

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES
Mestrado Acadêmico em Saúde Pública

PAULA FERNANDA ALCÂNTARA DE SOUZA

**Monitoramento da infecção filarial por *Wuchereria bancrofti*
através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante
Bm14, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao
tratamento coletivo para filariose**

RECIFE

2012

PAULA FERNANDA ALCÂNTARA DE SOUZA

Monitoramento da infecção filarial por *Wuchereria bancrofti* através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo para filariose

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

Orientador: Abraham Rocha

Co-orientador: Virgínia Lorena

Recife

2012

- S729m Souza, Paula Fernanda Alcântara de.
Monitoramento da infecção filarial por *Wuchereria bancrofti* através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo para filariose / Paula Fernanda Alcântara de Souza. - Recife: s.n, 2012.
77 p. : ilus., tab., graf.
- Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Departamento de Saúde Coletiva, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2012
Orientador: Abraham César de Brito Rocha; co-orientadora: Virginia Maria Barros de Lorena.
1. Filariose - diagnóstico. 2. Filariose - imunologia. 3. Proteínas Recombinantes - imunologia. 4. Anticorpos Anti-Helmínticos. 5. *Wuchereria bancrofti* - parasitologia. 6. *Brugia Malayi*. I. Rocha, Abraham César de Brito. ths. II. Lorena, Virginia Maria Barros de. III. Título.

PAULA FERNANDA ALCÂNTARA DE SOUZA

Monitoramento da infecção filarial por *Wuchereria bancrofti* através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo para filariose

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

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Dr. Abraham César de Brito Rocha
(Orientador)
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

Dra. Silvana de Fátima Ferreira da Silva Caires
(Titular Externo)
Universidade de Pernambuco

Dra. Idê Gomes Dantas Gurgel
(Titular Interno)
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

*A Deus, ao meu noivo e a minha mãe,
aos meus familiares, aos meus amigos...
companheiros de todas as horas...*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha existência e por permitir que mais esta etapa seja concluída em minha vida.

Ao meu noivo, amante, parceiro e companheiro Leandro Felix, pelo amor e pela torcida dedicados a mim. Por ser sempre um alicerce e me incentivar em todos os momentos.

À minha mãe Josáurea Alcântara por sempre apoiar minhas decisões, pela educação, paciência, carinho e amor.

Ao meu orientador Dr. Abraham Rocha a quem admiro bastante. Agradeço pelo conhecimento compartilhado, pelo empenho e pela confiança no meu trabalho para realização dessa pesquisa. Obrigada por respeitar e ouvir minhas opiniões.

À minha co-orientadora Dra. Virgínia Lorena, sempre disposta a esclarecer minhas dúvidas, com paciência, amizade, atenção e carinho constante.

Ao Dr. Eduardo Brandão pela amizade, incentivo e pelas inúmeras ajudas nos momentos de dúvidas.

Aos meus amigos do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães por compartilharem comigo momentos de alegria, descontração e até estresse: Zezé Teixeira, Leandro Wandeley, Paula Oliveira, Priscila Castanha, Rosangela Grilis, Socorro, Solange, em especial Almerice Lopes pelas considerações sempre oportunas.

Ao Serviço de Referência Nacional em Filarioses que disponibilizou toda infraestrutura, recursos humanos e os insumos para a realização deste trabalho. E aos amigos do laboratório de filariose: Josué, Jennifer, Nykon, Marcelo.

Aos meus amigos do Departamento de Parasitologia: Cristiane Brito, Fábio Lopes, Zulma Medeiros, Paulo Sérgio, Ana Aguiar, Luiz Dias pelo apoio e atenção.

As minhas amigas e ao meu amigo do Departamento de Imunologia: Dra. Yara Gomes, Virgínia Lorena, Izaura Lorena, Adriene Melo, Suelen Braz, Amanda Vasconcelos, Patrícia Areias, Mineo Nakazawa, Clarice Moraes e em especial a Ana Karine obrigada por tudo.

Aos meus colegas do mestrado com os quais compartilhei angústias e alegrias: Fabiana Fulco, Ana Karine, Elaine Bomfim, Jana Messias, Luciana Camelo, Laís Ariane ...

Ao meu amigo Maciel Aguiar, que embarcou comigo nesse sonho, agradeço pelo estímulo profissional e por toda vibração a cada conquista.

Aos meus amigos de infância em especial Tibério, Lílian, Leila, Rafaela e Neto. Agradeço por todos os momentos de diversão e de tantas conversas, obrigada pelo apoio.

A Tadeu Rodrigues pelo apoio na análise estatística dos resultados.

Ao suporte da informática (SEINFO) em especial a Jaime Ferraz.

À Coordenação do Mestrado e a todos os professores, que contribuíram de forma efetiva para minha formação acadêmica, na realização e conclusão dessa pesquisa. À equipe da secretaria acadêmica do curso, por terem sido sempre prestativos.

Ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela oportunidade de aprendizado, apoio institucional e auxílio financeiro.

À Secretaria de Saúde da cidade do Recife.

A todos que participaram direta ou indiretamente da construção desse trabalho, que com muito esforço e dedicação consegui desenvolver, muito obrigada!

SOUZA, Paula Fernanda Alcântara. Monitoramento da infecção filarial por *Wuchereria bancrofti* através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo para filariose. 2012. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2012.

RESUMO

A Filariose Linfática (FL) no Brasil é causada pela espécie *Wuchereria bancrofti* e consiste em um problema de saúde pública. O principal foco ativo de transmissão atualmente no país é a Região Metropolitana do Recife – PE, que desde 2003 iniciou o Programa de Controle/Eliminação da FL, tendo como estratégia principal o Tratamento Coletivo (TC) com Dietilcarbamazina (DEC). Este trabalho, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, analisou o TC nessas áreas, acompanhando 30 moradores, no período de 2003 a 2009. Para essa análise além das ferramentas tradicionais da pesquisa filarial – Filtração (MF/mL de sangue) e Antígeno Circulante Filarial (Og4C3) – também foi utilizada a pesquisa de anticorpos através de um antígeno recombinante (Bm14). Essa nova metodologia desenvolvida é recomendada para ser empregada como uma forma de avaliar o progresso dos programas de controle e eliminação da FL nas áreas sob intervenção. Os resultados obtidos indicam redução na positividade para a FL pelas três metodologias: o Bm14 reduziu de 90% para 80,00%, o Og4C3 de 100% para 60,00% e a microfilaremia (MF) de 100% para 0%. A análise da densidade de MF/mL de sangue e a positividade para o Bm14 revelou que o grupo com maior densidade de MF/mL no sangue (≥ 57 MF/mL) apresentou maior percentual de redução na positividade para o anticorpo do que o grupo de menor densidade (< 57 MF/mL) em 2009. A taxa de anticorpos-positivos apresentou um percentual de redução de 11,11% no último ano. A diminuição nas taxas de positividade apresentadas pelo Bm14 e o padrão de decaimento observado na análise das Densidades Óticas média e mediana do anticorpo durante os seis anos da pesquisa indicam que o monitoramento dos anticorpos com o antígeno recombinante Bm14 foi capaz de reconhecer indivíduos infectados e também de identificar redução dos níveis de anticorpos produzidos por eles após exposição aos parasitos filariais. Sugerindo que o TC com DEC teria surtido efeito na eliminação dos vermes adultos e conseqüente desaparecimento das microfilárias da circulação sanguínea.

Palavras-chave: Filariose, diagnóstico, anticorpos.

SOUZA, Paula Fernanda Alcântara. Filarial infection monitoring by *Wuchereria bancrofti* through kinetic antibodies with the recombinant antigen Bm14, in endemic areas of the RMR-PE subject to collective treatment for filariasis. 2012. Dissertation (Academic Master's Degree in Public Health) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2012.

ABSTRACT

Lymphatic filariasis (LF) in Brazil is caused by species *Wuchereria bancrofti* and consists of a public health problem. The main active focus transmission currently in the country is the metropolitan region of Recife-PE, which since 2003 started the Control/Elimination Program, having as major strategy the Collective Treatment (TC) with Diethylcarbamazine (DEC). This work, approved by the Committee of Ethics in Research of Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, analyzed the TC in these areas, together with 30 residents, in the period from 2003 to 2009. For this analysis beyond the traditional tools of filarial research - filtration (MF/mL of blood) and Circulating Filarial Antigen (Og4C3) - was also used the antibody search through a recombinant antigen (Bm14). This new methodology developed is recommended to be used as a way to evaluate the progress of the programs of control and elimination of LF in areas under intervention. The results indicate a reduction in positivity FL by three methodologies: the Bm14 decreased from 90% to 80.00%, the Og4C3 from 100% to 60.00% and microfilaremia (MF) from 100% to 0%. Density analysis of MF / mL blood and positivity Bm14 revealed that the group with the highest density of MF / mL blood (≥ 57 MF / mL) had a higher percentage reduction in antibody positivity than the group low density (<57 MF / mL) in 2009. The antibody-positive rate showed a percentage reduction of 11.11% in the last year. The decrease in positivity rates presented by Bm14 and decay pattern observed in the analysis of Optical Densities average and median antibody during the six years of research indicate that monitoring of antibodies to the recombinant antigen Bm14 was able to identify infected individuals and also identifying reducing the levels of antibodies produced by them after exposure to filarial parasites. Suggesting that the TC with DEC would have been effective in the elimination of adult worms and consequent disappearance of microfilariae from the bloodstream.

Key-words: Filariasis, diagnosis, antibodies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Vermes adultos e formas embrionárias (microfilárias) de <i>Wuchereria bancrofti</i>	18
Figura 2 -	Ciclo biológico da <i>Wuchereria bancrofti</i>	19
Figura 3 -	Distribuição da Filariose Linfática mundialmente segundo o tratamento, países e territórios endêmicos, 2010.....	20
Figura 4 -	Países e territórios endêmicos da Filariose Linfática no Continente Americano.....	21
Figura 5 -	Lâmina de gota espessa.....	23
Figura 6 -	Materiais utilizados na filtração em membrana de policarbonato.....	24
Figura 7 -	Kit Og4C3- Trop Ag <i>W. bancrofti</i> Elisa.....	26
Figura 8 -	Cartão do ICT (teste de imunocromatografia rápida).....	27
Figura 9 -	Kit <i>Bm14</i> pesquisa de anticorpos - <i>CELISA Test</i>	28
Figura 10 -	Mapa da Região Metropolitana do Recife – PE, apresentando a distribuição dos Distritos Sanitários (DS).....	35
Figura 11 -	Mapa da área de Tratamento Coletivo para FL do Distrito Sanitário II.....	36
Figura 12 -	Fluxograma da Seleção da amostra.....	37
Figura 13 -	Lâmina de Filtração.....	39
Figura 14 -	Placa do Teste <i>ELISA-Og4C3</i> após realização do teste.....	40
Figura 15 -	Placa do Teste <i>CELISA-Bm14</i> após realização do teste.....	41
Figura 16 -	Densidades Óticas médias do <i>Bm14</i> e do <i>Og4C3</i> e média de microfilarêmicos por ano.....	47
Figura 17 -	Densidade Ótica mediana do <i>Bm14</i> e do <i>Og4C3</i> por ano.....	47
Figura 18 -	Densidade Ótica por paciente ano a ano do <i>Bm14</i>	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Percentual de queda de anticorpos-positivos anti-Bm14 entre os microfilarêmicos no período de 2003 a 2009, tendo como referência a densidade de MF em 2003.....	43
Tabela 2	Taxas de positividade para MF, Og4C3 e Bm14 no período de 2003 a 2009.....	44
Tabela 3	Percentual de queda de positividade observada para o Bm14 e para o Og4C3 no período de 2003 a 2009.....	45
Tabela 4	Percentual de Anticorpos, Antígenos e MF em 2003 e 2009 (segundo faixa etária).....	46
Tabela 5	Percentual de Anticorpos, Antígenos e MF em 2003 e 2009 (segundo sexo).....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACF	Antígeno Circulante Filarial
ALB	Albendazol
Bm14	Antígeno Recombinante
Célula T	Célula Efetora da Imunidade Celular
Célula T CD4	Célula T auxiliar
CPqAM	Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
DEC	Dietilcarbamazina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio imunoenzimático
Estádio	Fase intermediária entre duas mudas da larva de um helminto
FL	Filariose Linfática
Heteróximo	Ciclo parasitário composto por dois ou mais hospedeiros
ICT	Teste de imunocromatografia rápida em cartão
IgG	Imunoglobulina do isotipo G
IgG4	Imunoglobulina do isotipo G do subtipo 4
IgM	Imunoglobulina do isotipo M
IV	Ivermectina
kD	Quilo Dalton
MF	Microfilárias
µm	Micrômetro
MS	Ministério da Saúde
Og4C3	Anticorpo Monoclonal
OMS	Organização Mundial de Saúde

PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PGEFL	Plano Global de Eliminação da Filariose Linfática
PNEFL	Plano Nacional de Eliminação da Filariose Linfática
RMR	Região Metropolitana do Recife
SRNF	Serviço de Referência Nacional em Filarioses
TC	Tratamento coletivo ou em massa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	HIPÓTESE.....	16
3	JUSTIFICATIVA.....	17
4	REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	18
4.1	Filariose Linfática.....	18
4.1.1	Ciclo e Transmissão.....	19
4.1.2	Distribuição da Filariose Linfática.....	20
4.1.3	Sinais Clínicos.....	21
4.1.4	Tratamento.....	22
4.1.5	Diagnóstico Laboratorial Filariose.....	23
4.1.5.1	<u>Diagnóstico Parasitológico.....</u>	23
4.1.5.2	<u>Diagnóstico por Imagem.....</u>	24
4.1.5.3	<u>Diagnóstico Molecular.....</u>	25
4.1.5.4	<u>Diagnóstico Imunológico.....</u>	25
4.2	Resposta Imunológica na Filariose Linfática.....	28
4.3	O Antígeno Recombinante Bm14.....	30
4.4	Plano de Eliminação da Filariose Linfática.....	31
4.4.1	Plano Global para Eliminação da Filariose Linfática (PGEFL).....	31
4.4.2	Plano Nacional para Eliminação da Filariose Linfática (PNEFL).....	32
4.4.2.1	<u>Programa de Combate a Filariose do Recife.....</u>	32
5	OBJETIVO.....	34
5.1	Objetivo Geral.....	34
5.2	Objetivos específicos.....	34
6	METODOLOGIA.....	35

6.1	Área de estudo.....	35
6.1.1	População de estudo.....	36
6.2	Amostra e Casuística.....	36
6.2.1	Período de estudo.....	37
6.2.2	Critérios de Inclusão.....	37
6.2.3	Critérios de Exclusão.....	37
6.3	Desenho do estudo.....	38
6.4	Categorização da amostra.....	38
6.5	Análise estatística.....	38
6.6	Pesquisa parasitológica.....	39
6.7	Pesquisa do antígeno circulante filarial.....	40
6.8	Pesquisa de anticorpos antifilariais.....	41
6.9	Aspectos Éticos.....	42
7	RESULTADOS.....	43
8	DISCUSSÃO.....	49
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55
	APÊNDICE.....	62
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	63
	ANEXOS.....	64
	ANEXO A – Prevalência de microfilaremia e situação de endemicidade segundo bairros. Distrito Sanitário II – 1999-2000.....	65
	ANEXO B – Carta de Anuência do Serviço de Referência Nacional em Filarioses.....	66
	ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	67

1 INTRODUÇÃO

A Filariose Linfática (FL) acomete cerca de 120 milhões de pessoas distribuídas em 81 países (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010). O continente Americano possui 720 mil infectados com registros de transmissão ativa no Haiti, República Dominicana, Guiana e Brasil, onde o principal foco ativo de transmissão da FL está concentrado na Região Metropolitana de Recife (RMR), no Estado de Pernambuco (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2007).

A doença filarial é responsável por grandes perdas econômicas, visto que os portadores da infecção crônica apresentam redução da sua capacidade de trabalho, conseqüentemente diminuem a produtividade e a renda familiar (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2004). As manifestações clínicas são variadas e podem ser devido aos vermes adultos no sistema linfático ou a resposta inflamatória do hospedeiro contra microfilárias (BRASIL, 2006; DREYER e DREYER, 2000; FONTES; ROCHA, 2005; REY, 2001).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) diante de avanços tecnológicos no tratamento e no diagnóstico da FL, em 2000, lançou o Plano Global para Eliminação da Filariose Linfática (PGEFL); tendo como meta eliminá-la como um problema de saúde pública no mundo até 2020 (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1997, 2000). Seguindo a orientação da OMS, o Brasil elaborou o Plano Nacional para Eliminação da Filariose Linfática no Brasil (PNEFL) (ROCHA et al., 2010). E o município de Recife implantou o Programa de Controle/Eliminação da Filariose Linfática em 2003, onde o Tratamento Coletivo (TC) com Dietilcarbamazina (DEC) por via oral foi iniciado nas áreas com elevadas prevalências da parasitose na região (RECIFE, 2002; ROCHA et al., 2010; SANTOS, 2005).

