

MARCELA EUGÊNIA BELÉM DE BARROS ARAÚJO

**Avaliação da Cinética de Antígeno Circulante em pacientes portadores de
*Wuchereria bancrofti***

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, para a obtenção do título de Mestre em ciências.

Orientador: Prof. Dr. Abraham Rocha

Recife
2009

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

A663a Araújo, Marcela Eugênia Belém de Barros.

Avaliação da Cinética de Antígeno Circulante em pacientes portadores de *Wuchereria bancrofti*/ Marcela Eugênia Belém de Barros Araújo. — Recife: M. E. B. B. Araújo, 2009.

82 f.: il.: tabs.

Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2009.

Orientador: Dr.Prof. Abraham Brito Rocha

1. Antígenos. 2. Filariose. 3. Cinética. 3. *Wuchereria bancrofti*. 4. Avaliação. I. Rocha, Abraham. II. Título.

CDU 616.995.132

MARCELA EUGÊNIA BELÉM DE BARROS ARAÚJO

**Avaliação da Cinética de Antígeno Circulante em pacientes portadores de
*Wuchereria bancrofti***

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Saúde Pública, do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 15/07/2009

BANCA EXAMINADORA:

Dr^o. Abraham Rocha
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ

Dr. Fábio Lopes de Melo
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ

Dr^a. Silvana de Fátima Ferreira da Silva
Departamento de Patologia/UPE

Dr^a. Maria Amélia Vieira Maciel
Departamento de Medicina Tropical/UFPE

Dr^a. Janaína Campos de Miranda
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ

Dedico este trabalho, a todas as pessoas que contribuíram para a construção deste, obrigada!!!

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela eterna presença em minha vida;

Aos meus pais, Manoel e Mônica, pessoas que eu amo muito... que estão sempre dispostos a fazer e superar tudo por mim... que me apóiam em todo os meus passos... que estão presentes em todos os obstáculos da minha vida... pelo exemplo de carinho, amor, educação e honestidade, sempre me ajudando para que me torne cada dia uma pessoa melhor, profissional e pessoalmente.

Ao meu irmão, Khefren, fonte de inspiração desta dissertação e pelo exemplo constante de luta pela vida.

À minha família por estar sempre presente;

A Thiago Figueiredo, pela vontade sempre existente em me ajudar, pelo carinho, paciência, incentivo, companheirismo e material para a conclusão deste trabalho;

A Dr. Abraham, orientador e amigo, que desde o início da minha vida acadêmica, ainda como estudante, foi responsável por proporcionar-me grandes oportunidades e investiu em mim acreditando no meu potencial.

A todos que fazem parte do Departamento de parasitologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM), em especial, a Paula Oliveira, Béliz, Eduardo Brandão, Leandro Baptista, João Quaresma, Cristiane e Zezé, pela paciência e ajuda para finalização do mesmo.

À CPG, pela atenção e compreensão. Em especial, a Ide Gurgel por ter me ajudado em um momento definitivo para a conclusão desse trabalho.

A todos da secretária acadêmica, em especial a Joselice e Nilda, obrigada por tudo.

Aos meus amigos que contribuíram indiretamente com este trabalho ao proporcionarem-me muitos momentos de alegria, desabafos, de crescimento e aprendizado.

Às fontes financiadoras deste grande projeto: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ e ao Centro Nacional de Desenvolvimento em Pesquisa CNPQ.

A todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram com a conclusão deste trabalho dando suporte técnico, profissional ou pessoal. Meu respeito e agradecimento!

BARROS-ARAÚJO, Marcela Eugênia Belém. **Avaliação da Cinética de Antígeno Circulante em pacientes portadores de *Wuchereria bancrofti***. 2009. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

RESUMO

Devido a suas características epidemiológicas a filariose linfática é uma das doenças potencialmente erradicáveis. Por esse aspecto, a Organização Mundial de Saúde propôs em 1997 sua eliminação mundial prevista para 2020. O principal objetivo do Programa de eliminação da Filariose Linfática é reduzir o reservatório humano com microfilárias circulantes, para menos de 1%, somado a redução para o índice $>0.1\%$ nas crianças nascidas após o início do tratamento em massa, ambos diagnosticados pelas técnicas de gota espessa e pesquisa de antígeno circulante filarial (cartão ICT e Og4C3) resultando na interrupção da transmissão. Entre os objetivos do Plano de Controle e Eliminação da filariose linfática está à utilização da pesquisa de antígeno circulante como indicador da monitorização da eficácia do tratamento específico realizado nas comunidades endêmicas. Pesquisas demonstram resultados inconsistente nos padrões de clareamento da circulação sanguínea do antígeno da *W.bancrofti* após o tratamento, pois ainda não se pode assegurar a cura parasitológica e correlacionar esse fato concreto com a cronologia do desaparecimento do antígeno circulante filarial. O presente estudo comparou o efeito do tratamento seletivo com dietilcarbamazina (dose única e tradicional) e a intervenção cirúrgica sobre a microfilaremia e o marcador sorológico de infecção ativa (antigenemia), diagnosticados pelas técnicas parasitológicas da filtração (microfilaremia), ultrason (vermes adultos filarias) e a pesquisa de antígeno circulante filarial (cartão ICT e Og4C3) frente aos 31 indivíduos de ambos os sexos, micro e amicrofilarêmicos, no período pré, 1, 6, 12, 96 e 120 meses. Observou-se uma correlação positiva ($r=0,3118$, $P<0,0001$) crescente da densidade de MF/mL com o antígeno circulante filarial diagnosticado de forma quantitativa pela ferramenta diagnostica do Og4C3. O tratamento que observamos um menor número de indivíduos positivos foi através da medicação dietilcarbamazina dose tradicional seguido de cirurgia e dose única. No presente estudo observamos que o tempo eleito pela OMS de 48 a 82 meses é insuficiente para assegurar a cura da infecção, visto quem em 96 meses ainda encontra-se vestígios de antígeno circulante. Sugere-se que exames paralelos sejam realizados para confirmar e assegurar a cura do indivíduo.

Palavras chaves: Antígenos, filariose, cinética e *Wuchereria bancrofti*.

ARAÚJO, Marcela Eugênia Belém de Barros. **Evaluation of the kinetic of circulating antigen in carrying patients of *Wuchereria bancrofti***. 2009. Dissertation (Master of Public Health) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

ABSTRACT

Due to its epidemiologist characteristics Lymphatic Filariases is one of the illnesses potentially to be eradicated. For this aspect, the World-wide Organization of Health considered in 1997 its foreseen world-wide elimination for 2020. The main objective of the Program of elimination of the Lymphatic Filariases is to reduce the human reservoir with circulating microfilaria, for less than 1%, added the reduction for the index > the 0,1% in the children born after beginning of the treatment in mass, both diagnosed by the techniques of thick drop and filarial circulating antigen research (card ICT and Og4C3) resulting in the interruption of the transmission. Among the objectives of the Plan of Control and Elimination of Lymphatic Filariases is the use of the circulating antigen research as a supervision indicator of the effectiveness of the specific treatment carried through in the communities. Researches demonstrates inconsistent results in the standards of the antigen's blood circulation of the *W.bancrofti* became clearly after the treatment, because it still can't be assured the parasitological cure and correlate this fact concrete with the chronology of the disappearance of the filarial circulating antigen. The present study has compared the effect of the selective treatment with diethylcarbamazine (only and traditional dose) and the surgical intervention on the microfilaremic, and the sorological marker of active infection (antigeame), diagnosed by the parasitological techniques of the filtration (microfilaremic), ultrason (adult worms filarias) and the research of filarial circulating antigen (card ICT and Og4C3) front to the 31 individuals of both sexes, micro and amicrofilaremic, in the period before, 1, 6, 12, 96 and 120 months. A positive correlation was observed ($r = 0,3118$; $P < 0,0001$) increasing of the density of MF/mL with the filarial circulating antigen diagnosed of a quantitative form by the it diagnostic tool of the Og4C3. The treatment that we have observed a lesser number of positive individuals was through the medication diethylcarbamazine traditional dose followed of surgery and only dose. In the present study we have observed that the time elected by the OMS of 48 to 82 months is insufficient to assure the cure of the infection, faced who in 96 months still meets circulating antigen vestiges. It's suggested that parallel examinations are carried through to confirm and to assure the cure of the individual.

Key-words: Antigens. Filariase. Kinetic. *Wuchereria bancrofti*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Ciclo de transmissão da <i>Wuchereria bancrofti</i>	17
Figura 2- Vermes Adultos de <i>Wuchereria bancrofti</i>	18
Figura 3- Materiais utilizados na técnica de filtração em membrana de policarbonato para quantificação de microfilárias.....	23
Figura 4- Imagem ultrassonografica do verme adulto de <i>Wuchereria bancrofti</i>	24
Figura 5- Kit do teste Og4C3.....	27
Figura 6- Cartão do teste ICT para <i>Wuchereria bancrofti</i>	27
Figura 7- Tratamento em massa realizado na comunidade de Água Fria, Recife, PE, Brasil.....	30
Gráfico 1- Correlação entre a densidade de microfíarias/mL e antigenemia quantificada pela ferramenta diagnostica do antígeno circulante filarial, Og4C3-ELISA e filtração.....	42
Gráfico 2- Tendência do ACF* Og4C3-Elisa frente à idade.....	43
Gráfico 3- Comparação entre os testes de antígeno cartão ICT e o Elisa-Og4C3.....	44

Quadro 1- Variáveis dependentes.....12

Quadro 2- Variáveis independentes.....12

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Média de idade dos indivíduos envolvidos no estudo de acordo com o tratamento submetido.....	40
Tabela 2- Tendência do acompanhamento das ferramentas diagnósticas, frente aos indivíduos microfilarêmicos independentemente da abordagem de tratamento no período pré, 1, 6, 12, 96 e 120 meses.....	41
Tabela 3- Tendência do acompanhamento das ferramentas diagnósticas dependentemente da abordagem de tratamento (DU, OMS e CRG) no período pré, 1, 6, 12, 96 e 120 meses.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACF – Antígeno circulante filarial

AcMo – Anticorpo Monoclonal

AMB – Albendazol

CRG – Cirurgia

CPqAM – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

DEC – Dietilcarbamazina

ELISA – “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”

EPT – Eosinofilia Pulmonar Tropical

FL – Filariose Linfática

GE – Gota Espessa

ICT – “Immunochromatographic Test”

IV – Ivermectina

kD – Kilo Daltons

KN – Knott

MF – Microfilária

SDS – Sinal da dança da filária

SRNF – Serviço de Referência Nacional em Filariose

VA – Verme Adulto

VL – Vaso linfático

US – Ultrassom

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL.....	15
2.1 Características gerais.....	15
2.2 Ciclo de transmissão.....	16
2.3 Histórico.....	17
2.4 Aspectos epidemiológicos.....	19
2.5 Formas clínicas.....	20
2.6 Diagnóstico laboratoriais.....	21
2.6.1 Diagnóstico parasitológico.....	21
2.6.1.1 <i>Gota espessa</i>	21
2.6.1.2 <i>Técnicas de concentração (Knott e filtração)</i>	22
2.6.1.3 <i>Técnica de imagem (pesquisa de vermes adultos)</i>	23
2.6.2 Diagnóstico sorológico.....	25
2.6.2.1 <i>Pesquisa de anticorpo</i>	25
2.6.2.2 <i>Pesquisa de antígeno</i>	25
2.7 Tratamento.....	28
2.7.1 Tratamento coletivo.....	29
2.7.2 Tratamento individual.....	31
2.7.3 Controle da infecção e morbidade filarial.....	31
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 Geral.....	33
3.2 Específicos.....	33
4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	34
4.1 Área de estudo.....	34

4.2 Desenho de Estudo.....	34
4.3 População de estudo e período de referência.....	34
4.4 Fonte de dados.....	35
4.5 Definição de variáveis e indicadores.....	35
4.6 Fatores de Inclusão.....	36
4.7 Limitação do estudo.....	37
4.8 Caracterização da amostra.....	37
4.9 Coleta de material biológico.....	37
4.10 Processamento e análise dos dados.....	37
5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	39
6 RESULTADOS.....	40
7 DISCUSSÃO.....	46
8 CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
APÊNDICE.....	40
ANEXOS.....	60

1 INTRODUÇÃO

Nove espécies de filárias podem causar doenças no homem, sendo endêmicas em várias partes do mundo. Apenas *Brugia malayi*, *Brugia timori* e *Wuchereria bancrofti* são agentes etiológicos da filariase linfática humana (OTTESEN, 1993; SASA, 1976).

A filariose linfática (FL) é uma doença parasitária crônica, causada pelo verme nematóide *Wuchereria bancrofti*, é também conhecida como bancroftose. Sua transmissão se dá pela picada da fêmea do mosquito *Culex quinquefasciatus* infectado com larvas do parasito. Os vermes adultos causam lesões nos vasos linfáticos onde se desenvolvem. As lesões provocadas pela presença dos parasitos serão responsáveis pelo quadro clínico que se seguirá (ALBUQUERQUE, 1993; DREYER; ROCHA, 2001). A FL é uma das maiores causas de incapacidades permanentes ou de longo-prazo, sendo cerca de 112 milhões o número de pessoas infectadas por *W. bancrofti* em todo o mundo (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2008).

Nas últimas décadas houve considerável avanço nas estratégias de combate a essa endemia. Em 1997, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs sua eliminação global como problema de saúde pública até o ano 2020. O Brasil aderiu ao chamado da OMS, tornando-se signatário dessa proposta nesse mesmo ano. O programa mundial de eliminação da FL tem dois fundamentos principais: a eliminação da transmissão, ou seja, impedir o surgimento de novos casos; e o controle dos casos de pacientes que, embora tenham sido tratados da parasitose, apresentam lesões e seqüelas (morbidade) em decorrência a infecção com este parasito (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002; OTTESEN et al., 1997).

No Brasil, o perfil epidemiológico dessa doença foi estabelecido na década de 1950, quando foram realizados inquéritos hemoscópicos em todo o país. Com base nos resultados desses inquéritos foram identificados os focos, e eleitas áreas prioritárias para intervenção. Embora, as ações ambientais visando o controle vetorial não tenham sido uma prioridade do programa, em muitos momentos, o controle da filariose foi beneficiado pela adoção dessas ações em campanhas contra outros agravos, o que certamente contribuiu para o quadro epidemiológico atual, no qual se considera que a transmissão esteja restrita a alguns poucos locais no país (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002, 2008; OTTESEN et al., 1997).

Em 1997, de acordo com a proposição da OMS, o Brasil adotou a meta de eliminar/erradicar a FL. A partir de então houve um novo enfoque programático, tornou-se necessário aprofundar as ações que pudessem eliminar a transmissão, evitando o surgimento de novos casos e estruturar a assistência aos pacientes com manifestações clínicas (BRASIL, 1997, 2000).

Entre os objetivos do Plano de Controle e Eliminação da FL está à utilização da pesquisa de antígeno circulante como indicador da monitorização da eficácia do tratamento específico realizado nas comunidades. Pesquisas mostram que os padrões do clareamento da circulação sanguínea do antígeno da *W.bancrofti* após o tratamento com a DEC têm obtido resultados inconsistentes (LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994; OTTESEN et al., 1997; ROCHA, 2004), pois ainda não se pode assegurar a cura parasitológica e correlacionar esse fato concreto com a cronologia do desaparecimento do antígeno, ou seja, estudos precisam ser direcionados no sentido de esclarecer qual o tempo médio do antígeno circulante, bem como, se a morte dos vermes adultos, monitorizados pela ultrassonografia, acarreta o declínio dos níveis sorológicos do antígeno circulante, assegurando desta forma a cura da infecção e eficácia do tratamento em massa.

2. REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL

2.1 Características gerais

Filariose é a denominação genérica das infecções, no homem ou em outro animal vertebrado, produzidas pelas filárias, que constitui uma das doenças parasitárias de larga abrangência mundial, podendo infectar indivíduos residentes das regiões tropicais e subtropicais de todos os continentes (FERREIRA, 1987). As filárias são helmintos da classe Nematoda, pertencentes à superfamília *Filarioidea*. São fusiformes, tendo o corpo alongado e fino, semelhantes ao um fio (filária, palavra originária do Latim, *filum* = fio), com tubo digestivo completo, sexos separados e de modo geral, apresentando dimorfismo sexual (PESSÔA; MARTINS, 1982). Parasitas obrigatórios de vertebrados podem ser encontrados no sistema circulatório, no tecido conjuntivo ou muscular, nas cavidades serosas ou no sistema linfático e necessitam de um hospedeiro intermediário invertebrado, para completar o seu ciclo. Nove espécies de filárias infectam o homem, sendo elas a *Loa loa*, *Onchocerca volvulus*, *Dracunculus medinensis*, *Mansonella ozzardi*, *Mansonella perstans*, *Mansonella streptocerca*, *Brugia malayi*, *Brugia timori* e *Wuchereria bancrofti*. Dentre estas, as três últimas espécies pertencentes à subfamília *Filaridae* são responsáveis pela filariose linfática (FL) (SASA, 1976; OTTESEN, 1993).

Mais de 120 milhões sofrem da doença, onde 40 milhões encontram-se gravemente incapacitados ou apresentam deformações e 800 milhões vivem em áreas endêmicas (MICHAEL; BUNDY; GRENFELL, 1996). Dos infectados, um terço vive na Índia, um terço na África e o restante na Ásia, Pacífico Ocidental e Américas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1997).

