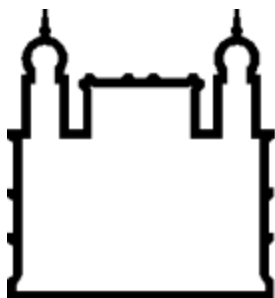


**MINISTÉRIO DA SAÚDE**  
**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Avaliação do impacto da Administração Massiva de Medicamentos  
contra a filaríase linfática, em Murrupula, Província de Nampula.

Maputo, Julho de 2017

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO-IOC SITEO.HENIS, 2017



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE SAÚDE**

**HENIS MIOR SITOE**

Avaliação do impacto da Administração Massiva de Medicamentos (AMM) contra a filaríase linfática, em Murrupula, Província de Nampula.

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências de Saúde

**Orientadores:** Adeilton Brandão, D. Ci. - Instituto Oswaldo Cruz- FIOCRUZ

Dr .Ricardo Thompson, INS- Moçambique

Maputo, Julho de 2017

## FICHA CATALOGRÁFICA

Sitoe, Henis Mior .

Avaliação do impacto da Administração Massiva de Medicamentos contra a filaríase linfática, em Murrupula, Província de Nampula. / Henis Mior Sitoe.

- Maputo, 2017.

55 f.; il.

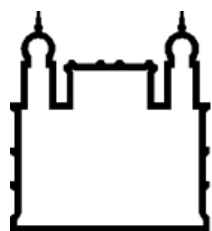
Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2017.

Orientador: Ricardo Thompson.

Co-orientador: Adeilton Alves Brandao.

Bibliografia: f. 52-55

1. Filaríase linfática, Administração Massiva de Medicamentos, Wuchereria bancrofti.. I.  
Título.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE SAÚDE**

***AUTOR: HENIS MIOR SITO E***

Avaliação do impacto da Administração Massiva de Medicamentos (AMM) contra a filaríase linfática, em Murrupula, Província de Nampula.

**Orientadores:** Adeilton Brandão, D. Ci. - Instituto Oswaldo Cruz- FIOCRUZ

Dr. Ricardo Thompson, INS- Moçambique

Aprovada em: 11/07/2017

**EXAMINADORES**

Prof.Dra. Rosely de Oliveira- Presidente-INS/FIOCRUZ

Prof.Dr. Moshin Sidat- Membro titular-Faculdade de Medicina/Moz

Prof.Dr. Gerito Augusto- Membro titular-INS/Moz

Prof.Dra. Sofia Viegas - Suplente-INS/Moz

Prof.Dr. Manoel Barral Neto-VPEIC/FIOCRUZ

Maputo, Julho de 2017

## Dedicatória

*A Deus; aos meus pais, em particular meu pai  
"in memoria Deus o tenha"  
que despertou em mim a ânsia pelo saber;  
ao meu primogénito, à minha noiva e  
a toda família.*

## Agradecimentos

A Deus por me ter concedido a oportunidade de viver e por permitir que mais uma etapa seja alcançada em minha vida.

A minha noiva, amiga, parceira e companheira *Suzana*, e meu filho *Schunnider* pelo amor e encorajamento dedicados a mim. Pela compreensão da minha ausência no seio da família.

A minha mãe Elisa Filimone Zavale pelo apoio incondicional nas minhas decisões, pela educação, paciência, carinho e amor.

Ao meu orientador Dr. Ricardo Thompson a quem admiro bastante. Agradeço pelo conhecimento compartilhado, pela dedicação, confiança durante a realização desta pesquisa. Obrigado por ouvir e respeitar minhas opiniões.

Aos meus co-orientadores, Augusto Magubeia Francisco e Pedro Manuel, sempre dispostos para esclarecer minhas dúvidas, com paciência e atenção constantes desde a teoria até a prática laboratorial.

À Coordenação do Mestrado em particular Dra. Nilsa de Deus e a todos os professores, que contribuíram de forma efectiva para o alcance de mais uma etapa da minha formação académica.

Ao Laboratório de sorologia do INS, em particular ao Dr. Cremildo Gomes;

A todos os colegas do Laboratório de Biologia Molecular pela atenção e apoio prestados;

Aos meus colegas da turma e a todos que directa ou indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*Muito obrigado!*

# ÍNDICE

1.INTRODUÇÃO .....	1
1.1.Contextualização.....	1
1.2.Marco Teórico.....	3
1.2.1.Breve historial.....	3
1.3. Epidemiologia da filaríase linfática no mundo .....	4
1.4.Situação Epidemiológica da filaríase linfática em Moçambique.....	5
1.5.Morfologia da <i>Wuchereria bancrofti</i> .....	6
1.6.Ciclo de Vida .....	7
1.7.Modos de transmissão .....	9
1.8. Manifestações Clínicas .....	10
1.9. Diagnóstico .....	12
1.9.1.Diagnóstico Parasitológico .....	12
1.9.2. Pesquisa do Antígeno Filarial Circulante (AFC) .....	13
1.10. Estratégias para interrupção da transmissão .....	16
1.10.1. Monitoria e avaliação epidemiológica da AMM .....	18
1.11. Pergunta de estudo .....	21
2. JUSTIFICATIVA .....	22
3. OBJECTIVOS.....	23
3.1. Geral:.....	23
3.2. Específicos: .....	23
4. METODOLOGIA.....	24
4.1. Considerações éticas .....	24
4.2.Tipo de estudo.....	24

4.3. Área e população do estudo .....	25
4.4. Critérios de inclusão e exclusão.....	27
4.5. Amostragem e tamanho amostral.....	27
4.6. Colheita e conservação da amostra .....	27
4.7. Processamento de Amostras .....	29
4.7.1. Exame microscópico.....	29
4.7.2. Ensaio Imunoenzimático (ELISA-Og4c3).....	30
4.8. Análise Estatística.....	34
5. RESULTADOS.....	35
5.2. Microscopia.....	36
5.3. Resultado do teste de cartão (ICT).....	39
5.4. Ensaio Imunoenzimático (ELISA-Og4c3).....	40
6. DISCUSSÃO .....	44
7. PERSPECTIVAS .....	49
8. LIMITAÇÕES .....	49
9. CONCLUSÕES .....	50
9. RECOMENDAÇÕES .....	51
10. BIBLIOGRAFIA .....	52



## Resumo

A filaríase linfática é um problema de saúde pública que atinge cerca de 73 países em todo mundo, sendo que destes, 35 estão no continente africano. É uma infecção parasitária causada por helmintos da classe *Nematoda* das espécies *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* e *Brugia timori*, cuja transmissão ocorre pela picada de mosquito. Segundo a OMS, Moçambique faz parte dos países com altas taxas de prevalência da região africana, portanto, cerca de 75% da população está em risco de contrair a infecção. Foi nesta perspectiva que o Ministério da Saúde implementou a estratégia de administração massiva de medicamentos contra a filaríase linfática quatro anos depois do mapeamento da doença (2009) para garantir que os níveis da transmissão da infecção não seja mais sustentável e implantar um sistema de vigilância adequado para verificar uma possível recrudescência. Foi realizado um estudo ecológico que avaliou o impacto da AMM na província de Nampula, entre o inquérito de base e seis meses depois da primeira dose de IVM+ALB. As amostras de sangue colhidas foram testadas por microscopia e ELISA Og4C3 e posteriormente, os resultados obtidos foram comparados com os do inquérito de base. No inquérito pós AMM, foram seleccionados 313 participantes no mesmo local da realização do inquérito de base. O intervalo de confiança foi 95% e nível de significância se valores de  $p < 0,05$ . A prevalência de microfilarémia de *W.bancrofti* no inquérito de base foi de 12,4%, contra 10% no inquérito pós AMM. A densidade mediana de microfilarémia antes de tratamento foi de 129,17 Mf/ml, contra 66,67 Mf/ml do outro período em comparação. Todavia, a diferença verificada não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). No que concerne à prevalência de antigenemia por ELISA-Og4C3, no inquérito de base foi de 18,1% e 14,3%, seis meses depois da AMM. A diferença verificada não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). A prevalência de portadores de antígenos filariais circulantes, tanto no inquérito de base, assim como no inquérito pós AMM foi superior que a prevalência de portadores de microfilárias.

Estes resultados mostraram que na 1ª ronda de AMM com recurso à IVM+ALB, não houve redução dos níveis de microfilárias e de antígenos de *W. bancrofti*, sugerindo, deste modo, que a estratégia continue assegurando-se que em regiões de altas prevalências como Murrupula, a avaliação intermédia opcional após a terceira ronda, seja um imperativo para analisar a tendência da microfilarémia e antigenemia durante o progresso do programa para garantir a eliminação da doença até ao ano 2020.

**Palavras-chaves:** Filaríase linfática, Administração Massiva de Medicamentos, *Wuchereria bancrofti*.

## Abstract

Lymphatic filariasis is a public health problem that affects about 73 countries worldwide, of which 35 are in Africa. It is a parasitic infection caused by helminths of the Nematoda class of the species *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* and *Brugia timori*, whose transmission occurs by mosquito bite. According to the WHO, Mozambique is one of the countries with high prevalence rates in the African region, therefore, about 75% of the population is at risk of contracting the infection. It was in this perspective that the Ministry of Health implemented the strategy of massive administration of drugs against lymphatic filariasis four years after the disease mapping (2009) to ensure that the levels of infection transmission are no longer sustainable and implement an adequate surveillance system to check for possible recrudescence. An ecological study was carried out to evaluate the impact of AMM in Nampula province between baseline and six months after the first dose of IVM + ALB. The blood samples collected were tested by microscopy and Og4C3 ELISA and subsequently, the results obtained were compared with those from the baseline survey. In the post AMM survey, 313 participants were selected on the same site as the baseline survey. The confidence interval was 95% and level of significance were values of  $p < 0.05$ . The prevalence of *W. bancrofti* microfilaremia in the baseline survey was 12.4%, compared to 10% in the post AMM survey. The median pre-treatment microfilaremia density was 129.17 Mf / ml, versus 66.67 Mf / ml for the other period compared. However, the difference found was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). Concerning the prevalence of antigenemia by Og4C3 ELISA, in the baseline survey it was 18.1% and 14.3%, six months after AMM. The difference found was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). The prevalence of carriers of circulating filarial antigens in both the baseline and post-AMM surveys was higher than the prevalence of microfilaria carriers.

These results showed that in the first round of AMM with IVM + ALB, there was no reduction in the levels of microfilariae and *W. bancrofti* antigens, thus suggesting that the strategy continues to ensure that in regions with high prevalence as Murrupula, the optional interim evaluation after the third round, is an imperative to analyze the trend of microfilaremia and antigenemia during the progress of the program to ensure the elimination of the disease by the year 2020.