É imprescindível que nas localidades onde a FL é endêmica e que adotaram estratégias para sua eliminação/controle tenham um diagnóstico sobre a situação da transmissão e o nível de infecção filarial no local, para isso, é preciso que haja ferramentas de diagnóstico disponíveis capazes de fornecer tais informações.

As ferramentas tradicionalmente utilizadas para pesquisa da FL nas áreas endêmicas baseiam-se principalmente no diagnóstico parasitológico e imunológico (antígenos e anticorpos). Embora as técnicas parasitológicas apresentem alta especificidade, estão limitadas ao fato de exigirem que a coleta de sangue seja realizada no horário de 23 horas da noite a uma hora da manhã (DREYER et al., 1996). Além disso, muitos indivíduos portadores da FL apresentam resultados falso-negativos por possuírem baixa parasitemia ou serem portadores apenas de vermes adultos (ROCHA, 2000; WITT; OTTENSEN, 2001).

Testes imunológicos realizados através da detecção do Antígeno Circulante Filarial (ACF) geraram um grande avanço no diagnóstico filarial, permitindo que os exames fossem realizados a qualquer horário do dia (MORE; COPEMAN, 1990; WEIL et al., 1997). Entretanto, estudos indicam que o desaparecimento do antígeno da circulação sanguínea apresenta um tempo ainda não definido para ocorrer (LAMMIE et al., 2004), dificultando a interpretação e o uso desses testes como instrumento no acompanhamento pós-tratamento e como critério de cura (WEIL; RAMZY, 2006).

A detecção de anticorpos utilizando antígenos recombinantes específicos aos parasitos da FL aumentou a especificidade deste método, contribuindo na redução de reações cruzadas com outras doenças parasitárias. Dentre os antígenos recombinantes disponíveis, o Bm14, demonstrou melhor desempenho para a detecção do isotipo IgG4 em soro de pacientes portadores de filariose Bancroftiana ou por *Brugia* (CHANDRASHEKAR et al., 1994; RAMZY et al., 1995). Esta metodologia apresenta sensibilidade acima de 90% e não apresenta reação cruzada com soro de pacientes portadores de outras helmintíases como: esquistossomose, ascaridíase (LAMMIE et al., 2004; WEIL et al., 2010). O seu potencial como ferramenta capaz de identificar a exposição dos indivíduos de área endêmica ao parasita filarial também foi destacado (HAYLEY; JOSEPH; MELROSE, 2010; LAMMIE et al., 2004; WEIL et al., 1999).

A presença de novas ferramentas para detecção da infecção por *W. bancrofti* na população humana, como a pesquisa de anticorpos utilizando antígenos recombinantes, abriram novas possibilidades e se apresentam como um diagnóstico alternativo; que pode solucionar as dificuldades observadas nos outros métodos já utilizados. Além disso, estudos vêm demonstrando que por volta de seis meses a dois anos, após receberem o tratamento com DEC, muitos pacientes apresentam-se soronegativos. (HAYLEY; JOSEPH; MELROSE, 2010; ROCHA et al., 2009; WEIL et al., 2010).

Dessa forma, as comunidades que adotaram o TC da população e estão próximas do final da administração dos medicamentos devem apresentar taxas reduzidas e até negativas de anticorpos anti-parasitas filarias, sugerindo possível interrupção da transmissão da FL no local. Daí a importância dos testes imunológicos para detecção de anticorpos serem incluídos no repertório dos diagnósticos da FL (RAHMAH et al., 2001; RAHMAN; HWEN-YEE; NOORDIN, 2007).

2 HIPÓTESE

Identificar através da pesquisa de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14 a quebra da transmissão da Filariose Linfática nas áreas endêmicas submetidas ao tratamento coletivo na RMR-PE.

3 JUSTIFICATIVA

A Região Metropolitana do Recife (RMR) / PE onde a filariose permanece como um problema de saúde pública, sendo o principal foco ativo da infecção no país (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2008; MEDEIROS et al., 2006), adotou desde 2003 o tratamento coletivo (TC) para áreas endêmicas da FL no município (SANTOS, 2005). Embora essa medida tenha sido a principal estratégia adotada para combater a infecção mundialmente, existe relativamente pouca informação disponível sobre os efeitos dos ciclos repetidos de terapia nas taxas e níveis de microfilaremia, antigenemia e anticorpos antifilarioses (HELMY et al., 2006).

Dessa forma, estudos que permitam uma apreciação sobre essa forma de atuação, são indispensáveis para se identificar o êxito das medidas adotadas e ainda para corrigir rapidamente possíveis falhas ou redirecionar os objetivos em função da realidade atual (REY, 2001). A análise das áreas que estão sob intervenção ou que concluíram o tratamento deve ser realizada com ferramentas apropriadas para vigilância, capazes de identificar o ressurgimento da infecção e que permitam a constatação do momento e do local onde há necessidade de continuidade e/ou interrupção do TC (RAMZY et al., 2006; WEIL et al., 2008).

Sendo assim, o monitoramento dos anticorpos através de antígenos recombinantes como o Bm14 nessas localidades, vislumbra uma nova abordagem no diagnóstico da FL, cuja importância fica evidente pelo seu poder de atuar na vigilância, de medir a evolução do tratamento individual e/ou coletivo. A análise dos anticorpos agregada com as outras técnicas já utilizadas possibilita o alcance de informações mais precisas e fidedignas do perfil epidemiológico da parasitose, hábeis a preencher lacunas ou falhas nos programas de controle, ou confirmar o seu sucesso na interrupção da transmissão da infecção filarial (WEIL et al., 2010).

4 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

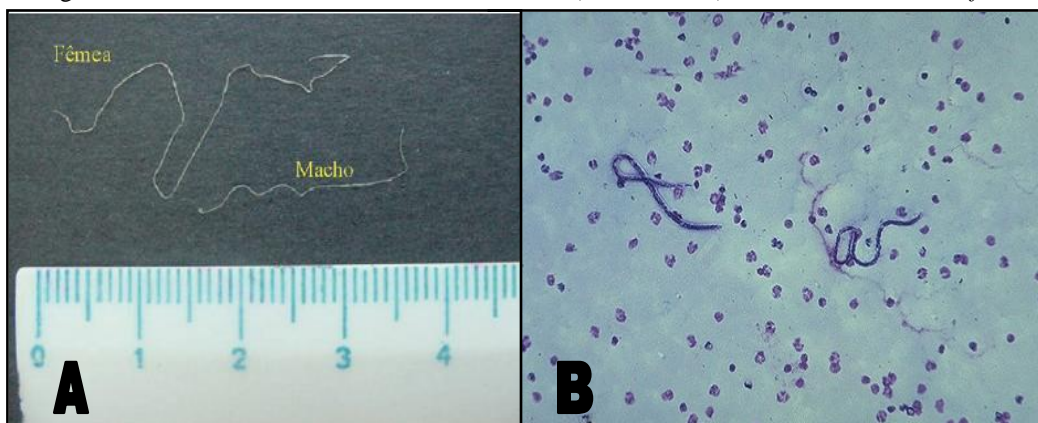
4.1 Filariose Linfática

A *Wuchereria bancrofti*, assim como as espécies *Brugia malayi*, *Brugia timori* são vermes nematóides causadores da FL humana, sendo a *W. bancrofti* a responsável pela parasitose no Brasil, onde também é conhecida como Filariose Bancroftiana ou Bancroftose (FONTES; ROCHA, 2005; WUCHERER, 1868).

Os vermes machos e fêmeas são muito longos e delgados, de aspecto opalino, translúcidos e revestidos de cutícula lisa, conforme poder observado na Figura 1-A. As fêmeas apresentam na sua porção mais próxima a vagina, embriões, denominados microfílarias, que podem ser observados na Figura 1-B. Esses embriões conservam uma bainha que nada mais é senão a delicada casca ovular distendida e se movimentam de forma ativa e chicoteante, sem direção (REY, 2001).

Os vermes adultos têm por habitat vasos e gânglios linfáticos, onde podem ser encontrados enrolados em novelos que provocam reação inflamatória e perturbam a circulação da linfa. A longevidade deles é desconhecida, podendo variar em média de 4 a 8 anos, entretanto, há autores que lhes atribuem 17 anos de vida (BRASIL, 2009; FONTES; ROCHA, 2005; REY, 2001). As microfílarias por razões desconhecidas depois de eliminadas pela fêmea migram dos ductos linfáticos e acumulam-se no interior da rede vascular sanguínea, principalmente nos pulmões. Ao anoitecer, elas começam a surgir no sangue periférico e seu número aumenta progressivamente até as primeiras horas da madrugada, decrescendo ao amanhecer (BRASIL, 2009; FONTES; ROCHA, 2005; REY, 2001).

Figura 1 – Vermes adultos e formas embrionárias (microfílarias) de *Wuchereria bancrofti*.



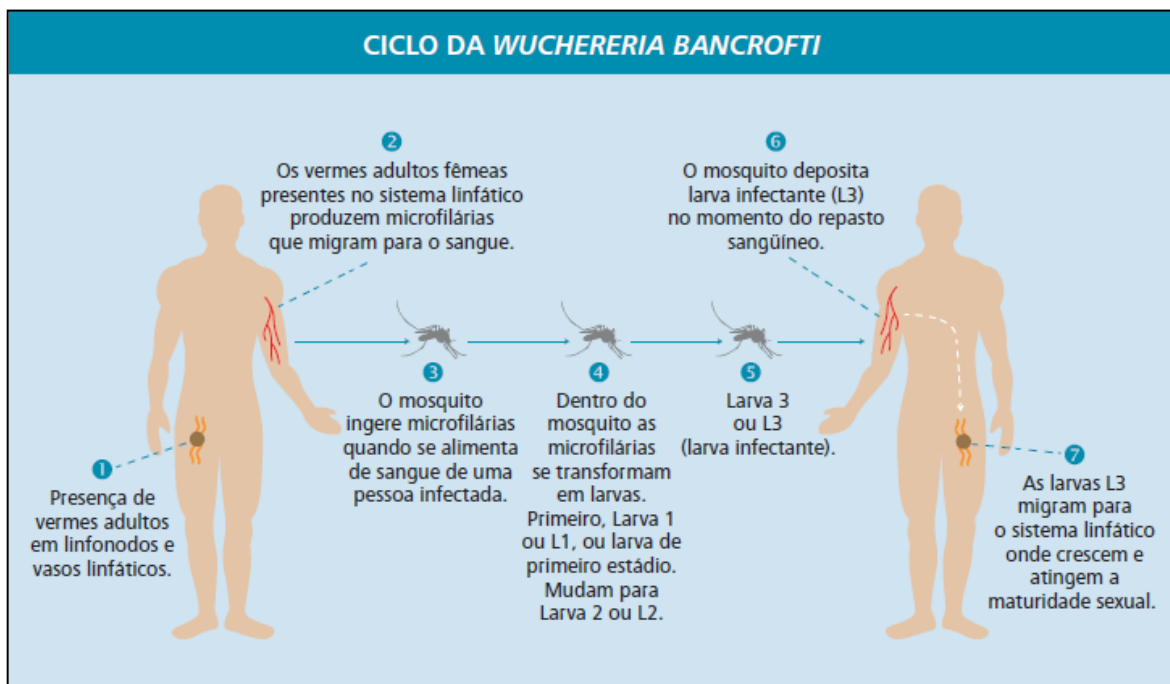
Fonte A: Rocha (apud BRASIL, 2009); Fonte B: Rocha (2004).

4.1.1 Ciclo e Transmissão

Os parasitos de *W. bancrofti*, apresentam ciclo evolutivo heteroxeno, compreendendo um hospedeiro invertebrado e um outro hospedeiro vertebrado, tendo como único reservatório o homem (BRASIL, 2009; FONTES; ROCHA, 2005; REY, 2001). A transmissão desses parasitos ao homem ocorre através do contato com insetos dípteros, sendo o principal vetor em nosso país, mosquitos fêmeas da espécie *Culex quinquefasciatus*, (REGIS et al., 1996).

Ao sugar o sangue de indivíduos parasitados, o mosquito-vetor ingere microfilárias que se transformam em uma *larva salsichóide* (L₁). Após alguns dias ocorre a primeira muda, esse segundo estágio larval (L₂) cresce rapidamente, abandona os músculos torácicos e realiza a segunda muda na hemolinfa. A larva resultante do terceiro estágio (L₃) constituirá a forma infectante para o hospedeiro vertebrado; movendo-se ativamente, desloca-se pela cavidade geral do inseto para ir alojar-se de preferência na bainha da tromba do mosquito, localizada na probóscida do inseto. Quando o vetor realiza nova hematofagia, a larva infectante migra e penetra pela solução de continuidade do corpo do organismo hospedeiro vertebrado, estimulada – acredita-se – pelo calor da pele humana (Figura 2).

Figura 2 - Ciclo biológico da *Wuchereria bancrofti*.



Fonte: Brasil (2009).

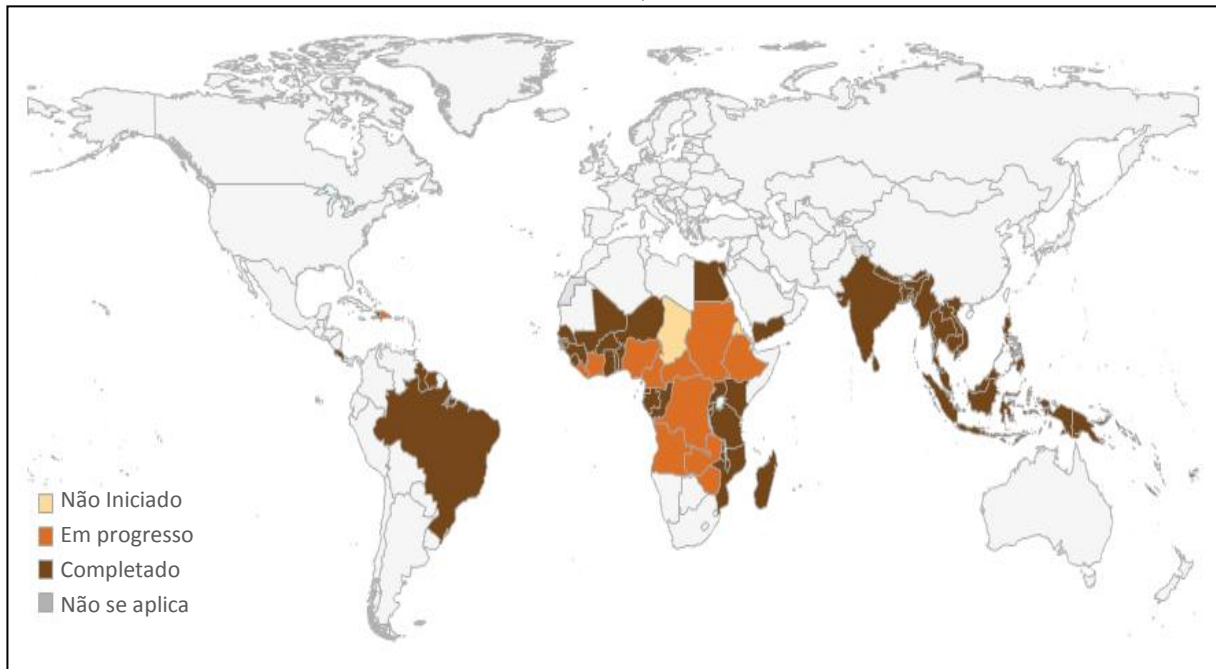
O ciclo completo no hospedeiro invertebrado é de 15 a 20 dias em temperatura de 20-25°C, já no hospedeiro vertebrado, tornam-se adultos 7 a 8 meses depois de migrarem para os

vasos linfáticos, atingindo em torno de um ano sua maturidade sexual (FONTES; ROCHA, 2005; REY, 2001).

4.1.2 Distribuição da Filariose Linfática

A FL é encontrada em regiões tropicais e subtropicais do planeta, sendo um sério problema de saúde pública nessas áreas, que na sua maioria apresentam uma situação de muita pobreza (ALBUQUERQUE, 1993; FONTES; ROCHA, 2005; SEIM; DREYER; ADDISS, 1999). Na Figura 3 temos a distribuição mundial da FL segundo o tratamento preconizado pela Organização Mundial de Saúde no ano de 2010. O aumento populacional nessas localidades tem contribuído para uma rápida e não planejada expansão dos centros urbanos, o que tem favorecido a manutenção e/ou surgimento de criadouros do mosquito-vetor (ROCHA et al., 2000).

Figura 3 – Distribuição da Filariose Linfática mundialmente segundo o tratamento, países e territórios endêmicos, 2010.

