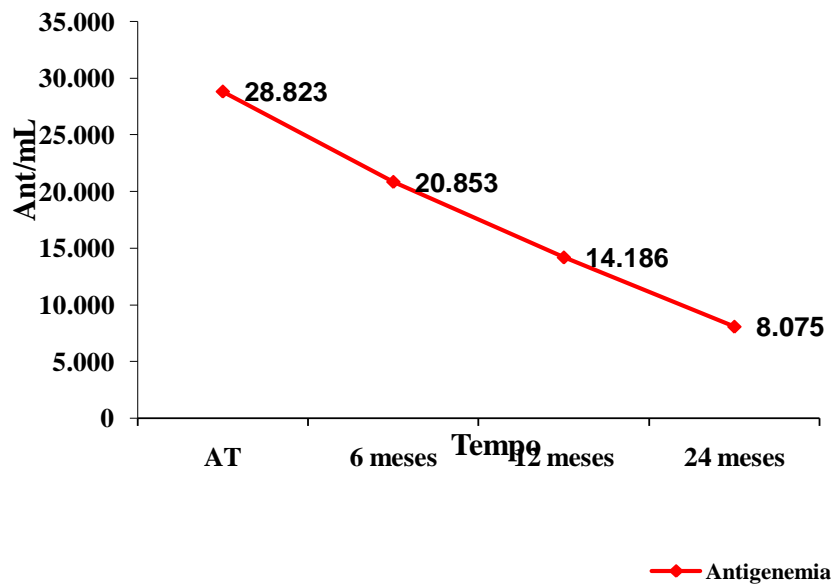
Para análise comparativa o grupo estudado foi dividido em 3 subgrupos de acordo com a microfilaremia inicial (1-100 mf/mL; 101-500 mf/mL; > 500 mf/mL) e está representado no gráfico 8. Quando comparadas as médias de antígenos antes do tratamento com as médias de antígenos 6 meses e 12 meses após o tratamento só houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com baixa (1-100 mf/mL) e alta (>500 mf/mL) quantidade de microfílarias sanguíneas circulantes ( $p < 0,05$ ). Após 24 meses do tratamento não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

Destes 35 pacientes avaliados inicialmente, 11(32%) foram reavaliados após 10 anos do tratamento inicial. E destes apenas 1 (2,9%) estava positivo, com média de microfilaremia de 72,50 mf/mL, sendo positivo também no ELISA com 504 Unidades de Antígenos por mL de sangue e no ICT. Este paciente foi retratado com dietilcarbamazina na dose de 6 mg/kg de peso dia durante 12 dias, e reavaliado posteriormente até apresentar-se negativo.

Os 10 pacientes amicrofilarêmicos avaliados antes do tratamento apresentaram uma média de  $3.287,5 \pm 2.370$  unidades de antígenos por mL de sangue, e todos foram positivos para o ELISA e ICT. Após 24 meses do tratamento, a média de antigenemia caiu para  $20,8 \pm 35,26$  unidades de Antígenos (Tabela 7), tendo uma redução na porcentagem de antígenos de 99,3% e todos os pacientes estavam negativos no ELISA (unidades de antígenos por mL de sangue < 128) e no ICT.

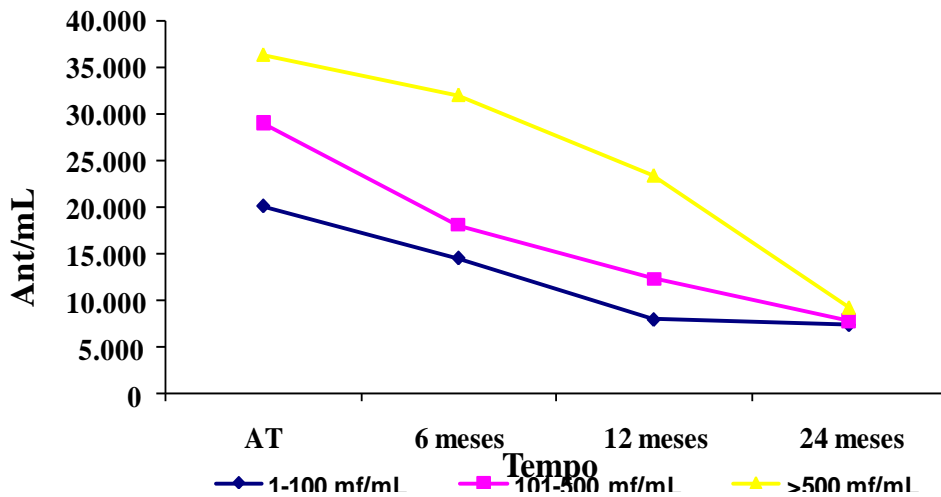
Quando comparada a média de Unidades de Antígeno por mL de sangue dos pacientes dos 2 grupos antes do tratamento, houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Porém quando comparada a média de Unidades de Antígeno por mL de sangue 24 meses após tratamento, não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ).

**Gráfico 7 - Antigenemia antes do tratamento com DEC 6 mg/kg durante 12 dias e em diferentes períodos após tratamento.**



Fonte: Autora, 2010

**Gráfico 8 - Cinética da antigenemia dos pacientes microfilarêmicos agrupados por quantidade de microfílias antes do tratamento com DEC 6 mg/kg durante 12 dias e até 2 anos após tratamento.**