**Keywords:** Lymphatic Filariasis, Mass Drug Administration, *Wuchereria bancrofti*.

## **Lista de Tabelas**

Tabela 1. Distribuição da frequência do sexo, idade e faixas etárias dos participantes por proveniência.....	36
Tabela 2. Distribuição da frequência dos resultados de microscopia, em função do sexo e idade. .....	37
Tabela.3. Distribuição das medianas da densidade de portadores de microfilárias por proveniência.....	38
Tabela.4. Distribuição da frequência dos resultados de ICT em função da idade e sexo, antes de tratamento. ....	40
Tabela.5. Distribuição da frequência de Positivos por ELISA, em função do sexo e idade por proveniência dos participantes.....	41

## Lista de Figuras

<b>Figura.1.</b> Distribuição geográfica da filaríase linfática e situação da quimioterapia pelo mundo...	4
<b>Figura.2.</b> Distribuição geográfica da Filaríase Linfática em Moçambique.....	5
<b>Figura 3.</b> Filárias adultas (macho e fêmea) e microfilária de <i>W. bancrofti</i> .....	6
<b>Figura.4.</b> Ciclo de vida da <i>Wuchereria bancrofti</i> .....	9
<b>Figura.5.</b> Passos para interrupção da transmissão da FL através da AMM.....	18
<b>Figura.6.</b> Esquemas terapêuticos adoptados nos países endémicos da filaríase linfática.....	20
<b>Figura.7.</b> Localização geográfica do Distrito de Murrupula, Província de Nampula.....	25
<b>Figura.8.</b> Amostras de sangue total conservadas em papel de filtro.....	27
<b>Figura.9.</b> Fluxograma seguido durante o processamento de amostras.....	28
<b>Figura.10.</b> Lâminas coradas por Giemsa para pesquisa de microfilárias.....	29
<b>Figura.11.</b> Modelo de Kit de ELISA-Og4c3 usado para diagnóstico de FL.....	31

## Lista de Gráficos

<b>Gráfico.1.</b> Relação entre a densidade microfilarial e idade dos participantes. ....	39
---	----

## **Listas de Siglas e Abreviaturas**

**AD12**-Anticorpos policlonais e monoclonais específicos para o antígeno filarial de *W.b*

**AFC** -Antígeno Filarial Circulante

**Ag**- Antígeno

**ALB** -Albendazol

**AMM**- Administração Massiva de Medicamentos

**ELISA** -Ensaio imunoenzimático

**EPT** -Eosinofilia Pulmonar Tropical

**FL**-Filariase Linfática

**FTS**- do inglês Teste de Tira da Filaríase

**GPELF**- do inglês Programa Global para Eliminação da Filariase Linfática

**Heteróxeno**- Ciclo parasitário composto por dois ou mais hospedeiros

**ICT** -Teste de imunocromatografia rápida em cartão

**IVM**- Ivermectina

**kD** -Quilo Dalton

**MF**- Microfilárias

**Og4C3** -Anticorpo Monoclonal

**OMS** -Organização Mundial de Saúde

**TC** - Tratamento colectivo

**W.b**- *Wuchereria bancrofti*

**µL**- Microlitros

# 1.INTRODUÇÃO

## 1.1.Contextualização

A filaríase linfática é um problema de saúde pública com ampla distribuição geográfica, atingindo cerca de 73 países em todo o mundo. Estima-se que cerca de 1.39 bilhões de pessoas residem em áreas endémicas e 44 milhões dos 120 milhões de indivíduos infectados sofrem de edema linfático das extremidades ou doenças urogenitais, em particular o hidrocele, as manifestações mais típicas da doença.<sup>1</sup>

É uma infecção parasitária causada por helmintos da classe *Nematoda* das espécies *W. bancrofti* (África), *Brugia malayi* e *Brugia timori* (Ásia), cuja transmissão é por picada de mosquitos infectados que inoculam os parasitos na fase infectiva, as microfíliarias (MF). A doença é prevalente em áreas tropicais e subtropicais da Ásia, África, Pacífico Ocidental e América, afectando indivíduos de todas as idades, particularmente aqueles desfavorecidos e de baixo nível socioeconómico.<sup>2</sup>

Apesar de não ser responsável directa de mortalidade, a debilidade física associada a esta patologia fez com que ela fosse considerada como a segunda causa mundial de invalidez temporária, no médio prazo e/ou permanente.<sup>3</sup>

A administração massiva de medicamentos (AMM) contra a filaríase linfática é a principal estratégia para a eliminação da doença, cujo objectivo é reduzir a microfilarémia dos indivíduos infectados para níveis que não possam mais sustentar a transmissão da infecção.<sup>4</sup>

Outras intervenções ou medidas simples, como a redução de contacto especialmente entre os portadores de microfíliarias e mosquitos vectores, quer seja ao nível urbano ou rural, através de uso de redes mosquiteiras impregnadas com insecticidas, uso de repelentes e o controlo vectorial por meio de manipulação ambiental, contribuem em grande medida para a eliminação da doença, evitando o surgimento de novas infecções. O esforço conjunto feito por diversos parceiros que garantem a doação de medicamentos contra a filaríase linfática, permitiu que 556,2

milhões de pessoas em todo mundo se beneficiassem da quimioterapia preventiva até 2015, com uma cobertura do programa de 79,6%.<sup>5</sup>

A filaríase linfática, assim como a oncocercose, esquistosomíase, helmintíases transmitidas pelo solo e o tracoma fazem parte de Doenças Tropicais Negligenciadas (NTDs) preveníveis por meio da quimioterapia. Elas representam um grupo de infecções com alta carga de enfermidades para as quais existem fármacos simples e seguros, que permitem o seu controlo e posterior eliminação por meio de uma única abordagem, tratamentos anuais em doses únicas durante 6 anos, com o objectivo de interromper a transmissão. Os extraordinários avanços no diagnóstico, a quimioterapia preventiva e controlo da infecção, o sucesso dos programas de controlo e a crescente demonstração de interesse político em relação à filaríase linfática, permitiram que ela fosse considerada como uma doença infecciosa potencialmente eliminável.<sup>3</sup>

A AMM deve ser acompanhada de uma adequada avaliação para monitorar a infecção filarial na população e a proporção da população alvo que tem-se beneficiado da quimioterapia, de modo a reduzir a microfilarémia de pessoas infectadas para níveis que não possam mais sustentar a transmissão da infecção.<sup>6, 7</sup>

Entre 2004 – 2005 foi realizado um inquérito em Moçambique que permitiu o mapeamento da filaríase linfática no país; os resultados mostraram que a infecção é endémica em 103 distritos, com uma prevalência global de 13%, afectando maioritariamente a população da área rural, cujo saneamento do meio ambiente e os cuidados de saúde são inadequados, colocando em risco mais de 16 milhões de pessoas. As províncias da região centro e norte (Zambézia, Nampula, Cabo Delgado e Niassa), são altamente endémicas para a filaríase linfática com uma distribuição de 2% - 56% na Zambézia, 5% - 82% em Nampula, 11% - 66% em Cabo Delgado e 3% - 42% para Niassa.<sup>36</sup>

O Ministério da Saúde de Moçambique, com base na estratégia da OMS, introduziu, em 2009, a Administração Massiva de Medicamentos (AMM) usando Ivermectina e Albendazol em 18 Distritos pilotos da região norte do país. Desde o início desse programa, ainda que de forma paulatina, a cobertura do tratamento massivo foi sendo expandido para outros distritos endémicos.

A província de Nampula, que apresenta níveis mais altos de endemicidade, também iniciou a AMM em 2009 e foi sendo expandida para outros Distritos com maiores prevalências, entre os quais Murrupula. Durante o inquérito de mapeamento realizado em 2005, este Distrito apresentou níveis altos de endemicidade para a infecção filarial (42%), e só veio a iniciar a administração massiva de medicamentos contra a filaríase linfática em Dezembro de 2013.

Antes da implementação da estratégia de administração massiva de medicamentos contra filaríase linfática, foi efetuado um inquérito de base no mesmo Distrito para permitir a avaliação do progresso da eliminação da doença. A escolha deste Distrito para a realização desta pesquisa, deveu-se ao facto da existência de resultados do inquérito de base referentes às prevalências tanto de portadores de microfilárias, assim como de portadores de antígenos filariais circulantes de *Wuchereria bancrofti*. O presente estudo foi realizado com objectivo de avaliar o impacto da administração massiva de medicamentos contra filaríase linfática na parasitemia e antigenemia de *W. bancrofti*, tendo como base informações sobre a prevalência de microfilárias e de antígenos filariais circulantes detectadas no inquérito de base (antes da administração massiva de medicamentos) naquele Distrito.

## **1.2.Marco Teórico**

### ***1.2.1.Breve historial***

A filaríase linfática e as manifestações clínicas relacionadas com a infecção foram descritas há mais de 2.000 anos AC. Em 1863, pela primeira vez, numa observação de exsudato proveniente dum paciente com hidrocelo, Demarquay identificou microfilárias em humanos. Três anos depois em 1866, Otto Wucherer médico português radicado no Brasil (1820-1873), numa observação de hematúria e quilúria de pacientes, também distinguiu microfilárias. Joseph Bancrofta, cirurgião inglês radicado na Austrália (1836-1894), em 1877 descobriu e descreveu o verme adulto do parasito. Posteriormente, foram publicadas outras descobertas relativas ao verme adulto (macrofilária). O nome da macrofilária (*Wuchereria bancrofti*) e a sua taxonomia, só foi aceite em 1921 em homenagem a Otto Wucherer e Joseph Bancrofta.<sup>8</sup>

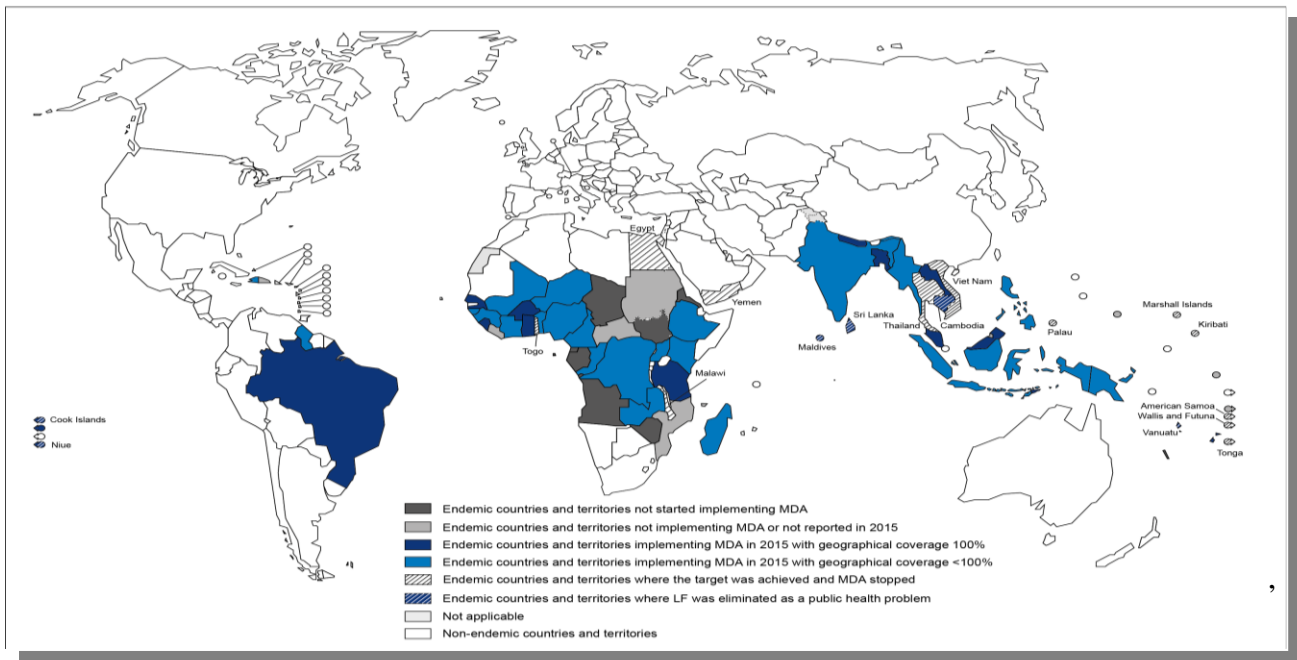
Em 1972, Timothy Lewis confirmou a descoberta de Otto Wucherer ao observar microfilárias no sangue de pacientes indianos. Quatro anos depois, Patrick Manson,



estabeleceu a correlação entre as principais complicações da doença e a presença de microfilárias na circulação sanguínea. Formalmente, *W. bancrofti* é nome de um parasito pertencente ao reino animal, filo *Nematoda*, classe *Secernentea*, ordem *Spirurida*, família *Oncochocercidae* e género *Wuchereria*.<sup>9</sup>