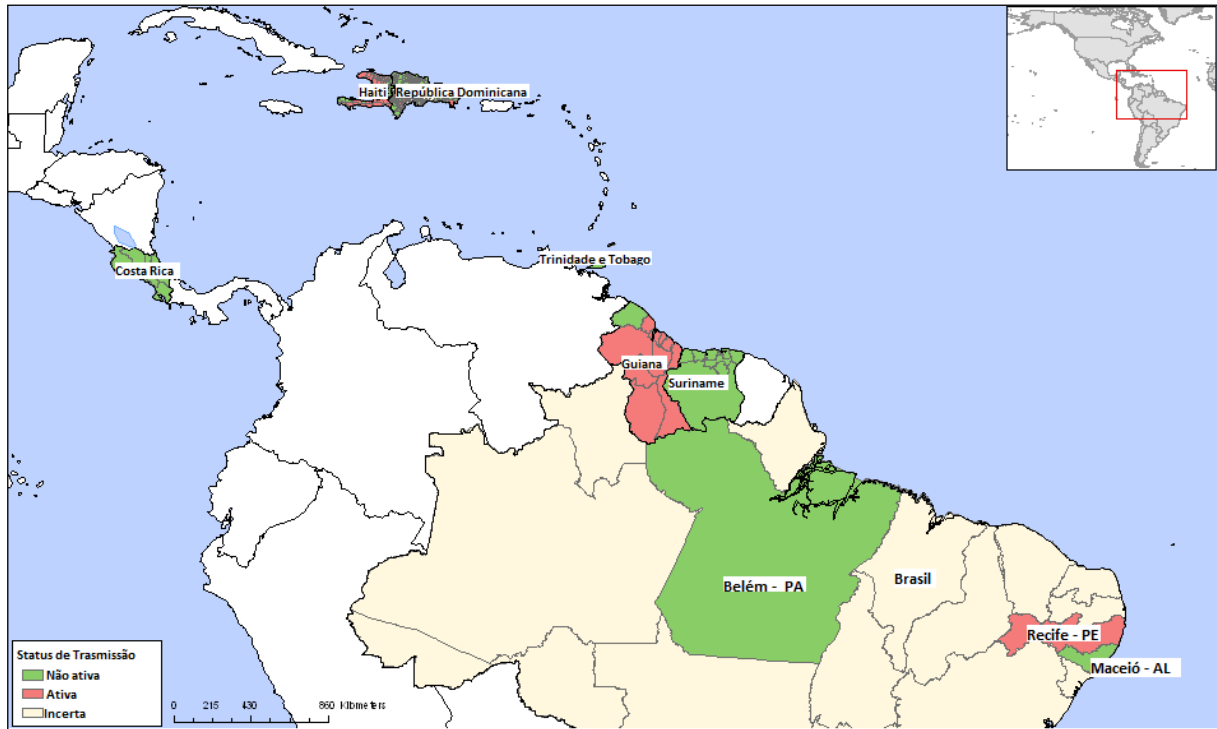


Fonte: Adaptado de Organização Mundial de Saúde (2012, tradução nossa).

Cerca de 1,3 bilhão de pessoas, ou seja, mais de 20% da população mundial está sob o risco de adquirir a FL (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2010). No continente Americano estima-se que existam 720.000 infectados, com registro de transmissão da doença em quatro países: Haiti, Brasil, República Dominicana e Guiana, conforme apresentado na Figura 4. No nosso país, estima-se que 60.000 pessoas estejam infectadas e que mais de um

milhão de pessoas residam em áreas de risco (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2007).

Figura 4 – Países e territórios endêmicos da Filariose Linfática no Continente Americano.



Fonte: Adaptado da Organização Pan-Americana de Saúde (2007, tradução nossa).

Esta parasitose representa uma ameaça constante à vida e ao bem-estar da população das áreas endêmicas, ocasionando consideráveis gastos com assistência médica e perdas econômicas; além de causar prejuízos psicossociais nos indivíduos portadores das formas crônicas desfigurantes e estigmatizantes da doença (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002; PERERA et al., 2007; REY, 2001).

4.1.3 Sinais Clínicos

O desenvolvimento de manifestações clínicas em decorrência da presença tanto de vermes adultos, quanto das microfilárias, está relacionado a fatores como frequência de exposição a picadas pelos vetores, estágio do parasito, resposta imunológica apresentada pelo hospedeiro (BRASIL, 2009; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2000; REY, 2001). Além disso, a incidência e a gravidade das manifestações clínicas aumentam com a idade e as lesões crônicas podem tornar-se irreversíveis (FONTES; ROCHA, 2005). Os vermes adultos

acometem primariamente os vasos linfáticos, pelos quais apresentam uma pré-direção; enquanto que as microfilarias agem, em sua maioria, fora dele (BRASIL, 2009).

Segundo Fontes e Rocha (2005), além da invasão dos vasos linfáticos, pode haver comprometimento do sistema renal e dos pulmões; para eles existem quatro formas clínicas principais da FL se apresentar: assintomática ou doença subclínica; manifestações agudas; manifestações crônicas (que podem tornar-se irreversíveis); e eosinofilia pulmonar tropical (EPT). Como exemplos de manifestações agudas destacam-se: linfangites (inflamação), linfangiectasias (dilatação) dos vasos linfáticos e enfartamento dos gânglios linfáticos (linfadenopatia). Já na fase crônica destaca-se: o edema linfático (linfedema) podendo levar ao quadro de elefantíase, hidrocele (BRASIL, 2009; FONTES; ROCHA, 2005).

A EPT trata-se de uma síndrome originada pela migração das microfilárias para o pulmão, causando uma doença intersticial pulmonar e um aumento importante de eosinófilos na corrente sanguínea, em virtude de uma resposta imunológica exacerbada (BRASIL, 2009).

Apesar das várias formas de manifestação descritas acima, a grande maioria dos portadores da FL não tem sintomatologia aparente. Contudo, a literatura descreve que eles já apresentam algum dano linfático (SURESH et al, 1997). Esses indivíduos, assintomáticos, podem funcionar como fonte de infecção; e do ponto de vista epidemiológico, necessitam de atenção por contribuírem para dispersão da parasitose. Visto que uma pessoa infectada pode transmitir microfilárias por longos períodos, devido à longevidade dos vermes adultos, em geral 4 a 8 anos (BRASIL, 2009).

4.1.4 Tratamento

Atualmente existem três drogas disponíveis para tratamento dos infectados pela FL: Ivermectina, Albendazol e Dietilcarbamazina. Em nosso país o tratamento é realizado com a DEC ou Dietilcarbamazina (dietilcarbamil-metil-piperazina) por via oral, que é rapidamente absorvida, tendo como objetivos a destruição dos vermes, eliminação, redução ou prevenção da morbidade. O medicamento tem ação rápida sobre as microfilárias da circulação e ação menor e mais lenta sobre os vermes adultos (REY, 2001; FONTES; ROCHA, 2005).

A Ivermectina (IV) trata-se de anti-helmíntico utilizado na medicina veterinária e estendido para o ser humano (BINA, 2002 apud LIMA, 2007). Apresenta excelente e prolongado efeito microfilaricida. Porém, não possui ação adulticida contra o verme (REY, 2001). Outra droga disponível é o Albendazol (ALB), que embora não apresente ação microfilaricida, em doses elevadas e repetidas pode matar os vermes adultos, é importante

devido a sua ação contra enteroparasitoses, já que as mesmas são observadas com frequência no meio em que vivem os pacientes vitimados pela bancroftose, ou seja, carência de saneamento básico e baixo nível socioeconômico (FONTES; ROCHA, 2005).

O tratamento individual através da demanda espontânea nos serviços de saúde preconizado pela OMS recomenda 6 mg/kg de DEC durante 12 dias (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1992). Porém, essa recomendação não se aplica aos programas de tratamento coletivo nas áreas endêmicas visto que as elevadas doses de DEC diariamente levam muitas pessoas a abandonarem ou recusarem o tratamento, assim sugere-se nessas localidades, um esquema de dose única de 6mg/kg uma vez por ano durante um período de 4 a 6 anos (ANDRADE, 1997; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1992), pois pode causar interessante redução e até mesmo a negatificação da microfilaremia em percentuais equivalentes aos do tratamento individual preconizado pela OMS.

4.1.5 Diagnóstico Laboratorial da Filariose

Em virtude das alterações provocadas pela *W. bancrofti* serem semelhantes aquelas produzidas por outros agentes etiológicos, o diagnóstico clínico é difícil, necessitando ser complementado com o diagnóstico laboratorial (FONTES; ROCHA, 2005). Sendo assim, o uso de ferramentas de diagnóstico apropriadas torna-se de extrema importância para a detecção de indivíduos parasitados e em investigações epidemiológicas na identificação de possíveis focos, na análise e avaliação da situação filarial em áreas endêmicas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1994; OTTESEN, 2000; ROCHA et al., 2009).

4.1.5.1 Diagnóstico Parasitológico

A técnica parasitológica mais difundida é a gota espessa, por ser de baixo custo e fácil processamento laboratorial, utiliza 20-60µl de sangue capilar (Figura 5). Esse pequeno volume sanguíneo confere ao teste uma baixa sensibilidade, podendo não identificar indivíduos com baixa parasitemia (ROCHA, 2000; WITT; OTTENSEN, 2001).

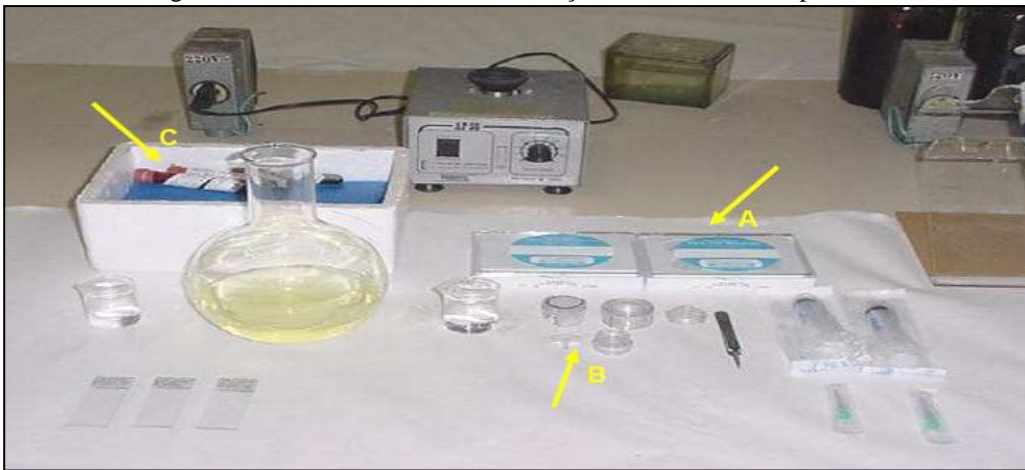
Figura 5 – Lâmina de gota espessa.



Fonte: Rocha (apud BRASIL, 2009).

Outro método de diagnóstico disponível é a técnica de concentração de Knott, que utiliza de 1 a 5 mL de sangue venoso aumentando a sensibilidade, mas segundo Rocha (2000) é laboriosa, sendo substituída nos laboratórios pela técnica de filtração em membrana de policarbonato. Essa última considerada o *gold standard* para pesquisa de microfilárias, é mais sensível que as mencionadas anteriormente, utiliza-se até 16 mL de sangue venoso e permite identificar indivíduos com baixa parasitemia, fato esse importante como critério de cura após o tratamento, entretanto, tem um elevado custo. A Figura 6 indica os materiais utilizados na filtração: caixas com as membranas (seta A), suportes das membranas (seta B) e amostras de sangue refrigeradas (seta C) (ROCHA, 2004).

Figura 6 – Materiais utilizados na filtração em membrana de policarbonato.



Fonte: Rocha (2004).

Os três métodos citados acima só identificam as pessoas portadoras das formas embrionárias do verme (microfilárias), não identificando a presença de formas adultas. Além disso, a coleta do sangue deve ser feita no horário noturno de 23 a uma hora da manhã, sendo este o período de maior densidade de microfilárias para *W. bancrofti* no sangue periférico (DREYER et al., 1996).

4.1.5.2 Diagnóstico por Imagem

A utilização da ultrassonografia empregada de forma pioneira por pesquisadores brasileiros, como uma ferramenta não invasiva para o diagnóstico filarial, permite a visualização de vermes adultos, mas é considerada uma técnica operador-dependente. É realizada em casos onde há indicação clínica e não rotineiramente (AMARAL et al., 1994; DREYER et al., 1996, 1998; ROCHA et al., 2009).

4.1.5.3 Diagnóstico Molecular

Segundo Fontes e Rocha (2005) a Reação em Cadeia da Polimerase ou Polymerase Chain Reaction (PCR) para detectar Ácido Desoxirribonucleico ou Deoxyribonucleic Acid (DNA) de *W. bancrofti* é uma técnica bastante sensível. E, por isso, apresenta uma importância no diagnóstico em áreas onde existem mais de uma espécie filarial. A pesquisa pode ser realizada com sangue, urina e saliva (métodos não invasivos) coletados a qualquer hora do dia; sendo capaz de detectar DNA livre em infecções ocultas (ABBASI et al., 1999; WILLIAMS et al., 1996). Em 1996, utilizando essa técnica, McCarthy e outros (1996) trabalhando com amostras de sangue de indivíduos microfilarêmicos, obtiveram sensibilidade e especificidade de 95% e 100% respectivamente. Outro estudo sobre *W. bancrofti* cujo objetivo foi avaliar amostras de urina de pacientes microfilarêmicos mostrou que 100% das amostras eram positivas para DNA do parasito (LUCENA et al., 1996). Amostras de sangue também foram examinadas por PCR, mostrando que esta técnica é capaz de detectar o DNA do parasito em sangue coletado pela manhã mesmo nas áreas endêmicas em que ocorre a periodicidade noturna das microfíliarias (FURTADO et al., 1997).

Embora métodos baseados na pesquisa de DNA apresentem excelente sensibilidade e especificidade, a sua introdução na rotina dos laboratórios, principalmente nas áreas rurais, ainda é incomum. A utilização da PCR sofre com a falta de padronização o que gera resultados variados (NDAO, 2009). Trata-se de uma técnica que necessita de técnicos capacitados e treinados (BOCKARIE et al., 2000; MCCARTHY et al., 1996; THANOMSUB et al., 2000).

4.1.5.4 Diagnóstico Imunológico

A sorologia se faz uma opção necessária no diagnóstico uma vez que a confirmação clínica e parasitológica, muitas vezes não é fácil.

a) Pesquisa de Antígenos: A pesquisa por Antígenos Circulantes Filariais (ACF), que são produtos secretados ou excretados pelo verme, pode ser feita através de dois testes disponíveis comercialmente: o primeiro – seria através de um anticorpo monoclonal (Og4C3) 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* (BRASIL, 2009). Este tipo de abordagem foi a primeira a tornar-se disponível comercialmente no formato de kit utilizando a técnica Imunoenzimática (ELISA) - fabricado por JCU Tropical Biotechnology Pty. Ltd., Townsville, Queensland, Austrália - (TROPBIO, 1996) (Figura 7) (MORE; COPEMAN,1990).

Figura 7 - Kit Og4C3- Trop Ag *W. bancrofti* Elisa.



Fonte: Souza (2012).

O segundo teste surgiu da necessidade de se ter um teste de fácil aplicação no campo. Assim foi lançado pelo BINAX (Balgowlah, New South Wales, Austrália) (Figura 8), um teste de imunocromatografia rápida em cartão (ICT), que utiliza o anticorpo monoclonal AD12, no reconhecimento de um antígeno com 200 kD produzidos por vermes adultos (ARAUJO, 2009; BRASIL, 2009; ROCHA, 2004; WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997).

Figura 8 – Cartão do ICT (teste de imunocromatografia rápida).



Fonte: Souza (2012).

b) Pesquisa de Anticorpos: Testes de anticorpos vêm sendo úteis para mapear e monitorar a distribuição da filariose em países e regiões que estabeleceram programas de eliminação baseados no tratamento em massa da população. Também é recomendada sua aplicação em indivíduos com sinais clínicos da filariose. Anteriormente esse tipo de pesquisa era restringida devido à carência na sensibilidade e/ou especificidade ou ainda devido à falta de padronização (WEIL et al., 2010).

Em virtude das limitações das pesquisas com anticorpos já conhecidas, a Companhia Cellabs (Brookvale, NSW, Austrália) desenvolveu recentemente um teste “*CELISA Test*” (Figura 9), que já vem equipado com reagentes padronizados e um protocolo otimizado. Trata-se de um ensaio Imuno-enzimático (ELISA) indireto, ou seja, detecta anticorpos (IgG4) para o antígeno recombinante Bm14 e pode ser realizada com soro, plasma ou sangue coletado em qualquer horário do dia. Além disso, os testes também podem ser realizados com material eluído de papel de filtro. O Teste (IgG4 – anti-Bm14 filarial) pode, confiantemente, identificar indivíduos expostos à infecção na ausência de qualquer outra evidência de confirmação (WEIL et al., 2010). Estudos anteriores demonstraram que este teste é um marcador sensível de infecção ou exposição pesada aos parasitas filariais (CHANDRASHEKAR et al., 1994; RAMZY et al., 1995; LAMMIE et al., 2004; WEIL et al., 1999).

Figura 9 - Kit *Bm14* pesquisa de anticorpos - *CELISA Test*.

Fonte: Souza (2012).