Fonte: Autora, 2010

**Tabela 7 - Quantidade de antígenos antes do tratamento e 2 anos após tratamento em pacientes amicrofilarêmicos.**

PACIENTES	MÉDIA MF/ML	CARD TEST AT	ELISA AT ANT/ML	CARD TEST 2	ELISA
				ANOS APÓS TRATAMENTO	2 ANOS APÓS TRATAMENTO ANT/ML
M.F. S	0	POS	1.544	NEG	14
M. N. S.R.	0	POS	1.906	NEG	81
E. S. S.	0	POS	1.380	NEG	1
T. S. L.	0	POS	7.509	NEG	93
J.S.M.	0	POS	2.002	NEG	4
A.S	0	POS	5.415	NEG	9
V.N.	0	POS	2.036	NEG	3
S. M. S.	0	POS	4.717	NEG	1
A. F.G.S	0	POS	5.863	NEG	1
A. R. G. S.	0	POS	503	NEG	1
<b>MÉDIAS</b>	<b>0</b>		<b>3.287,5± 2.370</b>		<b>20,8 ± 35,26</b>

Fonte: Autora, 2010

## 5.6 Reavaliação de pacientes após 10 anos de tratamento

Dos 25 pacientes reavaliados após 10 anos de tratamento, três (12%) estavam positivos para a filtração de sangue em membrana, com média de  $67,83 \pm 41,69$  mf/mL de sangue e estes estavam positivos também no ICT e ELISA; 4 quatro (16%) foram positivos somente no ICT e no ELISA e negativos na filtração, e um (4%) foi positivo apenas no ELISA. A média de antígenos nos oito pacientes positivos foi de  $2.019 \pm 2.633$  Unidades de Antígenos por mL de sangue, sendo a maior titulação em dois pacientes que eram microfilarêmicos. Os resultados encontrados estão representados na Tabela 8.

**Tabela 8 - Reavaliação dos pacientes após 10 anos de tratamento com diferentes técnicas.**

PACIENTES	FILTRAÇÃO mf/mL	ICT	ELISA
940 LFN	0	NEG	5
941 LFN	0	NEG	6
1592 ASS	0	NEG	20
3249 SPF	0	NEG	39
4340 JPO	0	POS	1029
9245 EASS	0	NEG	96
JSN	0	POS	1448
3479 SSN	0	NEG	16
20809 EAS	0	NEG	25
19921 ESN	0	POS	399
3436 EGS	0	POS	311
MNRB	0	NEG	13
24917 DAS	0	NEG	22
12142 LGH	0	NEG	21
1220 ALS	0	NEG	10
506 FPS	0	NEG	21
1482 AGH	0	NEG	29
2574 RMS	0	NEG	7
RASP	24,10	POS	7515
2075 VLS	106,90	POS	4571
1219 FLS	72,50	POS	504
9248 ESS	0	NEG	6
1987 SEG	0	NEG	9
4091 LSS	0	NEG	28
9086 RTS	0	NEG	376

Fonte: Autora, 2010



## 6 DISCUSSÃO

Apesar de vários trabalhos na literatura avaliarem diferentes doses e esquemas terapêuticos utilizando a DEC, não existe ainda um consenso sobre qual deles é o ideal para o tratamento da bancroftose (SRIVASTAVA E PRASAD, 1970; EBERHARD et al., 1989; 1991; CARTEL et al., 1990; ANDRADE et al., 1995; DREYER E COELHO, 1997).

A eficácia dos diferentes esquemas de tratamento já propostos na literatura é variável e parece depender do tempo de seguimento. Eberhard et al (1988), administrando DEC na dose de 6 mg/Kg de peso/dia por 12 dias, encontraram desaparecimento dos parasitos sanguíneos em 66% dos pacientes após 12 meses do início do tratamento. Cartel et al (1990) na Polinésia Francesa usaram DEC na dose única de 3mg/kg, obtendo 14% de pacientes negativos após 180 dias do início do tratamento. Andrade et al (1995) acompanharam o tratamento de três grupos de pacientes com bancroftose e somente ao fim de 12 meses obtiveram a mesma eficácia (40%), independente da dose e posologia testadas, sendo o volume de sangue filtrado após o tratamento igual a 1 mL.

No atual estudo, após 30 dias do fim do tratamento com DEC na dose de 6 mg/Kg de peso/dia por 12 dias, a eficácia atingida foi de 40% e na dose de 6 mg/Kg de peso/dia por 6 dias, a eficácia atingida foi de 36,12%, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ). Estes dois grupos foram acompanhados por um período de dois anos e o tamanho da amostra foi cerca de 3 vezes maior do que a dos estudos realizados por Eberhard et al (1988), Cartel *et al* (1990), Andrade et al (1995). Ao final dos 720 dias de observação, não se observou, entre esses dois grupos, diferença significativa quanto à eficácia ( $p>0,05$ ). Aparentemente o efeito da DEC sobre as microfilárias de *W. bancrofti* não é temporário, já que o número de indivíduos amicrofilarêmicos foi crescente quando comparada à eficácia no 30° e 720° dia após o tratamento. Além de ser um esquema de menor custo, o tratamento com DEC por 6 dias é mais fácil de ser realizado e conseqüentemente, sensibiliza mais a comunidade de áreas endêmicas para o seu uso.

Apesar da OMS preconizar o tratamento prolongado com DEC durante 12 dias, observamos que o tratamento de menor duração, por seis dias, tem igual efeito microfilaricida e também eficácia semelhante, não diferindo significativamente, a percentagem de indivíduos com exames negativos após 30 dias do tratamento. E este tratamento é capaz de reduzir significativamente as microfilárias sanguíneas após 8 horas de sua administração e esse efeito microfilaricida permanece ao longo dos meses e seu efeito pode ser comparado com DEC 6

mg/Kg de peso por dia durante 12 dias. Pires (1998) observou que a dose única de DEC é capaz de reduzir significativamente as microfilárias sanguíneas após 8 horas de sua administração e que esta redução é cerca de 80%, sendo estes resultados semelhantes aos verificados no atual estudo.