### 1.3. Epidemiologia da filariase linfática no mundo

A filariase linfática é um problema de saúde pública com ampla distribuição geográfica, atingindo cerca de 73 países em todo o mundo e destes, 35 encontram-se em África (Figura 1). Estima-se que cerca de 1,39 bilhões de pessoas residem em áreas endémicas da doença. Ela prevalece em áreas tropicais e subtropicais da Ásia, África, Pacífico ocidental e América, afectando indivíduos de todas as idades e particularmente aqueles desfavorecidos e de baixo nível socioeconómico.<sup>2,5</sup>

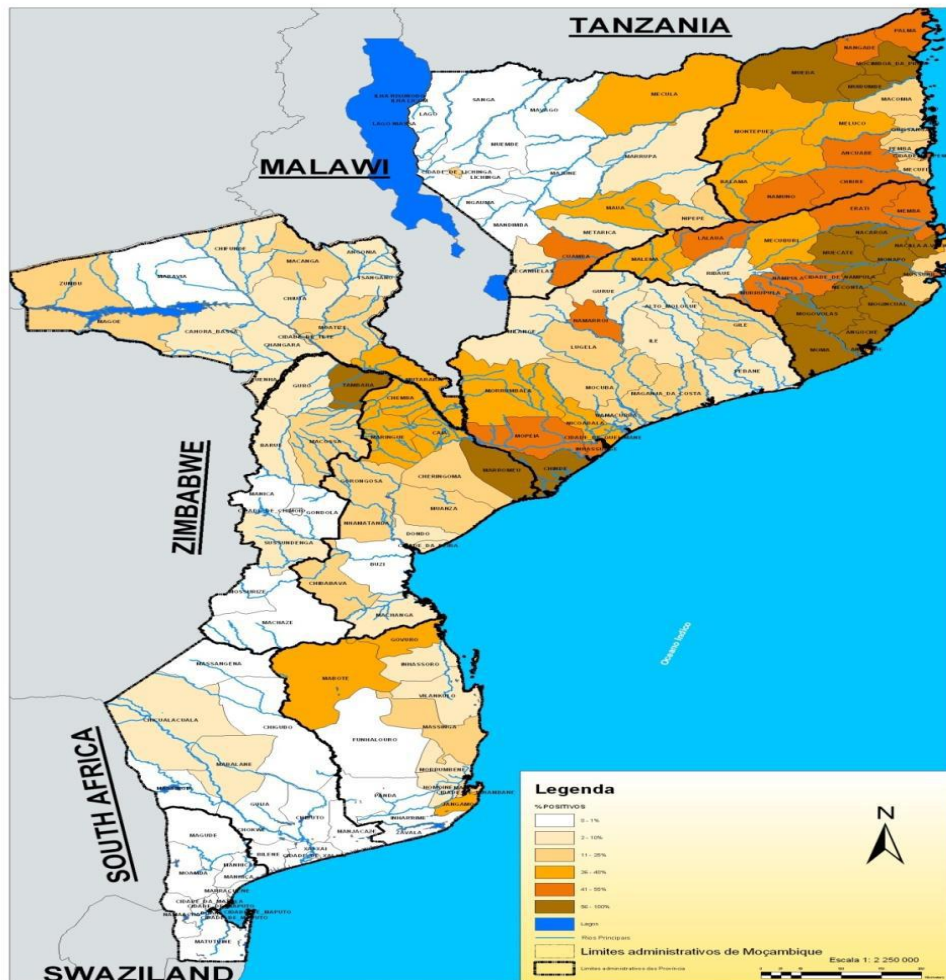


Fonte: WHO ( 2016).

Figura 1. Distribuição geográfica da filariase linfática e situação da quimioterapia pelo mundo

#### 1.4.Situação Epidemiológica da filaríase linfática em Moçambique

O mapeamento realizado em Moçambique em 2005, indica que a filaríase linfática é endêmica em 103 distritos, com uma prevalência global de 13%, colocando em risco mais de 16 milhões de pessoas. As províncias da região centro e norte (Nampula, Cabo Delgado, Zambézia e Niassa), são altamente endêmicas para a filaríase linfática, segundo mostra a figura 2<sup>36</sup>.



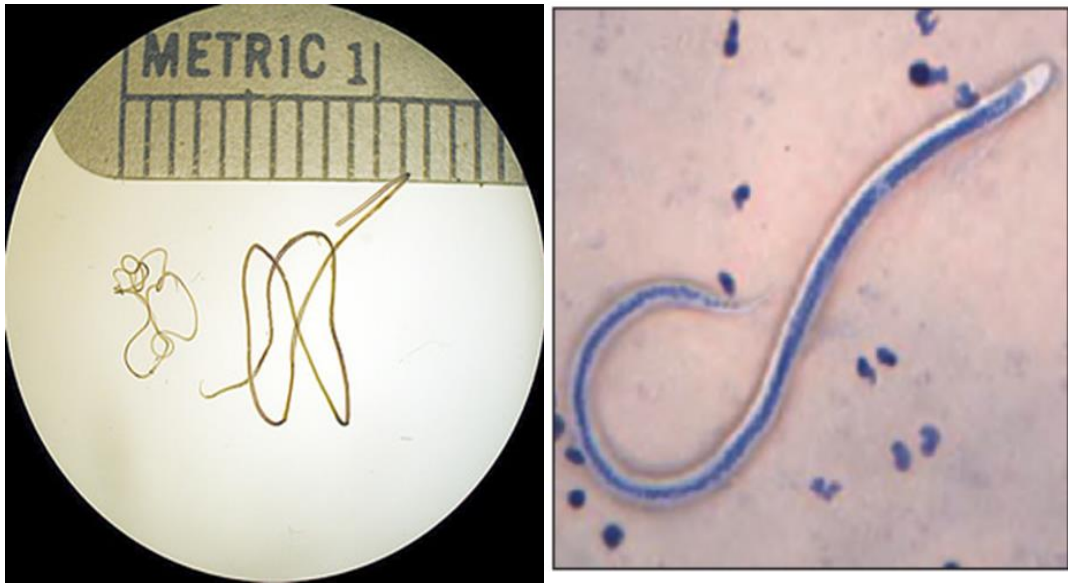
Fonte : Inquérito de mapeamento de filaríase linfática, MISAU, (2005).

**Fig.2.** Distribuição geográfica da Filaríase Linfática em Moçambique.

### **1.5.Morfologia da *Wuchereria bancrofti***

A *W. bancrofti* possui diferentes formas evolutivas nos hospedeiros vertebrados (humanos), assim como nos invertebrados (mosquitos vectores). O verme adulto macho tem um corpo delgado e branco leitoso, medindo de 3,5 a 4 cm de comprimento, 0,1 mm de diâmetro e com extremidade anterior afilada e posterior enrolada ventralmente. A fêmea mede de 7 a 10 cm de comprimento e 0,3 mm de diâmetro, órgãos genitais duplos, com a excepção da vagina que se exterioriza numa vulva localizada próximo à extremidade anterior. A microfilária ou embrião possui uma membrana extremamente delicada que funciona como uma bainha flexível apoiada sobre numerosas células subcuticulares que formam a hipoderme, a musculatura do helminto adulto e células somáticas que formam o tubo digestivo e órgãos.<sup>10</sup>

O número e a posição dos núcleos caudais, o espaço cefálico, a presença ou ausência da bainha, constituem os principais critérios morfológicos para a diferenciação com outros filarídeos.<sup>10, 11</sup> As larvas são encontradas tanto no homem, como no mosquito transmissor. A larva no primeiro estágio (L1) ou larva *salsichóide* mede cerca de 250 a 300 µm de comprimento e é originária da transformação da microfilária. Ela se diferencia em larva de segundo estágio (L2) ou pré-infectante, em média duas vezes maior, e sofre nova muda originando a larva infectante (L3). O verme adulto macho de *W. bancrofti* mede 23,8 - 30,6 mm de comprimento e uma largura de 90 - 120 µm. Enquanto a fêmea adulta tem comprimento e largura de 42,2 - 46,3 mm e 160 - 188 µm, respectivamente. A microfilária tem 309 - 346,8 µm de comprimento e 5,3 µm de largura (Figura 3). A larva infectante (L3), pode permanecer viva e activa por aproximadamente 46 - 50 dias no mosquito vector.<sup>12,13</sup> Os vermes adultos (fêmeas e machos) permanecem enovelados nos vasos e gânglios linfáticos, em média durante 4 a 10 anos, preferencialmente na pélvis (vasos linfáticos do cordão espermático), chegando a comprometer o escroto, pernas e raramente mamas e braços.



À esquerda, a imagem ilustra filárias adultas (macho e fêmea) e á direita, a microfilaria de *W. bancrofti*.  
**Fonte:** Rocha, (2010).

**Figura 3. Filárias adultas (macho e fêmea) e microfilaria de *W. bancrofti*.**

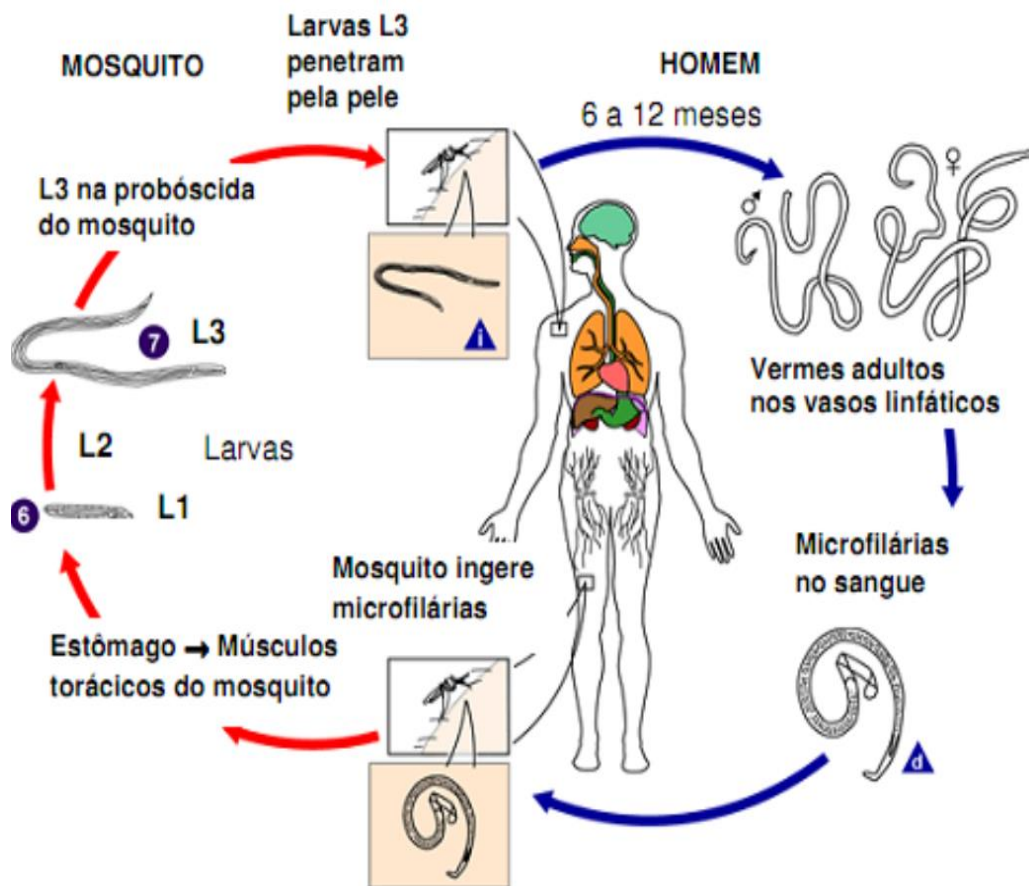
### **1.6.Ciclo de Vida**

O ciclo biológico da *W. bancrofti* é do tipo heteroxênico. O vector transmissor, ao exercer o hematofagismo em indivíduos infectados e portadores de microfilarias, ingere os helmintos que, no estômago do vector após poucas horas, perdem a bainha, atravessam a parede do estômago do insecto, caem na cavidade abdominal e migram para o tórax onde se alojam nos músculos torácicos e transformam-se em uma *larva salsichóide* (L1). Por volta do 5º a 7º dias após à ingestão de sangue infectado, ocorre a primeira muda originando a L2. Esta cresce muito e, entre o 10º e 11º dias depois, sofre a segunda muda, transformando-se em larva infectante (L3), a qual

migra no insecto até alcançar a probóscide, concentrando-se no lábio do mosquito. No hospedeiro invertebrado, o ciclo é de 15 a 20 dias em temperatura de 20-25°C, mas em temperaturas mais elevadas pode ocorrer em menor período. À medida que o vector faz nova ingestão sanguínea, as larvas infectantes escapam do lábio, penetram pela solução de continuidade do hospedeiro (não são inoculados pelo mosquito) e migram para os vasos linfáticos. Entre 6 a 12 meses depois, tornam-se vermes adultos, e após mais sete a oito meses as fêmeas grávidas libertam as primeiras microfilárias.<sup>12,13</sup> (Figura 4).