A manifestação da doença é complexa, dependendo, dentre outros fatores, do estágio do parasito e da resposta imunológica do indivíduo, acarretando as mais diversas formas clínicas (OTTESEN, 1993). A hematúria e a eosinofilia pulmonar tropical ou EPT são causadas pela microfilária (MF), e as demais formas agudas (linfangites e linfadenite) e as crônicas (hidrocele, quilocele, linfo-escroto, quilúria e linfedema) são causadas pelo estágio adulto do parasita, o qual habita o sistema linfático, principalmente os vasos de transporte (DREYER; ROCHA, 2001).

Até a década de 1980 a única forma direta comprobatória de diagnóstico de infecção com a *W. bancrofti* era o encontro da microfiliária (MF) em sangue periférico utilizando as técnicas de gota espessa, filtração em membrana (policarbonato), técnica de Knott (EBERHARD; LAMMIE, 1991; ROCHA, 2000; SASA, 1976). No entanto a pesquisa de MF em amostras sanguíneas deve levar em consideração a periodicidade (maior pico de densidade das microfilárias no sangue periférico) em cada região endêmica. No Brasil esta periodicidade ocorre entre 23:00h e 1:00h da manhã (ROCHA, 2000), sendo necessário à obtenção das amostras sanguíneas nesse horário. Entretanto inquéritos epidemiológicos utilizando sangue periférico (capilar ou venoso), em algumas regiões do mundo são muito difíceis ou até mesmo impossíveis devido à violência ou crenças religiosas, como no continente africano, o que proporciona uma maior dificuldade ao trabalho noturno (ROCHA, 2004).

A partir da década de 1990 avanços significativos no diagnóstico da Filariose linfática surgiram com a aplicação de novas ferramentas diagnósticas: i) utilização de antígenos recombinantes na pesquisa de anticorpo (CHANDRASHEKAR et al., 1994), ii) reação da polimerase em cadeia na detecção do DNA filarial, iii) visualização de vermes adultos vivos através do ultrassom e iv) pesquisa de antígeno circulante filarial (ACF). Entretanto, apenas as ferramentas do ultra-som e a pesquisa ACF utilizando dois anticorpos monoclonais (Og4C3 e AD12) já foram padronizadas. Os anticorpos monoclonais estão sendo comercializados em forma de kits onde o diagnóstico pode ser realizado a qualquer hora do dia na identificação dos portadores da bancroftose (AMARAL et al., 1994; MORE; COPEMAN, 1990; ROCHA et al., 1996; WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997).

2.2 Ciclo de transmissão

A Filariose é transmitida pelos principais gêneros de mosquitos vetores que são: *Mansonia*, *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*, sendo, o *Culex quinquefasciatus*, o vetor responsável pela transmissão na maioria das regiões do mundo. No Brasil, este mosquito é vulgarmente conhecido como pernilongo, muriçoca ou carapanã (BRASIL, 1996). A transmissão ocorre devido à presença de formas embrionárias, chamadas de microfilárias, no sangue humano. Mosquitos fêmeas dos gêneros acima citados, no momento da hematofagia sugam juntamente com o sangue, as MF que se desenvolvem no seu interior, no período de 14 a 21 dias em larva

infectante ou L3. Na oportunidade de uma nova hematofagia as L3, que apresentam movimentos ativos, são depositadas na pele do indivíduo sadio e pela solução de continuidade acarretada pela picada do mosquito, penetram no organismo. Estas larvas possuem uma predileção pelo sistema linfático e linfonodos, até o momento não esclarecido, sofrem então duas mudas, tornando-se vermes adultos (VA), machos e fêmeas, que após o acasalamento, produzem MF por mais de dez anos (**Figura 1**), ou até a sua morte natural (DREYER et al., 1995; DREYER; ROCHA, 2001).

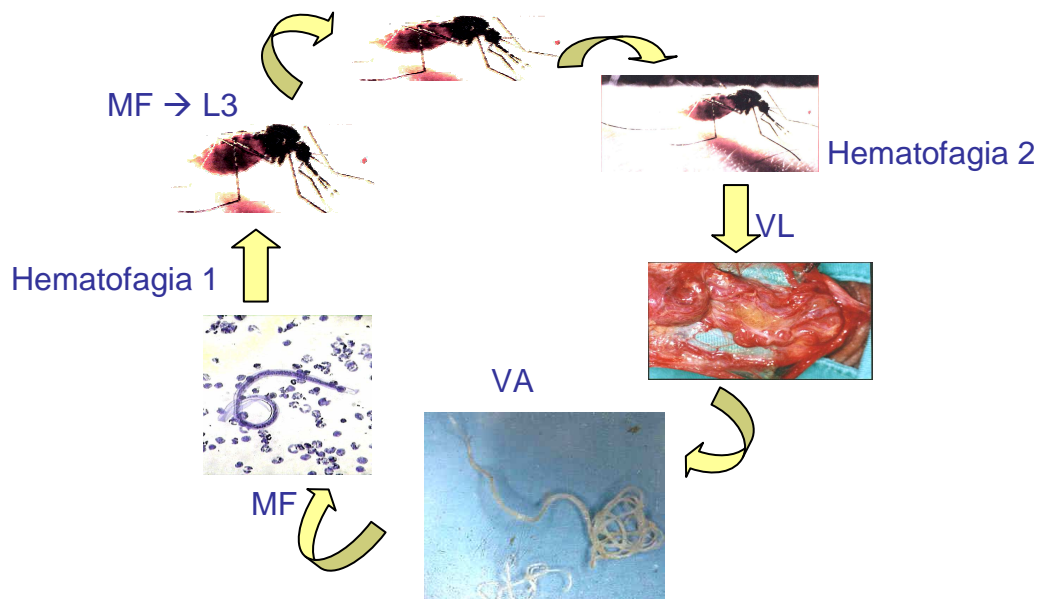


Figura 1. Ciclo de transmissão da *Wuchereria bancrofti*.

Fonte: Rocha (2001, 2003, 2004).

Nota: Hematofagia 1: sangue juntamente com microfilarías; MF→ L3: desenvolvimento das microfilarías, no período de 14 a 21 dias, em larva infectante ou L3; Hematofagia 2: as L3 são depositadas na pele de um indivíduo sadio e penetram no organismo através de movimentos ativos; Vasos linfáticos (VL): predileção pelo sistema linfático e linfonodos; Vermes Adultos (VA): desenvolve vermes adultos machos e fêmeas e Microfilarias (MF): após o acasalamento dos Vermes produzem microfilarías por mais de 10 anos.

2.3 Histórico

A descoberta de múmias, desenhos e estatuetas em escavações arqueológicas ao longo do Rio Nilo, no Egito, apresentando deformidades grotescas, caracterizada por elefantíase da região escrotal, membros inferiores e mamas, denotam que a doença causada pela filária linfática, já existe a mais de 2000 anos antes de Cristo (NUNN; TAPP, 2000).

Entre o período de 1588 e 1592, curiosamente a Filariose linfática, foi denominada “a maldição de São Tomás”, devido ao fato que os descendentes daqueles que assassinaram o Santo “nascerem com uma de suas pernas ou pés apresentando elefantíase” (COX, 2000).

O primeiro registro de microfilária em seres humanos foi feito por Demarquay, em 1863, e em 1866, Otto Wucherer descobriu microfilárias na urina de seus pacientes na Bahia (WUCHERER, 1868). Em 1872, Timothy Lewis, trabalhando em Calcutá, Índia, confirmou as observações de Wucherer e detectou microfilárias também no sangue, estabelecendo sua relação com a elefantíase (LEWIS, 1872). Pouco depois, Patrick Manson, em Amoy, na China, estabeleceu uma correlação clara entre a presença de microfilárias no sangue e as principais complicações da filariose (MANSON, 1878; NAPIER, 1944; SASA, 1976).

Em 1876 foi encontrado e descrito o verme adulto, na Austrália, por Joseph Bancrofti ao estudar uma lesão abscedida apresentando degeneração (BANCROFTI et al., 1879). Entretanto coube ao brasileiro Silva Araújo em 1877 a classificação taxonômica do verme adulto, o qual denominou de *Wuchereria bancrofti* em homenagem a Wucherer e a Bancrofti. A descoberta de Patrick Manson de que mosquitos transmitiam a filariose representa o nascimento da Entomologia Médica e o marco mais importante da Medicina Tropical. Suas observações sobre o ciclo de vida e as características clínicas da doença, bem como a demonstração da periodicidade noturna das microfilárias, resultaram em uma explosão do interesse pelas doenças transmitidas por insetos (ROCHA; ELIANA; FONTES, 1998).

Após 118 anos da descoberta das fêmeas adultas de *W. bancrofti* por Bancrofti, estudos realizados no Serviço de Referência Nacional em Filarioses (SRNF) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM)/ Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), foram capazes de identificar *in vivo*, os vermes adultos vivos nos vasos linfáticos de indivíduos infectados, utilizando-se a metodologia do ultrassom (AMARAL et al., 1994).

Essa nova abordagem diagnóstica, utilizada de forma pioneira no SRNF, possibilitou a remoção cirúrgica dos vermes adultos vivos, obtendo-se pela primeira vez no mundo, um casal de vermes adultos (**Figura 2**) (ROCHA, 2004).

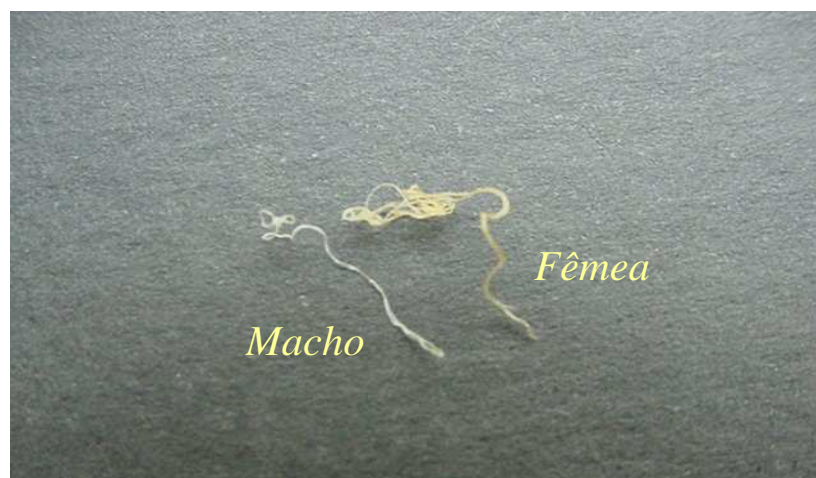


Figura 2. Vermes Adultos de *Wuchereria bancrofti*.
Fonte: Rocha (2003)

2.4 Aspectos epidemiológicos

A filariose linfática causada pelos parasitos helmintos nematódeos das espécies *Brugia malayi*, *Brugia timori* e *Wuchereria bancrofti* está largamente distribuída no globo terrestre, podendo ser encontrada em 81 países (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2008). Cerca de 1.1 bilhão de pessoas (20% da população do globo terrestre) vivem em áreas endêmicas sob o risco de adquirir infecção filarial. Estima-se que mais de 120 milhões de pessoas estão infectadas. Embora a distribuição da infecção pareça global, aproximadamente um terço dos indivíduos infectados reside na Índia, outro terço na África e o restante se encontram, predominantemente, na região ocidental do Pacífico e no sudeste da Ásia (MATTOS; DREYER, 2008).

O parasita filarial, *W. bancrofti*, esta presente na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo. Nas Américas a filariose linfática é uma importante causa de morbidade aguda e crônica atingindo pessoas de todas as idades e de ambos os sexos. O Haiti tem a mais alta prevalência e no Brasil, calcula-se que cerca de três milhões de indivíduos estejam sob o risco de adquirir a doença, estimando-se quarenta e nove mil o número de infectados (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2002).

No Brasil, a Região Metropolitana do Recife (RMR)-PE (Recife, Olinda e Jaboatão) são áreas de importante transmissibilidade. O município de Maceió-AL tem a infecção sob controle e o município de Belém do Pará, encontra-se em processo de reconhecimento, junto a Organização Mundial da Saúde, da certificação de eliminação (FREITAS et al., 2008; LIMA, 2007).

A Fundação Nacional da Saúde/ Ministério da Saúde juntamente com a Organização Pan-americana da Saúde (OPAS) e Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1997, realizou um encontro em Brasília onde foi discutido o Programa de Eliminação da Filariose Linfática no Brasil. O encontro teve como base o documento formatado pela força tarefa da Organização Mundial da Saúde em 1996, onde foi divulgada a potencialidade de eliminar a Filariose linfática no mundo (BRASIL, 1997, 2000). Diante desta possibilidade foi traçado um Plano Nacional de Eliminação da Filariose no Brasil. Nas regiões onde a prevalência seja \geq a 10% deverá ser implementado o tratamento em massa com a droga dietilcarbamazina (DEC) ou Ivermectina (IV), podendo essas drogas estar associadas (OTTESEN et al., 1997; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1997). Além disso, dentre as metas desse Plano está à utilização da pesquisa de antígeno circulante de *W. bancrofti* por meio dos anticorpos monoclonais Og4C3 e AD12, como indicador da monitorização da eficácia do tratamento específico realizado nas comunidades (OTTESEN et al., 1997).

2.5 Formas clínicas

A manifestação clínica da filariose bancroftiana é bastante diversificada, dependendo, dentre outros fatores, do estágio do parasita envolvido e da resposta imunológica apresentada pelo paciente (DREYER; NORÕES, 1997).

A bancroftose constitui uma das mais importantes causas de morbidade aguda e crônica, afetando principalmente indivíduos de baixo poder sócio-econômico de todas as idades e ambos os sexos. Raramente a infecção por esse helminto pode levar o indivíduo a óbito (ROCHA, 2000). Entretanto, essa parasitose pode provocar danos irreversíveis aos vasos linfáticos através dos processos de obstrução (transitória) e principalmente de dilatação (permanente), tendo como consequência as formas clínicas desfigurantes (ADDIS; DREYER, 2000).

A forma aguda não parece ser tão freqüente em indivíduos que moram em área endêmica (DREYER; DREYER; PIESSENS, 1999). Entretanto, acomete a maioria dos imigrantes recém chegados a essas áreas, onde existe transmissão da doença (HODGE; DENHOFF; VANDERVEER, 1945). Estima-se que a forma crônica, representada pelo edema linfático, principalmente de membros inferiores e comprometimento urogenital, atinja cerca de quarenta e nove milhões dos adultos infectados (NICOLAS et al., 1997). Entre os que apresentam manifestações crônicas, o sexo masculino adulto é o mais afetado e o aparelho gênito-urinário é o grande alvo da doença nesses indivíduos que têm na hidrocele a sua principal manifestação (ADDIS et al., 1995). Em contraste, o linfedema ocorre com maior freqüência nas mulheres do que nos homens (BANDYOPADHYAY, 1996; LAMMIE et al., 1993).

Em área endêmica de acordo com Dreyer e Rocha (2001), podem-se classificar os habitantes nos seguintes grupos:

- a) Grupo I: destacamos os indivíduos infectados (microfilarêmicos) e os amicrofilarêmicos portadores de vermes adultos;
- b) Grupo II: temos os indivíduos que apresentam as linfangites retrógradas e as adenites. Estes episódios são causados pela morte dos vermes adultos localizados em vasos linfáticos ou linfonodos, podendo ocorrer “espontaneamente” ou após o tratamento específico (DREYER et al., 1994; DREYER et al., 1995; DREYER; ROCHA, 2001);
- c) Grupo III: temos os indivíduos que podem apresentar a quilúria, quilocele, hidrocele, linfedema (membros, mama, escroto, pênis e pouco freqüente em vulva), adenopatias e hematúria, esta última causada pela microfilária;
- d) Grupo IV: temos a EPT, que é uma forma muito rara de apresentação clínica da doença filarial. Os pacientes apresentam ataques asmáticos e tosse de predominância noturna, de longa duração, não respondendo adequadamente a broncodilatadores ou corticoides de forma resolvida. Vale salientar que esta forma de apresentação da doença é a única que apresenta hipereosinofilia periférica (maior ou igual a 3.000 eosinófilos por mm³) (COUTINHO et al., 1998);

e) Grupo V: inclui todos os indivíduos morando em área endêmica sem apresentar sinais ou sintomas da doença filarial (DREYER et al., 1996).

2.6 Diagnósticos laboratoriais

No tocante ao diagnóstico laboratorial citamos abaixo os principais testes e técnicas disponíveis e rotineiramente utilizadas no diagnóstico parasitológico e sorológico da bancroftose.

2.6.1 Diagnóstico parasitológico

2.6.1.1 Gota espessa (GE)

Até a década de 80 a técnica de GE com sangue capilar sob análise microscópica, podendo ser mensurada ou não, era o teste mais utilizado para o diagnóstico de infecção parasitológica com *W. bancrofti* tanto em comunidade quanto individual (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1984). No entanto a pesquisa de microfilárias em amostras sanguíneas deve levar em consideração a periodicidade do verme (maior pico de densidade das microfilárias no sangue periférico) em cada região endêmica. No Brasil esta periodicidade ocorre entre 23:00 e 1:00h da manhã (ROCHA, 2000). Dentre os principais fatores para a indicação da GE estão os baixos custos e o fácil manuseio laboratorial (CHANDRASENA et al., 2002; FARIS et al., 1993; MCMAHON et al., 1979; PANI et al., 2000).