4.2 Resposta Imunológica na Filariose Linfática

Os helmintos são conhecidos pela sua capacidade de modular as respostas imunes em seus reservatórios (ADJOBIMEY; HOERAUF, 2010). Para esses vermes, é vantajoso burlar o sistema imune do hospedeiro estimulando uma resposta imunológica ineficiente, a fim de encontrarem um local adequado para a maturação e propagação, sem matar ou prejudicar o seu hospedeiro (HELMY et al, 2000). Segundo Bourke, Maizels e Mutapi (2011), a resposta para combater o ataque parasitário depende da heterogeneidade que há na forma de interação inicial do parasito com as células do hospedeiro e de fatores como: nível de exposição prévia, idade, sexo, presença de *Wolbachia spp* - endossimbiontes bacterianos.

A *Wolbachia* desempenha um papel importante na biologia dos nematóides filariais. Acredita-se que lipopolissacarídeos produzidos pelas *Wolbachias* sejam responsáveis por induzir a resposta inflamatória no hospedeiro humano e episódos repetidos de inflamação aguda associados à exposição crônica desses mediadores, conduzem a uma disfunção linfática e dessensibilização da imunidade inata, podendo levar ao aumento da susceptibilidade à infecção e estabelecimento de microorganismos oportunistas (TAYLOR et al., 2001).

Para Taylor, Cross e Bilo (2000), a resposta inflamatória é considerada como resultado da reação adversa à quimioterapia, visto que após o tratamento, grandes quantidades de material do parasito são liberados. E a gravidade dessa reação adversa ao medicamento estaria relacionada com a intensidade da carga parasitária. Outros autores justificam o desenvolvimento de sintomas clínicos, devido à presença dos vermes adultos nos vasos

linfáticos ou como resposta imune-inflamatória do hospedeiro contra as microfilárias (DREYER; DREYER, 2000; BRASIL, 2006; FONTES; ROCHA, 2005).

De acordo com literatura nas infecções por helmintos, a princípio, as células do sistema imune inato (células apresentadoras de antígenos: célula T) conduzem a resposta imunológica; mas com o curso da infecção, as células T CD4, são ativadas e passam a conduzir a resposta do hospedeiro, podendo se diferenciar em linhagens alternativas: Th1, Th2, Th17 e T reguladoras (Treg) (BOURKE; MAIZELS; MUTAPI, 2011). Contudo, muito pouco é conhecido sobre a imunidade protetora em seres humanos portadores da FL, no entanto, os dados epidemiológicos sugerem que os seres humanos, tendem a desenvolver uma imunidade parcial após anos de exposição ao parasita (HELMY et al, 2000).

Indivíduos infectados sem sinais clínicos da doença são caracterizados por uma supressão das respostas de IL-2 e IFN- γ com mudança para respostas Th2 (IL-4, IL-5) e Treg (IL-10 e TGF- β): acredita-se que esta seja a forma pela qual os vermes, busquem evadir-se das defesas do hospedeiro e garantir sua sobrevivência. Em contraste, pacientes com patologia crônica exibem uma forte resposta imune Th1 ou mesmo uma resposta Th17 (NUTMAN; KUMARASWAMI, 2001).

A conversão de células T CD4 para um fenótipo Th2, em humanos está associada com a produção de interleucinas (TURNER et al., 2003; JACKSON et al., 2004; QUINNELL et al., 2004), com a secreção de IgE e IgG4 pelas células plasmáticas (HAGAN et al., 1991) e ativação de células efectoras, como eosinófilos (BOURKE; MAIZELS; MUTAPI, 2011; KLION; NUTMAN, 2004).

Na FL, anticorpos específicos para as larvas infectantes são indicados por conferir resistência à re-infecção (DAY; GREGORY; MAIZELS, 1991). Essa proteção contra helmintos mediada por anticorpos está tipicamente atribuída a títulos elevados de IgE parasito- específicos (FAULKNER et al., 2002; PEARCE; MACDONALD, 2002).

O perfil patológico de pacientes infectados com filariose é refletido nas suas respostas com anticorpos (Ig), há uma proeminência de respostas com anticorpos IgG4 na filariose (KURNIAWAN-ATMADJA et al., 1998; OTTESEN et al., 1985). Estudo realizado por Helmy e outros (2000), mostraram que anticorpos IgG4 apresentam maior reatividade aos antígenos de larvas infectantes do que as outras subclasses de IgG. Os anticorpos IgG4 antifilarioses têm se mostrado bons marcadores para detecção da infecção filarial, sendo a IgG4 bastante elevada em indivíduos que são microfilarêmicos assintomáticos. Naqueles onde existe a patologia crônica, é observada uma maior quantidade de IgE. (RAHMAN; HWEN-YEE; NOORDIN, 2007).

4.3 O Antígeno Recombinante Bm14

As ferramentas de diagnóstico filarial baseadas na detecção de anticorpos apresentavam baixa sensibilidade e especificidade, além de escassa padronização metodológica, com baixa reprodutibilidade. Levando ao desenvolvimento de novos métodos, principalmente na década de 1990, baseados na utilização de antígenos recombinantes para detectar anticorpos específicos filarias (CHANDRASHEKAR et al., 1994; WEIL et al., 2010).

A pesquisa de anticorpos específicos através de antígenos recombinantes supera os problemas de reações cruzadas com outros parasitos filariais que existiam quando se utilizava extratos brutos filariais para detecção de anticorpos (DISSANAYAKE et al, 1994). E apresenta-se como alternativa às dificuldades deparadas nos métodos até então empregados para diagnóstico filarial (CHANDRASHEKAR et al, 1994).

O Bm14 trata-se de uma proteína recombinante, que foi selecionada de uma biblioteca de DNA complementar de *B. malayi* é reconhecido no soro de pacientes com FL; mas não em pacientes com infecções por helmintos não filariais. Estudos preliminares vêm demonstrando que o ELISA baseado na detecção de anticorpos IgG4 específicos ao Bm14 apresenta sensibilidade maior que 90% no diagnóstico de pacientes expostos a filariose por *Brugia* ou *Bancrofti* (CHANDRASHEKAR et al., 1994; RAMZY et al., 1995; WEIL et al., 1999; LAMMIE et al., 2004).

A especificidade do Bm14 não surpreende, uma vez que o principal critério de Chandrashekar para selecionar esse antígeno recombinante, foi o fato de não reagir com soro de pacientes com outras infecções helmínticas. Ele fez um pool de soros dos pacientes com bancrofitose e um outro pool de pacientes infectados com *Schistosoma mansoni*, *Loa loa*, *Mansonella perstans*, *Ascaris lumbricoides*, *Dracunculus medinensis*, *Strongilóide stercoralis*, *Ancylostoma duodenale*, *Hymenolepis nana*, *Enterobius vermicularis* e *Onchocerca volvulus*. Selecionou apenas os que não reagiram com o pool de soros dos helmínticos (CHANDRASHEKAR et al., 1994).

Ramzy e outros (1995) avaliando o Bm14 em população residente do Cairo de área endêmica para filariose em relação a egípcios que não residiam em área endêmica sendo livres de FL, ou que eram portadores de infecções helmínticas não filariais como: *Schistosoma*, *Áscaris*, *Echinococcus*, *Fasciola*, *Trichina*. Ele obteve sensibilidade maior de 90% entre microfilarêmicos e portadores da filariose clínica. Nenhum soro não endêmico incluindo aqueles com infecções helmínticas não filariais apresentou anticorpos anti-Bm14.

Estudos em animais apontam que o Bm14 pode detectar exposição recente a larvas infectantes e a presença de vermes adultos, pois demonstram que este anticorpo surge ainda no período pré-patente da infecção. Segundo esses autores, as taxas de prevalência de anticorpos e os títulos em indivíduos endêmicos sugere que muitos destes indivíduos possuem infecções ativas ou pode refletir infecção pré-patente, ou simplesmente uma exposição excessiva ao parasita, sem estabelecimento de parasitose (RAMZY et al., 1995; TISCH et al., 2008).

O uso da pesquisa de anticorpos frente ao Bm14 trata-se de uma nova ferramenta diagnóstica, capaz de auxiliar na identificação dos casos de infecção filarial, além de mensurar a evolução do tratamento individual e coletivo (WEIL et al., 2010), juntamente com o andamento dos programas de controle e combate a filariose. O acompanhamento e a avaliação das estratégias adotadas, a execução de campanhas anuais e os seus efeitos sobre as taxas da infecção são cruciais para a determinação da eficácia do TC e para afirmar se esta técnica tem conseguido eliminar a parasitose.

4.4 Plano de Eliminação da Filariose Linfática

4.4.1 Plano Global para Eliminação da Filariose Linfática (PGEFL)

Na década de 1990, diante de avanços tecnológicos a FL foi considerada como uma das seis doenças infecciosas erradicáveis ou potencialmente erradicáveis. Através da resolução 50.29, a Assembléia Mundial de Saúde decidiu que a mesma deveria ser eliminada como um problema de saúde pública no mundo até 2020 (CENTER OF DISEASES CONTROL AND PREVENTION, 1993, 1999; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1997).

No ano de 2000 lançou-se o Plano Global para Eliminação da Filariose Linfática (PGEFL) como resultado de uma parceria mundial de diversas organizações que colaboraram com a Organização Mundial de Saúde, introduzindo o tratamento com drogas antifilárias nos países endêmicos, dentre as suas metas estava o tratamento em massa da população nas áreas endêmicas durante um período suficientemente longo para garantir que o nível de microfilárias no sangue permanecesse inferior ao que é necessário para sustentar transmissão (WAMAE et al., 1992; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1997, 2000, 2010).

O tratamento para toda população em determinada localidade, é recomendado após identificação de alto índice de prevalência no local (antigenemia ou microfilaremia maior ou

igual a 1%) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2005); e apresenta como vantagem o fato de ser mais econômico e mais fácil de ser aplicado, uma vez que dispensa exames de diagnóstico individual. Também se mostra mais eficiente, por alcançar todos aqueles que se apresentariam como falsos negativos, nos exames parasitológicos (REY, 2001).

4.4.2 Plano Nacional para Eliminação da Filariose Linfática (PNEFL)

No Brasil, onde a FL apresenta-se como um problema de saúde pública desde a década de 1950, com altos níveis de infecção (ROCHA; FONTES, 1998), pode-se observar durante a década de 1980, uma redução na prevalência dos casos, tal fato levou o Ministério da Saúde a acreditar que a filariose estaria sob controle e isso provavelmente, contribuiu para o aumento do número de casos e expansão a outras áreas conforme ocorrido na Região Metropolitana de Recife. A redução das ações de controle vetorial, a ausência de ações integradas de saneamento e de educação sanitária, aliadas ao crescimento urbano desordenado foram fatores adicionais que contribuíram para esse aumento (MEDEIROS et al., 2003).

O Conselho Nacional de Saúde, em 1996, através da Resolução Nº 190 de 13/06/96, criou o Plano Nacional para Eliminação da Filariose Linfática no Brasil, definindo diretrizes e estabelecendo como estratégias a avaliação dos focos ativos e extintos; a interrupção da transmissão nos focos endêmicos (tratamento em massa e controle vetorial), o esgotamento das fontes de infecção, a assistência integral aos portadores de morbidade filarial e a eliminação da endemia no país (ROCHA et al., 2010).

4.4.2.1 Programa de Combate a Filariose do Recife

Na capital pernambucana, Recife, a infecção filarial apresenta-se como um problema de saúde pública desde a década de 50, onde inquéritos hemoscópicos indicavam a presença da FL como endêmica na região, com uma prevalência de 6,9%. Estudos posteriores, nos anos 1980, constataram a persistência da Bancroftose e também sua expansão para outras localidades limítrofes, como Olinda e Jaboatão dos Guararapes, onde foram encontrados casos autóctones (MACIEL et al., 1996; MEDEIROS et al., 1999; 2006; ROCHA; FONTES, 1998).

Na Região Metropolitana do Recife (RMR) – PE, a prefeitura do Recife, em 2001, priorizou as políticas públicas de intervenção sobre a FL através da Secretaria de Saúde. Para tal, estabeleceu-se um Programa de Controle/Eliminação da Filariose Linfática com estratégias diferenciadas (abordagem individual ou coletiva) de acordo com o nível de

prevalência da infecção na população. A partir de informações obtidas em um inquérito epidemiológico (1999-2000), que determinou a presença da FL e sua distribuição espacial no município, foram identificadas áreas com elevadas prevalências de infecção filarial, consideradas como núcleo de transmissão da doença no município, e onde foi implantado o Tratamento Coletivo ou TC (RECIFE, 2002; SANTOS, 2005).

O TC com drogas antifilarias é indicado para áreas de risco e com elevada transmissão - prevalência igual ou superior a 1%, por microfilaremia ou antigenemia (ROCHA et al, 2010). Adotando como conceito de TC, “quando toda uma população de doentes e não doentes fazem o tratamento simultaneamente em várias tomadas semestrais ou anuais por no mínimo quatro a seis anos, período este baseado na vida média do verme adulto” (SANTOS, 2005). Essa estratégia baseia-se “na constatação da eficácia de uma única dose de DEC seis mg/kg como capaz de remover as microfilárias e manter essa situação pelo menos por um ano” (HELMY et al., 2006; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002).

Após seis anos de iniciado o TC na RMR (maio de 2003), é imprescindível uma investigação epidemiológica na área, a fim de fornecer informações relevantes para controle e eliminação da FL, planejamento de novas ações, e tomada de decisões.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Avaliar os títulos de anticorpos anti-Bm14, para monitorar a infecção filarial por *Wuchereria bancrofti*, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo.

5.2 Objetivos Específicos

- a) Verificar o comportamento de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14 tendo como ponto de referência o pré-tratamento;
- b) Comparar a presença de microfilaremia e a cinética de antígenos através do Og4C3-ELISA na população alvo frente ao Bm14.

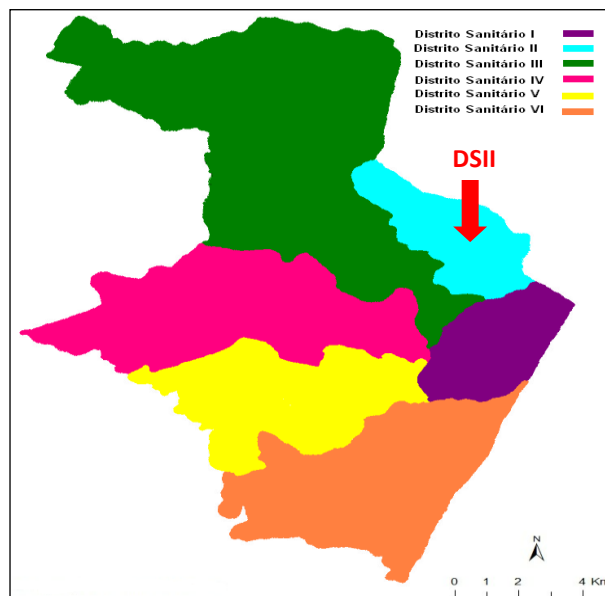
6 METODOLOGIA

6.1 Área de estudo

Distrito Sanitário II (DSII), localizado na Região Metropolitana do Recife – RMR, Pernambuco/Brasil (Figura 10). Os distritos são unidades descentralizadas da administração do serviço de saúde, com a provisão de desenvolver a política local de saúde no território de abrangência (SANTOS, 2005). A região é composta por 18 bairros, distribuídos em 3 Microrregiões (subdivisões do DS II), abrangendo 45.307 domicílios, dos quais apenas 40% possuem esgotamento sanitário. Apresenta uma população de 201.002 habitantes, com uma área de 1.430ha. Limita-se ao norte e ao leste com o município de Olinda; ao oeste e ao sul com o DS III (RECIFE, 2001).

Um inquérito hemoscópico realizado na cidade de Recife entre agosto de 1999 e maio de 2000 revelou uma prevalência média de 1,3% para FL no município, sendo o DSII o que apresentava maior taxa (3,96%), e assim reconhecido como o principal ambiente onde se produzia e se transmitia a filariose na cidade (RECIFE, 2002).

Figura 10 – Mapa da cidade do Recife – PE, Distritos Sanitários (DS).



Fonte: Adaptado do site Mapas para colorir (2012).

Dentre os bairros do DSII apenas cinco não apresentaram registro de casos de FL, os 13 restantes possuíam casos e revelaram altas prevalências como os bairros de Alto Santa Terezinha (10,37%) e Água Fria (6,21%) (ANEXO A). Os bairros que apresentaram

prevalências de microfilaremia >10% e de 5%-10% (alta e média endemicidade respectivamente) foram eleitos para iniciarem o TC de todos os moradores dessas áreas em 2003 (RECIFE, 2002).

6.1.1 População de estudo - Indivíduos residentes no DSII da cidade de Recife, área endêmica para filariose linfática localizada na Região Metropolitana do Recife, e que foram submetidos ao TC; com soros armazenados no banco de amostras biológicas do Serviço de Referência Nacional em Filarioses (SRNF) (Figura 11).

Figura 11 – Mapa da área de Tratamento Coletivo para FL do Distrito Sanitário II.