Uma das características peculiares deste parasito, verificada na maioria das regiões onde é endémico, é a periodicidade nocturna das formas infectantes (microfilárias) no sangue periférico do hospedeiro (Africa, Asia, Malasia, Filipinas e Papua Nova Guine). Observa-se um pico da microfilarémia por volta da meia-noite, decrescendo no final da madrugada; porém, em algumas áreas do mundo a periodicidade é diurna (Sul do Pacifico, Polinesia francesa, Tailândia e Ilhas Nicobar).<sup>14</sup>

Nas regiões onde a periodicidade é nocturna, durante o dia as formas infectantes localizam-se nos capilares profundos, preferencialmente nos pulmões devido a maior concentração do oxigénio. Até então, estímulos como a temperatura corporal e a necessidade biológica de encontro entre o mosquito vector com a microfilária é que sustentam a sua periodicidade no sangue periferico.<sup>15</sup>



Fonte: Imagem da CDC/Alexander J. da Silva, (2003.)

**Fig.4.** Ciclo de vida da *Wuchereria bancrofti*.

### 1.7. Modo de transmissão

Os vermes nematóides da espécie *W. bancrofti* estão implicados na ocorrência de 90% dos casos de filaríase linfática no mundo e os restantes 10% estão associados a *Brugia malayi*.

Diferentes espécies dos géneros de mosquitos abaixo mencionados são vectores de *W. bancrofti*, dependendo da sua distribuição geográfica. Entre elas estão: *Culex spp* ; *Anopheles spp* e *Aedes spp* em África, região do Pacífico ocidental, Ásia e América.<sup>2</sup>

Na sua maioria, os mosquitos da espécie *Culex quinquefasciatus* estão na origem da transmissão da filaríase linfática nas regiões urbanas, enquanto outras espécies de vectores estão implicados na transmissão desta na região rural.<sup>16</sup>

O estímulo que provoca a saída das larvas da probóscide do mosquito é o calor emitido pelo corpo humano, e, com a pele húmida permite a progressão e penetração das larvas. A vida média de um mosquito do género *Culex spp* é de aproximadamente 30 dias e o ciclo biológico do parasita no vector, ocorre por volta de 15 a 20 dias, logo, o período em que o vector possa estar transmitindo a infecção é curto.<sup>12,13</sup> A ocorrência do mosquito fêmea do género *Culex spp* está intimamente associada à presença do ser humano, pois, apesar de sugar sangue de animais ele é também antropofílico, tendo especial preferência pelo sangue humano.

## **1.8. Manifestações Clínicas**

As manifestações clínicas surgem devido à presença no corpo humano de vermes adultos, assim como de microfilárias (MF). Enquanto os vermes adultos provocam lesões primárias de vasos linfáticos, a acção das microfilárias é maioritariamente extralinfática devido à resposta imune/inflamatória do hospedeiro. As quatro principais formas clínicas da filaríase linfática são: assintomática ou doença subclínica, manifestações agudas, manifestações crónicas e eosinofilia pulmonar tropical.<sup>12</sup>

Os assintomáticos são portadores de microfilárias circulantes no sangue, porém, funcionam como fonte de infecção e, do ponto de vista epidemiológico, necessitam de atenção para evitar a disseminação da infecção por longos períodos devido à longevidade dos vermes adultos. Uma estimativa baseada no modelo determinístico mostrou que a vida de *W. bancrofti* é de 10 anos, com uma taxa estável de produção de MF pela fêmea adulta de 5 anos.<sup>17</sup>

As manifestações agudas são principalmente a linfagite retrógrada localizada com frequência nos membros, adenites (inguinal, axillar e epitrocleana) associados à febre e astenia geral, motivado pela presença de vermes adultos nos vasos linfáticos (acção mecânica).<sup>18</sup>

As manifestações crónicas são o linfedema, hidrocelo (mais comum), quilúria e elefantíase que iniciam geralmente alguns anos após início dos ataques agudos em indivíduos residentes em áreas endémicas. A elefantíase localiza-se com frequência nos membros inferiores, escroto e está associada a episódios inflamatórios recorrentes.

A incidência e gravidade das manifestações aumentam com a idade e lesões crónicas que podem ser irreversíveis. A eosinofilia pulmonar tropical (EPT), é uma síndrome caracterizada por sintomas de asma brônquica, na qual o paciente apresenta hiper resposta imunológica a antígenos filariais com aumento de IgE e hiper eosinofilia, levando ao aparecimento de abscessos eosinofílicos com MF e posterior aparecimento de fibrose intersticial crónica nos pulmões, comprometendo a função do órgão (acção irritativa).<sup>19</sup>

Em crianças cujas mães são portadoras da infecção filarial, a imunossupressão começa durante a gestação. O antígeno filarial induz a resposta imune inata activando deste modo, o factor de crescimento do endotélio vascular e consequente hiperplasia do vaso linfático, como primeiro estágio para a ocorrência do linfedema. Em indivíduos com esta doença, a ocorrência de reacções imunológicas desencadeadas por células Th1, Th2 é maior.<sup>18</sup>

A morte das macrofilárias induz à produção de antígenos que por sua vez podem induzir uma reacção inflamatória envolvendo eosinófilos e macrófagos e consequente neutropenia celular e reacções humorais em indivíduos infectados. A reacção imune (hiper-reacção imunológica à infecção), mais aparente numa minoria de indivíduos infectados (liquenificação), caracterizada por uma resposta imunitária forte e sustentada capaz de matar as MF à custa da integridade da pele e bem-estar do indivíduo. O controlo dos parasitos é associado com alto nível de IgE e IL - 4, bem como as respostas de IL – 5 e eosinofilia.<sup>19</sup>

Durante a infecção crónica há alterações patológicas incluindo fibrose, dilatação dos vasos linfáticos e extravasamento de fluido linfático para o interstício circundante. A dilatação dos



vasos linfáticos é um evento precoce após a estimulação antigénica, que ocorre enquanto os vermes adultos forem viáveis e/ou quando há produção de microfilárias.<sup>18</sup>

## **1.9. Diagnóstico**

A dificuldade no diagnóstico clínico da filariase linfática decorre tanto da grande diversidade das manifestações clínicas como de factores relacionados ao parasito e à resposta imunológica apresentada pelo paciente. O diagnóstico laboratorial da infecção filarial era tradicionalmente baseado na pesquisa do parasito pela detecção da microfilária na corrente sanguínea, assim como pela identificação do verme adulto, vivo ou morto.<sup>20,21</sup> Contudo, actualmente estão disponíveis testes rápidos imunocromatográficos (ICT) recentemente substituído por tiras de teste da filariase do inglês "Filariasis Test Strip" (FST), ensaios imunoenzimáticos (ELISA) e testes moleculares que diagnosticam a infecção.<sup>22</sup>

### **1.9.1. Diagnóstico Parasitológico**

A pesquisa parasitológica de MF no sangue continua sendo a técnica padrão para o diagnóstico da infecção filariana na maioria dos países endémicos. A técnica de gota espessa, a de filtração em membrana policarbonato e a técnica de Knott vêm sendo usadas desde a década de 1980 na pesquisa de MF sanguíneas.

A amostra de sangue deve ser colhida no período nocturno, de preferência entre as 23 horas e 01 hora de madrugada, por se considerar período de maior pico da circulação das microfilárias no sangue, podendo variar tendo em conta a região. Contudo, a necessidade de se colher sangue nocturno para pesquisa de microfilárias, constitui uma das dificuldades encaradas no uso da técnica em inquéritos ou programas de avaliação para o diagnóstico da doença devido às recusas. A biópsia e o ultra-som são outras técnicas empregues na pesquisa parasitológica que se podem realizar durante o dia para

pesquisa de vermes adultos no indivíduo. A biópsia é pouco recomendada e raramente utilizada por ser um método invasivo. O ultra-som detecta casos de infecção oculta associada a presença de filárias adultas nos vasos e ausência de microfilárias na circulação periférica.<sup>20</sup>

Geralmente, para realizar a técnica de gota espessa é usado um volume de sangue relativamente maior (60 µL) para aumentar a sensibilidade, colhido por punção capilar digital. A amostra é fixada sobre a lâmina, corada por *Giemsa* e examinada ao microscópio óptico. Esta técnica possibilita quantificar as microfilárias existentes no sangue periférico e diferenciar as microfilárias de *W. bancrofti* de outras espécies de microfilárias sanguíneas através das características morfológicas do parasita. Ela é de baixo custo, todavia, a sua baixa sensibilidade limita o seu uso em situações de baixa microfilaremia.<sup>7</sup>

### **1.9.2. Pesquisa do Antígeno Filarial Circulante (AFC)**

O primeiro pesquisador a demonstrar a presença de antígeno filarial circulante em indivíduos infectados com *W. bancrofti* foi Franks, em 1947 ao usar um teste intradérmico. Na pesquisa do antígeno filarial circulante de *W. bancrofti* não existe diferença da sensibilidade nos testes realizados com amostras colhidas no período diurno ou noturno, pelo fato de a concentração do antígeno filarial no sangue periférico não mostrar variação periódica significativa.<sup>7, 21</sup>

O teste rápido imunocromatográfico em cartão (ICT) lançado comercialmente, contém anticorpos pareados (anticorpos policlonais e monoclonais) específicos para o antígeno filarial de *Wuchereria bancrofti* (AD12) conjugado a partículas de ouro coloidal visível e imobilizado sobre a tira do teste.<sup>23</sup> A sua sensibilidade e especificidade não foram ainda determinadas com exactidão sendo que alguns estudos epidemiológicos observaram uma sensibilidade que varia de 73% a 100 % e especificidade de 84% a

100%. Todavia, este tem sido usado em muitos países para o diagnóstico da infecção filarial por *W.bancrofti*, principalmente para o mapeamento da doença.