2.6.1.2 Técnicas de concentração (knott e filtração)

As técnicas de concentração utilizam maiores volumes de sangue de origem venosa (geralmente 1 a 5 ml), o que proporciona uma maior sensibilidade (ROCHA, 2000). A técnica descrita por Knott em 1939 foi a primeira a ser empregada, sendo hoje substituída pela filtração em membrana de policarbonato (**Figura 3**) (CHULARERK; DESOWITZ, 1970). A utilização da técnica de membranas filtrantes foi inicialmente introduzida no diagnóstico filarial a partir dos estudos desenvolvidos por Bell em 1967. Isto proporcionou novos rumos ao diagnóstico parasitológico, envolvendo a pesquisa de microfilárias. Esta técnica é considerada como o “teste ouro” para investigação e quantificação da microfilaremia, pré, durante e pós-tratamento. A filtração em membranas de policarbonato apresenta uma elevada sensibilidade no diagnóstico filarial, uma vez que é a única disponível que possibilita a investigação de microfilárias em até 10 ml de sangue total utilizando uma única membrana (CHULARERK; DESOWITZ, 1970; DENNIS; KAEN, 1971; ROCHA, 2000). Assim, a filtração em membranas de policarbonato tem possibilitado a identificação de indivíduos com baixa ou baixíssima parasitemia, que foram negativos pelas técnicas de gota espessa e concentração de Knott (ROCHA, 2004).

O diagnóstico clínico e parasitológico direto da doença, muitas vezes não é fácil, o que faz do sorodiagnóstico uma opção necessária. Ao mesmo tempo, um imenso desafio para os imunoparasitologistas, apresenta-se por não se dispor de um modelo experimental, o qual possibilitaria o conhecimento da relação clínica-imunológica do parasita-hospedeiro, a exemplo do que se tem na esquistosomose mansônica ou na malária, particularmente em relação a testes diagnósticos (HAGAN; ABATH, 1992; MONTENEGRO, 1992).

Desta forma, um teste que possa ser realizado a qualquer hora do dia é extremamente atrativo para os sistemas de saúde das regiões endêmicas, tanto em âmbito individual quanto da própria comunidade.

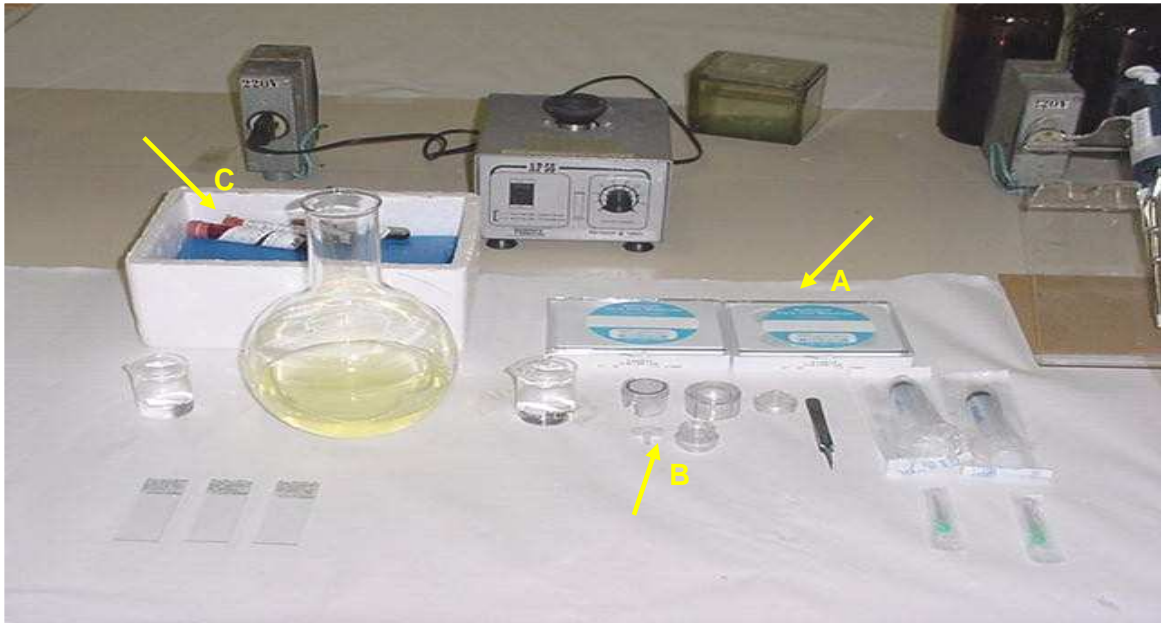


Figura 3. Materiais utilizados na técnica de filtração em membrana de polycarbonato para quantificação de microfilárias.

Fonte: Rocha (2002)

Nota: A) Caixas de membranas Nucleopore®, B) Suportes para as membranas, C) Amostras sanguíneas devidamente identificadas.

2.6.1.3 Técnica de imagem (pesquisa de vermes adultos)

A técnica do ultrassom (US) tem sido utilizada largamente nos diversos países tropicais, para localização de vermes adultos de diferentes parasitas, dentre os quais destacamos o *Schistosoma mansoni*, *Ascaris lumbricoides*, *Echinococcus granulosus* em locais erráticos no corpo humano, causando as mais diferentes patologias (RICHTER; HATZ; HAUSSINGER, 2003).

Os vermes adultos, ao contrário das microfilárias, não migram. Eles se desenvolvem e permanecem no mesmo sítio de localização dentro de vasos linfáticos dilatados e linfonodos, podendo ser detectados eventualmente por ocasião de biópsias, e em exames ultrassonográficos, quando vivos, devido aos seus movimentos característicos conhecidos como “Sinal da Dança da Filária”, (SDF).

A ultrassonografia indubitavelmente pode ser considerada como um dos maiores avanços da parasitologia médica, dos últimos cinquenta anos, como metodologia empregada

no diagnóstico da bancroftose. Este recurso permite a visualização de linfáticos dilatados, particularmente em área escrotal, em indivíduos assintomáticos, com ou sem microfilaremia, possibilitando a detecção de casos de infecção filarial oculta definido como amicrofilaremia associada à presença de vermes adultos. Adicionalmente, esse exame é de grande utilidade para o monitoramento do tratamento possibilitando a identificação de vermes refratários.

No entanto, a ultrassonografia, como método diagnóstico de infecção filarial, apresenta limitações. Os vermes adultos não têm uma localização única (podem ocorrer vários “ninhos”) dentro do organismo humano, o que dificulta o exame em todo o sistema linfático gerando um custo operacional elevado o que impede seu uso como rotina diagnóstica nos serviços de saúde pública das áreas endêmicas.

O exame histopatológico realizado através de biópsias de linfonodos, pode revelar vermes adultos degenerados, calcificados ou não, total ou parcialmente reabsorvidos e outros aparentemente íntegros. A biópsia, por ser um exame invasivo, não é recomendada na rotina do diagnóstico da bancroftose. Porém, muitas vezes é necessária para o diagnóstico diferencial com outras patologias.

Em estudos desenvolvidos no Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM), Amaral et al. (1994), foram capazes de identificar pela primeira vez, utilizando o US, vermes adultos vivos de *W. bancrofti* em vaso linfático, especificamente em vasos intraescrotais do cordão espermático (**Figura 4**).

Com o uso dessa nova ferramenta, pode-se oferecer aos pacientes portadores de bancroftose um tratamento alternativo para retirada do verme adulto, através da realização de uma cirurgia. Este tipo de procedimento pode ocorrer nos casos onde a população de vermes adultos seja refratária as droga do tratamento.

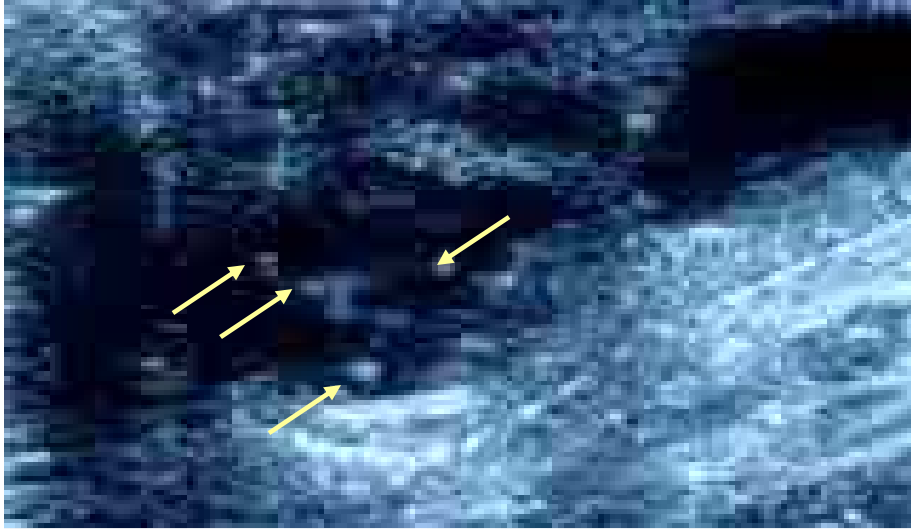


Figura 4. Imagem ultrassonográfica: Verme Adulto de *Wuchereria bancrofti*.

Fonte: Rocha (2003).

Nota: As setas indicam o corpo do Verme dentro do vaso linfático, visualizado através da técnica de ultrassom.

2.6.2 Diagnóstico sorológico

2.6.2.1 Pesquisa de anticorpo

Os testes preconizados para a pesquisa de anticorpos na doença filarial, até o momento, utilizam extratos brutos dos parasitos homólogos (por exemplo, a imunofluorescência [IMF] para *W. bancrofti*) ou heterólogos (imunoenzimáticos [ELISA] com vermes adultos de *B. malayi*). Isso provoca geralmente reações cruzadas com outras infecções, fazendo com que a especificidade do teste seja prejudicada (ROCHA, 1995). Estas técnicas sorológicas, geralmente não diferenciam os indivíduos com infecção ativa daqueles com infecção passada ou os indivíduos que já tenha sido exposto às larvas infectantes de forma esporádica ou mesmo contínua, mesmo que não se tornem infectados (ROCHA, 2000).

Um novo teste sorológico para filariose linfática, baseado em pesquisa de anticorpos pelo antígeno recombinante filarial BmM14, foi recentemente desenvolvido podendo ser realizado a qualquer hora do dia. Este antígeno foi selecionado de uma biblioteca de expressão de cDNA de *B. Malayi* sendo reconhecido no soro de pacientes com filariose

linfática mas não em pacientes com infecção por helmintos não filariais. Estudos preliminares com soro de pacientes da Índia indicaram que o ELISA baseado na detecção de anticorpos IgG4 para BmM14 parece apresentar uma alta sensibilidade para o diagnóstico de pacientes com filariose causada pela *Brugia malayi* ou *Wuchereria bancrofti* com infecção ativa ou em endêmicos normais (CHANDRASHEKAR et al., 1994).

2.6.2.2 Pesquisa de antígeno

Devido à limitação diagnóstica prática dos testes que utilizam a pesquisa de anticorpo na bancroftose, os quais até o momento não estão padronizados, o Programa de Pesquisa em Doenças Tropicais da Organização Mundial da Saúde (TDR/ORAGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE) enfatizou a necessidade de serem gerados testes sorológicos capazes de detectar antígenos circulantes nos períodos pré-patente, patente, de cura e de reinfeção na filariose bancroftiana (ORAGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1992). Vários pesquisadores têm demonstrado que tais testes são factíveis. Dentre eles destacamos Santhanam et al. (1989) que utilizando anticorpos monoclonais demonstraram a presença de antígenos circulantes filariais. Recentemente foram obtidos dois anticorpos monoclonais (AcMo) denominados de Og4C3 e AD12, para diagnóstico da filariose bancroftiana, utilizando técnicas imunoenzimáticas (MORE; COPEMAN, 1990; WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997).

O teste do Og4C3 foi o primeiro a tornar-se disponível comercialmente no formato de kit utilizando a técnica imunoenzimática (ELISA) (*W. bancrofti* ELISA kit, fabricado por JCU Tropical Biotechnology Pty. Ltd., Townsville, Queensland, Austrália) (**Figura 5**) (TROPBIO, 1996). O Og4C3 é um anticorpo monoclonal da classe das imunoglobulinas IgM, produzido contra antígenos do parasita bovino *Onchocerca gibsoni*, que curiosamente reconhece antígenos circulantes no soro ou plasma de indivíduos infectados com *W. bancrofti* e que não apresenta positividade frente a infecções com a *O. gibsoni* (MORE; COPEMAN, 1990).

Com a necessidade crescente de se ter um teste de fácil aplicação no campo dispensando a utilização de equipamentos, foi lançado pela ICT Diagnostic (Balgowlah, New South Wales, Austrália), atualmente BINAX, um teste rápido em Cartão (ICT) (**Figura 6**), utilizando o anticorpo monoclonal AD12, o qual reconhece um antígeno de 200 kD, que

segundo alguns autores é originário de vermes adultos (EBERHARD et al., 1997; FARIS et al., 1993; ; WEIL et al., 1987; WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997). A grande vantagem do teste rápido em cartões é que pode ser utilizado com amostras de soro, plasma, líquido hidrocélico e sangue total e a leitura pode ser feita em até 10 minutos. Pela simplicidade, esse teste parece bastante promissor para ser utilizado em larga escala em áreas endêmicas (ROCHA, 2004; WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997). O anticorpo AD12 parece reconhecer antígeno(s) do estágio de parasita adulto, devendo *a priori* interpretar-se o teste, quando positivo, como sendo o resultado da presença do verme adulto, independente do *status* de amicro ou microfilaremia do paciente.

Apesar das observações referentes aos dois anticorpos monoclonais os antígenos que ambos detectam podem ser compartilhados tanto pelos vermes adultos com pelas microfilárias (LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994; ROCHA et al., 1996). No entanto, destacamos a grande vantagem de ambos os testes em detectar antígeno circulante de *W. bancrofti* a qualquer hora, tanto diurno com noturno, sendo constante a concentração de antígeno no soro ao longo do dia (LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994; ROCHA et al., 1996; WEIL et al., 1996; WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997). Entretanto deve-se enfatizar que a pesquisa de antígeno circulante pode não ser uma ferramenta esclarecedora como diagnóstico no seguimento pós tratamento, tanto individual, quanto em comunidade (tratamento em massa). Sendo assim, estudos precisam ser direcionados no sentido de esclarecer qual o tempo médio do antígeno circulante, bem como, se a morte dos vermes adultos, monitorizados pela ultrassonografia, acarreta o declínio dos níveis sorológicos do antígeno circulante, assegurando desta forma a cura da infecção.



Figura 5. Kit do teste Og4C3.

Fonte: Rocha (2002).

Nota: Trop-Ag *W. bancrofti* ELISA Kit, fabricado pela JCU Tropical Biotechnology Pty. Ltd. Townsville, Queensland, Austrália.

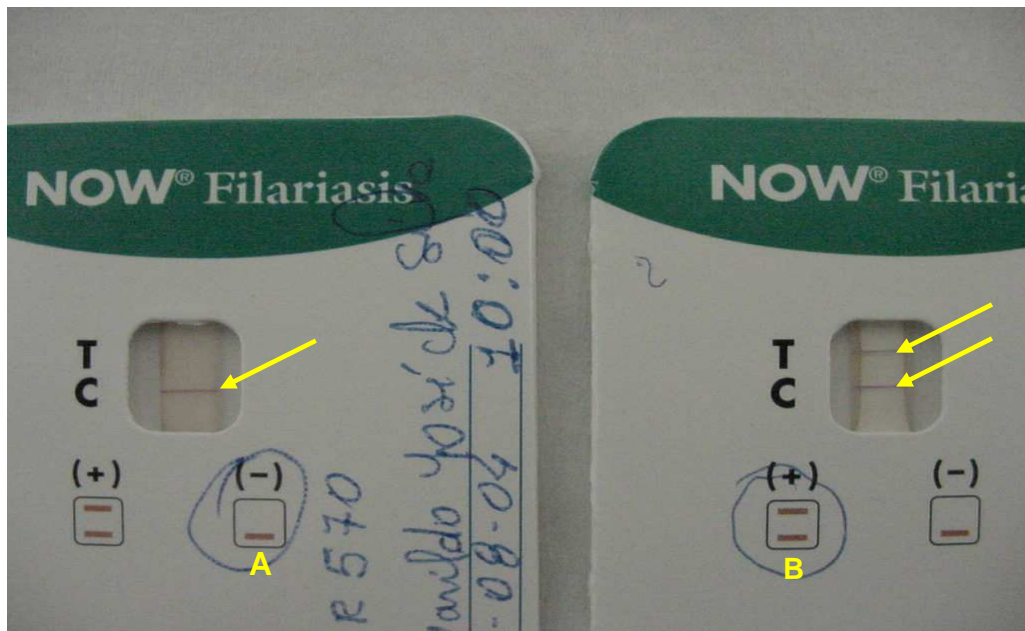


Figura 6. Cartão do teste ICT para *Wuchereria bancrofti*.