Foi observado que os pacientes com níveis de microfilárias circulantes baixa, em geral, se tornaram amicrofilarêmicos mais precocemente que aqueles com elevada microfilaremia. Esses dados são condizentes com os observados por outros autores (OTTESEN, 1985; EBERHARD et al, 1988; ANDRADE et al, 1995). É possível que os indivíduos com mais alta microfilaremia alberguem um maior número de vermes adultos, e que só uma parcela desses seja afetada pelo fármaco, em um único tratamento. Dreyer *et al* (1995a) usando a ultrassonografia para monitorar a ação macrofilaricida da DEC demonstraram que as filárias adultas realmente variam na sua sensibilidade a essa droga *in vivo*. A existência de vermes aparentemente tolerantes à DEC é considerável e não é dose dependente (DREYER et al., 1995 b; NORÕES et al., 1997).

Segundo Andrade (1997), a utilização de DEC em tratamentos anuais em dose de 6mg/kg de peso, tem uma ação efetiva na negatização da microfilaremia e na morte do verme adulto, sendo recomendada por este autor para as campanhas de tratamento em massa nas áreas endêmicas com a perspectiva de eliminação da doença. Vários autores vêm demonstrando que doses baixas e esparsas de DEC, combinada ou não a outras drogas, apresentam melhor efeito sobre a microfilaremia, que, em longo prazo, interfere na cadeia de transmissão da filariose sendo utilizada em diversas áreas endêmicas no mundo (KESSEL, 1957; LAIGRET, et al, 1966; HAWKING, 1979).

Quando se avaliou, no estudo atual, o esquema terapêutico semelhante ao do tratamento em massa (DEC na dose única de 6mg/Kg de peso + albendazol na dose única de 400 mg/dia, via oral) foi encontrado uma redução na densidade das microfilárias de 71, 87% e uma eficácia de 12,5% após 30 dias do fim do tratamento. Quando comparada a redução na densidade das microfilárias nesse grupo de terapêutica com o grupo que tomou DEC 6mg/Kg peso por dia durante 12 dias e com o grupo que tomou DEC 6mg/Kg peso por dia durante 6 dias, houve uma diferença estatisticamente significativa. Em um estudo semelhante Ismail *e cols* (1998) e Pani et al (2002) encontraram uma redução na densidade das microfilárias de 83% (30 dias após tratamento) e 95% (após 1 ano de tratamento) e uma eficácia de 27,3% e 27,8% respectivamente após um ano do tratamento. Pires (1998) encontrou uma eficácia de 14,6% e uma redução na densidade das microfilárias de 58% após 30 dias do tratamento no grupo que fez uso de DEC dose única. Quando comparado esse grupo analisado por Pires

(1998) com o grupo do atual estudo que tomou DEC + Albendazol, não se observou diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ), quanto a eficácia e redução na microfilaremia, após 30 dias do tratamento. Porém quando comparado este grupo de Pires (1998) com os grupos que tomaram DEC durante 12 dias e 6 dias houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) quanto a eficácia e redução na microfilaremia.

No Recife, a adoção da estratégia de tratamento em massa realizada na década de 1990, em moradores do Coque e da Mustardinha, duas áreas de alta endemicidade, levou a uma acentuada diminuição da microfilaremia e da carga parasitária na população em um ciclo de tratamento (FURTADO et al., 1994). Na Índia houve uma redução de 86% na prevalência da filariose linfática após seis ciclos do tratamento em massa com DEC (RAMAIAH et al, 2002). Segundo Bockarie et al (1998) a administração anual de DEC ou ivermectina em programas de tratamento em massa, leva a uma redução da prevalência de microfilaremia na população humana, assim como do índice de infectividade dos mosquitos vetores. Porém, fica evidenciado pelos resultados deste trabalho que apesar do tratamento em massa ter bons resultados para efeitos da diminuição da carga parasitaria, ainda é baixo o numero de indivíduos que negativam esta carga, ou seja, que alcançam a cura parasitológica.

De acordo com os estudos realizados por Addis et al (1997) e Beach et al (1999), o albendazol na posologia de 400 mg dose única após 120 dias do tratamento apresentou respectivamente 24% e 15% de pacientes negativos. Dunyo et al (2000) encontraram apenas 8,1% de pacientes negativos após um ano do tratamento. No atual estudo foi testada a ação do albendazol e do mebendazol em esquemas terapêuticos diferentes, e o albendazol na dose de 400 mg/dia dose única não apresentou redução na densidade das microfilárias, já o albendazol 400 mg/dia durante 3 dias e o mebendazol 100mg duas vezes ao dia durante 3 dias apresentou respectivamente 21,35% e 29,49% de redução da microfilárias após 30 dias do fim do tratamento e apresentaram respectivamente, 3,0%, 3,7% e 0% de pacientes negativos na técnica de filtração em membrana de policarbonato, porém os pacientes que se tornaram negativos nos 2 dois primeiros grupos possuíam a densidade de microfilárias de 1 mf/mL antes do tratamento.

Apesar de conhecida eficácia do albendazol e mebendazol contra helmintos, principalmente intestinais, esses medicamentos não mostraram, no atual trabalho, ação contra a *Wuchereria bancrofti* após 30 dias do tratamento. Porém, não houve o acompanhamento da eficácia do albendazol em diferentes dosagens em períodos superiores a 30 dias, pois em estudos pilotos foi observado que o albendazol não era tão eficaz quanto o fármaco dietilcarbamazina, e devido a isto se optou em não prosseguir com este tratamento, e mais

ainda, a persistência de indivíduos microfilarêmicos na população seria um risco, pois estes são fonte de infecção para os vetores e também poderiam evoluir para casos sintomáticos ou crônicos.

Sabe-se que em áreas onde se encontra filariose linfática, normalmente também são detectadas altas prevalências de helmintos intestinais, devido as condições ambientais e condições sócio-econômicas da população. Assim, pode-se tratar os parasitados com filariose linfática, com a DEC e, concomitantemente com albendazol visando a eliminação das helmintoses intestinais.