A sua conservação e armazenamento é por um período de tempo relativamente curto (3 meses a 25°C), podendo ter a sua sensibilidade afectada quando conservados em diferentes condições. Porém, ele não oferece resultados muito fiáveis quando há uma redução de MF no sangue, visto que, mesmo depois do tratamento, muitas das vezes o resultado pode permanecer positivo por muito tempo. Ele tem a vantagem de poder ser empregue a qualquer hora, resultado emitido em 10 minutos, de fácil execução, adequa-se às mais precárias condições do trabalho de campo, não precisa de um laboratório e o agente do trabalho de campo pode ler o resultado.<sup>23</sup> Como o anticorpo monoclonal (AD12) tende a reconhecer antígenos no estadio do verme adulto de *W. bancrofti*, deve-se interpretar o teste positivo como resultado da presença do verme adulto, independentemente da microfilarémia dos pacientes, se provenientes de áreas endémicas.<sup>24</sup>

O teste de tira da filariase (FTS) é sucessor do teste rápido de cartão (ICT). Ele resulta do melhoramento do teste de cartão na detecção qualitativa do antígeno de *W. bancrofti* em amostras de sangue humano. É recomendado pela OMS ao Programa Mundial para Eliminação da Filariase Linfática, como ferramenta epidemiológica para mapeamento, assim como para avaliação do sucesso dos programas de eliminação da doença após AMM. Também é útil para a detecção de infecção em indivíduos suspeitos de ter filariase. Embora o teste seja relativamente simples de usar é necessário um treinamento adequado para reduzir a variabilidade entre observadores e reduzir o erro na leitura das tiras. Ele tem maior vida útil quando conservado a temperatura entre 2 - 37°C, podendo ter a sua sensibilidade afectada quando conservado em condições adversas.<sup>22</sup>

Devido à sua simplicidade esse teste é bastante promissor para utilização em inquéritos nas áreas endémicas, pois, ele apresenta as mesmas vantagens de operação do antigo teste (ICT). A detecção do antígeno filarial circulante não mostra nenhuma relação com a densidade microfilarial, facto que permite que alguns positivos para antígenos

sejam negativos para microfilárias.<sup>7</sup> O teste geralmente reconhece antígenos do verme adulto de *W. bancrofti*, sugerindo que o teste positivo seja resultado da presença do verme adulto, independentemente da microfilarémia dos pacientes.<sup>20</sup>

O ELISA (Enzyme-linked immuno sorbent assay) do inglês imunoenensaio absorvente ligado a uma enzima é um método imunológico desenvolvido para quantificar a concentração de antígenos e anticorpos, por apresentar grande sensibilidade e especificidade. O teste de ELISA Og4C3, está disponível em kits comerciais desenvolvidos pela Cellabs PTY, Ltd, Austrália. O Og4C3, anticorpo monoclonal da classe das imunoglobulinas IgM, foi obtido contra *Onchocerca gibsoni*, filarídeo bovino, que identifica fortemente antígenos de *W. bancrofti*. Com base nesse anticorpo desenvolveu-se uma técnica imunoenzimática baseada no método sandwich ELISA que reconhece antígenos filariais de 50 a 60 e 130 kDa. Ele reconhece antígenos filariais em soros ou plasma de pacientes infectados com a *W. bancrofti*, sendo empregue como específico na detecção de antígeno filarial circulante de vermes adultos.<sup>25</sup>

A detecção do antígeno filarial circulante pelo ELISA - Og4C3, não depende da presença ou ausência de microfilária circulante no sangue porque a contagem de microfilárias e o nível de antígeno têm uma correlação fraca, assim como pode haver alto nível de antígenos circulantes do parasita em pacientes amicrofilarêmicos com sinais clínicos.<sup>26</sup>

A detecção de microfilária pelo exame da gota espessa é específica mas não é sensível; a pesquisa de anticorpo é sensível, porém, não é específica o suficiente, e o ELISA - Og4C3 apresenta um bom compromisso com a especificidade (100%) e a sensibilidade (91-98%) para o diagnóstico da infecção activa por *W. bancrofti*. Logo, a técnica de ELISA - Og4C3 é o exame ideal para o diagnóstico da filariase linfática, porém, quando usado para identificar indivíduos infectados em populações de baixa prevalência, pode apresentar falsos negativos.<sup>20, 21</sup>

A prevalência do antígeno filarial circulante tem sido mais alta do que a microfilarémia, porque o antígeno tem origem em todos os estádios do parasita e não apenas na microfilaria. Assim indivíduos portadores de filárias adultas, mas amicrofilarémicos têm resultado positivo para o teste antigénico. Deste modo, a prevalência antigénica deve ser um melhor indicador da carga da infecção e morbidade na população, quando comparada com a prevalência de microfilarias.<sup>26</sup>

### **1.10. Estratégias para interrupção da transmissão**

Mais de 50 países entre os quais Moçambique, implementaram o Programa Mundial para Eliminação da Filaríase Linfática (PMEFL), no qual mais de 500 milhões de pessoas (1/7 das pessoas infectadas) beneficiaram-se de administração massiva de medicamentos em doses anuais até 2009 e 556,2 milhões até 2015 em todo mundo.<sup>1, 5</sup>

O PMEFL é reconhecido, na história da saúde pública, como um dos programas globais de saúde de expansão rápida, com uma parceria coesa onde todos os estados-membros e parceiros envolvidos trabalham em conjunto, com vista a alcançar melhor impacto sanitário e económico dos povos.<sup>1</sup>

A principal estratégia para interromper a transmissão da infecção filarial é a AMM, usando combinação de duas drogas, Albendazol (ALB) + Dietilcarbamazina ou Ivermectina (IVM), à toda população elegível nas áreas endémicas. O objectivo é a redução da microfilarémia no sangue dos indivíduos infectados para níveis que não possam mais sustentar a transmissão da infecção filarial por mosquitos vetores.<sup>6</sup> A administração é anual durante pelo menos cinco ou seis anos, podendo ir até oito anos, o que é geralmente considerado o tempo de vida reprodutiva dos vermes filariais adultos em humanos assumindo uma cobertura maior que 65 % da população afectada.

Actualmente, vários países africanos desenvolvem programas conjuntos para doenças tropicais negligenciadas (DTNs), nos quais em áreas co-endémicas para filaríase linfática e

oncocercose associa-se a Ivermectina e Albendazol (IVM e ALB). Há evidências de que a associação de IVM com ALB prolonga o intervalo de tempo em que o indivíduo permanece amicrofilarémico para *Wuchereria bancrofti*.<sup>18, 27</sup>

A Ivermectina (IVM) é um parasiticida conhecido como avermectina/milbencinina, registrado em 1981 e aprovado para uso em mais de 60 países no controlo de parasitoses em animais. Mais recentemente, também foi aprovado para humanos em forma de comprimidos de 6 mg cujo nome comercial é Mectizan® (Merck, Sharp & Dhome). É uma potente lactona monocíclica, produzida pelo *Streptomyces avermitilis*, que causa paralisia em muitos nematódeos e artrópodes. Também apresenta acção microfilaricida em outros filarídeos que infectam o homem (*W. bancrofti*, *B. malayi*, *Loa loa* e *Mansonella ozzardi*), porém é inactiva contra a *Mansonella perstans*.<sup>28</sup>

O medicamento pode provocar reacção sistémica leve, geralmente na primeira e segunda administração, cujos sintomas mais comuns são a febre, cefaleia e a mialgia. A microfilaremia diminui em 95 - 99% num intervalo de um mês após o tratamento. O uso de IVM em intervalos de um a três meses tem algum efeito macrofilaricida, embora moderado sobre a longevidade dos vermes adultos. A severidade da reacção sistémica é autolimitada, com duração de cerca de 48 horas, dependendo da densidade microfilarial, sendo mais acentuada em pacientes com alta parasitemia.<sup>28</sup>

É recomendada para o tratamento da filariase linfática em áreas co-endémicas com a *Onchocerca volvulus*, devido ao risco de reacções adversas graves quando se administra Dietilcarbamazina em indivíduos com Oncocercose. A Ivermectina é administrada na dose de 150 a 200 µg/kg em co-administração com 400 mg/kg de Albendazol.<sup>29</sup> A administração do ALB em combinação com a IVM justifica-se, segundo a OMS, porque previne a evolução da potencial resistência aos fármacos, prolonga o intervalo de tempo em que o indivíduo permanece amicrofilarémico e também é eficaz no tratamento de vários geohelminhos, os quais normalmente possuem altas prevalências em regiões endémicas de filariase linfática.<sup>27</sup>

A interrupção da transmissão da infecção filarial também depende de múltiplos factores, tais como as taxas de infecção de base, capacidade vectorial, eficácia do esquema utilizado, o envolvimento da comunidade e da taxa de cobertura de tratamento.<sup>20</sup>

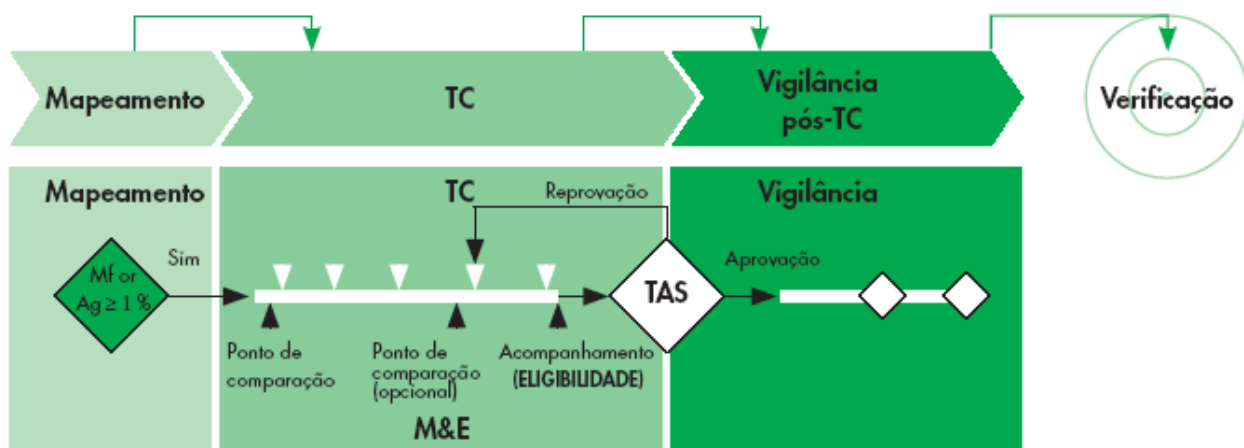
A adopção de outras medidas que possam evitar o contacto entre o vector e os seres humanos, quer seja ao nível urbano ou rural, para além da administração massiva de medicamentos (AMM), contribuem em grande medida para a eliminação da doença evitando o surgimento de novas infecções.<sup>1</sup>

### **1.10.1. Monitoria e avaliação epidemiológica da AMM**

Para se atingir o objectivo da interrupção da transmissão da filariase linfática é necessária uma monitoria efectiva, avaliação epidemiológica e análise subsequente da administração massiva de medicamentos, com vista a atingir a meta global de eliminar a FL até ao ano 2020.

Nos países endémicos, o PMEFL recomenda que se faça AMM contra a FL a toda população em risco por um período suficiente (5 anos). Esta estratégia pode ser complementada com o tratamento selectivo dos indivíduos infectados assim como por meio de controlo de vetores.<sup>30</sup> A efectividade da AMM na redução da prevalência e densidade de microfilárias no sangue é directamente proporcional ao número de indivíduos que tomam os medicamentos a cada ronda.<sup>31</sup> Contudo, o número de rondas de AMM depende da prevalência inicial da infecção, intensidade inicial de transmissão, eficácia dos medicamentos, combinação de parasitas, vectores e densidade de vetores.<sup>32</sup>

A combinação de Ivermectina + Albendazole é administrada em doses únicas anuais por um período mínimo de 5 anos para todos os indivíduos elegíveis, na totalidade da área endémica com objectivo de reduzir a densidade de microfilárias circulantes no sangue de indivíduos infectados e da prevalência da infecção na comunidade. A monitoria e a avaliação efectiva é imprescindível durante todo o progresso da eliminação da FL e para o seu sucesso recomenda-se o seguimento dos passos descritos na figura 5.



Fonte: Manual para programas nacionais de eliminação da FL OMS, (2010).