Fonte: Adaptado de Santos (2005)

6.2 Amostra e Casuística

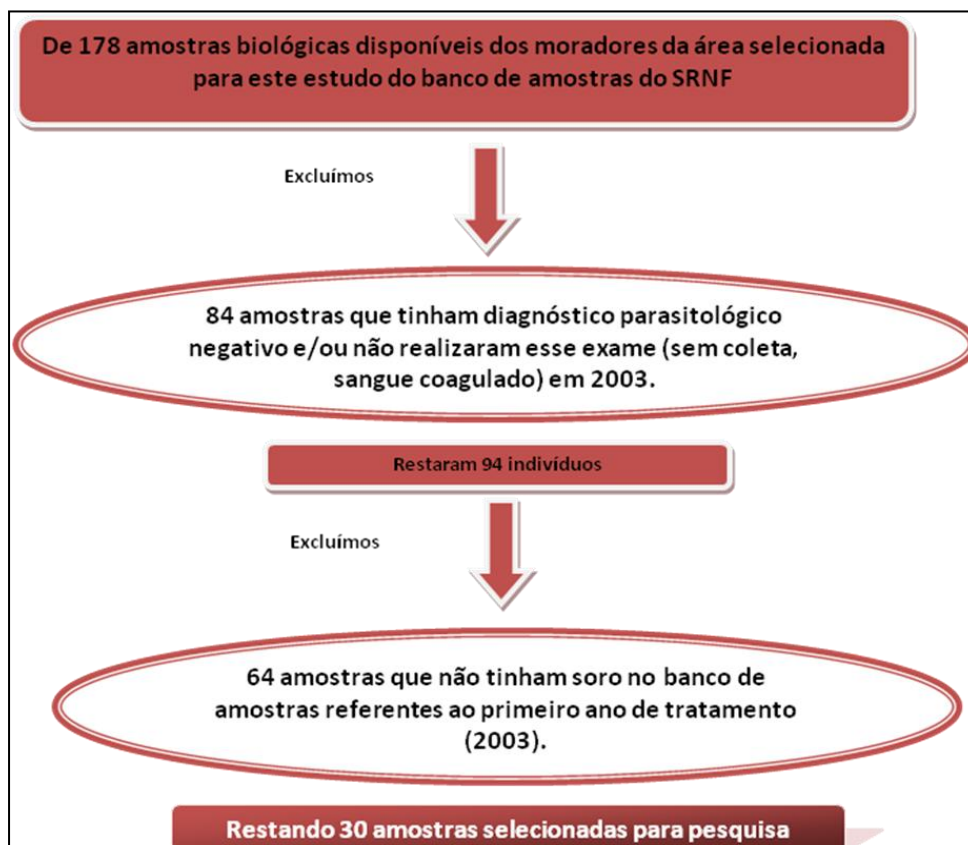
A amostra caracterizou-se como por conveniência, atendendo aos critérios de inclusão e exclusão estabelecidos nesta pesquisa. Foi composta por 30 indivíduos, sendo 18 do sexo masculino e 12 do sexo feminino, com faixa etária entre 3 e 67. Todos microfilarêmicos e residentes em área endêmica para FL submetidos ao TC.

6.2.1 Período de estudo - As amostras foram selecionadas no período de 2003 (ano de início do tratamento no DSII) até o ano 2009. As coletas desses materiais sempre aconteciam antes do medicamento ser distribuído à população todos os anos. Em 2008, não houve amostras, pois a Prefeitura do Recife não realizou a coleta desse material.

6.2.2 Critérios de Inclusão - foram incluídos na pesquisa amostras de soro dos indivíduos submetidos ao tratamento coletivo com Dietilcarbamazina residentes no DSII localizado na Região Metropolitana do Recife, que apresentavam exame parasitológico positivo em 2003 e possuíam material biológico armazenado no banco de amostras biológicas do SRNF conforme autorização (ANEXO B).

6.2.3 Critérios de Exclusão - foram excluídas na pesquisa amostras de soro dos indivíduos submetidos ao tratamento coletivo da Região Metropolitana do Recife, que não apresentavam exame parasitológico (negativo ou não realizado) e não possuíam material biológico suficiente armazenado no banco de amostras biológicas do SRNF, que permitisse o acompanhamento durante o período da pesquisa.

Figura 12 - Fluxograma da Seleção da amostra.



Fonte: Elaborado pela autora.

6.3 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo do tipo longitudinal retrospectivo (ROUQUAYROL; ALMEIDA FILHO, 2005; ANDRADE; ZICKER, 1997).

6.4 Categorização da amostra

Com a finalidade de se observar o comportamento do anticorpo em relação ao sexo e a faixa etária, baseado na análise da distribuição de frequência apresentada pelas trinta amostras que selecionadas para o estudo no ano de 2003 (pré-tratamento), categorizou-se a faixa etária em 4 grupos etários e a densidade de microfilárias em 2, conforme apresentado abaixo:

A) Faixa etária:

- ≤ 16 anos;
- 17 - 28 anos;
- 29 - 50 anos;
- > 50 anos.

A mediana (57 MF/mL) obtida a partir da densidade de microfilárias apresentada pelo grupo selecionado em 2003 (que variou de 1 a 1.804 MF/mL) foi utilizada para definir os microfilarêmicos em duas categorias de acordo com a parasitemia:

B) Microfilaremia:

- < 57 MF/mL – baixa parasitemia;
- ≥ 57 MF/mL – alta parasitemia.

6.5 Análise estatística

A análise de dados teve como base, o uso de tabelas e gráficos envolvendo as variáveis do estudo Bm14, Og4C3 e MF tanto na sua forma contínua, ou seja, valor real como classificadas em positivos e negativos. Para os casos em que as variáveis se encontravam na forma contínua, utilizou-se a média e a mediana e para o caso da classificação, utilizou-se o valor da contagem ou absoluto e o percentual.

Para análise do Bm14 segundo a MF, foi dado um corte tomando como referência a mediana de cada ano. Para comparação entre anos, em termos de Densidade Ótica, foi utilizada a média do Bm14, Og4C3 e da MF ano a ano.

Em termos da análise dos positivos, estes foram analisados segundo sexo e faixa etária comparando os resultados de 2009 com 2003. A avaliação da queda do percentual de positivos foi realizada tomando 2003 como referência.

Para comparar proporções (percentuais) foi utilizado o teste de comparação entre duas proporções, cuja estatística de teste é dada por:

$$z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2}{\sqrt{\frac{\hat{p}(1 - \hat{p})}{n_1} + \frac{\hat{p}(1 - \hat{p})}{n_2}}}$$

Em que \hat{p}_1 e \hat{p}_2 são os percentuais estimados, n_1 e n_2 as frequências e \hat{p} dado por:

$$\hat{p} = \frac{n_1\hat{p}_1 + n_2\hat{p}_2}{n_1 + n_2}$$

O nível de significância adotado foi de 5%. As tabelas foram obtidas a partir do software SPSS e tratadas juntamente com os gráficos no pacote Excel.

6.6 Pesquisa parasitológica

Foi realizada através de consultas nos respectivos prontuários dos 30 indivíduos selecionados, a fim de se verificar a presença ou a ausência de microfilárias a cada ano de 2003 a 2009. A técnica para detecção de microfilárias foi a Filtração em Membrana de Policarbonato, esse exame foi realizado anualmente, com sangue coletado dos indivíduos antes de cada ciclo de tratamento por uma equipe da Prefeitura do Recife, que logo em seguida trazia esse material para ser processado pelo SRNF no CPqAM.

Como critério de inclusão nesta pesquisa, considerou-se como positivas todas as pessoas que apresentaram resultado da Filtração positivo em 2003, independente da quantidade de microfilárias encontradas na lâmina (Figura 13).

Figura 13 – Lâmina de Filtração.

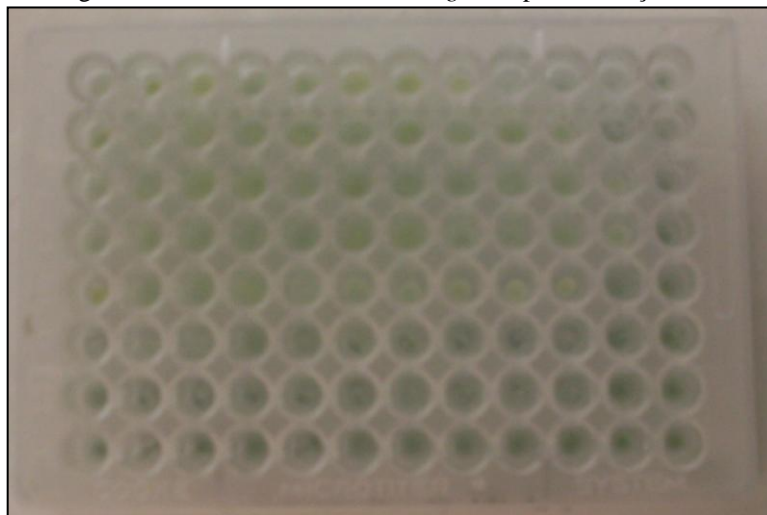


Fonte: Miranda (2006).

6.7 Pesquisa do antígeno circulante filarial

Teste ELISA-Og4C3 (Figura 14): disponível no mercado em forma de KIT (Trop-ag® *W. bancrofti*), produzido pela JCU Tropical Biotechnology Pty. Ltd., Townsville, Queensland, Austrália (WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997). Consiste na pesquisa de antígenos do parasito filarial através de um ensaio Imunoenzimático, o kit já traz as placas sensibilizadas com o anticorpo monoclonal Og4C3.

Figura 14 – Placa do Teste *ELISA-Og4C3* após realização do teste.



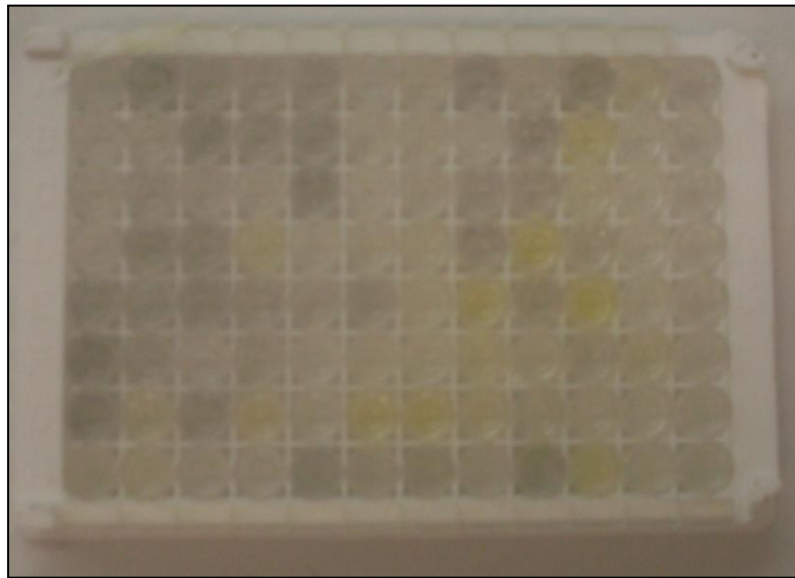
Fonte: Souza (2012).

✓ Descrição da Técnica: Dilui-se de 100µL da amostra de soro em 300 µL do diluente do KIT, em seguida se aquece em banho-maria a 99°C, por 5 minutos, e depois se centrifuga a 10.000 RPM, por 5 minutos. Do sobrenadante retira-se uma alíquota de 50µl, que é aplicada na placa em seu respectivo poço. Os padrões e os respectivos controles devem ser adicionados nas suas respectivas colunas. Após a incubação da placa em câmara úmida por uma noite, a mesma deve ser lavada por 3 vezes com a solução de lavagem, em seguida se acrescenta o anticorpo anti-Onchocerca de coelho e incuba-se na câmara úmida por 1 hora. Logo depois lava-se novamente por 3 vezes e adiciona-se a solução do conjugado nos poços. Depois de mais 1 hora de incubação na câmara úmida lava-se pela última vez a placa e adiciona-se o cromógeno (todas as soluções adicionadas já vêm no Kit). Depois do último período de incubação (1 hora), a placa deve ser lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 414 e 492nm, e os resultados expressos em absorbância. O valor de referência terá valor igual ou maior que 128 Unidades de Antígeno (UA). Caso a amostra seja negativa terá valor menor que 128 UA.

6.8 Pesquisa de anticorpos antifilariais

Teste CELISA (produzido por Cellabs Pty Ltd, Brookvale, NSW, Austrália) (Figura 15): O kit já vem equipado com todos os reagentes e materiais necessários para realização do teste. E foi executado de acordo com o protocolo fornecido juntamente com o kit pelo fabricante (CHANDRASHEKAR et al. 1994; LAMMIE et al. 2004; RAHMAH et al. 2001; RAMZY et al. 1995; SIMONSEN et al. 2010; WEIL et al, 2010).

Figura 15 – Placa do Teste *CELISA-Bm14* após realização do teste.



Fonte: Souza (2012).

✓ Descrição da técnica: Amostras de 100µL de soro diluídas em 1:100 (com a solução diluente do kit) devem ser adicionadas nos respectivos poços na placa (já sensibilizada com o antígeno) juntamente com os controles de referência positivo, negativo e branco. Em seguida a placa deve ser encuba a 37°C por uma hora em uma câmara úmida. Cinco minutos antes do final da incubação prepara-se o conjugado (diluí-se o conjugado concentrado na solução diluente para o mesmo conforme protocolo do kit). Lava-se a placa quatro vezes com a solução de lavagem e em seguida adiciona-se 100µL do conjugado diluído anteriormente. Logo depois a placa deve ser coberta e incubada por mais 45 minutos a 37°C. Dez minutos antes de terminar a incubação prepara-se a diluição do substrato concentrado; diluindo 20x na solução de substrato. Lava-se a placa quatro vezes novamente com a solução de lavagem e adiciona-se 100µL do substrato preparado em cada poço. Depois a placa deve ser coberta e colocada em uma câmara escura, onde a cada 5 minutos deve ser agitada (até somarmos 15 minutos). Em seguida adiciona-se 100µL para parar a reação e fazer a leitura da Densidade Ótica (DO) no espectrofotômetro com comprimento entre 450 a 620nm.

Definição dos positivos - Seguindo a orientação do fabricante as leituras foram realizadas descontando o valor do branco nas placas. Além disso, em todas as placas foram incluídas amostras de áreas não endêmicas sabidamente sem infecção, a fim de se calcular o *cut-off* para cada uma delas. Calculou-se a média das densidades óticas dos soros não endêmicos de cada placa e depois se somou o desvio padrão das mesmas, aquelas que apresentaram DO maior que o *cut-off* foram consideradas positivas.

6.9 Aspectos Éticos

Esta pesquisa juntamente com o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (APÊNDICE A) foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM) sendo aprovada conforme o Registro de número 0029.0.095.000-11 (ANEXO C).

7 RESULTADOS

Do total de 178 amostras disponíveis no banco de amostras do SRNF, 84 tiveram que ser excluídas, pois não apresentavam resultado parasitológico positivo ou apresentaram problemas que não permitiram a realização dos testes. Das 94 amostras restantes, 64 foram excluídas, pois não tinham material suficiente que permitisse o acompanhamento durante o período estudado, restando 30 amostras. Nesse estudo foram realizados 470 testes sorológicos.

A densidade de MF encontradas no pré-tratamento foi de 164,64 MF/mL, variando de 1 a 1804 MF/mL de sangue (a mediada foi 57 MF/mL). A análise categorizada dessa amostra em dois grupos (menor que 57 Microfilárias/mL e maior ou igual a 57 Microfilárias/mL) foi feita para se verificar o comportamento dos anticorpos-positivos em relação à carga parasitária. A Tabela 1 demonstra o percentual de queda do anticorpo anti-Bm14 entre os MF no decorrer do tratamento.

No grupo com MF < 57 MF/mL, têm-se um percentual de queda gradativo, embora as proporções sejam estatisticamente iguais ($p > 0,05$), observa-se redução para o anticorpo anti-Bm14 de forma lenta, sendo de 8,3% em 2009. No grupo com ≥ 57 MF/mL, esse percentual apresenta variação um pouco maior atingindo um percentual de queda de 13,33% em 2009. Embora não seja significativo, o grupo com ≥ 57 MF/mL apresentou um percentual de queda no número de positivos para o anticorpo maior que o grupo com < 57 MF/mL.

Tabela 1 – Percentual de queda de anticorpos positivos anti-Bm14 entre os microfilarêmicos no período de 2003 a 2009, tendo como referência a densidade de MF em 2003.

Ano	< 57 MF/mL				≥ 57 MF/mL			
	N	%	% de queda	Valor de p	N	%	% de queda	Valor de p
2003	12	85,71%	-		15	93,75%	-	
*2004	12	85,71%	0,0%	0,58	13	86,67%	7,56%	0,90
2005	11	78,57%	8,3%	0,65	14	87,5%	6,67%	0,95
2006	11	78,57%	8,3%	0,65	14	87,5%	6,67%	0,95
2007	11	78,57%	8,3%	0,65	13	81,25%	13,33%	0,90
2009	11	78,57%	8,3%	0,65	13	81,25%	13,33%	0,90

* Em 2004, uma amostra do grupo com ≥ 57 MF/mL, não foi localizada na soroteca para que pudéssemos fazer a pesquisa imunológica. Fonte: Souza (2012).