O efeito do albendazol contra vermes adultos e microfilárias de *W. bancrofti*, só ou em combinação com outros fármacos antifilarioses merece ainda maiores estudos (CRITCHLEY et al., 2005).

Verificou-se no atual estudo, um declínio gradual da antigenemia nos dois grupos estudados que receberam DEC isoladamente. E a carga antigênica em indivíduos microfilarêmicos foi consideravelmente maior que aquela verificada em indivíduos amicrofilarêmicos mas parasitados detectados através de técnicas de diagnóstico que avaliavam antigenemia. Alguns pacientes microfilarêmicos tiveram que passar por sucessivos tratamentos no período de 24 meses. Após este período a quantidade de microfilárias sanguíneas circulantes nos pacientes deste grupo de microfilarêmicos se aproximaram de zero e os níveis de antígenos sanguíneos diminuíram em 72%. E no grupo dos pacientes amicrofilarêmicos a redução de antígenos foi de 99,3% após 2 anos do tratamento e este foi realizado apenas uma vez já que os pacientes não apresentavam microfilárias sanguíneas circulantes. Pani *et al* (2002), estudando a redução dos antígenos filarioses em pacientes microfilarêmicos assintomáticos encontraram uma redução de 80% após um ano do tratamento com DEC.

Quando se agrupou os pacientes microfilarêmicos de acordo com o número de microfilárias que possuíam antes do tratamento foi observado que os pacientes com níveis elevados de microfilárias circulantes antes do tratamento apresentaram níveis de antígenos /mL de sangue superior aos pacientes com níveis de microfilárias circulantes média e baixa, porém só houve diferença estatística significativa entre o grupo considerado com baixa e alta microfilárias circulantes. E após 24 meses do tratamento não houve diferença estatística significativa entre esses grupos estudados. É possível que os indivíduos com mais alta microfilaremia alberguem um maior número de vermes adultos, e que só uma parcela desses seja afetada pelo fármaco.

No atual estudo foi observado que alguns pacientes que foram tratados com DEC e observados durante algum tempo, ocorreu inicialmente o desaparecimento da microfilaremia, seguido de seu reaparecimento em período variável de 1 a 18 meses; ou ainda, a redução do número de microfílias sanguíneas inicialmente, com ou sem aumento subsequente de seus níveis após algum tempo. Esses dados são condizentes com os observados por outros autores (OTTESEN, 1985; EBERHARD et al, 1991; FIGUEREDO-SILVA, 1996).

Dos 25 pacientes reavaliados após 10 anos do tratamento, 8 (32%) foram positivos, sendo 3 (12%) positivos pelas três técnicas testadas, 4 (16%) foram positivos pelas técnicas da imunocromatografia rápida e ELISA, 1 (4%) foi positivo apenas pelo ELISA. Essa diferença pode ocorrer pelo fato de que a imunocromatografia e o ELISA conseguem detectar antígenos circulantes dos vermes adultos de *W. bancrofti*. Outro motivo é que nem sempre os pacientes possuem concentrações de microfílias detectáveis pela filtração, e ainda, pode existir vermes adultos de um só sexo, não ocorrendo produção de microfílias. Outro motivo para justificar os resultados encontrados neste trabalho pode ser devido a reações cruzadas. Segundo More e Coperman (1990), o ELISA - Og4C3 apresenta reação cruzada com outros helmintos, filárias e não filárias, incluindo *Onchocerca gibsoni*, *Onchocerca volvulus*, *Dirofilaria immitis*, *Ancylostoma caninum* e *Toxocara canis*.

Nuchprayoon et al (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 e Dunyo (1999) relataram igual sensibilidade (100%) para ambos os testes. Esta técnica tem sido adotada sempre que se deseja um diagnóstico com maior acurácia de infecção por *W. bancrofti* do que aqueles utilizados na detecção de microfilaria no sangue (CHANTEAU et al., 1994; ITOH et al., 1999).

Inquérito epidemiológico realizado em três distritos de Uganda – África constatou diferenças de prevalência, em pesquisas de microfílias e do antígeno filarial. A prevalência parasitológica foi de 18,4%, em Alebtong, 8,9%, em Lwala, e 20,7%, em Obalanga. Já a prevalência antigênica foi de 29,1%, em Alebtong, 18,3%, em Lwala, e 30,1%, em Obalanga (LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994; SIMONSEN et al., 1996). A prevalência do antígeno foi mais alta do que a parasitológica, em todas as comunidades e grupos de idade, provavelmente porque o antígeno tem origem em todos os estágios do parasito e não apenas na microfilaria. Desta forma, a prevalência antigênica deve ser um melhor indicador da carga

da infecção na população, quando comparada com a prevalência parasitológica por microfilária (ONAPA et al., 2001).

De acordo com Silva (2006) 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.

Os resultados da reavaliação demonstram que esse tipo de ação é útil, devendo ser uma atividade essencial em todos os programas de tratamento.

## 7 CONCLUSÕES

A Dietilcarbamazina (DEC) é eficaz quanto seu efeito microfilaricida e continua sendo o medicamento de escolha para o tratamento da filariose bancroftiana.

O albendazol e o mebendazol, em monoterapia não possuem efeito microfilaricida para *W. bancrofti*.

Pacientes que apresentam microfilaremia  $\leq 500$  mf/mL de sangue antes do tratamento com DEC respondem melhor ao tratamento com DEC e precisam de menos ciclos de tratamento.

O esquema terapêutico com DEC durante 6 dias é tão eficaz na redução da microfilaremia quanto o esquema de DEC com 12 dias preconizado pela OMS.

A concentração de antígeno circulantes de *W. bancrofti* é diretamente proporcional ao nível de microfíliarias circulantes.

De acordo com a tabela 8 podemos concluir que a partir de um determinado número de antígenos circulantes no ELISA, inicia positividade observada no ICT.