**Figura 5.** Passos para interrupção da transmissão da FL através da AMM.

Segundo ilustra a figura 5, estão representados os passos por seguir para se atingir a interrupção da transmissão da filaríase linfática baseando-se na estratégia de administração massiva de medicamentos:

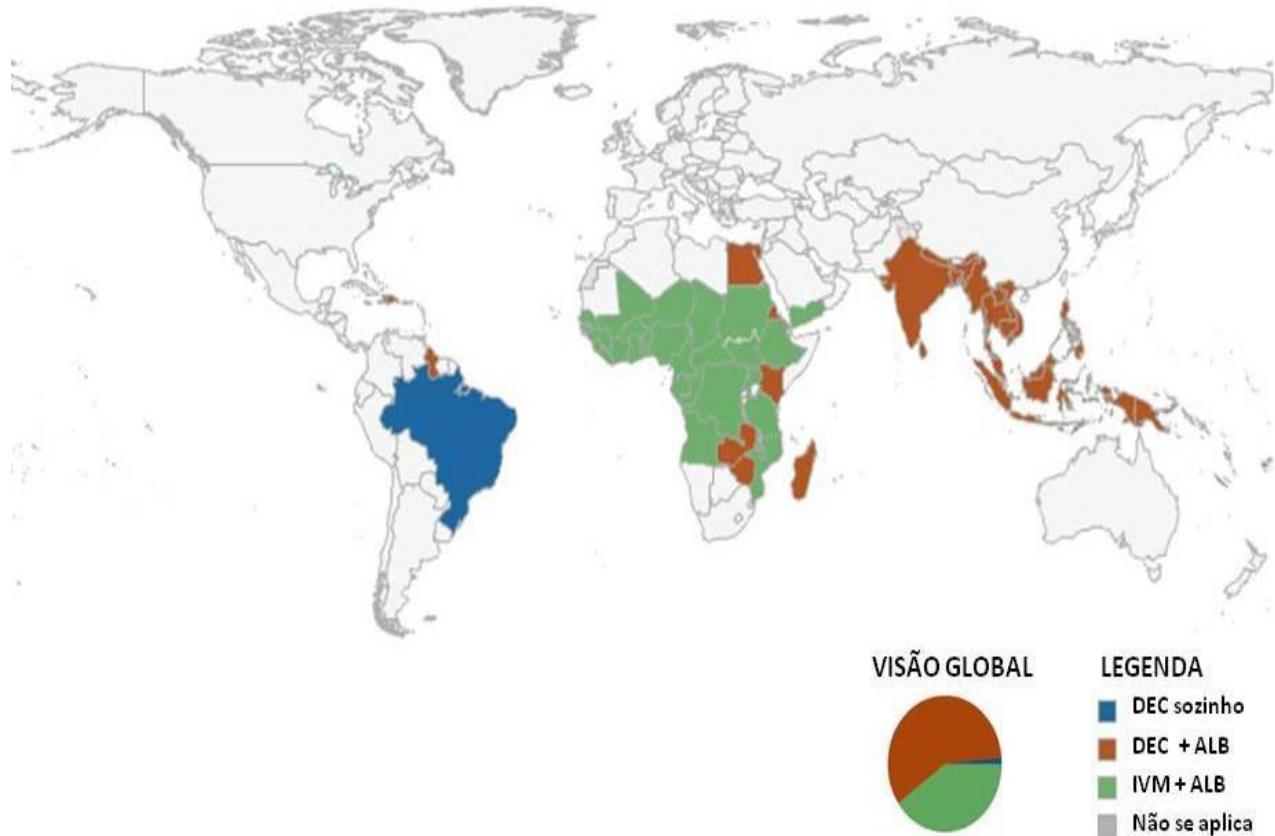
- De acordo com as directrizes da OMS, para decidir-se o início da AMM ou tratamento colectivo (TC), primeiro faz-se o mapeamento que vai determinar a prevalência da microfilarémia ou da antigenémia e só inicia-se a prevalência de MF for maior ou igual a 1 %.



- Durante a AMM ou TC deve ser feita a monitoria da cobertura do tratamento em cada ronda para determinar se a meta mínima de 65% da população total foi alcançada.
- Após o mínimo de cinco rondas de AMM ou TC realizadas com coberturas satisfatórias, faz se avaliação do seu impacto nos postos sentinela e de verificação aleatória.
- Caso todos os critérios de elegibilidade forem satisfeitos (no mínimo 6 meses após a última ronda de AMM) faz se uma pesquisa de avaliação da transmissão (TAS) para ajudar a decidir quando interromper a AMM.
- A pesquisa de avaliação da transmissão repete-se duas vezes durante a vigilância pós-AMM.

Os programas nacionais de eliminação não devem ser encerrados depois da interrupção da AMM pois deve se garantir a continuidade das actividades programáticas de avaliação e vigilância e do componente de controlo da morbilidade. A comprovação da eliminação da FL não deve ser realizada logo após a interrupção da AMM. É preciso colher dados de vigilância pós-AMM por cerca de 5 anos para confirmar que se mantém a ausência de transmissão da infecção filarial.<sup>34</sup>

A figura 6, representa os esquemas terapêuticos adoptados em países endémicos para filaríase linfática.



Fonte: Adaptado de Organização Mundial de Saúde (2013).

**Figura 6.** Esquemas terapêuticos adoptados nos países endêmicos da filaríase linfática.

### 1.11. Pergunta de estudo

Qual é o impacto da primeira ronda de administração massiva de medicamentos contra a filaríase linfática (Ivermectina+ Albendazol), na parasitémia e antigenemia, na população de Mulhaniua, Distrito de Murrupula, Província de Nampula?

## 2. JUSTIFICATIVA

Devido ao impacto que a filaríase linfática representa para a saúde pública em todo mundo, a Assembleia Mundial da Saúde lançou no ano 2000 o Programa Global que visa eliminar a filaríase linfática até ao ano 2020, através da administração massiva de medicamentos em população das áreas endémicas. O esquema terapêutico baseado em associação de Ivermectina (IVM) e Albendazol (ALB), foi adoptado para fazer face à ocorrência de reacções adversas graves em alguns países co-endémicos da filaríase linfática e oncocercose, garantindo assim o acesso a quimioterapia à todos os elegíveis.

Segundo a OMS, Moçambique faz parte dos países com altas taxas de endemicidade da região africana, onde cerca de 75% da população está em risco de contrair a infecção.<sup>7</sup>

Em Moçambique, o Ministério da Saúde só implementou a estratégia de Administração Massiva de Medicamentos (AMM) contra a filaríase linfática quatro anos depois do mapeamento da doença (2009), em 18 Distritos pilotos da região norte do país, incluindo a província da Zambézia na região centro do país. A cobertura do tratamento massivo foi-se expandindo gradualmente para outros distritos endémicos do país. No Distrito de Murrupula, Província de Nampula, a administração massiva de medicamentos (AMM) contra a filaríase linfática só iniciou seis meses depois do inquérito de base (Janeiro de 2014), cuja cobertura fixou-se em 86%.<sup>35</sup>

O programa nacional de eliminação da FL deve fazer o seguimento do curso da AMM até os níveis em que a transmissão da infecção não seja mais sustentável e implantar um sistema de vigilância adequado pós-AMM para verificar uma possível recrudescência, através da monitoria e avaliação, ferramentas indispensáveis para verificar o sucesso da eliminação da doença. Para tal, é necessário que se faça avaliação do impacto da AMM, comparando-a com os resultados de referência nos postos sentinelas e ou locais de verificação aleatória, de modo a proporcionar à coordenação do programa dados precisos sobre a tendência da prevalência da infecção no

decurso do programa e/ou a indicação da necessidade de se introduzir mudanças e reorientação aos esforços de eliminação da doença. Portanto, pretendia-se com este estudo avaliar se a administração massiva de medicamentos contra filaríase linfática impulsionou ou não à uma redução na proporção de portadores de microfilárias (microfilaremia), assim como de antígenos (antigenemia), seis meses depois da primeira ronda de quimioterapia.

### **3. OBJECTIVOS**

#### **3.1. Geral:**

Avaliar o impacto da Administração Massiva de Medicamentos contra a filaríase linfática, em Mulhaniua, Distrito de Murrupula, Província de Nampula.

#### **3.2. Específicos:**

- Comparar a proporção de portadores de microfilárias de *W.bancrofti*, antes e depois da primeira ronda de AMM.
- Comparar a densidade microfilarial de *W.bancrofti*, antes e depois da primeira ronda de AMM.
- Comparar a proporção de portadores de antígeno filarial circulante de *W. bancrofti*, antes e depois da primeira ronda de AMM.
- Comparar a densidade de antingenemia de *W.bancrofti*, antes e depois da primeira ronda de AMM.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Considerações éticas**

Este estudo faz parte do projecto “Evaluating the Impact of an Integrated NTD Program through Enhanced Sentinel Site Monitoring in High Prevalence Areas of Mozambique”, realizado pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) em parceria com o Instituto Nacional de Saúde (INS), cujo aprovação ética é sob Ref: 438/CNBS/2012 dado pelo Comité Nacional de Bioética para Saúde (CNBS) de Moçambique.

Todos os participantes assinaram o consentimento informado sobre a sua participação, e foram explicados todas as actividades em relação aos objectivos do estudo. Para os participantes menores de idade, pediu-se o consentimento dos pais ou encarregados de educação, mediante à aceitação dos visados. Foi-lhes garantido o anonimato e a confidencialidade dos resultados, omitindo a identidade dos participantes. Os dados sócio demográficos colhidos (nome, sexo e idade), serviriam apenas para efeitos de avaliação e seguimento dos casos diagnosticados.

### **4.2. Tipo de estudo**

Foi realizado um estudo ecológico, baseado essencialmente na comparação da proporção de portadores de microfilárias, AFC e densidade microfilarial entre o inquérito de base realizado em Agosto de 2013 (antes do tratamento) e seis meses depois da primeira ronda de tratamento (em Julho de 2014).