No grupo com < 57 MF/mL das 12 amostras positivas para o anticorpo em 2003, apenas uma negativou em 2009, restando 11 pacientes com o anticorpo positivo. Para o grupo com ≥ 57 MF/mL das 15 amostras de 2003, duas negativaram e 13 apresentaram resultado positivo

para o anticorpo em 2009. Vale ressaltar que nenhum desses indivíduos possuía mais microfilárias em 2009.

A Tabela 2 demonstra em termos percentuais que as três ferramentas aplicadas para pesquisa da infecção filarial: MF, Og4C3 e Bm14, apresentaram redução em suas taxas com o decorrer do tratamento. A microfilaremia foi o que apresentou maior redução, diminuindo em 50% (15/30) após o primeiro ano de tratamento até atingir 0% (0/30) em 2009.

Em relação aos testes imunológicos, no ano de 2003, para os antígenos (Og4C3) todos os exames realizados foram positivos 100% (30/30). Com relação à presença de anticorpos anti-Bm14, 90% (27/30) apresentaram resultado positivo. A antigenemia permaneceu estável durante os dois primeiros anos de tratamento, reduzindo para 86,67% (26/30) em 2006 e para 60,00% (18/30) em 2009. A proporção de positividade para o anticorpo reduziu de 90% (2003) para 80,00% (24/30) em 2009. Nenhuma associação significativa na redução do anticorpo com a redução do antígeno e da microfilaremia foi encontrada.

Vale ressaltar que dos 30 pacientes estudados, três apresentaram resultado negativo para o anticorpo em 2003 apesar de serem microfilarêmicos (65, 102 e nove MF/mL) e antígenos-positivos. Eles permaneceram negativos para pesquisa de anticorpos durante todos os anos pesquisados.

Embora a diminuição na proporção de positivos para o anticorpo, não seja significativa como àquele apresentado pela microfilaremia e pela antigenemia, ela começou a reduzir desde o primeiro tratamento (para 86,21% em 2004), essa redução se manteve constante ao longo dos anos. Nota-se ainda que a taxa de positividade para o antígeno é sempre maior que a de anticorpos. Porém, em 2009, há uma inversão, sendo o percentual de antígenos-positivos (60,00%) menor que o de anticorpos-positivos (80,00%).

Tabela 2 – Taxas de positividade para MF, Og4C3 e Bm14 no período de 2003 a 2009.

Infecção filarial	MF		Og4C3		Bm14	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
2003	30/30	100,00	30/30	100,00	27/30	90,00
2004*	15/30	50,00	29/29	100,00	25/29	86,21
2005	2/30	6,67	30/30	100,00	25/30	83,33
2006	1/30	3,33	26/30	86,67	25/30	83,33
2007	1/30	3,33	26/30	86,67	24/30	80,00
2009	0/30	0,00	18/30	60,00	24/30	80,00

Fonte: Souza (2012). * Em 2004, uma amostra não foi localizada na soroteca para que pudéssemos fazer a pesquisa imunológica.

A tabela 3 apresenta o percentual de queda entre os positivos considerando apenas os métodos imunológicos ao longo do tratamento. Nota-se que o percentual de queda dos anticorpos anti-Bm14 em 2004 é de 4,21% ($p = 0,738$) e segue aumentando discretamente ano a ano, apresentando 11,11% ($p = 0,570$) em 2009. Com relação ao comportamento dos antígenos (Og4C3) nos dois primeiros anos, não se observa queda, mas a partir de 2006 eles apresentam uma taxa de queda de 13,33% ($p = 0,188$) e em 2009 ela eleva-se para 40,00%.

Comparando os percentuais de queda de positividade apresentado pelas duas técnicas (Bm14 e o Og4C3) entre os anos, observa-se que não houve diferença significativa entre as proporções de positivos durante o TC (Tabela 3). Entretanto, a análise isolada do comportamento do antígeno demonstra que a redução de 100% em 2003 para 60,00% no ano de 2009, uma proporção de queda de 40,00% apresenta diferença estatística ($p = 0,001$).

Tabela 3 - Percentual de queda de positividade observada para o Bm14 e para o Og4c3 no período de 2003 a 2009.

Ano	Bm14				Og4C3				Comparação
	N	%	% de queda	Valor de p	N	%	% de queda	Valor de p	Valor de p
2003	27	90,00	-	-	30	100,00	-	-	0,199
2004	25	86,21	4,21	0,738	29	100,00	0,00	-	0,185
2005	25	83,33	7,41	0,913	30	100,00	0,00	-	0,079
2006	25	83,33	7,41	0,913	26	86,67	13,33	0,188	0,955
2007	24	80,00	11,11	0,570	26	86,67	13,33	0,188	0,610
2009	24	80,00	11,11	0,570	18	60,00	40,00	0,001	0,199

Fonte: Souza (2012).

A tabela 4 apresenta a distribuição do percentual de positivos para Microfilaremia, Antigenemia (Og4C3) e Anticorpos (Bm14) segundo a faixa etária. Quando se analisa o percentual de acordo com a faixa etária no ano de 2009 encontra-se no grupo de menores de 16 anos, um comportamento inverso daquele apresentado pelo grupo do estudo, ou seja, o percentual de antígenos-positivos é maior do que o de anticorpos anti-Bm14 (71,43% e 57,14% respectivamente).

Tabela 4 – Percentual de Anticorpos, Antígenos e MF em 2003 e 2009 (segundo faixa etária).

Ano	Faixa etária (anos)	Bm14		Og4C3		MF	
		N	(%)	N	(%)	N	(%)
2003	≤ 16	6/7	85,71	7/7	100,00	7/7	100,00
	17 - 28	6/7	85,71	7/7	100,00	7/7	100,00
	29 - 50	8/9	88,89	9/9	100,00	9/9	100,00
	> 50 anos	7/7	100,00	7/7	100,00	7/7	100,00
	Total	27/30	90,00	30/30	100,00	30/30	100,00
2009	≤ 16	4/7	57,14	5/7	71,43	0/7	0,00
	17 - 28	6/7	85,71	5/7	71,43	0/7	0,00
	29 - 50	7/9	77,78	5/9	55,56	0/9	0,00
	> 50 anos	7/7	100,00	3/7	42,86	0/7	0,00
	Total	24/30	80,00	18/30	60,00	0/30	0,00

Fonte: Souza (2012).

A Tabela 5 apresenta o percentual de MF, antigenemia e anticorpos segundo o sexo. Entre os positivos na pesquisa de anticorpos anti-Bm14 em 2003, temos 59,26% (16/27) sendo do sexo masculino e 40,74% (11/27) do sexo feminino; em 2009 essa característica permanece com 54,17% (13/24) e 45,83% (11/24) para masculino e feminino respectivamente. Com relação aos antígenos-positivos observa-se que em 2003, 60% (18/30) eram do sexo masculino e 40% (12/30) do sexo feminino; em 2009 tinha-se 50% (9/18) de positivos para ambos os sexos. Metade dos indivíduos do sexo masculino que foram positivos para o antígeno em 2003 negativaram no ano de 2009. Entre os microfilarêmicos a redução em 100% na MF foi indiferente sobre o comportamento dos sexos. Nenhuma associação foi observada no comportamento entre os sexos comparando o Bm14 com o Og4C3 de 2003 para 2009 ($p>0,05$).

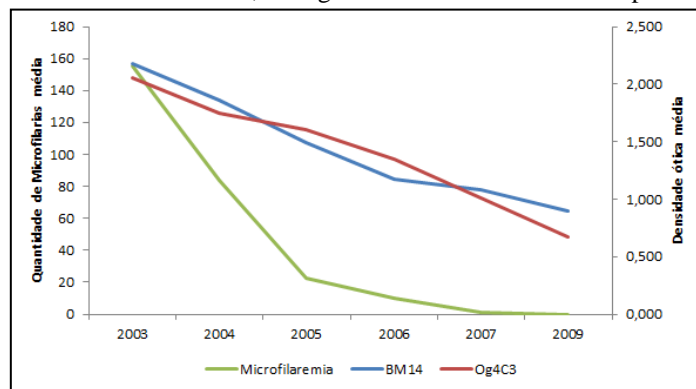
Tabela 5. Percentual de Anticorpos, Antígenos e MF em 2003 e 2009 (segundo sexo).

Ano	Sexo	Bm14		Og4C3		MF	
		N	(%)	N	(%)	N	(%)
2003	Feminino	11/12	40,74	12/12	40,00	12/12	40,00
	Masculino	16/18	59,26	18/18	60,00	18/18	60,00
	Total	27/30	90,00	30/30	100,00	30/30	100,00
2009	Feminino	11/12	45,83	9/12	50,00	0/12	0,00
	Masculino	13/18	54,17	9/18	50,00	0/18	0,00
	Total	24/30	80,00	18/30	60,00	0/30	0,00

Fonte: Souza (2012).

A Figura 16 apresenta o comportamento médio durante os anos de estudos para as três abordagens (MF, Og4C3 e Bm14). Observa-se que as três medidas apresentam decréscimo durante os anos, sendo na MF a queda mais acentuada e rápida. O Bm14 e o Og4C3 apresentam um decréscimo semelhante quase que na mesma magnitude. Comparando o comportamento médio do Bm14 com o Og4C3, verifica-se que em 2003 o Bm14 apresenta valor médio da Densidade Ótica (DO) maior que o Og4C3, isso se repete em 2004. Em 2005 há uma inversão de comportamento, passando o Og4C3 a ter valores médios de DO maiores que os do Bm14. Em 2007 o comportamento retorna ao observado nos dois primeiros anos.

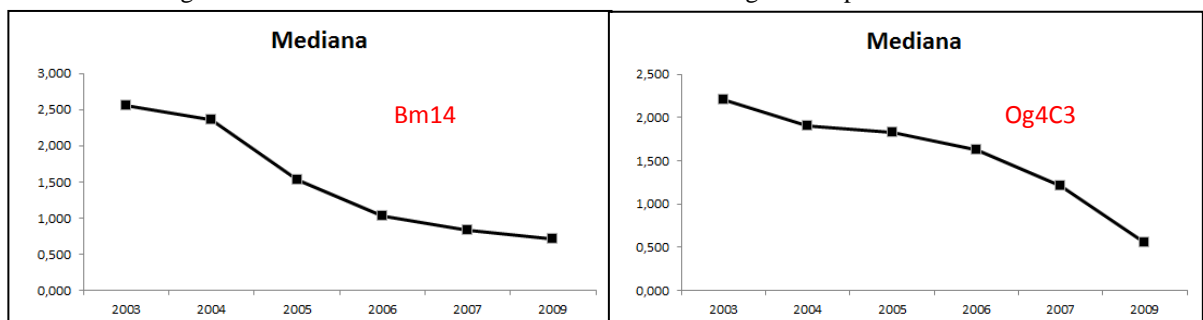
Figura 16 – Comportamento médio do Bm14, do Og4C3 e da microfilaremia no período de 2003 a 2009.



Fonte: Souza (2012).

De acordo com a Figura 17, na qual é apresentado o gráfico das medianas segundo a densidade ótica do Bm14 e do Og4C3 por ano avaliado, observa-se no Bm14 um comportamento decrescente no decorrer do tempo com decaimento mais acentuado nos primeiros anos e uma leve tendência a um comportamento constante nos últimos três anos. A curva da mediana apresenta um decréscimo maior de 2004 até 2006, onde começa a estabilizar-se, ao contrário da curva do Og4C3 que tem um comportamento constante no início, em 2006 apresenta um decaimento que se torna mais intenso nos anos de 2007 e 2009 (Figura 17).

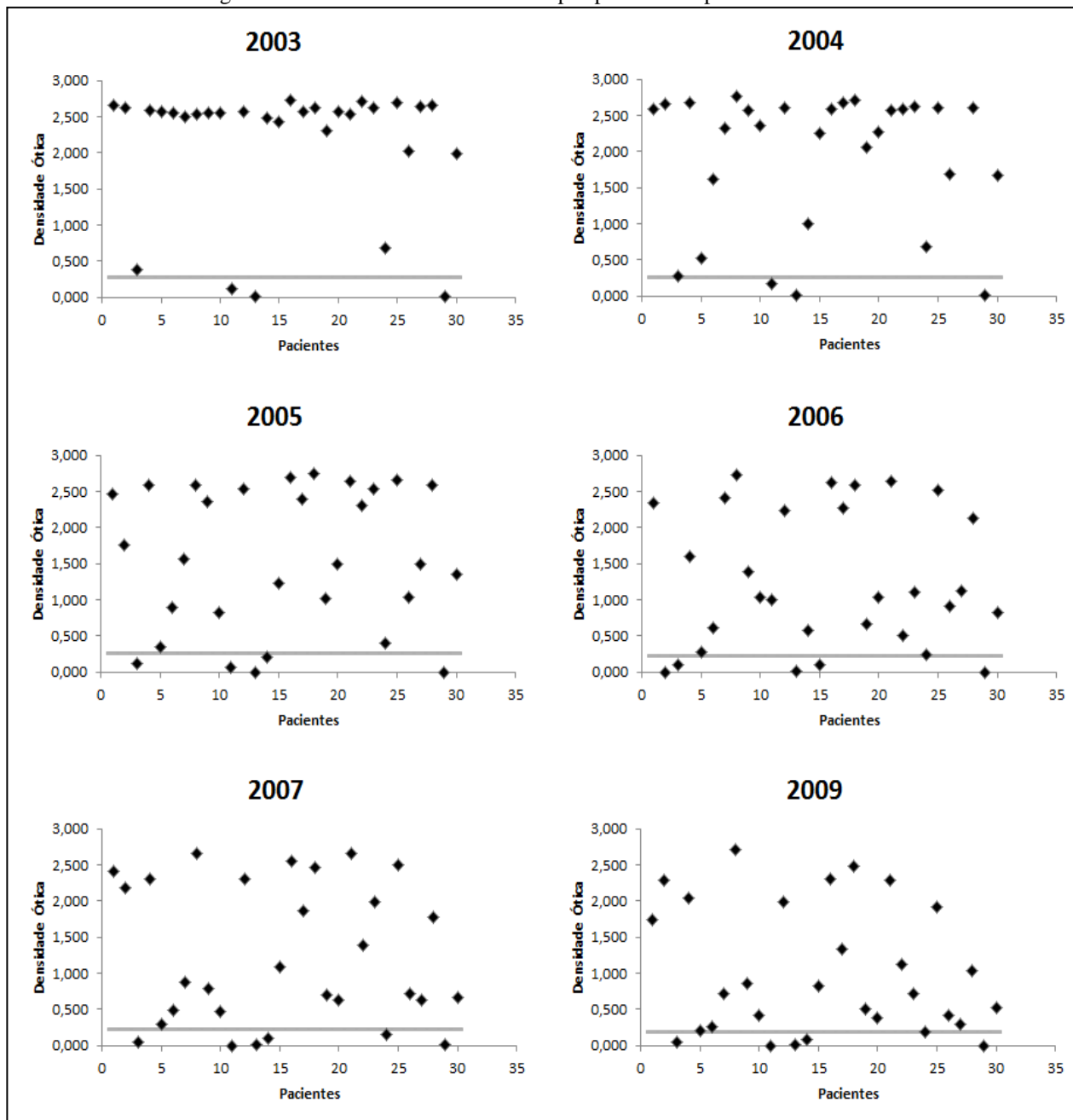
Figura 17 – Densidade Ótica mediana do Bm14 e do Og4C3 no período de 2003 a 2009.



Fonte: Souza (2012).

A Figura 18 apresenta a distribuição segundo a DO para a pesquisa de anticorpos anti-Bm14 observadas entre os pacientes selecionados durante os 6 anos do estudo. No primeiro ano (2003) tem se uma maior densidade ótica entre 2.500 a 3.000, havendo uma redução ao longo dos anos, e em 2009 apenas 2 pacientes apresentam absorvância entre esses valores.

Figura 18 – Densidade Ótica do Bm14 por paciente no período de 2003 a 2009.



Fonte: Souza (2012).

8 DISCUSSÃO

Este estudo, pioneiro no Brasil, avaliou o efeito de repetidos ciclos de TC com DEC sobre o comportamento dos anticorpos na infecção filarial em uma área endêmica da RMR-PE. Nessa pesquisa também foi possível analisar dados longitudinais sobre os efeitos do TC na densidade da microfíliar e no comportamento do antígeno, produzindo informações que podem contribuir para o avanço dos programas de controle/ eliminação da FL.

O desenvolvimento de novas ferramentas para investigação da FL, como a pesquisa de anticorpos através de antígenos recombinantes, é tema importante no combate desta parasitose (WEIL et al., 2008). Essa nova metodologia pode se tornar uma alternativa as técnicas parasitológicas, visto que estas exigem coleta de sangue noturno e, além disso, tanto as microfíliar quanto os antígenos, levam de meses a anos, para se desenvolverem após a exposição, ou mesmo podem ser negativos nas infecções unissexuais, reduzindo a utilidade destes testes para detectar indivíduos infectados ou com baixo nível de infecção (LAMMIE et al., 2004; WITT; OTTENSEN, 2001).