A reavaliação de ex-pacientes é útil, e deve ser uma atividade essencial em todos os programas de tratamento.

## REFERÊNCIAS

- ADDISS, D. G. et al. 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.
- ALBUQUERQUE, M. F. M. Urbanização, favelas e endemias: a produção da filariose no Recife, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 9, p. 487-497, 1993.
- ANDRADE, L. D. **Estudos dos efeitos de diferentes esquemas de tratamento com Dietilcarbamazina em portadores de filariose bancroftiana**. 1997. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães. Recife, 1997.
- ANDRADE, L. D. et al. Comparative efficacy of three different diethylcarbamazine regimens in lymphatic filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 89, p. 319- 321, 1995.
- BANDI, C.; TREES, A. J.; BRATTING, N. W. *Wolbachia* in filarial nematodes: evolutionary aspects and implications for the pathogenesis and treatment of fiarial diseases. **Veterinary Parasitology**. v. 98, p. 215-238, 2001.
- BEACH, M. J. et al. Assessment of combined ivermectin and Albendazole for treatment of intestinal helminth and *Wuchereria bancrofti* infections in Haitian school children. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 60, p. 479-486, 1999.
- BOCKARIE, M. J. et al. Randomised community-based trial of annual single-dose diethylcarbamazine with or without ivermectin against *Wuchereria bancrofti* infection in human beings and mosquitoes, **Lancet**, v. 351, p.162-168, 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. O controle das epidemias no Brasil (de 1979 a 1984). Brasília, DF: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública, SUCAM, 1985. p. 154.
- BUNGO, F. **Estudo da prevalência da filariose bancroftiana em Loana na Vila do Bucuzau, Norte de Angola**. 2002. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz. - Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2002.
- CARTEL, J. L. et al. Effect off single dose (3mg/Kg) of diethylcarbamazine on *Wuchereria bancrofti* var. Pacifica microfilaraenia. **The Medical Journal of Austrália**, v. 152, p. 502, 1990.
- COMPANHIA DE SANEAMENTO DE ALAGOAS (CASAL). **Áreas abastecidas**: água, esgoto. Disponível em <[http://www.casal.al.gov.br/index\\_800.php](http://www.casal.al.gov.br/index_800.php)>. Acessado em: 17 nov. 2008.



CASTILHO, J. A. et al. Preparation and Characterization of Albendazole e Cyclodextrin Complexes. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, Madrid, v. 25, n.12, p. 1241-1248, 1999.

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

CENTER OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC ). **Recommendations of the International Task Force Disease Eradication**. MMWR 42 (No. RR-16) 1993.

CHANTEAU, S. et al. Detection of *Wuchereria bancrofti* larvae in pools of mosquitoes by the polymerase chain reaction. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 88, p. 665-666, 1994.

CHULARERK, P.; DESOWITZ, R. S. A simplified membrane filtration technique for the diagnosis of microfilaria. **Journal Parasitology**, v. 56, n. 3, p. 623-634, 1970.

CLINE, B. L. et al. Larvicidal activity of albendazole against *Necator americanus* in human volunteers. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 33, n. 3, p. 387-394, 1984.

COUTINHO, A. et al. Ivermectin treatment of bancroftian filariasis in Recife, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 50, n. 3, p. 339-348, 1994.

CRITCHLEY, J. et al. Albendazole for the control and elimination of lymphatic filariasis: systematic review. **Tropical Medicine And International Health**, v. 10, n. 9, p. 818-825, 2005.

DEAN, A. G. et al. **Epi Info, version 6.02**: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers, Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1994.

DEANE, L. M. et al. A filariose bancroftiana em Maceió-AL: resultado de um inquérito realizado em 1952. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 5, p.17-22, 1953.

DREYER, G.; COELHO, G. Filariose linfática: doença potencialmente eliminável. **Caderno de Saúde pública**, Rio de Janeiro, v. 13, p. 537-543, 1997.

\_\_\_\_\_; NORÕES, J. Dietilcarbamazina no tratamento da filariose bancroftiana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 30, n. 4, p. 229-240, 1997.

\_\_\_\_\_; ROCHA, A. Filariose bancroftiana. In: FERREIRA, W.; ÁVILA, S. **Diagnóstico laboratorial**: avaliação de métodos de diagnóstico das principais doenças infecciosas e parasitárias e auto-imunes: correlação clínico-laboratorial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap. 29, p. 299-306.

\_\_\_\_\_; DREYER, P.; PIESSENS, W. F. Extralymphatic disease due to bancroftiana filariasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 32, p. 1467-1472, 1999.

\_\_\_\_\_. et al. A new tool to assess in vivo the adulticidal efficacy of antifilarial drugs for bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society Medicine and Hygiene**, London, v. 89, p. 225-226, 1995b.

DREYER, G. et al. Autochthonous *Wuchereria bancrofti* microfilaremia in the city of Maceió-Alagoas-Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 86, p. 495-496, 1991.

\_\_\_\_\_. et al. Direct assessment of the adulticidal efficacy of single dose ivermectin in bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 89, p. 441-443, 1995a.

\_\_\_\_\_. et al. Ultrasonographic assessment of the adulticidal efficacy of repeat high-dose ivermectin in bancroftian filariasis. **Tropical Medicine & International Health**, v. 1, n. 4, p. 427-432, 1996.

\_\_\_\_\_. et al. Ultrasonographic evidence for stability of adult worm location in bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 88, p. 558, 1994.

DUNYO, S. K.; NKRUMAH, F. K.; SIMONSEN, P. E. A randomized double-blind placebo-controlled field trial of ivermectin and Albendazole alone and in combination for the treatment of lymphatic filariasis in Ghana. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 94, p. 205-211, 2000.