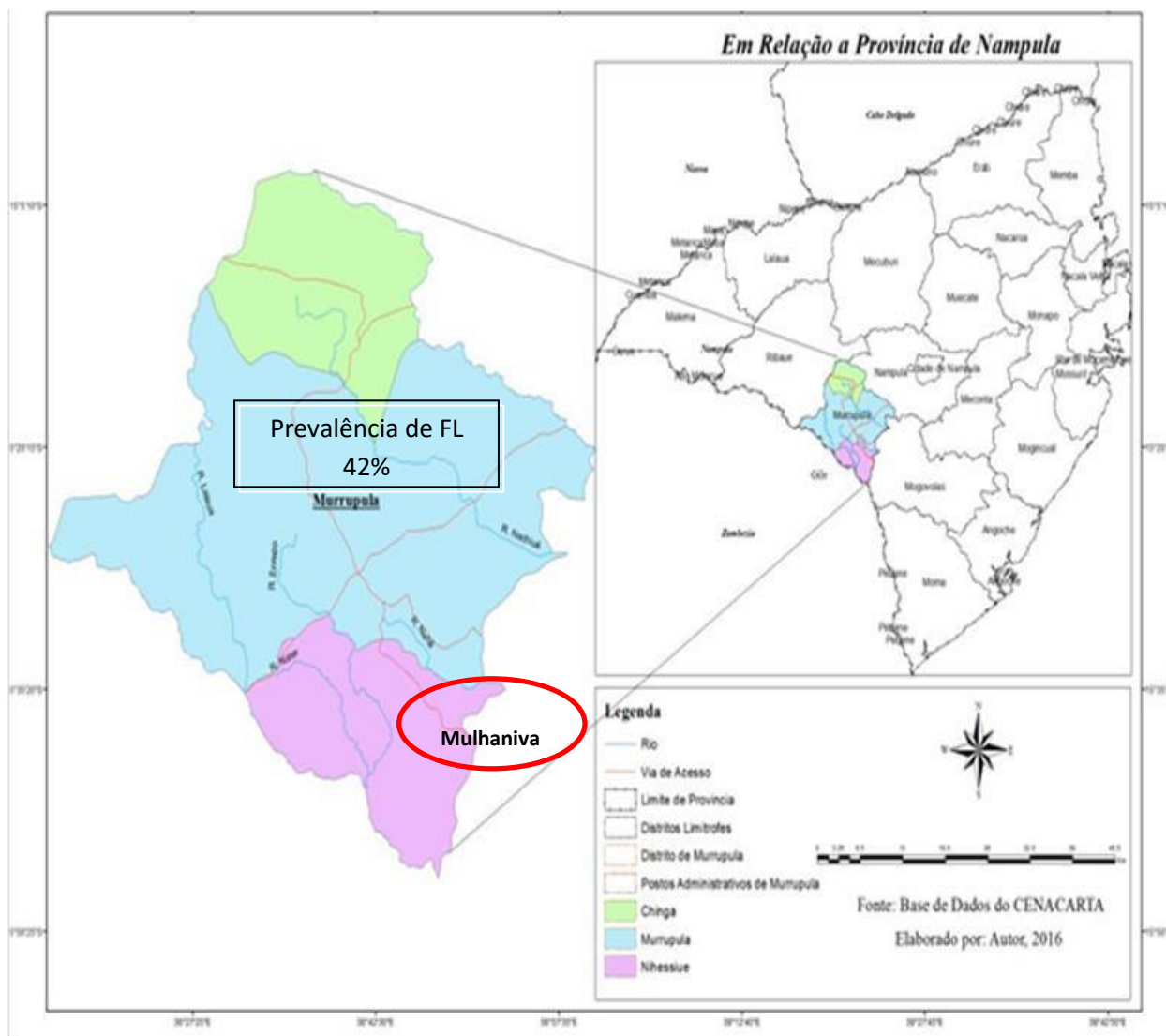
A administração massiva de medicamentos contra a filariase linfática no Distrito iniciou em Janeiro de 2014, cujo medicamento é IVM + ALB, a colheita de amostras de sangue, preparação de lâminas, acondicionamento e o respectivo transporte para o Laboratório de Parasitologia Molecular do INS, foi em Julho de 2014. A informação relativa ao inquérito de base foi obtida nas fichas de recolha de dados, base de dados criada para o efeito.

### 4.3. Área e população do estudo

Os dados e amostras analisadas no presente estudo são provenientes da localidade de Mulhaniua (S:1570332° / E:039.76090°), posto administrativo de Nihessiu, Distrito de Murrupula, Província de Nampula, região norte do país. A província de Nampula está localizada a 2.150 Km ao norte da capital moçambicana e possui uma superfície de área de 79.010 km<sup>2</sup> e uma população de 3.985.613 habitantes segundo o censo de 2007. A maior parte dos seus distritos são altamente endémicos para filaríase linfática. O distrito de Murrupula está localizado ao sudoeste da capital provincial de Nampula com uma superfície da área de 3.100 Km<sup>2</sup>. Ao norte, noroeste e oeste, limita com o distrito de Ribaué, ao sul com o distrito de Gilé (distrito da província da Zambézia), ao leste com o distrito de Mogovolas e ao nordeste com o distrito de Nampula. Murrupula possui 140.311 habitantes e uma densidade populacional de 45,26 habitantes por km<sup>2</sup>.<sup>36</sup>

Segundo a sua divisão político administrativa possui três postos administrativos (Chinga, Murrupula e Nihessiu); neste último foi onde decorreu o mapeamento da doença em 2005, cuja prevalência foi de 42%, figurando entre os Distritos com altas taxas de infecção na região norte do país. Ele alberga maioritariamente população economicamente activa, rural e de baixa renda, e a agricultura é a principal fonte de renda. O clima é semi-árido e sub- húmido seco, com uma precipitação média anual variando de 800 a 1.200 mm que por vezes excede os 1.500 mm tornando assim o clima do tipo sub-húmido chuvoso. A evapotranspiração potencial de referência situa-se entre 1.300 - 1.500 mm. A temperatura média anual varia de 20 a 25 °C e por vezes ultrapassa os 25 °C. Esta região é banhada pelos rios Mecuburi e Lúrio.<sup>36</sup>

Para este estudo, foram seleccionados todos os indivíduos de idade igual ou superior a um ano, de ambos sexos. Dentro dessa selecção foram incluídos indivíduos menores de 5 anos de idade, pela necessidade de melhor avaliação da infecção filarial na população, visto que a presença do antígeno filarial circulante em crianças é um forte indicador de infecção recente e continuidade da transmissão. A estratificação das idades obedeceu aos seguintes intervalos: < 5 anos de idade, de 5 - 15 anos e > 15 anos de idade.



Fonte: Base de dados da CENACARTA.

**Figura 7.** Localização geográfica do Distrito de Murrupula, Província de Nampula.

#### **4.4. Critérios de inclusão e exclusão**

Ser residente na região (localidade) a mais de cinco anos (5) anos;

Ter consentido em participar no estudo para adultos e assentimento para menores de idade.

Não responder aos critérios acima mencionados.

#### **4.5. Amostragem e tamanho amostral**

A amostragem foi por conveniência, envolvendo todos indivíduos encontrados durante o estudo, respondendo aos critérios de inclusão previamente estabelecidos. No que diz respeito ao tamanho amostral, os protocolos da OMS recomendam que nos Postos Sentinelas (PS), o número ideal é de 500 participantes, porém, também é aceitável o mínimo de 300 participantes de modo que a amostra seja suficiente para fornecer resultados representativos para a região. Para tal, no inquérito de base foram seleccionados 678 participantes e seis meses depois da primeira ronda de AMM, foram seleccionados 313 participantes de ambos sexos.

#### **4.6. Colheita e conservação da amostra**

A colheita de amostras de sangue foi antecedida por sessões de educação e sensibilização às comunidades em relação a necessidade da colheita nocturna de sangue, não só mas também, a importância da sua participação no processo.

As amostras foram colhidas à vespertina, entre as 21 h às 02 da manhã, obedecendo deste modo, a periodicidade da presença de microfilárias de *W. bancrofti* na circulação periférica. De cada participante, foram colhidos cerca de 240 µl de sangue, por punção digital para um tubo com anticoagulante (EDTA). De cada amostra de sangue devidamente codificada, 120 µL serviram para preparar duas lâminas para pesquisa microscópica de microfilária, onde em cada lâmina foram feitas três estrias com 20 µl de sangue perfazendo 60 µl por lâmina. Estas, foram deixadas secar a temperatura ambiente e posteriormente coradas por *Giemsa* a 10%, durante 10

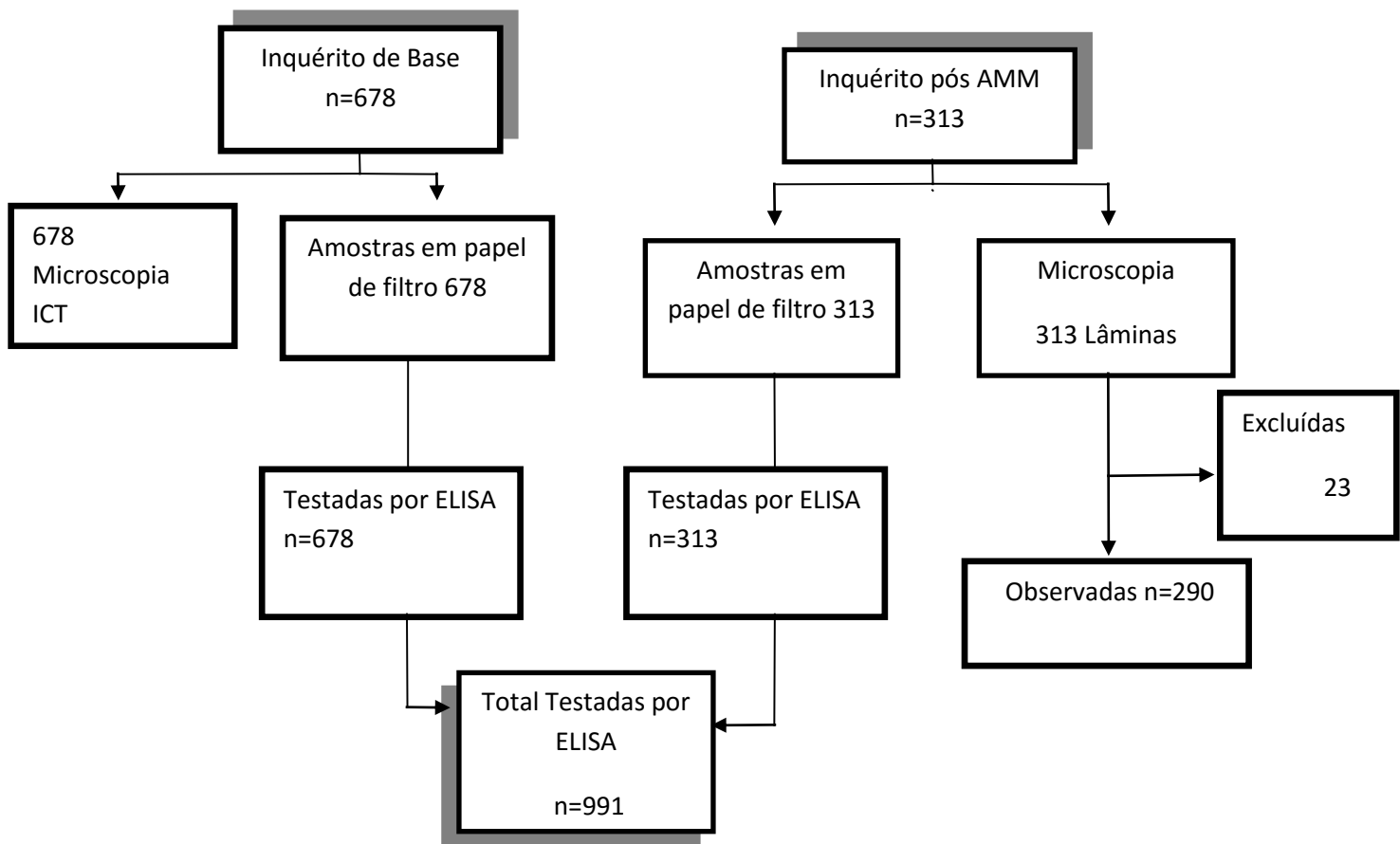


minutos, e os restantes 120  $\mu$ L foram conservados em papel de filtro da TropBio, Australia (figura 8) para posteriores análises.



**Figura 8.** Amostras de sangue total conservadas em papel de filtro.

As amostras em papel de filtro secaram à temperatura ambiente, foram armazenadas em sacos plásticos contendo sílica gel. Todas as lâminas e as amostras em papel de filtro foram transportadas para o Laboratório de Parasitologia Molecular do Instituto Nacional de Saúde, onde os papéis de filtro foram conservados à uma temperatura de  $-20$  °C. Posteriormente, foram levadas ao Departamento de Imunologia, Laboratório de Serologia (INS), para o devido processamento. As lâminas preparadas no campo, foram lidas e validadas no Laboratório de Parasitologia Molecular. A figura 9 abaixo, mostra o fluxograma do processamento das amostras.