Fonte: Rocha (2002).

Nota: A) Resultado negativo, B) Resultado positivo.

2.7 Tratamento

Nas áreas endêmicas para Filariose linfática (FL) existem essencialmente duas modalidades de tratamento: o seletivo e o tratamento em massa ou coletivo. No tratamento coletivo, os indivíduos são examinados e constatada a infecção são tratados juntamente com toda a comunidade.

O programa de controle e eliminação da FL tem como objetivo eliminá-la até 2020. Para que isso ocorra a Organização Mundial de Saúde tem como meta tratar 1.1 bilhão de indivíduos vivendo nas áreas endêmicas até 2020 (OTTESEN, 2000). Com a disponibilidade de novas ferramentas diagnósticas, identificando a infecção com a *W. bancrofti*, é imperativo, o quanto antes o tratamento com a droga específica, evitando a progressão dos danos linfáticos (ADDISS; DREYER, 2000).

Outra abordagem terapêutica, envolvendo tratamento coletivo, é a utilização do sal (cloreto de sódio) medicado com a dietilcarbamazina (DEC), numa concentração que pode variar de 0.1 a 0.6% (GELBRAND, 1994; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1994). Esta alternativa foi utilizada pela primeira vez em Recife por Hawking e Marques (1967). Varias áreas endêmicas do mundo têm utilizado esta forma de tratamento, principalmente a China (JING-YUAN; XIAO-HONG; ZHAO-PING, 1992), Índia (KRISHNARAO; KATIR; GHOSH, 1991) e Tanzânia (MEYROWITSCH; SIMONSEN; MAKUNDE, 1996), apresentando pleno sucesso no controle da infecção causada pela FL.

O tratamento na filariase linfática bancroftiana, no seu espectro mais amplo, visa à cura da infecção do indivíduo, a interrupção da transmissão comunitária e a resolução ou minimização das repercussões clínicas desta infecção (OTTESEN et al., 1997; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002).

Para tanto, o arsenal terapêutico disponível inclui drogas macrofilaricidas (ação contra os vermes adultos) e/ou microfilaricidas (ação contra as microfilárias), intervenções clínicas sobre a morbidade da doença e medidas de caráter sócio-ambiental auxiliares no controle da transmissão. A droga de escolha é a dietilcarbamazina (DEC), que é derivada da piperazina, e tem sido indicada para o tratamento da filariose bancroftiana há mais de cinquenta anos, tanto individual quanto para o tratamento em massa, por ter a vantagem de ser micro e macrofilaricida (HEWITT et al., 1947). A dose clássica de DEC recomendada pela OMS é de 6mg/kg 12 dias consecutivos, enfatizando a possibilidade de repetições até o total

desaparecimento da microfilaremia (OTTESEN, 1985; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1992).

O Programa de controle e eliminação da FL está centrado, principalmente no tratamento quimioterápico, utilizando a DEC sozinha ou associada a outros anti-helmínticos intestinais como a ivermectina (IV) e o albendazol (ALB) (OTTESEN, 2000). Esquemas terapêuticos com doses únicas de DEC, IV e ALB, em respectivas doses, sozinhas ou utilizando várias combinações entre elas, têm proporcionado uma rápida e eficaz queda da densidade de microfilaria, nas diversas áreas endêmicas do mundo (COUTINHO et al., 1994; DUNYO; NKUMAH; SIMONSEN, 2000; GYAPONG, 2000; SHENOY; JOHN; BABU, 2000).

2.7.1 Tratamento coletivo

No ano de 2000 foi estabelecida estratégia de combate mundial à filariose intitulada Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática (PGEFL), como uma resposta à Resolução de 1997 da Assembléia Mundial de Saúde que considerou essa doença um problema de saúde pública mundial de possível eliminação. As estratégias do programa, para atingir esses objetivos, fundamentaram-se em dois pilares: interrupção da transmissão, através do tratamento em massa, e controle da morbidade da doença (ADDISS; BRADY, 2007).

A interrupção da transmissão deve ser orientada para a população sob risco e visa reduzir a carga filarial na comunidade. A disponibilidade de novos esquemas terapêuticos empregados em regime de dose única anual, possibilitou associação efetiva e segura de drogas por um período prolongado de quarenta e oito a oitenta e dois meses. Os diversos países endêmicos, que aderiram ao programa, optaram por diferentes alternativas de tratamento em função de suas realidades epidemiológicas (OTTESEN et al., 1997; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002). Essas alternativas são:

a) Albendazol (400 mg, independente da idade) associado à DEC (6 mg por cada 1 Kg de peso corporal): este regime é adequado para bancroftose, apenas, para países não co-endêmicos por *Onchocerca volvulus* e/ou *Loa loa*. Essa estratégia baseia-se na constatação de que uma única dose de DEC, nesta posologia, é eficaz em reduzir a carga de microfilárias circulantes. A associação do albendazol intensifica esse efeito, tendo, além disso, significativo

impacto na eliminação de parasitos intestinais, como ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis* e *Trichuris trichiura*, que também são, em geral, altamente endêmicos nas áreas onde ocorre a filariose linfática.

b) Albendazol (400 mg, independente da idade) associado à ivermectina (150 a 200 µg por cada 1 Kg de peso corporal): este regime é recomendado para uso em países ou áreas endêmicas em filariose linfática com ocorrência simultânea da oncocercose ou loíase, onde é contra-indicado o uso de DEC devido ao potencial de desenvolvimento de fortes reações adversas que esta droga induz em pacientes infectados com *O. volvulus* e *L. loa*.

c) Sal de cozinha fortificado com DEC (0,2% a 0,4% p/p de DEC adicionado ao sal): o consumo de sal de cozinha misturado com DEC, em substituição ao sal convencional, é aplicado pelo período de seis a 12 meses, podendo ser prorrogado. Este regime de tratamento comunitário, para quebra de transmissão, pode ser uma opção útil em certas localidades com características especiais, onde se possa obter um efetivo controle do consumo deste sal, como observado na China no passado. A DEC é resistente ao cozimento e não altera a cor ou sabor dos alimentos. Ela oferece uma ampla margem de segurança para o tratamento e a dose diária administrada através do sal fortificado é muito menor do que uma dose diária de DEC usada no tratamento comunitário convencional, observando-se, assim, menor presença de efeitos adversos. No entanto, assim como nos outros regimes de tratamento com DEC, o sal fortificado não deve ser utilizado em regiões onde ocorram *O. volvulus* e/ou *L. loa* (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002).



Figura 7. Tratamento em massa.

Fonte: Rocha (2008).

Nota: Realizado na comunidade de Água Fria, Recife, PE, Brasil.

2.7.2 Tratamento individual

O tratamento antifilarial está indicado em todos os indivíduos com evidência de infecção ativa, ou seja, naqueles em que se identifiquem microfilárias e/ou vermes adultos de *W. bancrofti*, independente da presença ou não de qualquer manifestação clínica relacionada direta ou indiretamente à filariose linfática.

A droga de escolha para o tratamento individual é a DEC. O regime clássico de tratamento, recomendado pela OMS, é de 6 mg/Kg de peso corporal/dia, durante 12 dias. Esta posologia leva a uma rápida e acentuada redução da microfilaremia, embora não ocorra uma completa eliminação das microfilárias da circulação periférica na maioria dos indivíduos (FIGUEREDO et al., 2002; HEWITT et al., 1947). Por outro lado, uma dose única de DEC de 6 mg / Kg de peso causa uma redução mais lenta da microfilaremia, embora esses níveis sejam similares seis a doze meses após o tratamento com DEC em ambos esquemas terapêuticos (DREYER; DREYER; PIESSENS, 1999).

A eficácia da DEC em causar morte do verme adulto é variada. O monitoramento direto do efeito da DEC nos vermes adultos, *in vivo*, tem sido realizado através de

investigação por ultrassonografia. Nos casos em que os vermes não são susceptíveis à dose clássica, também não responderão a doses mais elevadas. Assim, a resposta terapêutica de cada indivíduo não é previsível e é dependente da sensibilidade dos vermes à droga (AMARAL et al., 1994).

A DEC parece não ter qualquer efeito na função do vaso linfático, ou seja, não altera o linfedema ou a hidrocele de longa duração. Assim, a droga não é útil para o tratamento das manifestações crônicas da doença que não esteja associada à infecção filarial ativa (DREYER; NORÕES, 1997).

2.7.3 Controle da infecção e morbidade filarial

Embora o Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática tenha alcançado uma grande adesão e avanço no número de indivíduos submetidos ao tratamento em massa e conseqüente redução da prevalência da infecção, a abordagem e assistência aos indivíduos com morbidade filarial não alcançou o mesmo patamar. No Brasil, inquéritos epidemiológicos através de queixa referida – principalmente linfedema e hidrocele - têm sido realizados em Maceió e na Região Metropolitana do Recife para identificar o número de indivíduos comprometidos e possibilitar o planejamento e a implantação de programas e estratégias, no sentido de oferecer aos indivíduos com doença filarial um tratamento e acompanhamento adequado. Medidas que propiciem melhora do retorno linfático e venoso, tais como fisioterapia ativa, drenagem postural e estímulo a caminhadas, são úteis como condutas adicionais. O uso de meias compressivas pode ser indicado em alguns casos em estágios menos severos da doença (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1997).

Tratamento antimicrobiano efetivo, durante episódios agudos de infecção bacteriana ou fúngica, é necessário. Tem sido utilizado com sucesso o esquema com penicilina benzatina, associado a antibioticoterapia tópica quando necessário. O tratamento definitivo da hidrocele e da quilocele é cirúrgico. A técnica cirúrgica mais indicada é a completa excisão da túnica vaginal. Acredita-se que o comprometimento da túnica pela infecção filarial já poder ser a causa de importantes alterações patológicas, o que pode levar a um constante extravasamento de líquido caso se utilize apenas a técnica de eversão desse tecido. Na abordagem do linfoescroto, alguns centros especializados realizam cirurgias reconstrutoras com bons resultados (AMARAL et al., 1994).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Analisar a cinética de antígeno dos indivíduos infectados com a *Wuchereria bancrofti* após a realização do início do tratamento (DEC/ Cirurgia).

3.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar o antígeno circulante através dos testes de Og4C3-ELISA e cartão ICT na detecção do portador da bancroftose;
- b) Avaliar qual tratamento foi mais eficaz em relação à diminuição da concentração ACF por meio do AcMo Og4C3-ELISA e AD12;
- c) Identificar a partir de que período observa-se uma queda significativa do antígeno circulante após o início do tratamento;
- d) Avaliar a concentração de antígeno circulante frente à densidade de microfilarias;
- e) Verificar a morte dos vermes adultos in vivo utilizando o ultrassom pós tratamento.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 Área de estudo

Indivíduos oriundos da Região Metropolitana de Recife/PE-Brasil área endêmica de Filariose Linfática, de ambos os sexos. Microfilarêmicos e amicrofilarêmicos, atendidos no ambulatório do Serviço de Referência Nacional em Filarioses (SRNF) Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

4.2 Desenho de Estudo

Foi definido como desenho do estudo longitudinal retrospectivo com grupos de comparação, em virtude do tempo de análise, salientando a comparação entre os três grupos de tratamento (dose única, tradicional e cirúrgico), avaliados pré e pós início do tratamento ao longo de um período de 120 meses.

4.3 População de estudo e período de referência

Indivíduos oriundos da Região Metropolitana de Recife/PE-Brasil área endêmica de Filariose Linfática atendidos no SRNF - FIOCRUZ.

O período de referência do estudo foi definido de acordo com a cronologia de acompanhamento dos pacientes do SRNF. Englobando pacientes acompanhados pelo SRNF desde o ano de 1989 até o ano de 2008.

4.4 Fonte de dados

Os dados utilizados para o desenvolvimento do referido estudo foram extraídos dos prontuários dos indivíduos cadastrados no SRFN do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), ou seja, de um banco secundário.

No prontuário constam informações e caracterização do paciente, como atendimento ambulatorial, anamnese clínica, folha de evolução contendo os resultados dos exames laboratoriais (pesquisa parasitológica e antigênica), o tipo de tratamento escolhido pelo médico e o acompanhamento do mesmo ao longo do período de tratamento, seguimento pós tratamento (critério de cura), exame urológico, ultrassonográfico e evolução cirúrgica.

4.5 Definição de variáveis e indicadores

No quadro a seguir, encontra-se especificado as variáveis dependentes e independentes no estudo relatado:

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO/CATEGORIZAÇÃO
Indivíduos microfilarêmicos	Indivíduos portadores da forma embrionária da doença, denominada microfilária.
Indivíduos amicrofilarêmicos	Indivíduos portadores de verme adulto, sem a forma embrionária do parasita.

Quadro 1: Variáveis dependentes

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO/CATEGORIZAÇÃO
Sexo	Masculino e feminino
Faixa etária	Definido de acordo com o registro no prontuário do SRNF. Indivíduos com 11 à 61 anos (idade referente ao início do tratamento)
Bairro de residência	Definido de acordo com o registro no prontuário do SRNF. Indivíduos oriundos da Região Metropolitana do Recife (Olinda, Recife e Jaboatão dos Guararapes).
Tratamento	Definido de acordo com o registro no prontuário do SRNF atribuído pelo médico. Droga dietilcarbamazina DU, OMS ou cirurgia.

Quadro 2: Variáveis independentes.

A variável dependente foi obtida por meio da coleta de material biológico para a realização do exame de filtração em membrana em polycarbonato e para a pesquisa de antígeno circulante filarial utilizando dois anticorpos monoclonais (Og4C3 e AD12). As independentes através dos prontuários no ambulatório do SRNF.

4.6 Fatores de Inclusão

Foram incluídos no estudo todos os indivíduos cadastrados no SRFN do CPqAM, que possuíam amostra de material biológico(soro), armazenada no banco de amostras biológicas do SRFN- CPqAM. E que tinham acompanhamento ao longo do tratamento.

4.7 Limitação do estudo

O fator limitante do estudo é a dificuldade do acompanhamento do paciente pós início do tratamento, uma vez que alguns deles não dão continuidade à avaliação de cura, nem buscam o serviço para a reavaliação.

4.8 Caracterização da amostra

A amostra é composta por indivíduos atendidos SRNF do Centro de Pesquisas Aggeu /FIOCRUZ. Residentes da Região Metropolitana de Recife/PE-Brasil área endêmica de Filariose Linfática. De ambos os sexos, amicro e microfilarêmicos.

4.9 Coleta de material biológico

Para esse fim, foi coletado 6 ml de sangue venoso para a realização dos exames laboratoriais: filtração em membrana em policarbonato (4ml de sangue em tubo anticoagulante) e para a pesquisa de antígeno circulante filarial (tubo com 2ml de sangue venoso para obtenção de soro). Foi utilizado para coleta do sangue o material (seringa e agulha) descartável (inutilizado após um único uso) e estéril (sem contaminação).

4.10 Processamento e análise dos dados

Pesquisa e quantificação da microfilaremia pela técnica de filtração (TF)

Foram reservado 4ml da amostra coletada em tubo com anticoagulante. A pesquisa e quantificação da microfilaremia circulantes foram realizadas pela técnica de filtração em

membrana de policarbonato com 3 μm de poros (DENNIS; KAEN, 1971). No primeiro momento será filtrado 1ml do volume dos 4ml para a pesquisa e quantificação da microfilaremia. Nos casos dos exames negativos em 1 ml, será filtrado os 3 ml restantes para confirmação ou não da negatividade. Após a fixação e coloração pela Hematoxilina de Carazzi se procederá às leituras das membranas no microscópio óptico com utilizando um aumento de 160X. A técnica será considerada positiva se for encontrada em qualquer um dos filtros no mínimo 1 microfilária (MF) e considerada negativa quando não for encontrada nenhuma MF.

Pesquisa de antígeno circulante filarial

Foram reservado 2ml de sangue venoso para obtenção de soro. As amostras sorológicas foram então separadas, aliquotadas e guardadas a -20°C no banco de amostras sorológicas do Serviço de Referência Nacional em Filariose, até a hora do processamento para pesquisa do antígeno circulante pelo kit do Og4C3-ELISA (MORE; COPEMAN, 1990). Os testes foram realizados de acordo com as normas dos fabricantes e protocolos laboratoriais.

a) Pesquisa de antígeno circulante filarial com o teste Og4C3: uma amostra de 100 μl de soro de cada indivíduo foi diluída com 300 μl do diluente. Esta foi fervida por 5 minutos a 99°C , centrifugada a 10.000 g por 5 minutos e do sobrenadante retirada uma alíquota de 50 μl que será aplicada na placa em seu respectivo poço. Após a incubação da placa em câmara úmida por toda noite, ela é lavada por 3 vezes, com incubações de 1 hora cada, acrescentando primeiro uma solução diluída de anticorpo anti-*Onchocerca* de coelho, conjugado e cromógeno que acompanham o kit. Depois do ultimo período de incubação a placa é lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 414 e 492nm, onde os resultados serão expressos em absorbância. O valor de referência em unidade de antígeno é de que se a amostra for positiva para o antígeno filarial terá valor igual ou maior que 128 unidades de antígeno (UA). Caso a amostra seja negativa terá valor menor que 128 UA. A pesquisa para o antígeno foi realizada em um único momento e em duplicidade.

b) Pesquisa de antígeno circulante filarial com imunocromatografia rápida (ICT card_teste): será adicionado ao cartão ICT aberto na parte superior da almofada branca 100 µl de soro total, esperando que a mostra se desloque e molhe toda a área da almofada. Em seguida, o cartão foi fechado e após 10 minutos o resultado visualizado no visor do cartão. Se o resultado da amostra for positivo, aparecerão duas listras vermelhas no visor do cartão, caso seja negativo, só aparecerá uma listra vermelha na parte inferior do visor.