EBERHARD, M. L.; LOWRIE, R. C.; LAMMIE, P. J. Persistence of microfilaraemia in bancroftian filariasis after diethylcarbamazine citrate therapy. **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 39, p. 128-130, 1988.

EBERHARD, M. L. et al. Effectiveness of spaced doses of diethylcarbamazine citrate for the control of bancroftian filariasis. **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 40, p. 111-113, 1989.

EBERHARD, M. L. et al. Bancroftian filariasis: long term effects of treatment with diethylcarbamazine in a Haitian population. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 45, p. 728-733, 1991.

EVARD, B. et al. Oral bioavailability in sheep of Albendazole from a suspension and from a solution containing hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Journal of Controlled Release**, v. 85, p. 45-50, 2002.

FIGUEREDO-SILVA, J. et al. Histological evidence for adulticidal effect of low doses diethylcarbamazine in bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, p. 192-194, 1996.

\_\_\_\_\_. et al. *Wuchereria bancrofti* adult filariae. In: COLÓQUIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA, 14.; SEMINÁRIO ESTRUTURAL ANALYSIS, 1., 1993, Caxambu. **Anais...** Caxambu: Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, 1993.

FONTES, G. **Aspectos epidemiológicos da filariose linfática causadas pela *Wuchereria bancrofti* no estado de Alagoas**. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.

FONTES, G.; ROCHA, E. M. M. Filariídea: *Wuchereria bancrofti* – Filariose linfática. In: Neves D. P. et al. (Org.) **Parasitologia humana**. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 208-218, 2005.

\_\_\_\_\_. ET al. Lymphatic Filariasis in Brazilian Urban Area (Maceió, Alagoas). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n.3, p.705-710, 1998.

\_\_\_\_\_. et al. Prevalência de microfilarêmicos por *Wuchereria bancrofti* em microárea dentro de uma região endêmica de filariose linfática em Maceió-AL. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 232, p.161-162, 1999.

\_\_\_\_\_. et al. The microfilarial periodicity of *Wuchereria bancrofti* in north-eastern Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 94, p.373-379, 2000.

FURTADO, A. F. et al. Controle da filariose na cidade do Recife: eficácia do tratamento em massa da população, utilizando baixas doses de Dietilcarbamazina (DEC), 1983. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 27, supl. 1, p. 109, 1994.

GATHANY J. Public Health Image Library. Fotografia 4464; 2003. Disponível em: <<http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>>. Acessado em: 10 out. 2009.

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

GYURIK, R. J. et al. Metabolism of albendazole in cattle, sheep, rats, and mice. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 9, p. 503-508, 1981.

HARDMAN, J. G.; GILMAN, A. G.; LIMBERT, L. E. Goodman & Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics. 9. ed. Companies: McGrawHill, 1996. p. 961-963, 1010-1015.

HAWKING, F. Diethylcarbamazine and new compounds for the treatment of filariasis. **Advances in pharmacology and chemotherapy**, v.16, p. 129-193, 1979.

HORTON, J. Albendazole: a review of anthelmintic efficacy and safety in humans. **Parasitology**, v.121, p. 113-132, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) – 2005. disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 8 abr. 2009.

IMPAR – INSTITUTO MUNICIPAL DE PLANEJAMENTO E AÇÃO REGIONAL (IMPAR). Prefeitura Municipal de Maceió, 1995.

ISMAIL, M. M. et al. Efficacy of single dose combinations of Albendazole, ivermectin and diethylcarbamazine for the treatment of bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, p. 94-97, 1998.

ITOH, M. et al. *Wuchereria bancrofti* antigenemia in Sri Lanka. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 4, p. 207-210, 1999.

JAIN, D. C. Practical and effective dose schedule of diethylcarbamazine (DEC) against bancroftian filariasis for mass Therapy Campaigns. **Journal of Communicable Diseases**, v. 20, p. 61-69, 1988.

JAYAKODY, R. L.; DE SILVA, C. S.; WEERASINGHE, W. M. T. Treatment of bancroftian filariasis with albendazole: evaluation of efficacy and adverse reactions. **Tropical Biomedicine**, v. 10, p.19-24, 1993.

KAR, S. K.; MANIA, J.; PATNAIK. S. The use of ivermectin for scabies. **National Medical of India**, v.7, p. 15-16, 1994.

KESSEL, J. F. An effective program for the control of filariasis in Tahiti. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 16, p. 633-644, 1957.

LAIGRET, J. et al. Onze ans de chimioprophylaxie par la diethylcarbamazine de la filariose lymphatique apériodique à *Tahiti*. **Bull. Org. Mond. Santé**, v. 34, p.925-938, 1966.

LAL, R. B.; OTTESEN, E. A. Enhanced diagnostic specificity in human filariasis by IgG4 antibody assessment. **Journal of Infectious Diseases, Chicago**, v. 158, p.1034-1037, 1988.

LAMMIE, P. J.; HIGHTOWER, A.W.; EBERHARD, M. L. The age specific prevalence of antigenemia in a *Wuchereria bancrofti*-exposed population. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 51, p. 348-355, 1994.

LIMA A. R. V. et al. Perspectiva de eliminação da Filariose linfática em Maceió-Alagoas. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 40, Suppl 1, p. 168, 2007.

LUCENA, W.A. et al. Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection by the polymerase chain reaction using urine and day blood samples from microfilaraemic patients. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 92, p. 290-293, 1998.

MACEIÓ. Secretaria Municipal de Saúde. **Manual para endereçamento do SUS**, 2005.

MAISONNEUVE, H. et al. Ovicidal effects of Albendazole in human ascariasis, ancylostomiasis and trichuriasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.79, p. 79- 82, 1985.

MAIZELS, R.M.; DENHAM D.A. Diethylcarbamazine (DEC): immunopharmacological interactions of an anti-filarial drug. **Parasitology**, v. 105, p. 549-560, 1992.