Dessa forma o monitoramento dos anticorpos dos indivíduos oriundos das áreas que sofreram intervenção possibilita o acompanhamento dos programas, podendo indicar inclusive o momento de interromper o TC e também sendo capaz de detectar potencial ressurgimento da transmissão nessas áreas (LAMMIE, et al., 2004). Também se destaca o seu valor como ferramenta para diagnosticar de forma individual, e no seguimento das taxas de anticorpos de crianças como um meio de avaliar alterações nas taxas de transmissão após tratamento da população (RAMZY et al., 2006; WEIL et al., 2008).

A análise sobre o comportamento dos anticorpos anti-Bm14 durante o TC de 2003 a 2009, através de curvas baseadas na média e na mediana das densidades óticas apresentadas pelos indivíduos frente ao Bm14, após receberem o tratamento; revelou um padrão decrescente no comportamento do anticorpo, tanto em termos de média quanto mediana. Evidenciando o seu potencial como ferramenta capaz de identificar diminuição na positividade do anticorpo dos indivíduos tratados. Contudo, deve se ressaltar, que essas curvas não atingiram o ponto zero, ou valores de densidade ótica considerados negativos.

Wamae e outros (1992) encontraram uma curva de redução nos níveis de anticorpos, que também não interceptava o zero ao descreverem a relação entre os níveis de anticorpo e a microfíliar estudando 30 haitianos que haviam sido tratados com DEC e Ivermectina.

Essa observação os levou a sugerir que a presença de anticorpos antifilariais poderia servir como um indicador de baixo nível da infecção ou caracterizar a presença de vermes adultos.

Baseado nos resultados desta pesquisa, e da mesma forma que Wamae e outros (1992), acredita-se que esse comportamento embora limite o uso dos anticorpos como ferramenta para o diagnóstico da infecção patente, não impede que eles sejam utilizados no acompanhamento do TC, servindo como marcadores precoces para exposição e para infecção filarial, de extrema importância na vigilância das áreas que implantaram programas de controle/eliminação (HELMY et al., 2006; LAMMIE et al., 2004; WASHINGTON et al., 2004).

A microfilaremia, a antigenemia e o anticorpo apresentaram no pré-tratamento taxas de 100%, 100% e 90% e após seis anos de tratamento reduziram para 0%, 60% e 80% respectivamente. Tisch e outros (2008), monitorando o progresso do programa de eliminação da FL em Papua Nova Guiné, encontraram após cinco anos de tratamento redução nos percentuais de MF (98,3%), do antígeno (72,7%) e do anticorpo (51,9%), para eles o anticorpo apresentou maior redução que o antígeno.

Durante os seis anos de estudo, a proporção de indivíduos positivos para os anticorpos mostrou-se sempre menor que a de antígenos; não se sabe por qual motivo, no último ano, houve uma inversão nesse comportamento passando o anticorpo a ter maior proporção de positivos que o antígeno. Entretanto, não existiram picos de elevação de anticorpos no grupo. Essa redução constante do anticorpo diferente do antígeno (que levou mais tempo a começar a reduzir) pode sugerir que nessas localidades não está havendo exposição dos indivíduos à infecção filarial e que o teste de anticorpo poderia estar funcionando como marcador, monitorando o TC nessas áreas, conforme observado por Tisch e outros (2008).

Apesar da redução na positividade observada, algumas das 30 amostras pesquisadas, após vários ciclos de TC ainda continuaram em 2009 com testes positivos para o anticorpo e para o antígeno (24 e 18 indivíduos respectivamente), embora nenhum deles apresentasse mais microfíliarias circulantes. Três se converteram em anticorpo-negativo e 12 tornaram-se antígeno-negativo. A literatura relata que alguns indivíduos convertem após cinco anos de tratamento (TISCH et al., 2008). A lenta conversão do antígeno e do anticorpo para negativos pode ser reflexo do lento desaparecimento do antígeno da circulação que estimularia a produção de anticorpos, e/ou da incapacidade de eliminar completamente os vermes adultos com tratamento anuais (NICOLAS et al., 1997; WEIL et al., 2008).

No nosso estudo a presença de 100% na positividade para o antígeno através do teste *ELISA-OG4C3* (marcador de verme adulto), encontrada entre os microfilarêmicos em 2003,

sugere que estes indivíduos eram portadores de vermes adultos no início do tratamento. A conversão desses antígenos para negativos só começou a ser observada dois anos após o início do TC (2006). Essa persistência de positividade para o antígeno após o início do tratamento pode indicar também que apenas a DEC em dose única anual talvez não seja suficiente para eliminar todos os vermes; enfatizando a necessidade de ciclos repetidos de tratamento com maior taxa de cobertura para atingir a eliminação da filariose (HELMY et al., 2006; TISCH et al., 2008).

A interpretação dos dados seja na abordagem do anticorpo ou do antígeno, no presente trabalho ou em outros estudos de acompanhamento a longo prazo, deve considerar a relação temporal entre morte de vermes adultos filariais mediada pelo medicamento e o desaparecimento do antígeno ou do anticorpo (WEIL et al., 2010). Araujo (2009) encontrou em seu trabalho a presença de 1% de antígeno circulante no organismo de indivíduos submetidos ao tratamento para filariose linfática com DEC após 96 meses, e sugeriu que a avaliação dos programas só ocorresse após 120 meses.

Para Helmy e outros (2006) a persistência de positividade do anticorpo pode refletir a persistência da infecção. No entanto, no seu estudo, os anticorpos desapareceram em alguns indivíduos com antigenemia persistente e/ou microfilaremia e anticorpos persistiram em alguns indivíduos que se tornaram microfilarêmicos e antígeno-negativo.

Wamae e outros (1992) constataram que logo após a ingestão do medicamento os níveis de anticorpos se elevam, atingindo o pico em torno de 30 dias, quando então começam a reduzir chegando a uma diminuição máxima em torno de 180 dias. Outro estudo realizado no Egito com 57 indivíduos microfilarêmicos assintomáticos, identificou 54 (95%) positivos para o Bm14 e constatou que 4 semanas após o início do tratamento os níveis de anticorpos aumentaram. Atribuindo esse aumento precoce ao reflexo da liberação de antígenos dos vermes mortos pelo medicamento, e logo em seguida, os anticorpos começam a diminuir (HELMY et al., 2006).

Em virtude dessa diminuição levar algum tempo, até que os anticorpos desapareçam depois do tratamento, alguns autores têm sugerido que estes testes deveriam ser aplicados em pesquisas seriais de crianças no pré-escolar para avaliar alterações na transmissão da FL. Segundo estudos as crianças nascidas após a interrupção da transmissão da FL não devem ter testes de anticorpos positivos (LAMMIE et al., 2004; WEIL; RAMZY, 2006; WEIL et al., 2008).

Weil e outros (1999) analisando microfilarêmicos e amicrofilarêmicos residentes em 5 vilarejos, endêmicos para FL no Egito, encontraram na faixa etária mais jovem, a que

apresentava maior número de pessoas positivas para o anticorpo em comparação com o antígeno e a MF. Ao fazerem associação do sexo com as taxas de MF, antigenemia e anticorpo, não identificaram nenhuma relação entre eles.

Em outra pesquisa realizada em 4 vilarejos endêmicos para FL de Papua Nova Guiné, no ano de 2008, Weil e colaboradores constataram na população de microfilarêmicos e antígenos positivos e negativos, de diferentes faixas etárias; que nos grupos etários mais jovens, a taxa de anticorpos era maior que a taxa de antígeno e a MF antes e depois do tratamento. Eles perceberam ainda que esse percentual de anticorpos diminuía mais rapidamente após o tratamento entre os menores de 11 anos de idade que na população total estudada.

A análise da faixa etária neste estudo identificou que entre os ≤ 16 anos havia menor percentual de pessoas positivas para o anticorpo (57,14%) do que em relação ao antígeno (71,43%) após os seis ciclos de tratamento. Assim levanta-se a hipótese que essa característica apóia a estratégia de testar crianças no pré-escolar para anticorpos antifilariosais como um meio de avaliar a atividade recente de filariose em áreas endêmicas, visto que as crianças nascidas durante ou após o tratamento efetivo da população de áreas endêmicas não devem apresentar anticorpos para FL (WEIL et al., 2008).

Neste estudo nenhuma associação significativa entre o sexo com a positividade para anticorpos e antígenos foi encontrada. Apenas observou-se que em 2003 havia mais pessoas do sexo masculino que do feminino positivas para o anticorpo, antígeno e MF. A prevalência de positivos no sexo masculino observada nas 3 técnicas empregadas neste estudo esta de acordo com o que é descrito na literatura, que descreve o mesmo sendo mais acometido pela infecção filarial, apresentando maior densidade microfilarial e manifestações clínicas da doença (MAIZALS et al, 1995; TISCH et al., 2008; WEIL et al., 1999; 2008).

Com relação à microfilaremia observou-se que no grupo de maior densidade de microfíliarias o percentual de queda na positividade para os anticorpos anti-Bm14 foi maior que o do grupo que possuía menor quantidade de parasitos. A princípio seria pertinente que o maior número de vermes levasse a um maior estímulo do sistema imunológico e isso aumentasse a produção de anticorpos fazendo com que permanecessem mais tempo circulando no sangue, mas os resultados obtidos indicam o contrário, não se encontrou nenhuma explicação na literatura atual para tal achado. Mas para que seja possível confirmar essa informação uma análise com uma amostra maior se faz necessária.

O fato de todos microfilarêmicos incluídos neste trabalho após de seis anos de TC sejam amicrofilarêmicos e que só o primeiro tratamento com DEC reduzir em 50% o número de

microfilarêmicos, confirma o poder de atuação dessa droga sobre a microfilaremia. Esta forte redução na taxa de MF também foi observada Helmy e col. (2006), ao avaliarem a eficácia de uma dose única ou 7 doses diárias de DEC/ALB no Egito. Eles perceberam que um mês após o primeiro tratamento uma drástica redução ocorria na densidade de microfilárias no sangue e essa redução foi constante nos 48 meses avaliados.

Tisch e outros (2008) observaram uma taxa de redução na MF em 98% após 5 anos de tratamento, entretanto eles ainda identificaram indivíduos microfilarêmicos. Da mesma forma que Weil e outros (2008) observaram que dois pacientes entre os 104 pesquisados, após 3 ciclos de tratamento de DEC mais albendazol em Papua Nova Guiné continuaram microfilarêmicos.

Diante do exposto acima, faz-se necessário destacar as limitações do nosso estudo com relação ao número de indivíduos estudados e das eventuais perdas de informações durante o período da pesquisa. Isso reduziu nosso poder de abordar a hipótese e o objetivo propostos. Mas devemos ressaltar o papel inovador para literatura que o mesmo traz, ao acompanhar os mesmos indivíduos por um período de 6 anos, avaliando o TC com diferentes ferramentas diagnósticas.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Espera-se através desse estudo contribuir com informações úteis sobre novas metodologias para pesquisa da Filariose Linfática. Sabe-se que em virtude do número de amostras pesquisadas os resultados e as conclusões sofreram limitações e que a análise de um maior número de amostras seria interessante para que se pudesse confirmar ou não os achados desta pesquisa, contudo é possível observar que:

- a) O antígeno recombinante Bm14 conseguiu reconhecer os indivíduos infectados (microfilarêmicos) e também foi capaz de identificar a redução dos níveis de anticorpos desses indivíduos após vários ciclos de tratamento. Demonstrando ser capaz de conferir o impacto do tratamento coletivo sobre a transmissão da infecção filarial, e seu potencial como uma ferramenta de acompanhamento;
- b) A redução na taxa de positividade apresentada pelo anticorpo junto com o padrão de decaimento apresentado pelas média e mediana do grupo; sugerem que o tratamento coletivo com Dietilcarbamazina teria surtido efeito na eliminação dos vermes adultos e conseqüentemente desaparecimento das microfílarias da circulação sanguínea. Confirmados com a redução encontrada na antigenemia e na microfilaremia;
- c) O percentual de positividade observado para o anticorpo anti-Bm14 após seis ciclos de tratamento no grupo pesquisado reflete uma maior sensibilidade desta técnica sobre a pesquisa de microfílarias e de antígenos;
- d) A faixa etária mais jovem (menores de 16 anos) foi a que apresentou maior redução na taxa de positividade para o anticorpo em relação à população total pesquisada.

Diante dos resultados e das conclusões obtidas nesta pesquisa consideramos que o teste com anticorpos através do antígeno recombinante Bm14 aplicado na população infantil, é uma ferramenta útil na vigilância e no acompanhamento do tratamento coletivo, capaz de verificar o sucesso das intervenções no controle da Filariose Linfática causada pela *Wuchereria bancrofti*.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M. E. B. B. **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.
- ABBASI, I. et al. Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection by the polymerase chain reaction employing patients' sputum. **Parasitology research**, Berlin, v.85, p. 844-849, 1999.
- ADJOBIMEY, T.; HOERAUF, A. Induction of immunoglobulin G4 in human filariasis: an indicator of immunoregulation. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, Liverpool, v. 104, n. 6, p. 455-464, 2010.
- ALBUQUERQUE, M. F. P. 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**, Baltimore, v. 50, p. 753-757, 1994.
- ANDRADE, L. D. et al. Comparative efficacy of three different diethylcarbamazine regimens in lymphatic filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.89, p. 319-321, 1995.
- ANDRADE, A.L.S.S.; ZICKER, F. **Métodos de investigação epidemiológica em doenças transmissíveis**, Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde: Fundação Nacional da Saúde, 1997, v.1.
- BOCKARIE, M.J. et al. Application of a polymerase chain reaction-elisa to detect *Wuchereria bancrofti* in pools of wild-caught *anopheles punctulatus* In a filariasis control area in Papua New Guinea. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 62, n. 3, p. 363-367, 2000.
- BOURKE, C. D.; MAIZELS, R. M.; MUTAPI, F. Acquired immune heterogeneity and its sources in human helminth infection. **Parasitology**, London, v. 138, p. 139–159, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gerência Técnica do Programa de Eliminação da Filariose. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. **Síntese Epidemiológica da Filariose**, Brasília, 2006.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica e eliminação da filariose linfática**, Brasília, 2009.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL (Estados Unidos). Recommendations of the International Task Force for disease Eradication. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 42, n. 16, p. 1-38, 1993.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL (Estados Unidos). Global disease elimination and eradication as public health strategies. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 48 (Suppl), 1999.

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

DAY, K.P.; GREGORY, W.F.; MAIZELS, R.M. Age-specific acquisition of immunity to infective larvae in a Bancroftian filariasis endemic area of Papua New Guinea. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 13, p. 277 - 290, 1991.

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

DREYER, G.; NORÕES, J. Filariose bancroftiana: o reverso das alterações orgânicas. Bancroftian filariasis: the reverse of the organic disease. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 5, p. 227-231, 1998.

DREYER, G.; DREYER, P. Bases para o tratamento da morbidade em áreas endêmicas de filariose bancroftiana. **Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 217-221, mar./abr, 2000.

FAULKNER, H. et al. Age- and infection intensity-dependent cytokine and antibody production in human trichuriasis: the importance of IgE. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 185, p. 665-672, 2002.

FONTES, G.; ROCHA, E. M. M. *Wuchereria bancrofti* – Filariose linfática. In: NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 11. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005, p. 299-307.

FURTADO, A. F. et al. Improvement and application of a polymerase chain reaction system for detection of *Wuchereria bancrofti* in *Culex quinquefasciatus* and human blood samples. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.92, p. 85-86, 1997.

HAGAN, P. et al. Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. **Nature**, London. v. 349, p. 243-245, 1991.

HAYLEY M. J.; WAYNE, M. Applicability of the Filter Paper Technique for Detection of Antifilarial IgG4 Antibodies Using the Bm14 Filariasis CELISA. **Journal of Parasitology Research**, Lawrence, v. 2010, feb. 2010. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/jpr/2010/594687/>>. Acesso em 11 set. 2012.

HELMY, H. et al. Bancroftian filariasis: effect of repeated treatment with diethylcarbamazine and albendazole on microfilaraemia, antigenaemia and antifilarial antibodies. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 100, p. 656-662, 2006.

HELMY, H. et al. Human antibody responses to *Wuchereria bancrofti* infective larvae. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 22, p.89-96, 2000.

JACKSON, J. A. et al. T helper cell type 2 responsiveness predicts future susceptibility to gastrointestinal nematodes in humans. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 190, p. 1804-1811, 2004.

KLION, A. D.; NUTMAN, T. B. The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 113, p. 30-37, 2004.

KURNIAWAN-ATMADJA et al. Antibody responses to filarial infective larvae are not dominated by the IgG4 isotype. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 20, p. 9-17, 1998.

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

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, Instituto de Ciências da Saúde, Maceió, 2007.

LUCENA, W. et al. Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection by the polymerase chain reaction using urine and day blood samples from amicrofilaraemic patients. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.92, n.3, p. 290-293, may./jun. 1998.

MACIEL, M. A. V. et al. Epidemiological study of bancroftian filariasis, in Recife Northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 4, p. 449 - 455, jul./ago. 1996.

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

MCCARTHY, J. S. et al. Evaluation of a Polymerase Chain Reaction-Based Assay for Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* Infection. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 173, p. 1510-1514, 1996.