Análise estatística

Foi realizada uma análise descritiva para expor os resultados obtidos. A apresentação das variáveis mensuradas foi feita através de tabelas incluindo também o uso de algumas medidas descritivas como mínimo, máximo, média e desvio padrão. Para testar a suposição de normalidade foi utilizado o teste shapiro wilk, para comparação das variáveis envolvidas utilizou-se o t-student ou Mann-Whitney, foi utilizado o teste de Bartlett a suposição de homogeneidade das variáveis envolvidas no estudo. Para análise comparativa das variáveis quantitativas com mais de dois grupos, foi utilizado anova e como post hoc o teste de Tukey. Para a análise comparativa entre as variáveis qualitativas foi aplicado o teste qui-quadrado, e quando necessário Fisher. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5%.

5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A pesquisa foi feita a partir da coleta de dados registrada no prontuário do ambulatório do Serviço de Referência Nacional em Filariose. Para autorização do levantamento de dados nos prontuários dos pacientes vinculados ao referido ambulatório foi solicitada uma autorização a Coordenadora Médica do ambulatório do Serviço de Referência Nacional em Filariose, e ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães uma carta de anuência para a realização deste trabalho.

6 RESULTADOS

A cinética parasitológica (microfilaremia e verme adulto) e pesquisa do antígeno circulante filarial (ACF) foram avaliadas frente a 31 indivíduos de ambos os sexos (28 homens e 3 mulheres), sendo 24 microfilarêmicos e 7 amicrofilarêmicos que foram seguidos no ambulatório do Serviço de Referência Nacional em Filariose do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz, nos períodos pré, 1, 6, 12, 96 e 120 meses, por meio das técnicas de filtração (FN), ultrassom (US), Og4C3-ELISA (teste do Og4C3) e imunocromatografia rápida (ICT-teste). Os indivíduos foram agrupados de acordo com abordagem de tratamento, a saber: **Grupo I**: 10 indivíduos foram tratados com DEC dose única (DU); **Grupo II**: 11 indivíduos com DEC dose tradicional (OMS) e **Grupo III**: 10 indivíduos submetidos ao tratamento cirúrgico (CRG) (retirada de vermes adultos) (**tabela 1**).

A idade dos indivíduos estudados variou de 11 a 61 anos (**tabela 1**). Com relação à média de idade por grupo estudado foi de 25,1; 26,6 e 24 respectivamente para DU, OMS e CRG. No grupo II foi verificada a maior média de idade (26,6 anos), por outro lado o grupo III apresentou a menor média (24 anos). Com relação à idade não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,8161$). Nos pacientes do grupo III, quatro pacientes apresentavam vermes adultos bilateralmente, 1 mês de seguimento três foram tratados com DU e um foi resubmetido a cirurgia.

Tabela 1- Média de idade dos indivíduos de acordo com o tratamento submetido

Tratamento	N	Min	Max	Media	Desvio	p-valor
DU*	10	16	44	25,1	8,4	0,8161
OMS**	11	11	61	26,6	13,7	
CRG***	10	19	48	24,0	8,6	
TOTAL	31					

Nota: *DU= Dietilcarbamazina dose única

**OMS=Dietilcarbamazina OMS

***CRG= Tratamento cirúrgico

Tabela 2- Tendência do acompanhamento das ferramentas diagnósticas, frente aos indivíduos microfilarêmicos independentemente da abordagem de tratamento no período pré, 1, 6, 12, 96 e 120 meses

Ferramenta diagnóstica	Tempo de Acompanhamento											
	Pré		1 Mês		6 Meses		12 Meses		96 Meses		120 Meses	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
FN	24	100,0	17	70,8	14	58,3	12	50,0	1	4,1	1	4,1
OG4C3	24	100,0	23	95,8	21	87,5	19	79,1	5	20,8	0	0,0
ICT	24	100,0	24	100	21	87,5	19	79,1	5	20,8	0	0,0
US	24	100,0	10	41,6	9	37,5	7	29,1	3	12,5	0	0,0

p<0,001

Na tabela 2, os indivíduos foram agrupados e avaliados independentemente da abordagem de tratamento, frente à positividade de todas as ferramentas diagnósticas estudadas (avaliando apenas os indivíduos microfilarêmicos). Ao longo do estudo as técnicas do cartão ICT e Og4C3 foram 100% concordantes, exceção se fez, no seguimento de 1 mês onde um indivíduo negativou no Og4C3 e continuou positivo para o ICT. Observou-se que após 12 meses de tratamento 50,0%, 79,1%, 79,1% e 29,1% dos indivíduos apresentavam-se positivos frente as técnica de detecção: FN, Og4C3, ICT e US, respectivamente.. Não foi apresentada a análise no intervalo de dois a sete anos por não ter ocorrido diferença estaticamente significativa ($p>0.05$), (dado não apresentado). Por outro lado, a partir do seguimento de 96 meses verificou-se uma diminuição significativa ($p<0.001$) dos indivíduos positivos por meio das ferramentas diagnósticas parasitológicas (FN e US), ou seja, com relação à detecção de microfilárias apenas um indivíduo foi positivo com 204mf/4ml (4,1%) e visualização dos vermes adultos através do ultrassom 12,5%. As técnicas de detecção de antígeno, Og4C3 e ICT apresentaram 20,8% dos indivíduos positivos. No tocante há 120 meses independente da abordagem do início do tratamento, o mesmo indivíduo relatado anteriormente positivo em 96 meses diagnosticado pela técnica FN, encontra-se positivo após 120 meses com 3mf/4ml (4,1%) e nenhum indivíduo positivo para a técnica de ICT, Og4C3 e US (0%). O comportamento do ICT, OG4C3 e US foram similares, havendo uma redução no decorrer dos 120 meses equivalente a 100% e $p<0.001$ e o método diagnostico da FN com uma redução de 95,9% (204mf/4ml- 3mf/4ml). Ao longo do período do estudo verificamos que a antigenemia decai mais lentamente que a microfilaremia. No decorrer dos 96 meses a antigenemia decresce 79,2% e a microfilaremia no mesmo período de tempo, decresceu 95,9% .

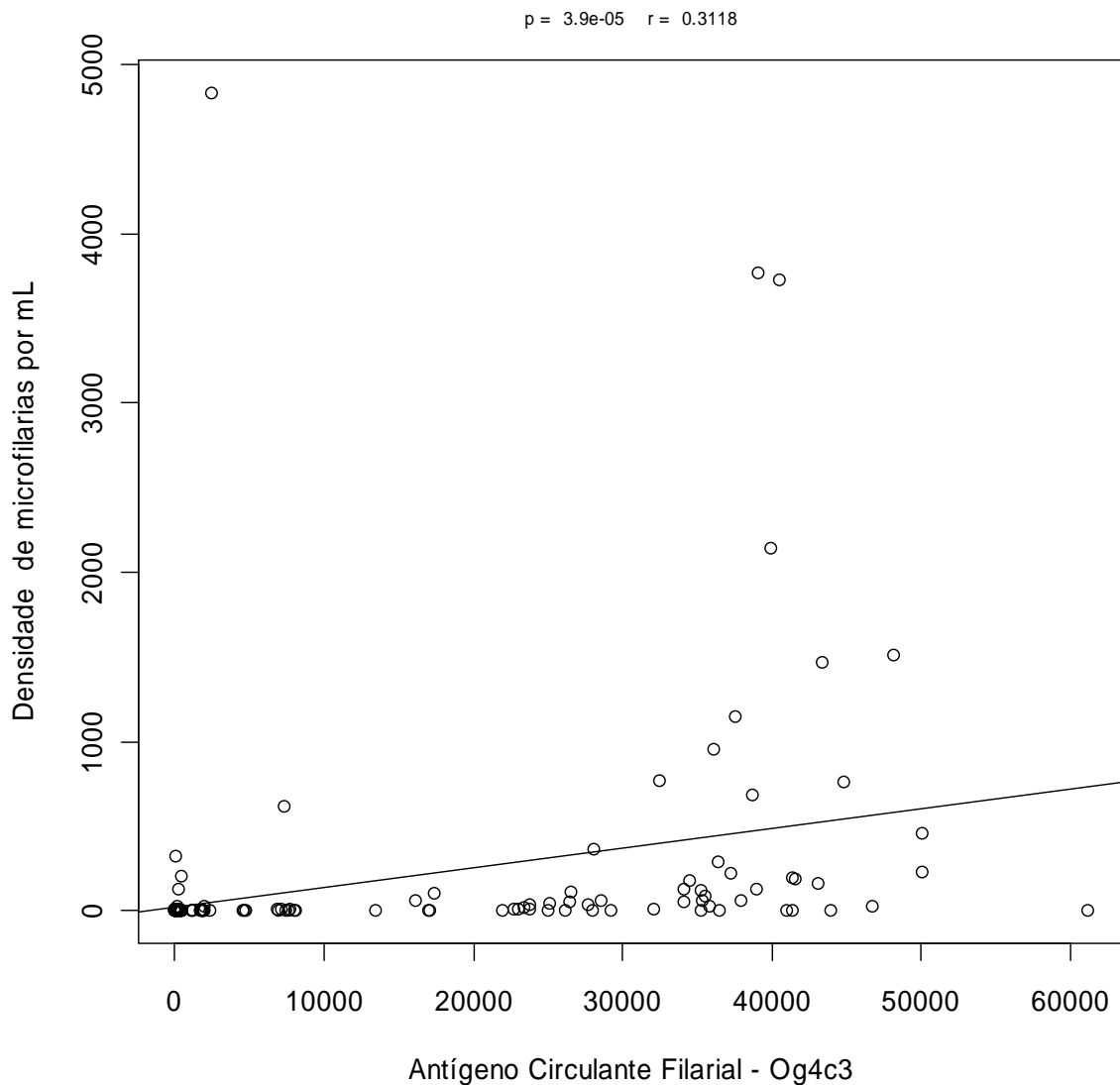


Gráfico 1- Correlação entre a densidade de microfíarias/mL e antigenemia quantificada pela ferramenta diagnóstica do antígeno circulante filarial, Og4C3-ELISA e filtração.

No gráfico 1 observou-se uma correlação positiva ($r=0,3118$, $P<0,0001$) crescente da densidade de MF/mL com o antígeno circulante filarial (ACF) diagnosticado de forma quantitativa pela ferramenta diagnóstica do Og4C3-ELISA (unidade de antígeno circulante/mL), ou seja, é proporcional o aumento da concentração de densidade de MF/mL com o aumento do ACF.

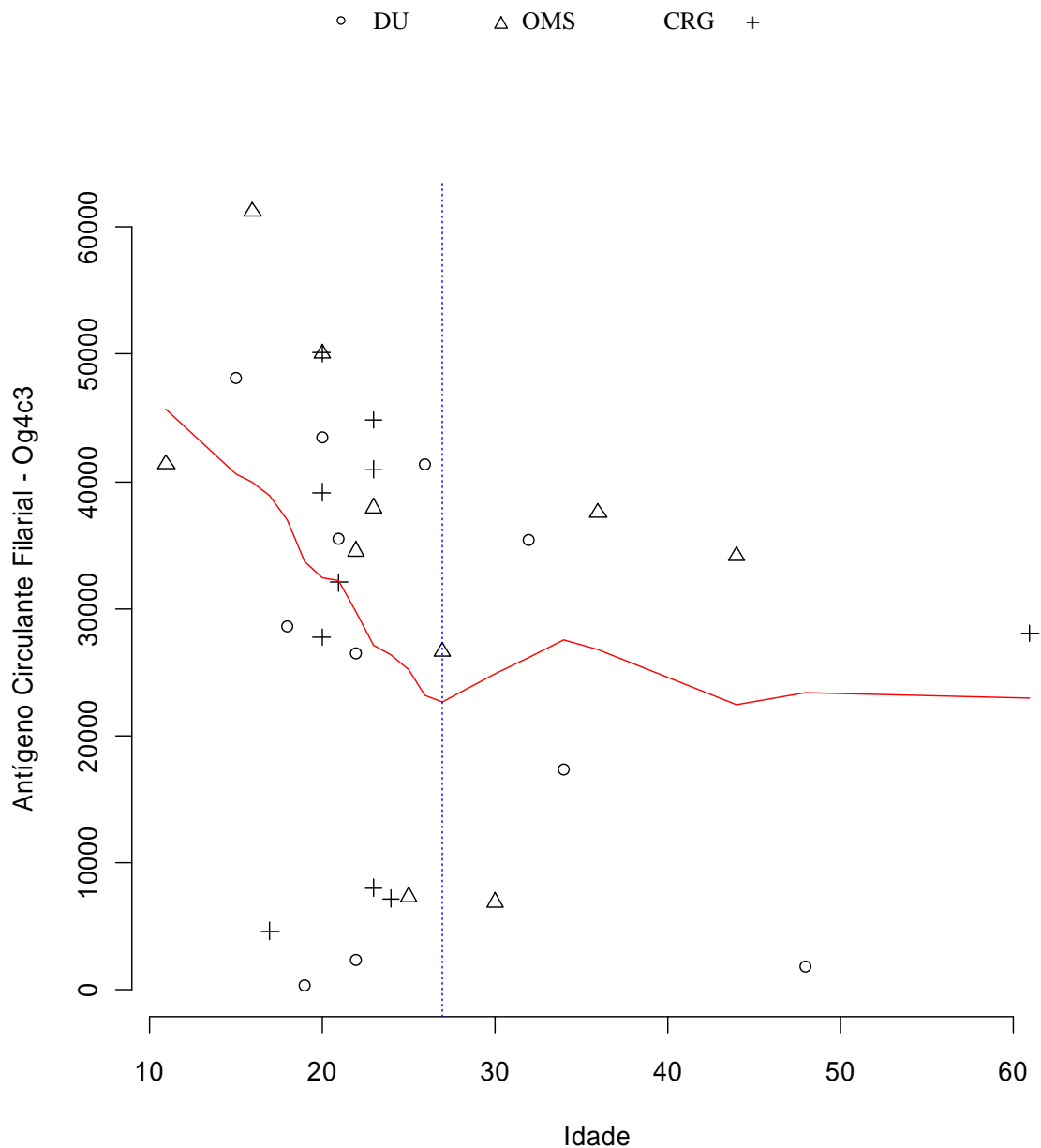


Gráfico 2-Tendência do ACF* Og4C3-Elisa frente à idade.

Relacionando o antígeno circulante filarial por meio do teste Og4C3-ELISA frente aos três grupos estudados, verificamos que a maioria dos indivíduos (77,4%) apresentaram a concentração de antígeno > 22.000 unidades de antígeno por mL e densidade de microfilárias 1-4835MF (544MF/mL). Observa-se maior concentração de antígeno na faixa etária inferior aos 27 anos (11- 27 anos) (gráfico 2).

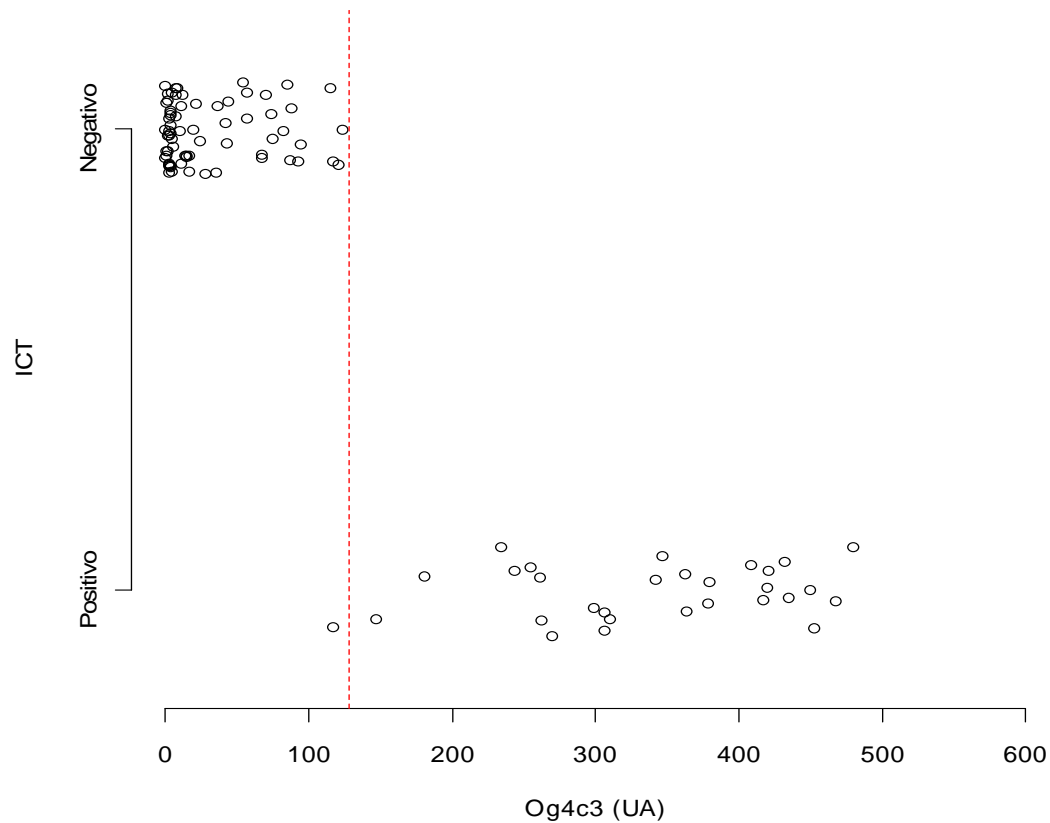


Gráfico 3- Comparação entre os testes de antígeno cartão ICT e o Elisa-Og4C3

Avaliando os 31 indivíduos no decorrer dos 120 meses frente à antigenemia diagnosticada pelas ferramentas quantitativa (Og4C3-ELISA) e qualitativa (cartão-ICT) que detectam ACF, verificamos que partindo do valor de referência de positividade do Og4C3-Elisa que é ≥ 128 UA, todos os indivíduos foram positivos no teste qualitativo do cartão ICT, com exceção de um indivíduo que apresentou 119UA, sendo positivo no teste imunocromatográfico (gráfico 3).