MAK, J. W.; SIM, B. K. L.; YEN, P. K. F. Filaricidal effect of Albendazole against subperiodic *Brugia malayi* infection in the leaf-monkey, *Presbytis melulophos*. **Tropical Biomedicine**, v.1, p. 121-123, 1984.

MOLYNEUX, D. H.; TAYLOR, M. J. Current status and future prospects of the global Lymphatic Filariasis Programme. **Current Opinion Infectious Disease**, v. 14, n. 2, p. 155-159, 2001.

MOLYNEUX D. H.; ZAGARIA N. Lymphatic filariasis elimination: progress in global programme development. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 96, n. 26, p. 15-40, 2002.

MORE, S. J.; COPERMAN, D. B. A highly specific and sensitive monoclonal antibody based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. **Tropical Medicine and Parasitology**, Stuttgart, v. 41, p. 403-406, 1990.

NANDURI, I. J.; KAZURA, J. W. Clinical and laboratory aspects of filariasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 2, p. 39-50, 1989.

NORÕES, J. et al. Assessment of the efficacy of diethylcarbamazine on adult *Wuchereria bancrofti*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 91, p. 78-81, 1997.

NUCHPRAYOON, S. et al. 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.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). **Lucha contra la filaríasis linfática**: manual para personal sanitario. Ginebra, 1988.

ONAPA, A.W. et al. Lymphatic filariasis in Uganda: baseline investigations in Lira, Soroti and Katakwi districts. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.95, p.161-167, 2001.

OTTESEN, E. A. Efficacy of diethylcarbamazine in eradicating infection with lymphatic-dwelling filariasis in humans. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 7 (3), p. 341-356, 1985.

\_\_\_\_\_. Filariasis now. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, p. 9-17, 1989.

\_\_\_\_\_. Immunopathology of lymphatic filariasis in man. **Springer Semin. Immunopathol.**, v. 2, p. 373-385, 1980.

\_\_\_\_\_; CAMPBELL, W. C. Ivermectin in human medicine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 34, p.195-203, 1994.

\_\_\_\_\_; ISMAIL, M. M.; HORTON, J. The role of Albendazole in programmes to eliminate lymphatic filariasis. **Parasitology Today**, v. 15, p.382-386, 1999.

OTTO, G. **Infecções helmínticas**: Outras filaríases. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1965.

PANI, S. P. et al. Tolerability and efficacy of single dose albendazole diethylcarbamazine citrate (DEC) or co-administration of albendazole with DEC in the clearance of *Wuchereria bancrofti* in a symptomatic microfilaraemic volunteers in Pondicherry, South India: a hospital: based study. **Filaria Journal**, v.1, n.1, p. 1- 11, 2002.

- PARTONO, F.; IDRIS K, N. Some factors influencing the loss of microfilariae from stained thick blood films. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 8, p. 158-164, 1977.
- PIESSENS, W. F.; PARTONO, F. Host-vector-parasite relationships in human filariasis. In: WEINSTEIN, L; FIELDS, B. N. **Seminars in infectious diseases**. New York: Thieme-Stratton, 1980. v. 3, p. 131-152.
- PIRES, V.R.S. **Comparação de dois esquemas de tratamento com citrato de dietilcarbamazina em microfilariêmicos por *Wuchereria bancrofti***. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Medicina Tropical, Recife, 1998.
- RACHOU, R. G. Conceito e programa de profilaxia da filariose bancroftiana no Brasil. **Revista Brasileira Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 12, p. 11-40, 1960.
- RAJAPPAN, P. N.; SADANARD, A. V. Certain concepts in the epidemiology of filariasis. A critical review. **Indian Journal of Public Health**, v. 18 (4), p.174-178, 1974.
- RAMAIAH, K. D. et al. The effect of six rounds of single dose mass treatment with diethylcarbamazine or ivermectin on *Wuchereria bancrofti* infection and its implications for lymphatic filariasis elimination. **Tropical Medicine & International Health**, v.7, n. 9, p. 767-774, 2002.
- ROCHA, A.; AYRES, C. J.; FURTADO, A. Abordagem molecular no diagnóstico laboratorial da filaria linfática: *Wuchereria bancrofti*. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 31, n.2, p. 161-174, 2002.
- ROCHA, E. M. M.; FONTES, G. Diagnóstico da filariose linfática bancroftiana. **Revista de Patologia Tropical**, v. 29, n. 2, p. 161-173, 2000.
- \_\_\_\_\_; FONTES, G. Filariose bancroftiana no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 98-105, 1998.
- \_\_\_\_\_. et al. 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.
- SILVA, V. A. N. **Uso de imunocromatografia rápida e outras técnicas parasitológicas para o diagnóstico laboratorial da *Wuchereria bancrofti* em área endêmica de filariose linfática em Maceió, Alagoas**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2006.
- SIMONSEN, P. E. et al. Bancroftian filariasis: the patterns of filarial-specific immunoglobulin G1 (IgG1), IgG4 and circulating antigens in an endemic community of northeastern Tanzania. **American Journal of Tropical Medicine and Higiene**, Baltimore, v. 55, p. 69-75, 1996.

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**, London, v. 93, p. 278-282, 1999.

SRIVASTAVA, R. N.; PRASAD, B. C. The microfilaricidal effect of diethylcarbamazine. **Indian Journal of Medicine Research**, v. 58, p. 1480-1486, 1970.

TAYLOR, M. A New Insight into the patogenesis of filarial disease. **Currente Molecular Medicine**, v. 2, n.3, p. 299-302, 2002.

TURNER, P. et al. 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. **Parasitol Today**, v. 13, p. 401- 404, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Control of lymphatic filariasis: a manual**. 2000. p. 86.

\_\_\_\_\_. **Epidemiologic approaches to lymphatic filariasis elimination**: initial assessment, monitoring, and certification: report of WHO informal consultation. Geneva, 1998. p. 35 (Technical reports series, n. 195).