MEDEIROS, Z. M. et al. Screening of army soldiers for *Wuchereria bancrofti* infection in the metropolitan Recife region, Brazil: implications for epidemiological surveillance. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 4, n. 7, p. 499-505, 1999.

MEDEIROS, Z.M. et al. Controle da filariose linfática no Brasil, 1951 – 2000. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, DF, v. 12, n. 2, p. 77–86, 2003.

MEDEIROS, Z. M. et al. The Present Situation Regarding Lymphatic Filariasis In Cabo De Santo Agostinho. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, p. 263-267, 2006.

MIRANDA, J.C. **Estudo da resposta imune humoral (IgG específica) para antígenos de larvas infectantes (L3) de *Wuchereria bancrofti*, entre portadores e não portadores de filariose bancroftiana no Município de Olinda-PE**. 2006. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006.

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**, Stuttgart, v. 41, p. 403-406, 1990.

NDAO, M. Diagnosis of Parasitic Diseases: Old and New Approaches. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, Cairo, v. 2009, 2009.

NICOLAS, L. et al. Reduction of *Wuchereria bancrofti* Adult Worm Circulating Antigen after Annual Treatments of Diethylcarbamazine Combined with Ivermectin in French Polynesia. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 175, p. 489-92, 1997.

NUTMAN, T. B.; KUMARASW, V. Regulation of the immune response in lymphatic filariasis: perspectives on acute and chronic infection with *Wuchereria bancrofti* in South India. **Parasite Immunology**, Oxford, v.23, p. 389-399. 2001.

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

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Lymphatic filariasis infection & disease. Control strategies**: Report of a consultative meeting at the University Sains Malaysia Penang, Malaysia, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem**. Fiftieth World health Assembly, Geneva, 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. **Preparing and implementing a national plan to eliminate lymphatic filariasis in countries where onchocerciasis is co-endemic**, Geneva, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis**. Annual Report on Lymphatic Filariasis 2001, Geneva, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE). Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. **Monitoring and epidemiological assessment of the programme to eliminate lymphatic filariasis at implementation unit level**, Geneva, 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. **Weekly epidemiological Record**, Geneva, n. 37/38, p. 333–348, 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. **Progress report 2000-2009 and strategic plan 2010-2020 of the global programme to eliminate lymphatic filariasis: halfway towards eliminating lymphatic filariasis**, Geneva. 2010

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. Lymphatic filariasis. **Boletim Epidemiológico**, Washington, v. 25, p 414-415, 2004.

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE. Condições de Saúde e Suas tendências. In: _____. **Saúde nas Américas**. Washington, 2007, v. 1, p. 62-217.

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

OTTESEN, E. A. The Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 5, n. 9, p. 591–594, 2000.

PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 2, p. 499–511, 2002.

PERERA, M. et al. Neglected Patients with a Neglected Disease? A Qualitative Study of Lymphatic Filariasis. **PLoS Neglected Tropical Disease**, San Francisco, v. 1, n.2, p. e128, 2007.

QUINNELL, R. J. et al. Immune responses in human necatoriasis: association between interleukin-5 responses and resistance to reinfection. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 190, p. 430–438, 2004.

RAHMAH, N. et al. A recombinant antigen-based IgG4 ELISA for the specific and sensitive detection of *Brugia malayi* infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 95, p. 280-284, 2001.

RAHMAN, R.A.; HWEN-YEE, C.;NOORDIN, R. Pan LF-ELISA using *BmR1* and *BmSXP* recombinant antigens for detection of lymphatic filariasis. **Filaria Journal**, London, v. 6, n.10, p. 1 – 7, 2007.

RAMZY, R.M.R et al. Evaluation of a recombinant antigen-based antibody assay for diagnosis of bancroftian filariasis in Egypt. **Annals of Tropical and Parasitology**, Liverpool, v. 89, n. 4, p. 443-446, 1995.

RAMZY, R.M.R et al. Effect of yearly mass drug administration with diethylcarbamazine and albendazole on bancroftian filariasis in Egypt: a comprehensive assessment. **Lancet**, London, v. 367, p. 992-99, 2006.

RECIFE. Secretaria de Planejamento, Urbanismo e Meio Ambiente. Diretoria Geral de Urbanismo. **Regiões Político-Administrativas do Recife - Região Norte - RPA 2**. Recife, 2001.

RECIFE. Secretaria Municipal de Saúde. Diretoria de Epidemiologia. Programa de Controle da Filariose no Recife. **Intervenção-piloto para controle da Filariose Linfática: Distrito Sanitário II: Microrregião 2.2 - bairros de Água Fria e Alto Santa Terezinha: manual de operacionalização**. Recife, 2002.

REGIS, L. et al. Controle integrado do vetor da filariose com participação comunitária, em uma área urbana do Recife, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 4, p. 473- 482, out./dez., 1996.

REY, L. Filariose Linfática. In: ___ **Bases da Parasitologia Medica.** 3º Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, p. 280- 293.

ROCHA, A. Available laboratory diagnostic methods of lymphatic filariasis. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 32, p. 265-270, 2000.

ROCHA, A. A Filariose bancroftiana: **Avaliação dos testes diagnósticos 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. Comparison of tests for the detection of circulating filarial antigen (Og4C3-ELISA and AD12-ICT) and ultrasound in diagnosis of lymphatic filariasis in individuals with microfilariae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 4, p.621-625, 2009.
- ROCHA, A. et al. Programa de controle e eliminação da Filariose Linfática: uma parceria da Secretaria de saúde de Olinda-PE, Brasil , com o Serviço de Referência Nacional em Filarioses. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 39, n.3, p.233-249, jul./set. 2010.
- ROCHA, E.M.M. et al. Filariose bancroftiana em áreas urbanas do estado de alagoas, nordeste do Brasil: estudo em população em geral. **Revista da sociedade brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 6, p. 545-551, nov./dez., 2000.
- ROCHA, E.M.M.; FONTES, G. Filariose bancroftiana no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 32, n.1, p.98-105, 1998.
- ROUQUAYROL, M. Z.; ALMEIDA FILHO, N. de. **Epidemiologia & Saúde**. 6. ed. Rio de janeiro. MEDSI, 2005.
- SANTOS, Z. C. **Tratamento coletivo da filariose com dose Única de dietilcarbamazina em residentes de área endêmica do Recife, Pernambuco: Um estudo antes e depois**. Dissertação de Mestrado (Curso de Mestrado Profissional em Vigilância sobre Saúde do Departamento de Medicina Social da Universidade de Pernambuco). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Pernambuco, Recife, 68 p. 2005.
- SEIM, A.R.; DREYER, G. E ADDISS, D.G. Controlling morbidity and interrupting transmission: twin pillars of lymphatic filariasis elimination. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v 32, n. 3, p.325-328, maio/jun, 1999.
- SIMONSEN P. E. et al. Lymphatic Filariasis Control in Tanzania: Effect of Repeated Mass Drug Administration with Ivermectin and Albendazole on Infection and Transmission. **PLoS neglected tropical diseases**, San Francisco, v. 4, n 6, p. e696, 2010.
- SURESH, S. et al. Ultrasonographic diagnostic of subclinical filariasis. **Journal of ultrasound in medicine**, New York, v. 16, p 45-49, 1997.
- TAYLOR, M.J.; CROSS, H. F.; BILO, K. Inflammatory Responses Induced by the Filarial Nematode *Brugia malayi* are Mediated by Lipopolysaccharide-like Activity from Endosymbiotic *Wolbachia* Bacteria. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 191, n. 8, p. 1429–1435, April, 2000.
- TAYLOR, M.J. et al. Wolbachia bacteria in filarial immunity and disease. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 23, p. 401- 409, 2001.
- THANOMSUB, B.W et al. Differential diagnosis of human lymphatic filariasis using PCR-RFLP. **Molecular and Cellular Probes**, London, v. 14, n. 1, p.41-46, feb. 2000.
- TISCH, D.J. et al. Mass Drug Administration Trial to Eliminate Lymphatic Filariasis in Papua New Guinea: Changes in Microfilaremia, Filarial Antigen, and Bm14 Antibody after Cessation. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 78, n.2, p. 289–293, feb. 2008.

- TURNER, J. D. et al. Th2 cytokines are associated with reduced worm burdens in a human intestinal helminth infection. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 188, p. 1768–1775, 2003.
- WAMAE, C.N. et al. Kinetics of circulating human IgG4 after diethylcarbamazine and ivermectin treatment of bancroftian filariasis. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 165, p.1158-1160. 1992.
- WASHINGTON, C.H. et al. Spatial clustering of filarial transmission before and after a Mass Drug Administration in a setting of low infection prevalence. **Filaria Journal**, London, v. 3, n. 1, p. 1 -14, 2004.
- WEIL, G.J., et al. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. **Parasitology Today**, Cambridge, v. 13, n. 10, p. 401-404, 1997.
- WEIL, G.J. et al. A longitudinal study of bancroftian filariasis in the Nile delta of Egypt: Baseline data and one year follow-up. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 61, p. 53-58, 1999.
- WEIL,G.J. et al. The Impact of Repeated Rounds of Mass Drug Administration with Diethylcarbamazine Plus Albendazole on Bancroftian Filariasis in Papua New Guinea. **PloS neglected tropical diseases**, San Francisco, v. 2, n. 12, p. e344, 2008.
- WEIL,G.J. et al. A multicenter evaluation of a new antibody test kit for lymphatic filariasis employing recombinant *Brugia malayi* antigen Bm-14. **ActaTropica**, Basel, v. 120, supl. 1, p. 19 – 22, Sep. 2011.
- WEIL, G. J.; RAMZY, R. M. R. Diagnostic Tools for filariasis elimination programs. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 23, p. 78-82, 2006.
- WEIL, G. J.; LAMMIE, P. J.; WEISS, N. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. **Parasitology Today**, Cambridge, v. 13, n. 10, p. 401-404, 1997.
- WILLIAMS, S.A. et al. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Wuchereria bancrofti* in blood samples from French Polynesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 90, p. 384-7, 1996.
- WITT, C.; OTTESEN, E.A. Lymphatic filariasis: an infection of childhood. **Tropical medicine and international health**, Oxford, v. 6, p. 582-606, 2001.
- WUCHERER, O. Notícia preliminar sobre vermes de uma espécie ainda não descrita encontrados na urina de doentes de hematúria intertropical no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 3, p. 97-99, 1868.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Ministério da Saúde

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convido o Sr (a) a participar do projeto de pesquisa intitulado “*Monitoramento da infecção filarial por Wuchereria bancrofti através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo para filariose*”, cujo pesquisador-responsável é Paula Fernanda A. de Souza. Trata-se de um projeto cujo objetivo é pesquisar os níveis das células de defesa do corpo utilizando um exame nos indivíduos residentes na Região Metropolitana do Recife, que foram submetidos ao tratamento coletivo para filariose, no período de 2003 a 2009.

Para participar desta pesquisa é preciso que o Sr (a) autorize o uso das suas amostras de sangue (soro), que se encontram armazenadas no banco de amostras do Serviço de Referência Nacional em Filarioses (SRNF), localizado no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães. Desta forma, permito que o material seja empregado na realização do exame *Bm14*, que consiste na pesquisa das células de defesa contra o verme da filariose. Após a realização do exame o Sr (a) receberá o resultado por escrito.

A realização desta pesquisa possibilitará constatar uma redução ou não nos níveis das células de defesa contra o verme filarial, entre aqueles que receberam o tratamento coletivo. Esse acompanhamento pode indicar se durante o período de tratamento o Sr (a) foi ou não expostos aos vermes da filariose. E caso seja observada a necessidade de mais exames, avaliação médica e/ou tratamento; o Sr (a) será encaminhado ao ambulatório do SRNF localizado no CPqAM para que possa receber todo o atendimento necessário.

Este documento será assinado em duas vias e o Sr (a) receberá uma delas e a outra ficará com o pesquisador responsável.

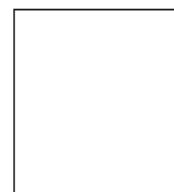
O único risco referente à sua participação nesta pesquisa será a divulgação dos seus dados pessoais, mas isso não ocorrerá, pois garantimos o total sigilo sobre esses. As informações obtidas nesta pesquisa serão utilizadas em reuniões, congressos e publicações científicas, preservando, contudo, o sigilo sobre a sua privacidade.

O Sr (a) poderá recusar ou retirar seu consentimento de participar da pesquisa, em qualquer momento da investigação, sem qualquer prejuízo a sua pessoa.

Eu _____, RG: _____,

Autorizo a utilização de minhas amostras de sangue armazenada no banco de amostras do SRNF, localizado no CPqAM e o uso das informações obtidas em reuniões, congressos e publicações científicas, garantindo sigilo sobre minha identidade. Estou ciente que caso eu não queira participar ou queira desistir a qualquer momento, isso não vai implicar em nenhum prejuízo de qualquer natureza para minha pessoa ou de meus familiares. Esse termo de consentimento me foi totalmente explicado e eu entendi seu conteúdo.

Recife, ____/____/____



(Pesquisador)

(Participante - Responsável)

ANEXO A - PREVALÊNCIA DE MICROFILAREMIA E SITUAÇÃO DE ENDEMICIDADE SEGUNDO BAIROS. DISTRITO SANITÁRIO II – 1999-2000.

Bairro	Prevalência (%)	IC95%	Situação
Alto Sta Terezinha	10,37	5,99 – 17,09	AE
Campina do Barreto	1,57	0,27 – 6,14	ME
Encruzilhada	1,65	0,28 – 6,43	ME
Hipódromo	1,67	0,08 – 10,13	ME
Torreão	5,56	0,96 – 20,01	ME
Fundão	1,83	0,31 – 7,12	ME
Bomba do Hemetério	3,88	1,25 – 10,21	ME
Água Fria	6,21	4,83 – 7,91	ME
Linha do Tiro	4,96	2,03 – 10,93	ME
Campo Grande	2,72	1,43 – 4,96	BE
Ponto de Parada	2,78	0,14 – 16,20	BE
Arruda	3,33	1,07 – 8,82	BE
Dois Unidos	2,5	1,27 – 4,69	BE
Peixinhos	-	-	TNI
Rosarinho	-	-	TNI
Cajueiro	-	-	TNI
Porto da Madeira	-	-	TNI
Beberibe	-	-	TNI

NI= Não investigado; TNI= Transmissão não identificada; AE= Alta endemicidade; ME= Média endemicidade; BE= baixa endemicidade.

ANEXO B – CARTA DE ANUÊNCIA DO SERVIÇO DE REFERENCIA NACIONAL EM FILARIOSES



Centro de Pesquisas
AGGEU MAGALHÃES

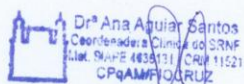


Ministério da Saúde

CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos que concordamos com o projeto “**Utilização da pesquisa de anticorpos (pelo antígeno recombinante Bm14) no monitoramento da filariose linfática em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo**”, orientada pelo Prof. Dr. Abraham Rocha e sob responsabilidade da mestrandia em Saúde Pública pelo Núcleo de Estudos em Saúde Coletiva desse Centro de Pesquisas, **Paula Fernanda Alcântara de Souza**, que utilizará o banco de amostras do Serviço de Referência Nacional em Filariose (SRNF) do referido centro. Ressaltamos que essa concordância está condicionada a aprovação no Comitê de Ética em Pesquisas do CPqAM/Fiocruz e que estamos fornecendo essa carta em virtude de todos os coordenadores e colaboradores do SRNF estarem diretamente envolvidos na pesquisa.

Recife, 18 de Fevereiro de 2011



Dra. Ana Maria Aguiar

Coordenadora do Ambulatório

Serviço de Referência Nacional em Filariose

ANEXO C – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



Título do Projeto: “Monitoramento da infecção filarial por *Wuchereria bancrofti* através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14, em áreas endêmicas da RMR-PE submetidas ao tratamento coletivo para filariose.”.

Pesquisador responsável: Paula Fernanda Alcântara de Souza.

Instituição onde será realizado o projeto: CPqAM/FIOCRUZ

Data de apresentação ao CEP: 22/06/2011

Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ: 30/11

Registro no CAAE: 0029.0.095.000 -11

PARECER Nº 40/2011

O Comitê avaliou as modificações introduzidas e considera que os procedimentos metodológicos do Projeto em questão estão condizentes com a conduta ética que deve nortear pesquisas envolvendo seres humanos, de acordo com o Código de Ética, Resolução CNS 196/96, e complementares.

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP e este parecer tem validade até 01 de novembro de 2014. Em caso de necessidade de renovação do Parecer, encaminhar relatório e atualização do projeto.

Recife, 01 de novembro de 2011.


**Giselle Campozano Gouveia**
Farmacêutica
Coordenadora
Mat. SIAPE 0463376
CPqAm / FIOCRUZ

Observação:

Anexos:

- Orientações ao pesquisador para projetos aprovados;
- Modelo de relatório anual com 1º prazo de entrega para 01/11/2012.

Campus da UFPE - Av. Moraes Rego, s/n
CEP 50.670-420 Fone: (81) 2101.2639
Fax: (81) 3453.1911 | 2101.2639
Recife - PE - Brasil
comitedeetica@cpqam.fiocruz.br