Tabela 3- Tendência do acompanhamento das ferramentas diagnósticas dependentemente da abordagem de tratamento (DU, OMS e CRG) no período pré, 1, 6, 12, 96 e 120 meses.

Ferramenta diagnóstica	Tratamento	Período de Acompanhamento (Positivos)					
		Pré N ^a / (%)	1 Mês N ^a / (%)	6 Meses N ^a / (%)	12 Meses N ^a / (%)	96 Meses N ^a (%)	120 Meses N ^a (%)
FN	DU*	5 (100)	3 (60,0)	3 (60,0)	2 (40,0)	1 (20,0)	1 (20)
	OMS**	11 (100)	7 (63,6)	6 (54,5)	5 (45,4)	0 (0,0)	0 (0,0)
	CRG***	8 (100)	7 (87,5)	5 (62,5)	5 (62,5)	0 (0,0)	0 (0,0)
OG4C3	DU*	10 (100)	6 (60,0)	5 (50,0)	3 (30,0)	2 (20,0)	0 (0,0)
	OMS**	11 (100)	8 (72,7)	7 (63,6)	7 (63,6)	1 (9,0)	0 (0,0)
	CRG***	10 (100)	9 (90,0)	8 (80,0)	8 (80,0)	2 (20,0)	1 (10,0)
ICT	DU*	10 (100)	7 (70,0)	5 (50,0)	4 (40,0)	2 (20,0)	0 (0,0)
	OMS**	11 (100)	8 (72,7)	7 (63,6)	7 (63,6)	1 (9,0)	0 (0,0)
	CRG***	10 (100)	9 (90,0)	8 (80,0)	5 (50,0)	2 (20,0)	1 (10,0)
US	DU*	10 (100)	5 (50,0)	4 (40,0)	4 (40,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	OMS**	11 (100)	3 (27,2)	2 (18,1)	1 (9,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	CRG***	10 (100)	4 (40,0)	3 (30,0)	2 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Nota: N^a = Número de indivíduos

*DU= Dietilcarbamazina dose única

**OMS=Dietilcarbamazina OMS

***CRG= Tratamento cirúrgico

Os indivíduos foram agrupados e avaliados de acordo com a abordagem de tratamento (DU, OMS e CRG), frente à positividade de todas as ferramentas diagnósticas estudadas (tabela 3). Na técnica de filtração foram avaliados unicamente indivíduos microfilarêmicos e nas demais técnicas avaliados todos os indivíduos que compõem nossa amostra (amicro e microfilarêmicos). Observou-se que após 96 meses, os tratamentos com OMS e CRG reduziram a 0% de indivíduos avaliados pela técnica de filtração e ultrassom. Já o tratamento DU reduziu em 80 % na técnica e filtração 100% avaliados pelo US. Comparando os três grupos estudados frente a cada ferramenta diagnóstica, verificamos que: o grupo 1 encontra-se ainda com 20% dos indivíduos positivos em 96 meses e os demais grupos 0% avaliados pela FN. As técnicas de detecção em antígeno Og4C3 e ICT se comportaram de forma similar ao longo do período de estudo e em 120 meses encontrou-se 0% dos indivíduos positivos no grupo 1 e 2 e 10% (reinfecção- 43.998UA) no grupo 3. A técnica para visualizar os vermes adultos foi a primeira a negativar em todos os grupos estudados no período de 96 meses. O tratamento que observamos uma menor número de indivíduos positivos foi através da medicação DEC OMS seguido de CRG e DEC DU. Todos os grupos frente as técnicas de detecção tiveram p valor significativo $p < 0,05$.

7 DISCUSSÃO

O presente estudo comparou o efeito do tratamento seletivo com DEC (nas dosagens de DU e OMS) e a intervenção cirúrgica sobre a microfilaremia e o marcador sorológico de infecção ativa (antigenemia), diagnosticados pelas técnicas parasitológicas de FN (microfilaremia), US (vermes adultos filarias) e a pesquisa de ACF (cartão ICT e Og4C3-ELISA) frente aos indivíduos micro e amicrofilarêmicos.

O principal objetivo do Programa de eliminação da Filariose Linfática é reduzir o reservatório humano com microfilárias circulantes, para menos de 1%, somado a redução para o índice menor que 0.1% nas crianças nascidas após o início do tratamento em massa, ambos diagnosticados pelas técnicas de gota espessa e pesquisa de antígeno circulante filarial (cartão ICT e Og4C3-ELISA) resultando na interrupção da transmissão da FL impossibilitando a infecção dos mosquitos vetores (MOLYNEUX ; ZAGARIA, 2002; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2005).

Vários estudos têm demonstrado que a transmissão da filariose linfática causada por *W. bancrofti* pode ser interrompida com estratégias de tratamento em massa ora utilizando dietilcarbamazina (DEC) sozinha, ora com associações de outros antihelmínticos (DEC em combinação com ivermectina ou albendazol). Por outro lado, ainda não se sabe com certeza qual o período ideal para interromper a medicação nas áreas alvo, que garantam a quebra da transmissão (MEYROWITSCH; SIMONSEN, 1998; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1994; OTTESEN, 1994). A intervenção cirúrgica tem sido introduzida pioneiramente no referido estudo como uma abordagem de cura parasitológica (retirada dos vermes adultos), nos indivíduos que não responderam ao tratamento com DEC, garantindo a quebra da transmissão e diminuição da morbidade filarial.

Avaliando globalmente os grupos dos indivíduos estudados, independente da abordagem de tratamento, frente ao diagnóstico parasitológico, no tocante a ferramenta diagnóstica de FN, na detecção de microfilárias, observamos que mesmo após 12 meses da intervenção dos tratamentos (DU, OMS ou CIRG), 50% dos indivíduos ainda apresentavam microfilárias circulantes. Por outro lado, estudos envolvendo a associação da DEC com albendazol em múltiplas doses, no mesmo período observado do nosso estudo, têm obtido reduções significativas na microfilaremia (75%), aumentando a possibilidade da quebra da

transmissão de forma mais efetiva (HELMY et al., 2006). Com relação ao ACF, neste mesmo período, interessantemente, apenas 20.9% dos indivíduos negativaram. Estudo desenvolvido por Njenga et al. 2008, avaliando o seguimento de 12 meses, relatam que a antigenemia decresce mais lentamente quando comparada a microfilaremia, e que esse achado seja decorrente da morte de uma pequena população de vermes adultos. Contudo, quando os indivíduos do nosso estudo foram submetidos ao ultrassom, avaliação direta das ações de tratamento, a maioria dos indivíduos (70.9%) negativaram os vermes adultos pela ausência do sinal da dança da filaria (SDF) (tabela 2). Os nossos dados corroboram com aqueles relatados anteriormente por Hussein et al. 2004. Assim, mesmo ocorrendo à cura parasitológica no período de 12 meses de tratamento, com elevadas concentrações de ACF (79.1%), como relatado no nosso estudo, não significa necessariamente infecção ativa. Este dado é reforçado quando comparamos o seguimento no período de 96 meses, onde ainda encontramos 20.8% indivíduos positivos na antigenemia e apenas 12,5% apresentam o SDF (tabela 2). No período de 120 meses apenas 01 indivíduo permaneceu positivo, com ultra baixa microfilarêmia (3MF/4mL) detectado pela técnica de FN. Este achado pode ter sido, possivelmente uma reinfeção, uma vez que o indivíduo mudou-se para área com maior prevalência. Com relação à negatificação nas demais ferramentas, ora no US (verme localizado em outra parte do corpo) ora na antigenemia, Rocha et al. 1996, têm demonstrado que indivíduos com baixas parasitemia ou amicrofilarêmicos podem não apresentar ACF.

No aspecto da concentração da antigenemia em relação à densidade de microfilárias estudos desenvolvidos por More e Cooperman (1990), Chanteau et al. (1994) e Lalitha et al. (1998), concluem que os anticorpos monoclonais AD12 e o Og4C3 detectam ACF especificamente dos vermes adultos. Vários estudos (incluindo o presente) não concordam com esta hipótese (IOTH et al., 1999; ROCHA et al., 1996; ROCHA et al., 2009). Esses autores demonstraram que o antígeno filarial está diretamente relacionado com a densidade de microfilárias, isto é, quanto maior a densidade de microfilárias maior os níveis de ACF. Possivelmente seja esta alta densidade de MF que acarrete altas densidades de ACF na maioria dos indivíduos do nosso estudo onde apresentaram concentrações de antígeno > 22.000 uni de Ag/mL e densidade de microfilárias 1-4835MF (544MF/mL).

No tocante a capacidade de detecção do ACF entre as técnicas qualitativa e quantitativa, observamos que apesar de vários autores referirem que a técnica do Og4C3 apresentem maior capacidade em detectar os indivíduos infectados (WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997) verificamos que todos os indivíduos foram positivos em ambos os testes, com

exceção de um indivíduo que apresentou 119UA, ou seja, com o quantidade de antígeno abaixo do valor de referência no Og4C3 (128UA) e positivo no teste imunocromatográfico. Estes resultados foram semelhantes aqueles reportados anteriormente por Helmy et al., 2006.

Quando avaliado de forma isolada qual a melhor eficácia do tratamento detectada pelas ferramentas diagnosticas, constatamos que apesar do número reduzido de indivíduos microfilarêmicos envolvidos no tratamento de DU, verificamos que aos 12 meses apenas 40,0% dos indivíduos permaneceram positivos, contra 45.4% (OMS) e 62.5% (CRG). Permanecendo ainda positivo aos 96 meses um indivíduo (individuo possivelmente reinfectado, relatado anteriormente). Quando avaliados aos 96 meses as três abordagens de tratamentos se comportaram de forma semelhantes, destaque se fez na não visualização de vermes adultos diagnosticado pelo ultrassom.

Apesar da limitação em realizar cirurgia de forma mais abrangente na população, destacamos a importância da cura parasitológica com a retirada dos vermes adultos naqueles indivíduos que foram refratários ao tratamento com DEC (DU e OMS), demonstrando que é factível e bem sucedida a cura parasitológica por meio dessa intervenção.

Levanta-se a hipótese que provavelmente o período ideal para avaliar os programas de Controle e Eliminação da FL nas áreas de tratamento seja de 120 meses, uma vez que ainda aos 96 meses do nosso estudo observou-se que 20.8% dos indivíduos apareceram ACF positivo. Destacamos que a Organização Mundial de Saúde considera uma área sob controle com vistas a eliminação quando os indivíduos apresentam índices de antigenemia menor que 0,1% (principalmente crianças em idade escolar) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2005).

Dessa forma o nosso trabalho demonstra de forma inequívoca que a antigenemia permanece circulante por longos períodos (96 meses) independente da abordagem de tratamento. Sugerimos que a avaliação dos programas de controle e eliminação da filariose linfática envolva um conjunto de ferramentas diagnósticas para certificarem as áreas sob intervenção do tratamento, bem como desenvolverem avaliações envolvendo o vetor como ponto importante na verificação da interrupção da transmissão com vistas à certificação de eliminação.

Destacamos a limitação do nosso estudo com relação ao número de indivíduos envolvidos. Entretanto até o momento não existe na literatura estudos que envolvam o seguimento dos mesmos indivíduos por um período de 120 meses, nas abordagens dos diferentes tratamentos avaliados por diferentes ferramentas diagnósticas.

8 CONCLUSÕES

- a) A idade media dos pacientes foi de 27 anos, de acordo com a literatura que acomete adultos jovens;
- b) A medida que aumenta a concentração de antígeno aumenta também a densidade de microfilárias;
- c) A queda do antígeno diminui mais lentamente em pacientes que foram tratados com cirurgia em relação à medicação;
- d) O teste do og4c3-elisa se comporta de forma similar ao teste do cartão;
- e) Sugere-se que aumente o tempo para avaliar a cura da infecção utilizando o ICT;
- f) O ultrassom é uma ferramenta fundamental para identificar indivíduos amicrofilaremicos;
- g) O tratamento cirúrgico é inovador no campo da Filariose, tratando pacientes portadores de vermes adultos e assim assegurando a cura da infecção;
- h) Após dez anos do inicio do tratamento ainda encontra-se 1% de antígeno circulante no organismo;
- i) Levanta-se a hipótese que 120 meses sejam o período ideal para avaliação dos programas.

REFERÊNCIAS

ADDIS, D. G. et al. Clinical, parasitologic, and immunologic observations of patients with hydrocele and elephantiasis in an area with endemic lymphatic filariasis. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 171, n. 3, p. 755-758, 1995.

ADDIS, D. G.; BRADY, M. A. Morbidity management in the Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis: a review of the scientific literature. **Filariasis**, Georgia, v. 2, p. 125-131, 2007.

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

ALBUQUERQUE, M. F. M. Urbanização, favelas e endemias: a produção da filariose no Recife, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 487-497, 1993.

AMARAL, F. et al. Adult worms detected by ultrasonography in human bancroftian filariasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 50, p.753-757, 1994.

BANCROFTI, T. et al. New cases of filarial diseases. **Lancet**, London v.2, p.70, 1879.

BANDYOPADHYAY, L. Lymphatic filariasis and the women of Índia. **Social Science and Medicine**, Amsterdam v. 42, p. 1401-1410, 1996.

BELL, D. Membrane filters and microfilarial surveys on day blood. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, London v. 61, p. 220-223, 1967.

BRASIL. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Departamento de Erradicação e controle de Endemias. Filariose. **Demonstrativo dos resultados obtidos em 1985 e projeções para 1986**. Brasília, 1996, p. 83-88.

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

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

CHANTEAU, S. et al. Circulating antigen: a marker of infection and adult worm burden in *Wuchereria bancrofti* filariasis. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 170, p. 247-250, 1994.

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

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

COUTINHO, A. et al. Eosinofilia Pulmonar Tropical filariótica e o seu diagnóstico diferencial. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, São Paulo, v. 53, n. 1, p. 42-51, 1998.

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

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

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

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

DREYER, et al. Detection by ultrasound of living adult *Wuchereria bancrofti* in the female breast. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 1, p. 95-96, 1996.

DREYER, G.; NORÕES, J. Filariose bancroftiana. In: LUCENA, V. et al. **Condutas em clínica médica**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 1997. p. 399-421.

DREYER, G.; DREYER, P.; PIESSENS, W. F. Extralymphatic disease due to bancroftian filariasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Atlanta, v. 32, p. 1467-1472, 1999.

DREYER, G.; ROCHA, A. Filariose bancroftiana. In: FERREIRA, W.; ÁVILA, S. Diagnóstico Laboratorial: Avaliação de métodos de diagnósticos das principais doenças infecciosas e parasitárias e auto-imunes. **Correlação clínico-laboratorial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, cap. 22, p. 194-200.

DUNYO, S. K.; NKUMAH, F. K.; SIMONSEN, P. E. Single-dose treatment of *Wuchereria bancrofti* infections with ivermectin and albendazole alone or in combination: evaluation of the potential for control at 12 months after treatment. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, London v. 94, p. 437-443, 2000.

EBERHARD, M. L.; LAMMIE, P. J. Laboratory diagnosis of filariasis. **Clinical Laboratory Medicine**, Atlanta, v. 11, p. 977-1010, 1991.

EBERHARD, M. L. et al. Clearance of *Wuchereria bancrofti* antigen after treatment with diethylcarbamazine or ivermectin. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 57, p. 483-486, 1997.

FARIS, R. et al. Community diagnosis of bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, London v. 87, p. 659-661, 1993

FIGUEREDO, J. et al. The histopathology of bancroftian filariasis revised: the role of the adult worms in the lymphatic-vessel disease. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 96, n. 6, p. 531-541, 2002.

FERREIRA, O. S. Filariose. In: TORELLI, E. **Doenças infecciosas na infância**, Rio de Janeiro: Medsi, 1987 v. 2, p. 833-842.

FREITAS, H. et al. Workshop para a avaliação da situação epidemiológica da filariose linfática no Município de Belém, Pará, Norte do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 2, p 40, 2008.

FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE (BRASIL). Gerência de Endemias Focais. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. **Programa de Eliminação da Filariose Linfática no Brasil, Brasília – DF – 1997**. Brasília, 1997.

FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE (BRASIL). Gerência de Endemias Focais. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. **Relatório da Reunião de Avaliação do Programa de Controle da Filariose Linfática no Brasil, Recife – PE – 2000**, Brasília, p. 58, 2000.

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

GYAPONG, J. O. Lymphatic filariasis in Ghana: from research to control. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 94, p. 599-601, 2000.

GYAPONG, J. O. et al. Treatment strategies underpinning the global programme to eliminate lymphatic filariasis. **Expert Opinion Pharmacother**, Tokio, v. 6, p. 179-200, 2005.

HAGAN, P.; ABATH, F. G. C. Recent advances in immunity to human schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, p. 95-98, 1992.

HAWKING, E.; MARQUES, R. J. Control of bancrofti filariasis by cooking salt medicated with diethylcarbamazine. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 37, p. 405-414, 1967.

HELMY, H. et al. Bancroftian filariasis: effect of repeated treatment with diethylcarbamazine and albendazole on microfilaraemia, antigenaemia and antifilarial antibodies. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 94, p. 656-662, 2006.

HEWITT, R. I. et al. Experimental chemotherapy of filariasis. III. Effect of diethylcarbamy 1-4-methylpiperazine hydrochloride against naturally acquired filarial infection in cotton rats and dogs. **Journal of laboratory and Clinical Medicine**, London, v. 32, p. 1304-1313, 1947.

HODGE, I. G.; DENHOFF, E.; VANDERVEER, J. B. Early filariasis (Bancrofti) in American soldiers. **American Journal of Medical Sciences**, Atlanta, v. 210, p. 207-223, 1945.

HUSSEIN, O. et al. Duplex Doppler sonographic assessment of the effects of diethylcarbamazine and albendazole therapy on adult filarial worms and adjacent host tissues in bancroftian filariasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 71, p. 471-477, 2004.

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

JING-YUAN, L. ZI. C.; XIAO-HONG, H.; ZHAO-PING, T. Mass treatment of filariasis using DEC-medicated salt. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, p. 132-135, 1992.

KRISHNARAO, P.; KATIR, R.; GHOSH, T. Long term affect of diethylcarbamazine medicated common salt on bancroftian filariasis. **Journal of Community Disease**, v. 23, p. 128-130, 1991.

LAMMIE, P. J. et al. Heterogeneity in filarial-specific immune responsiveness among patients with lymphatic obstruction. **Journal of Infectious Diseases**, v. 167, p. 1178-1183, 1993.

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**, v. 51, p.348-355, 1994.

LALITHA, P. et al. Quantitative assesment of circulating antigens in human lymphatic filariasis: a field evaluation of monoclonal antibody-based ELISA using blood collected on filter strips. **Tropical Medicine and International Health**, v. 3, p. 41-45, 1998.

LEWIS, T. R. On a heamatozoon in habiting human blood. Its relation to chyluria and others diseases. **Annual report of the Government of India**. Calcutta:lolitra, 1872, v.8.

LIMA, A. R. V. **Situação epidemiológica da Filariose linfática no foco endêmico de Maceió-Alagoas após a implantação do programa de eliminação**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

MANSON, P. Further observations on *Filaria sanguinis hominis*. **Medical Reports**. 1878, n. 14, p. 1-26, 1878 (Special series, 2).

MATTOS, D.; DREYER, G. A Complexidade do custo socioeconômico da filariose linfática. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 4 , p 399-403, 2008.

MCMAHON, J. E. et al. Bancroftian filariasis: a comparison of microfilariae counting techniques using counting chamber, standard slides and membrane (nucleopore) filtration. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 73, p. 457-464, 1979.

MEYROWITSCH, D.; SIMONSEN, P.; MAKUNDE, W. Mass diethylcarbamazine therapy for the control of bancroftian filariasis through community participation: comparative efficiency of a low monthly dose and medicated salt. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, p. 74-79, 1996.

MEYROWITSCH, D.; SIMONSEN, P. Long-term effects of mass diethylcarbamazine chemotherapy on bancroftian filariasis: results at four years after start of treatment. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, p. 98-103, 1998.

MICHAEL, E.; BUNDY, D.; GRENFELL, B. Re-assessing the global prevalence and distribution of lymphatic filariasis. **Parasitology**, v. 112, p. 409-428, 1996.

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

MONTENEGRO, S. M. L. Imunodiagnóstico. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, p. 333-335, 1992.

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

NAPIER, L. E. Filariasis due to *Wuchereria bancrofti*. **Medicine**, v. 23, n. 3, p. 149-179, 1944.

NICOLAS, L. et al. Reduction of *Wuchereria bancrofti* adult worm circulating antigen after annual treatments of diethylcarbamazine combined with ivermectin in French Polynesia. **Journal of Infectious Diseases**, Polinésia, v.175, p.489-492, 1997.

NJENGA, S. M. et al. Immuno-parasitological assessment of bancroftian filariasis in a highly endemic area long the River Sabaki, in Malindi district, Kenya. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 101, p. 161-172, 2008.

NUNN J. F., TAPP, E. Tropical diseases in ancient Egypt. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, p. 147-153, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Lymphatic Filariasis**: fourth report of the WHO expert Committee on filariasis. Geneva, 1984. WHO technical reports series, No. 702.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Fifth report of the Who Expert Committee on Filariasis, lymphatic filariasis**: the disease and control. Geneva:WHO, 1992.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Lymphatic filariasis infection and disease. Control strategies.** Geneva, Report of consultive meeting. held at the University Sains Malaysia, Penang, Malaysia, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Lymphatic Filariasis: Reasons for Hope.** Geneva, 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global programme for the elimination of lymphatic filariasis. **Basic principles for the development of a national strategy for disability prevention, alleviation and rehabilitation,** Geneva, (working document), April, p.32. 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Sixth meeting of the Technical Advisory Group on the global elimination of lymphatic filariasis,** Geneva, Switzerland (Report to the Technical Advisory Group), September, p. 401-408, 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Progress report on Global programme to eliminate lymphatic filariasis and conclusions of the meeting of the Technical Advisory Group on the Global Elimination of Lymphatic Filariasis, 2007. **Weekly Epidemiological Record,** Geneva, v. 83, p. 333-348, 2008.

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

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

OTTESEN, E. A. The human filariasis: new understandings, new therapeutic strategies. **Current Opinion in Infectious Diseases,** v. 7, p. 550-558, 1994.

OTTESEN, E. A. et al. Strategies and tools for control/elimination of lymphatic filariasis. **Bulletin of the World Health Organization** v.75, n. 6, p. 491-503, 1997.

OTTESEN, E. A. The global programme to eliminate lymphatic filariasis. **Tropical Medicine and International Health,** v. 5, p. 591-594, 2000.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Lymphatic filariasis elimination in the Americas. **III Regional program manager`s meeting.** Port-Au-Prince, Haiti, 4-6 September 2002.

PANI, S. P. et al. Evaluation of the ICT whole blood antigen card test to detect infection due to nocturnally periodic *Wuchereria bancrofti* in South India. **Tropical Medicine and International Health**, v. 5, p. 359-363, 2000.

PESSOA, S. B.; MARTINS, A. M. Superfamília filarioidea. PESSOA, S. B. **Parasitologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982, p. 594-618.

RAJENDRA, R. et al. Impact of two annual single-dose mass drug administrations with diethylcarbamazine alone or in combination with albendazole on *Wuchereria bancrofti* microfilaremia and antigenaemia in south India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, p. 147-153, 2004.

RICHTER, J.; HATZ, C.; HAUSSINGER, D. Ultrasound in tropical and parasitic diseases. **Lancet**, v. 98, p. 174-181, 2003.

ROCHA, A. **Estudo imunológico da síndrome de eosinofilia pulmonar tropical causada pela filária e outros helmintos**. Dissertação (Mestrado em ciências) Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 1995.

ROCHA, A. et al. Evaluation of the OG4C3 ELISA in *Wuchereria bancrofti* infection: infected persons with undetectable or ultra-low microfilarial densities. **Tropical Medicine and International Health**, v. 1, p. 859-864, 1996.

ROCHA, A.; ELIANA M. M.; FONTES, G. Filariose bancroftiana no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, 1998, v. 32, n. 1, p. 98-105, fev. 1998.

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

ROCHA A. **Filariose bancroftiana: Avaliação dos Testes de Diagnóstico Disponíveis Frente às Diversas Formas Clínicas da Bancroftose**. 2004. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004.

ROCHA, A. et al. A Comparison of Tests for the Detection of Circulating Filarial Antigen (Og4C3-ELISA and AD12-ICT) and Ultrasound in Diagnosis of Lymphatic Filariasis in Individuals with Microfilariae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 2009. no prelo.

SANTHANAM, S. et al. Detection of *Wuchereria bancrofti* antigen in serum and finger prick blood samples by enzyme immunoassay: field evaluation. **Tropical Medicine and Parasitology**, v.40, p.440-444, 1989.

SASA, M. **Human Filariasis: A Global Survey of Epidemiological and Control**. Tokio: University of Tokyo Press, 1976.

SHENOY, R. K.; JOHN, A.; BABU, B. S. Two-year follow-up of the microfilaremia of asymptomatic brugian filariasis, after treatment with two annual single doses of ivermectin, diethylcarbamazine and albendazole, in various combinations. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 94, p. 607-614, 2000.

TROPBIO. **ELISA kit for detecting and quantifying *Wuchereria bancrofti* antigen**. Townsville: JCU Tropical Biotechnology Pty, 1996.

WEIL, G. J. et al. A monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for detecting parasite antigenemia in bancroftian filariasis. **Journal of Infections Diseases**, v. 156, p. 350-355, 1987.

WEIL, G. J. et al. Parasite antigenemia without microfilaremia in bancroftian filariasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, n. 3, p. 333-337, 1996.

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

WUCHERER, O. Notícia preliminar sobre vermes de uma espécie ainda não descripta encontrados na urina de doentes de hematúria intertropical no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 3, p. 97-99, 1868.

ANEXO

APÊNDICE

A Comparison of Tests for the Detection of Circulating Filarial Antigen (Og4C3-ELISA and AD12-ICT) and Ultrasound in Diagnosis of Lymphatic Filariasis in Individuals with Microfilariae

Abraham Rocha¹, Cynthia Braga¹, Marcela Belém¹, Arturo Carrera¹, Ana Aguiar-Santos¹, Paula Oliveira¹, Maria José Texeira¹, André Furtado².

ABSTRACT

Significant advances were made in the diagnosis of filariasis in the 1990s with the emergence of three new alternative tools: ultrasound and tests to detect circulating antigen using two monoclonal antibodies Og4C3 and AD12-ICT-card. This study aimed to identify which of these methods is the most sensitive for diagnosis of infection. A total of 256 individuals, all male and carrying microfilariae (1-15,679MF/mL), diagnosed by nocturnal venous blood samples, were tested by all three techniques. The tests for circulating filarial antigen concurred 100%, and correctly identified 246/256 (96.69%) of the positive individuals, while ultrasound detected only 186/256 (73.44%). Of the circulating antigen tests, the ICT-card was the most convenient method for identification of *Wuchereria bancrofti* carriers. It is easy to perform, practical and swift.

Keywords: *Wuchereria bancrofti*, Circulating filarial antigen, Ultrasound, Diagnosis,

1, 2 -Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - ¹Departamento de Parasitologia e Entomologia - Serviço de Referência Nacional em Filarioses e Serviço de Referência em Culicídeos Vetores, FIOCRUZ, Recife, Brasil; *Corresponding address:* Prof. Abraham Rocha, Departamento de Parasitologia, Serviço de Referência Nacional em Filarioses - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Av. Moraes Rego s/n, Recife, Brasil, CEP 50670-420, Recife, PE, Brazil. Email: rocha@cpqam.fiocruz.br

INTRODUCTION

Lymphatic filariasis (LF) is a parasitic disease caused by nematodes (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* and *Brugia timori*) whose preferred habitats are the lymphatic vessels and lymph nodes, inducing the development of disfiguring and debilitating clinical forms. The infection which is transmitted by various genera of mosquitoes (Sasa 1976) is considered one of the health problems of greatest social and economic impact in endemic areas (Ottesen et al. 1997).

Until the 1980s, the only direct way of confirming diagnosis of infection by *W. bancrofti* was the identification of microfilariae (MF) in peripheral blood, using camera counting, polycarbonate membrane filtration, the thick smear method, and Knott's technique (Knott 1939, Denham et al. 1971, Dennis & Kaen 1971, Eberhard & Lammie 1991). Apart from the low sensitivity of these methods, arising from the fact that they only identify filarial infection by way of microfilaremia, they are also inconvenient in terms of the time of day the blood has to be collected, namely when the microfilariae are at a peak in peripheral blood, which varies from one endemic area to another. In Brazil, the peak for microfilaremia occurs between 11 pm and 1 am (Dreyer et al. 1996).

In the 1990s, there were significant advances in the diagnosis of LF with the emergence of new diagnostic tools: i) use of recombinant antigens to detect specific antibodies (Chandrasherkar et al. 1994), ii) the polymerase chain reaction for the detection of filarial DNA (Zhong et al. 1996, Rocha et al. 2002), iii) the visualization of live adult worms using ultrasound and iv) circulating filarial antigen (CFA) detection (More & Copeman 1990, Weil et al. 1997). At present, the standard diagnostic tools are ultrasound (Amaral et al. 1994) and CFA detection, the latter using the monoclonal antibodies (McAbs) Og4C3 and AD12. The CFA detection techniques are commercially available in the form of kits and have the

advantage of allowing diagnosis to be carried out using blood samples collected at any time of day (More & Copeman 1990, Amaral et al. 1994, Weil et al. 1997, Rocha 2002, Rocha 2004).

The Og4C3, the first commercially available laboratory kit, is a serological test based on the detection of CFA using the immunoenzymatic technique (ELISA) (More & Copeman 1990) and a McAb of the IgM class of immunoglobulins produced against antigens of the bovine parasite, *Onchocerca gibsoni*. This technique allows the identification of *W. bancrofti* antigens in serum, plasma and hydrocele fluid, and does not show any cross reaction with other helminths infections (More & Copeman 1990, Rocha et al. 1996, Tropbio 1996, Rocha 2004).

The other serological test, the immunochromatographic, or ICT card test, uses the McAb AD12, which recognizes a 200 kDa filarial antigen (Weil et al. 1997). The technique is easy to perform, requires no equipment and was launched by ICT Diagnostic (Balgowlah, New South Wales, Australia), and is currently produced by BINAX as NOW[®] Filariasis, from United States of America.

Another tool addressed for diagnostic of filariasis infection, first discovered by Brazilian researchers, is the use of ultrasound (US) to visualise live adult worms (AW) of the *W. bancrofti* in the lymphatic vessels (Amaral et al. 1994, Norões et al. 1996).

Although several authors attest the high sensitivity of these new methods for diagnosing filarial infection by *W. bancrofti*, the comparative analysis of sensitivity of these techniques have not been performed.

MATERIALS AND METHODS

Area and population studied. This study was carried out on 256 male patients with microfilaremia, resident in endemic areas of the Metropolitan Region of Recife and referred to the National Center of Lymphatic Filariasis (NCLF)'s outpatient's clinic at the Aggeu Magalhães/ Research Centre Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ). The patients selected for this study were seen between the years of the 2001 and 2004.

Parasitological blood test. After signing the terms of consent, a sample of 5 mL of venous blood was collected between 11 pm and 1 am in order to test for the presence of circulating MF. A quantity of 1 mL of blood was filtered through a polycarbonate membrane 13 millimetres in diameter with 3µm pores, as described by Rocha et al. 2004.

Test for live adult worms. All the 256 individuals underwent an ultrasound of the scrotum area, using a 7.5 MHz probe to visualize the live adult worms and identify their characteristic movements in the lymphatic vessel: the filariae dance sign (FDS) (Amaral et al. 1994, Norões et al. 1996).

Collection of serum samples. One day after venous blood was collected for detection of the presence of microfilariae, a further sample of 5 mL of venal blood was collected and subsequently centrifuged at 2,500 rpm, at 20°C, and the serum separated, quantified, labelled and stored at -20°C in the NCLF's biological specimen bank. In order to detect filarial antigens, the serum from each individual was initially thawed in an ice bath. All the technical procedures for these CFA tests were carried out and processed using a single technique. In parallel, a single serum sample from each individual was exposed to both CFA tests.

The Og4C3-ELISA test. The technical procedures were carried out as recommended by the manufacturers of the kit (TropBio[®], JCU Tropical Biotechnology Pty. Ltd., Townsville,

Queensland, Australia). Serological samples were applied in duplicate and the results were obtained using optic density (OD). The OD measurements for each sample were used to determine the response in units of antigen per mL (ag/mL) on a standard concentration curve for *O. gibsoni* ag/mL, included in the kit. In accordance with the TropBio norms (1996) samples with ag/mL \geq 128 were considered positive for CFA.

The AD12-ICT card test. The NOW[®] Filariasis version of the card test (ICT filariasis for blood, serum or plasma, cat. n^o. 620-000) was carried out in accordance with the manufacturer's instructions. In short, 100 μ L of serum was placed in the position recommended for the test. After one minute, the card was closed and the result was read exactly 10 minutes later. The test was considered positive when both lines (test and control) could be read through the visualisation window. Any line (light or dark) that appears in the test position indicates that the result of the test is positive. It is negative when the control line can be seen.