\_\_\_\_\_. **Filariasis linfática**: cuarto informe del Comité de Expertos de la OMS en filariasis. Geneva, 1984. (Série de informes técnicos, n. 702).

\_\_\_\_\_. **Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis**: progress report on mass drug administrations in 2005. Geneva, 2006. p. 361. (Weekly Epidemiological Record, n. 81).

\_\_\_\_\_. **Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis**: progress report on mass drug administrations in 2005. Geneva, 2007. p. 221-232. (Weekly Epidemiological Record, n. 42).

\_\_\_\_\_. **Lymphatic filariasis**: the disease and its control: fifth report of the WHO expert committee on filariasis. Geneva, p. 75, 1992. P75. (Technical reports series, n. 821).

\_\_\_\_\_. **Strategies for control of lymphatic filariasis infection and disease**: report of a consultative meeting held at the Universiti Sains Malaysia (Penang, Malaysia), 1994.

WILLIAMS S. A. et al. A polimerase chain reaction assay for detection of the parasite *Wuchereria bancrofti* in human blood samples. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 90, p. 384-387, 1996.

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

ZHONG, M. et al. A polimerase chain reaction assay for detection of the parasite *Wuchereria bancrofti* in human blood samples. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 54, p. 357-363, 1996.

**APÊNDICE**



## APÊNDICE A

### *Termo de consentimento livre e esclarecido:*

Eu, \_\_\_\_\_, C.I. \_\_\_\_\_ e/ou CPF: \_\_\_\_\_ residente no endereço: \_\_\_\_\_ fui esclarecido a respeito do Projeto de pesquisa: “Avaliação da redução da microfilaremia e reações adversas em indivíduos microfilarêmicos por *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), tratados com Citrato de Dieticarbamazina e Albendazol”. 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, participarei 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

## APÊNDICE B

### *Soluções utilizadas*

#### **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.

#### **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.

#### **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%).

#### **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.

**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.

**ANEXO**

## ANEXO A



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: AVALIAÇÃO DA REDUÇÃO DE MICROFILAREMIA E REAÇÕES ADVERSAS EM INDIVÍDUOS PARASITADOS POR Wuchereria bancrofti TRATADOS COM CITRATO DE DIETILCARBAMAZINA (DEC) E ALBENDAZOL.				3. Código: 2-13 PARASITOLOGIA		4. Nível: ( Só áreas do conhecimento ) I ( ) II ( ) III ( ) IV ( ) (T) TERAPÊUTICO	
2. Área do Conhecimento (Ver relação no verso) 2. CIÊNCIAS BIOLÓGICAS		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 ) FILARIOSE LINFÁTICA, DIETILCARBAMAZINA, ALBENDAZOL SUJEITOS DA PESQUISA							
9. Número de sujeitos No Centro: Total 100		10. Grupos Especiais: <18 anos ( ) Portador de Deficiência Mental ( ) Embrião /Feto ( ) Relação de Dependência (Estudantes, Militares, Presidiários, etc) ( ) Outros (X) Não se aplica ( ) INDIVÍDUOS PARASITADOS POR Wuchereria bancrofti					
11. Nome: GILBERTO FONTES							
12. Identidade: M. 1073342 SSPMG		13. CPF.: 352.643.766-53		19. Endereço (Rua, nº): DESP. HUMBERTO GUIMARAES 347/502 ED. SÂNDALO		22. U.F. AL	
14. Nacionalidade: BRASILEIRA		15. Profissão: PROFESSOR UNIVERSITÁRIO		20. CEP: 57035-030		21. Cidade: MACEIO	
16. Maior Titulação: DOUTORADO		17. Cargo: PROFESSOR ADJUNTO III		23. Fone: 327 3336		24. Fax: 221-2501	
18. Instituição a que pertence: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS				25. E-mail: g.f@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: _____ Assinatura: <i>Gilberto Fontes</i> Assinatura: _____ Dept. de Patologia							
INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO: CCB/UFAL							
26. Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS		29. Endereço (Rua, nº): PÇA AFRÂNIO JORGE S/N - PRADO					
27. Unidade/Orgão: CCB - DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA		30. CEP: 57010-020		31. Cidade: MACEIO		32. U.F. AL	
28. Participação Estrangeira: Sim ( ) Não (X)		33. Fone: 223 5613		34. Fax: 221 2501			
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: ROBSON CAVALCANTE DE MELO Cargo: DIRETOR CCB/UFAL Data: 05/03/2001 Assinatura: <i>Robson Cavalcante de Melo</i> Assinatura: _____ Dept. - GCM							
PATROCINADOR Não se aplica ( )							
36. Nome: SECRETARIA MUNICIPAL SAÚDE DE MACEIO		39. Endereço: AV. ASSIS CHATEAUBRIAND 2932					
37. Responsável: GENILDA LEÃO		40. CEP: 57010-070		41. Cidade: MACEIO		42. UF: AL	
38. Cargo/Função: SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE		43. Fone: 3261994		44. Fax: 3262299			
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP							
45. Data de Entrada: 05/03/01		46. Registro no CEP: 002884/2001-77		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: 21/10/01, etc.	
Encaminhado a CONEP: 50. Os dados acima para registro (X) 52. Data: 17/05/01		51. O projeto para apreciação ( )		53. Coordenador/Nome: Ermalva Medeiros Ferreira Pior Dr. Assisna Medeiros Ferreira		Anexar o parecer substanciado Em anexo	
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA - CONEP							
54. Nº Expediente:		56. Data Recebimento:		57. Registro na CONEP: PRESIDENTE Prof. Dr. Ermalva Medeiros Ferreira Comitê de Ética em Pesquisa PRESIDENTE			
55. Processo:		58. Observações:					