Statistical Analysis. The difference between the proportions was verified using the chi-squared test, and the p value, at a level of $\alpha= 0.05$. Owing to the large variation in values for the units of circulating antigen per mL, the differences between the means were tested using the Kruskal-Wallis test.

Ethical Considerations.

This study was approved by the Aggeu Magalhães/FIOCRUZ Research Centre's Ethics Committee. The participants, or their parents in the case of minors, were given information about the research and were asked to read and sign the terms of consent. All participants were treated with Diethylcarbamazine (6mg/kg/day/12 days).

RESULTS

The age of individuals varied from 7 to 78 years (mean= 24,14 \pm 10,13). The density of microfilariae per mL of blood was between 1 and 15,679 (mean= 768,56 \pm 1,520.24) and the antigenemia levels by Og4C3 varied between 1 and 56,411 ag/mL (mean= 28,328.87 \pm 14,932.78),

The percentages for positive results for the three tests are shown in table I. Sensitivity to the techniques for detection of CFA (Og4C3 and ICT card) were similar, both showing a high degree of sensitivity (96.69%) whereas the percentage of US positive results was 73.44% ($\chi^2=4.21$; $p=0.046$). Live adult worms were not detected in 68 (26.56%) individuals though the US exam.

The relation between the density of MF/mL and the quantitative and qualitative results of the Og4C3 tests (unit of ag/mL) and the ICT card (positive/negative) respectively, showed a significant increase in Og4C3 CFA and in the percentage of positive tests proportional to the rise in the parasite load chiefly when the microfilaremia was greater than 100 MF/mL of blood, (Tables II and III).

The comparison between ultrasound and the density of microfilariae per mL, showed that the percentage of tests in which the FDS could be seen significantly increases in proportion to the number of microfilariae. In the patients with a density of >500 MF/mL, AW could be visualised by US in 82.56 % (Table IV).

A higher proportion of positive results by US was observed in individual aged between 20 and 30 (132/157) and >30 years (21/35) when compared to the group between 7 and 19 years (35/64) ($\chi^2=23.88$, $p<0.0001$). Related to CFA tests results (Og4C3 and ICT

card), no statistically significant difference in the proportion of the positive results among the same age groups was observed ($\chi^2=0.63$, $p<0.731$).

DISCUSSION

Recent advances in the various fields of knowledge related to lymphatic filariasis have led to new approaches regarding the severity and the impact of the disease (Ottesen et al. 1997). The introduction of new diagnostic tools for detecting infection caused by *Wuchereria bancrofti* in the human population, have opened up new possibilities in terms of interrupting transmission and consequently the elimination of filariasis (WHO 1994, Cox 2000, Molyneux et al. 2000, Ottesen 2000). This was reaffirmed in 1997 by the World Health Organisation (WHO), when it was established the goal of filariasis elimination in worldwide by 2020 (Ottesen 2000).

Until the early 1990s, the only available parasitological method for the evaluation of individuals or populations infected with *W. bancrofti* was the blood thick smear, using around 60 μ L of capillary blood (Eberhard & Lammie 1991). However, this method did not allow accurate determinations of the true prevalence of infection, due to its low sensitivity (McCarthy 2000). With the introduction of the filtration technique and using venal blood (up to 10 mL) collected between 11 pm and 1 am, a higher degree of reliability of the parasitological status of individuals was obtained (Rocha 2004).

The introduction of ultrasound, in Recife, Brazil, as a new parasitological tool for diagnosis of bancroftosis made possible to identify individuals with live AW of the *W. bancrofti* in the lymphatic vessels of the scrotal sac (Amaral et al. 1994). Several studies have pointed out the importance of US as a non-invasive parasitological tool (Dreyer et al. 1995, Dreyer et al. 1998, Faris et al. 1998). The data presented here showed that the use of US was capable of identifying AW in 73.44% of MF+ individuals. This result is similar to that of Norões et al. 1996, who identified AW in 80% of MF+ individuals using US.

The CFA method was more sensitive in identifying infected individuals than US. This result is possibly due to the fact that the adult worms could be located in sites of the body other than male genitals, such as the scrotum that was described as the preferred place of AW (Amaral et al. 1994).

Due to the simplicity and convenience of this method it is possible to carry out this test at any time of the day. CFA is now considered to be a promising tool for diagnosis of bancroftosis at both individual and community level. Among CFA tests, the ICT card, because of its simplicity and yet preciseness, has been adopted as an important tool for community surveys and rapid assessment of filarial endemicity in bancroftian filariasis control programs (Ottesen 2000, Molyneux & Taylor 2001). Nevertheless, in large surveys it can be difficult to examine the cards while at the same time handling many patients, what implies to gather the cards to be read at a later time. This procedure could contribute to induce to a misinterpretation of the results, increasing the number of false positives. In our study ICT card test failed to detect CFA in 9 of 78 individuals with MF count less than 100 MF/mL, while US failed to detect live adult worms in 32 of 87 individuals carrying microfilariae. There is concern that currently available tools might have severe limitations when parasite prevalence and antigen levels are low.

Og4C3 and AD12 McAbs detect circulating *W. bancrofti* antigens, originated particularly from AW according to More & Copeman, 1990, and Weil et al. 1997. Furthermore, Eberhard et al. 1997 and Lalitha et al. 1997 suggest that the MF do not contribute to the concentration of CFA and that the decrease in the quantity of CFA occurs exclusively as a result of the death of adult worms. Wong and Guest (1969) noted that microfilarial antibodies were present in all patients with elephantiasis but in none of the patients with circulating microfilariae. Smithers (1968) has suggested that living microfilariae are relatively inert antigenically and do not stimulate the production of antibodies. Our results,

contradict these observations and clearly show that there is a significant association ($p=0.001$) between the density of microfilariae and the increase in the concentration of CFA. Similar results were obtained by Rocha et al. 1996, Nicolas et al. 1997 and Itoh et al. 1999. We also agree with Grove & Davis (1978) who suggest that the detection of microfilarial antibodies depends upon the relative release of microfilariae into the blood stream and the production of antibodies against those microfilariae.

Medeiros et al. (1999) showed that men aged between 20 and 30 are more susceptible to LF than women of the same age group. This was also the largest age group in our study, ($\approx 60\%$).

The sensitivity of US was lower (73.44 %) when compared to the monoclonal Og4C3 (96.69%) and to AD12 (96.69%) techniques. On the other hand, for the age groups 20-30 and >30 years old the US was statistically significant ($p>0.0001$) in detect AW. Therefore, the choice of a diagnostic tool must take in consideration the different age-groups, the gender, infected individuals harbouring low levels of MF, growing worms or non-fecund adults or adults of a single sex, the endemicity of the area, in order to provide a rapid and reliable detection of the infection with *W. bancrofti*.

Briefly, in our study, McAbs Og4C3 and AD12 showed a high sensitivity for detecting infected individuals. While the global elimination program of LF is ongoing, highly sensitive and specific diagnostic tools are necessary to monitor and control the programs. There is not “the gold standard technique”, that by itself be capable to offer all the confidence to allow the WHO to certificate an area free of LF. Og4C3 ELISA and the ICT card test, in our study presented a high performance in detecting positive individuals. Nevertheless both have advantages and inconveniences when one think to use them in large control program. However, the ICT card test may be more appropriate because of its ease of use and results are

obtained within 10 minutes. In case one needs to broaden the diagnostic investigation, US should be of great value, as demonstrated here.

Since until now no CFA test available is 100% specific in detecting infection by *W. bancrofti*. (Rocha et al. 1996).

ACKNOWLEDGEMENTS

We are very grateful to Dr. Patrick Lammie for the critical review of the manuscript and helpful comments. This study received financial support from the Serviço de Referência Nacional em Filarioses, Projects 268-369-433, Sub-Proj, 17 (FIOCRUZ/FUNASA/FIOTEC) project sponsor 573-17 and 801-17 FIOTEC/SVS and from the Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Departamento de Parasitologia.

REFERENCES

- Amaral F, Dreyer G, Figueredo JS, Norões J, Cavalcanti A, Samico SC, Santos A, Coutinho A 1994. Adult worms detected by ultrasonography in human bancroftian filariasis. *Am J Trop Med Hyg* 50: 753-757.
- Chandrashekar R, Curtis KC, Ramzy RM, Liftis FLBW, Weil GJ, 1994. Evaluation of a recombinant antigen-based antibody assay for diagnosis of bancroftian filariasis in Egypt. *Mol Biochem Parasitol* 64: 261-271.
- Cox FEG 2000. Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem. *Parasitol Today* 16:135-137.
- Denham DA, Dennis DT, Ponnudurai T, Nelson GS, Guy F 1971. Comparison of a counting chamber and thick blood smear methods of counting microfilariae. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 65: 521-526.

- Dennis DT, Kaen BH. Isolation of microfilariae: report of new method, 1971. *J Parasitol* 57: 1146-1147.
- Dreyer G, Norões J, Amaral F, Nen A, Medeiros Z, Coutinho A, Addiss D 1995. Direct assessment of the adulticidal efficacy of a single dose of ivermectin in bancroftian filariasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2: 441-443.
- Dreyer G, Pimentel A, Medeiros Z, Béliz F, Galdino E, Moura E, Coutinho A, Andrade LD, Rocha A, Silva LM, Piessens WF 1996. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. *Trop Med Int Health* 1: 264-272.
- Dreyer G, Santos A, Norões J, Amaral F, Addiss D 1998. Ultrasonographic detection of living adult *Wuchereria bancrofti* using a 3,5MHz transducer. *Am J Trop Med Hyg* 9: 399-403.
- Eberhard ML, Lammie P J 1991. Laboratory diagnosis of filariasis. *Clin Lab Med* 11: 977-1010.
- Eberhard ML, Hightower AW, Addiss DG, Lammie PJ 1997. Clearance of *Wuchereria bancrofti* antigen after treatment with diethylcarbamazine or ivermectin. *Am J Trop Med Hyg* 57: 483-486.
- Faris R, Hussain O, El-Setouhy M, Ramzy RM, Weil GB 1998. Bancroftian filariasis in Egypt: visualization of adult worms and subclinical lymphatic pathology by scrotal ultrasound. *Am J Trop Med Hyg* 59: 864-867.
- Grove DI, Davis RS 1978. Serological Diagnosis of Bancroftian and Malayan Filariasis. *Am J Trop Med Hyg* 27: 508-513.
- Itoh M, Weerasooriya MV, Gunawardena NK, Mudalige MPS, Samarawickrema WA, Kimura E 1999. *Wuchereria bancrofti* antigenemia in Sri Lanka. *Trop Med Int Health* 4: 207-210.

- Knott JA 1939. Method for making microfilarial surveys on day blood. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 33: 191-196,
- Lalitha P, Ravichandran M, Suba S, Kaliraj P, Narayanan RB, Jayaraman K 1997. Quantitative assessment of circulating antigens in human lymphatic filariasis: a field evaluation of monoclonal antibody-based ELISA using blood collected on filter strips. *Trop Med Int Health* 3: 41-45.
- McCarthy J. Diagnosis of lymphatic filarial infections In: NUTMAN TB 2000. Lymphatic filariasis. *Trop Med* 127-150.
- Medeiros Z, Gomes J, Béliz F, Coutinho A, Dreyer P, Dreyer G 1999. Screening of army soldiers for *Wuchereria bancrofti* infection in the metropolitan Recife region, Brazil: implications for epidemiological surveillance. *Trop Med Int Health* 4: 499-505.
- Molyneux DH, Taylor MJ. 2001. Current status and future prospects of the Global Lymphatic Filariasis Programme. *Curr Opin Infect Dis* 14: 155-159.
- Molyneux DH, Neira M, Liese B, Heymann 2000. Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem, Lymphatic filariasis: setting the scene for elimination. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 94: 589-591.
- More SJ, Copeman DB 1990. A highly specific and sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. *Trop Med Parasitol* 41: 403-406.
- Nicolas L, Plichart C, Nguyen LN, Moulia-Pelat J 1997. Reduction of *Wuchereria bancrofti* adult worm circulating antigen after annual treatments of diethylcarbamazine combined with ivermectin in French Polynesia. *J Infect Dis* 175: 489-492.
- Norões J, Addis D, Amaral F, Coutinho A, Medeiros Z, Dreyer G 1996. Occurrence of living adult *Wuchereria bancrofti* in scrotal area of men with microfilaremia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90: 55-56.

- Ottesen EA, Duke BOL, Karam M, Behbehani K 1997. Strategies and tools for the control/elimination of lymphatic filariasis. *Bull World Health Organization* 75: 491-503.
- Ottesen EA 2000. The global programme to eliminate lymphatic filariasis. *Trop Med Int Health* 5: 591-594.
- Rocha A, Addis D, Ribeiro ME, Norões J, Baliza M, Medeiros Z, Dreyer G 1996. Evaluation of the Og4C3 ELISA in *Wuchereria bancrofti* infection: infected persons with undetectable or ultra-low microfilarial densities. *Trop Med Int Health* 1: 859-864.
- Rocha A 2000. Métodos laboratoriais disponíveis para o diagnóstico da filariose linfática. *Rev Soc Bras Anal Clin* 32: 265-270.
- Rocha A, Junqueira AC, Furtado A 2002. Molecular approach in the diagnosis of lymphatic filariasis by *Wuchereria bancrofti*. *Rev Patol Trop* 31: 161-174.
- Rocha A, Lima G, Medeiros Z, Santos A, Alves S, Montarroyos U, Oliveira P, Béliz F, Netto M, Furtado A 2004. Circulating filarial antigen (CFA) in the hydrocele fluid from individuals living in a bancroftian filariasis area-Recife-Brasil, detected by the monoclonal antibody Og4C3-assay. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 101-105.
- Rocha A 2004. Filariose bancroftiana: Avaliação dos Testes de Diagnóstico Disponíveis Frente às Diversas Formas Clínicas da Bancroftose, Tese de Doutorado em Biologia Celular e Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 234p.
- Sasa M 1976. *Human Filariasis. A global survey of Epidemiology and Control*, (M,Sasa, ed.), Tokyo: University Park Press of Tokyo, Japan.
- Smithers SR 1968. Immunity to blood helminths, 6th Symposium of the British Society for Parasitology, in AER, Taylor, ed. Blackwell, Oxford, pages 55-66.

- Tropbio 1996. ELISA kit for detecting and quantifying *Wuchereria bancrofti* antigen, Townsville, Australia: JCU Tropical Biotechnology Pty, James Cook University of North Queensland.
- Weil GJ, Lammie PJ, Weiss N 1997. The ICT filariasis test: A rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. *Parasitol Today* 13: 401-404.
- Wong MM, Guest MF 1969. Filarial antibodies and eosinophilia in human subjects in an endemic area. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 63: 796-800.
- WHO/CTD/TDR 1994. Strategies for control of lymphatic filariasis infection and disease: *Report of a WHO/CTD/TDR consultative meeting held at the University Sains, Malaysia, Penang, Malaysia 22-24.*
- Zhong M Mccarthy J, Bierwert L, Lizotte-Waniewski M, Chanteau S, Nutman TB, Ottensen EA, Williams SA 1996, A polymerase chain reaction assay for detection of the parasite *Wuchereria bancrofti* in human blood samples. *Am J Trop Med Hyg* 54: 357-363.

TABLE I

Percentage of positive results and confidence interval (CI) for the ICT card, Og4C3 and ^aUS tests, among ^bMF+ mean,

Test (n=256)	Positives	%	CI of 95%
Og4C3 –ELISA	246	96.69	93.15 - 97.99
ICT card test	246	96.69	93.16 - 97.99
Ultrasound	188	73.44	67.77 – 78.57

$\chi^2=4.21$; $p=0.046$.

^aUS – Ultrasound ^bMF+ - individuals with microfilaremia diagnosed using the polycarbonate membrane filtration technique.

TABLE II

Average of Og4C3 antigenemia levels according to density of microfilariae.

Density microfilariae/mL	Og4C3 antigenemia (ag/mL)				Standard Deviation
	N	Mean*	Min	Max	
1 – 99	78	20,517	1	50,485	15,136
100-500	82	29,089	3	53,333	14,707
> 500	86	35,497	1,415	56,411	10,546
Total	246	28,328	1	56,411	14,933

Kruskal Wallis (2gl)=52.00 $p=0.0001$

* Arithmetic mean

TABLE III

Percentage of positive results using the ICT card according to the parasite load of microfilariae among individuals carrying microfilariae.

Density of microfilariae microfilariae/mL	ICT card			
	Positives	(%)	Negatives	Total
1 – 99	78	89.66	9	87
100 -500	82	98.80	1	83
> 500	86	100.0	0	87
Total	246	96.67	10	256

χ^2 test for trend=12.32; $p= 0.0004$

TABLE IV

Frequency of filariae dance sign detected by US of the scrotum according to microfilariae parasite load in individuals carrying microfilariae.

Density of microfilariae/mL	Ultrasound (live adult worm)			Total
	Positive	(%)	Negative	
1 – 99	55	(63.22)	32	87
100-500	62	(74.70)	21	83
> 500	71	(82.56)	15	86
Total	188	(73.44)	68	256

χ^2 test for trend=8.266; p=0.0040