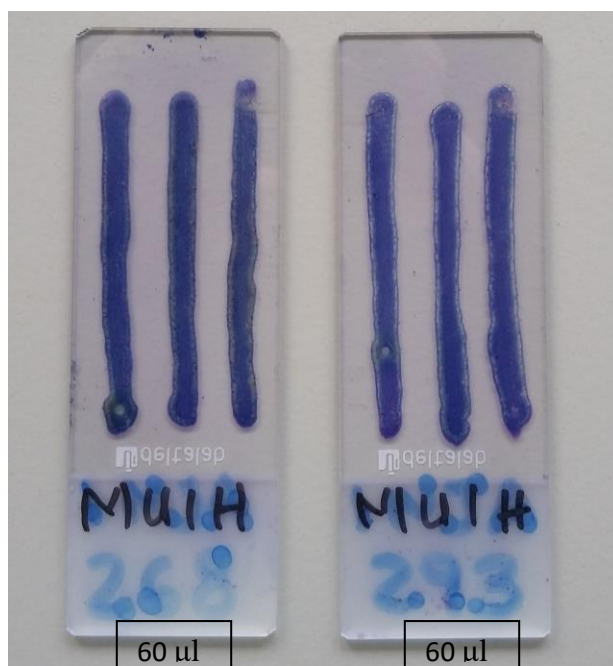


**Figura 9.** Fluxograma seguido durante o processamento de amostras.

## 4.7. Processamento de Amostras

### 4.7.1. Exame microscópico

As lâminas foram duplamente observadas ao microscópio óptico no Laboratório de Parasitologia Molecular do Instituto Nacional de Saúde (INS), para detectar a presença de microfilárias, sua caracterização morfológica, diferenciação das espécies e a respectiva quantificação. Só foi considerada positiva a amostra que tivesse uma ou mais microfilárias em 60 µl de sangue (Figura 10).



**Figura 10.** Lâminas coradas por Giemsa para pesquisa de microfilárias.

#### **4.7.2. Ensaio Imunoenzimático (ELISA-Og4c3)**

Para este ensaio estão disponíveis os kits comerciais de ELISA-Og4c3, o qual além de detectar, quantifica antígenos filariais de *W. bancrofti*. Estes kits foram desenvolvidos pela Cellabs Pty Ltd 7/27 Dale Street Brookvale 2100 NSW, Australia, para a detecção da infecção por *W. bancrofti* em humanos. Uma vez as amostras colhidas e conservadas em papel de filtro, foi necessário eluí-las e de seguida processá-las seguindo às instruções do fabricante.

##### **4.7.2.1. Eluição da amostra em papel de filtro**

Cortaram-se três círculos do disco de papel de filtro que foram colocadas em tubos Eppendorf de 2 mL e adicionaram-se 200 µL de diluente de amostra em cada tubo. A amostra foi incubada durante a noite à temperatura de 2 - 8 ° C.

Na manhã seguinte, as amostras foram incubadas em banho-maria a 100°C durante 5 minutos seguido de centrifugação a 2.000 rpm durante 15 minutos.

#### 4.7.2.2. Procedimentos da testagem

- Adicionou-se 50 µl da suspensão de amostra para cada cavidade/poço da placa. De seguida, foram adicionados 50 µL de antígeno Standard em duplicados utilizando as duas últimas tiras da placa (poços 11B, 11C, 11D, 11E, 11F, 11G, 11H, 12B, 12C, 12D, 12E, 12F, 12G e 12H). Depois adicionou-se o conjugado de controlo só nos poços 11A e 12 A.

- Incubou-se a placa numa câmara húmida durante 60 minutos a 37 °C. Pouco antes da incubação da placa, preparou-se uma solução de peróxido de hidrogénio a 1% para uma placa através da adição de 400 µl de peróxido de hidrogénio (~ 30 %) a 12 mL de tampão de lavagem.

- Lavou-se a placa três vezes com tampão de lavagem, inverteu-se e bateu-se suavemente para remover o tampão residual e de seguida adicionou-se 50 µL de solução de peróxido de hidrogénio a 1% em todas as cavidades da placa e incubou-se durante 10 minutos à temperatura ambiente.

- Depois lavou-se a placa três vezes com tampão de lavagem, inverteu-se e bateu-se suavemente para remover o tampão residual. Diluiu-se 50 µL de anticorpo anti-onchocerca a 6 mL de diluente de anticorpo e adicionou-se 50 µL de anticorpo de coelho diluído anti - *Onchocerca* em todos os poços, de seguida colocou-se a placa numa câmara húmida e incubou-se durante 45 minutos a 37 °C.

- Depois da incubação, lavou-se a placa três vezes como anteriormente. Diluiu-se 50 µL de anti-coelho conjugado HRPO a 6 ml de diluente de anticorpo e adicionou-se 50 µL de conjugado em todos os poços, e de seguida incubou-se a placa numa câmara húmida durante 45 minutos a 37 °C.

- Depois da incubação, lavou-se a placa três vezes como anteriormente. Preparou-se o substrato diluindo 300 µL de TBM de substrato concentrado para 5.700 µL de substrato tampão e adicionou-se 50 µL a cada poço e incubou-se durante 15 minutos no escuro, à temperatura ambiente.

- Depois da incubação, adicionou-se 50 µL de solução de paragem da reacção em cada poço, e, por fim as placas foram lidas num espectrofotómetro (leitor de placas) a 450 nm, ou comprimentos de onda duplos de 450/620 nm. Para que os resultados do teste fossem aceites, o padrão 1 (Controle negativo) e o Padrão 7 (Controle Positivo) deviam obedecer aos seguintes critérios: Padrão 1 OD <0,2 e Padrão 7 OD > 2.0

- Para interpretar o resultado das amostras testadas, recorreu-se a um padrão típico contendo valores dos sete antígenos padrão usados para alocar as amostras de teste em um dos oito grupos de títulos de antígenos segundo indica a tabela abaixo:

<b>Atribuição de amostras a títulos de antígenos</b>			
<b>Título do Grupo</b>	<b>Absorvência</b>	<b>Nr. Padrão</b>	<b>Unidade de antígenos</b>
1	<Amostra de controle 1	1	<10
2	Amostra de controle 2	2	32
3	Amostra de controle 3	3	128
4	Amostra de controle 4	4	512
5	Amostra de controle 5	5	2,048
6	Amostra de controle 6	6	8,192
7	Amostra de controle 7	7	32,000
8	>Amostra de controle 7		

- O resultado foi considerado positivo se o título de antígenos fosse maior ou igual a 128 unidades de antígenos/mL de sangue. De salientar que antes foi realizado um estudo piloto com amostras sabidamente positivas por microscopia para validar os resultados do ELISA, e o kit usado está representado na Figura 11.



**Figura 11.** Modelo de Kit de ELISA-Og4c3 usado para diagnóstico de FL.

## 4.8. Análise Estatística

Numa primeira fase os dados foram lançados numa base de dados em Excel, e posteriormente, foram processados e analisados recorrendo ao pacote estatístico SPSS, versão 20. A média aritmética da densidade de microfilárias foi calculada usando a população total examinada e as amostras positivas apenas. A prevalência e a densidade de MF foram calculadas e comparadas com as do inquérito de base.

O teste Z (U) de Mann-Whitney foi usado para verificar a diferença das densidades medianas de microfilárias e de antígenos filariais circulantes antes e depois da AMM. Usou-se também o teste *t-student* para ver a diferença entre a prevalência de portadores de microfilárias e antígenos filariais de *Wuchereria bancrofti* antes e seis meses depois de AMM.

O nível de significância estatística considerado foi de 0,05, com IC 95%.

1. A prevalência de portadores de microfilárias (MF) foi calculada recorrendo-se à seguinte fórmula:

$$\frac{\text{No. de indivíduos com esfregaços positivos para microfilárias}}{\text{No. total de indivíduos examinados para detectar microfilárias}} \times 100$$

2. A densidade microfilarial (Mfd) é o número médio de microfilárias em lâminas de resultados positivos para Mf por mL de sangue, tendo como base 60  $\mu$ L de sangue por lâmina. Ela foi calculada usando seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Contagem total de microfilárias nos esfregaços positivos}}{\text{No. total de esfregaços positivos}} \times 16.7$$

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Dados sóciodemográficos

O impacto parasitológico e antigénico da AMM foi avaliado diante de duas amostras independentes, sendo 678 participantes seleccionados no inquérito de base (Agosto de 2013), dos quais 322 (47,5%) do sexo masculino e 356 (52,5%) do sexo feminino; 313 participantes seguidos no inquérito pós AMM (seis meses depois da primeira ronda, Julho, 2014), dos quais 169 (53,9%) são do sexo masculino, contra 144 (46,1%) do sexo feminino.

A faixa etária mais predominante no inquérito de base foi de maiores de 15 anos, representando 49,2% (334/678) do universo, uma mediana de 16 anos de idade, intervalos interquartis de (9-32) e idade mínima de 1 ano e máxima de 80 anos de idade. No inquérito pós AMM a faixa etária mais predominante também foi a dos maiores de 15 anos, representando 60,1% (188/313) do universo, uma mediana de 21 anos de idade, intervalos interquartis de (11-34,5) e uma idade mínima de 1 ano e máxima de 71 anos de idade. Contudo, no inquérito de base houve maior participação de população mais jovem quando comparado ao período dos seis meses após a primeira<sup>a</sup> ronda de AMM (tabela 1).



**Tabela 1.** Distribuição da frequência do sexo, idade e faixas etárias dos participantes por proveniência.

Variáveis		Proveniência		p.valor
		Linha de Base n (%)	Pós AMM n (%)	
Sexo	Masculino	322 (47,5)	169 (53,9)	<b>0,054</b>
	Feminino	356 (52,5)	144 (46,1)	
	<b>Total</b>	678(100)	313(100)	
Idade	Mediana (IQR)	16 (9 a 32)	21 (11 a 34.5)	<b>0,0005</b>
	< 5	124(18,3)	12(3,8)	
Faixa Etária (Anos)	5 – 15	220(32,5)	113(36,1)	<b>0,000</b>
	>15	334(49,2)	188(60,1)	

## 5.2. Microscopia

No que concerne à microfilaremia por *W. bancrofti*, os resultados deste estudo mostraram que no período pré-administração massiva de medicamentos (inquérito de base), a prevalência detectada foi de 12,4% contra 10% no inquérito após primeira ronda de administração massiva de medicamentos contra filaríase linfática.

No que diz respeito à proporção de portadores de microfilárias de *W. bancrofti*, no inquérito de base, o sexo masculino teve maior número de indivíduos com resultado positivo representando 13,9% (45/322). O mesmo observou-se seis meses depois da primeira ronda de administração massiva de medicamentos, cuja cifra foi de 11,2% (18/161).

A faixa etária dos maiores de 15 anos de idade representou a maior proporção de indivíduos com microfilarémia de *W. bancrofti*, tanto no inquérito de base assim como seis meses depois da primeira ronda de AMM com 18,9% (63/332) e 14,7% (25/170), respectivamente. De acordo com o teste estatístico *t-student*, a diferença é estatisticamente

significativa visto que  $p = 0,010$ . Porém, a faixa etária dos menores de cinco anos de idade teve a menor proporção, com apenas 0,8% (1/124) no inquérito de base. Vide a tabela abaixo.

**Tabela 2.** Distribuição da frequência dos resultados de microscopia, em função do sexo e idade.

Variáveis		Inquérito de Base		Pós-AMM		p.valor
		Positivo (%)	n (%)	Positivo (%)	n (%)	
Sexo	Masculino	45(13,9)	322(47,5)	18(11,2)	161(55,5)	<b>0,185</b>
	Feminino	39(10,9)	356(52,5)	11(8,5)	129(44,5)	
	Total	84(12,4)	678(100)	29(10)	290(100)	
Faixa etária (Anos)	<5	1(0,8)	124(18,3)	0	12(4,1)	<b>0,000</b>
	5 – 15	20(9)	222(32,7)	4(3,7)	108(37,3)	
	>15	63(18,9)	332(48,9)	25(14,7)	170(58,6)	

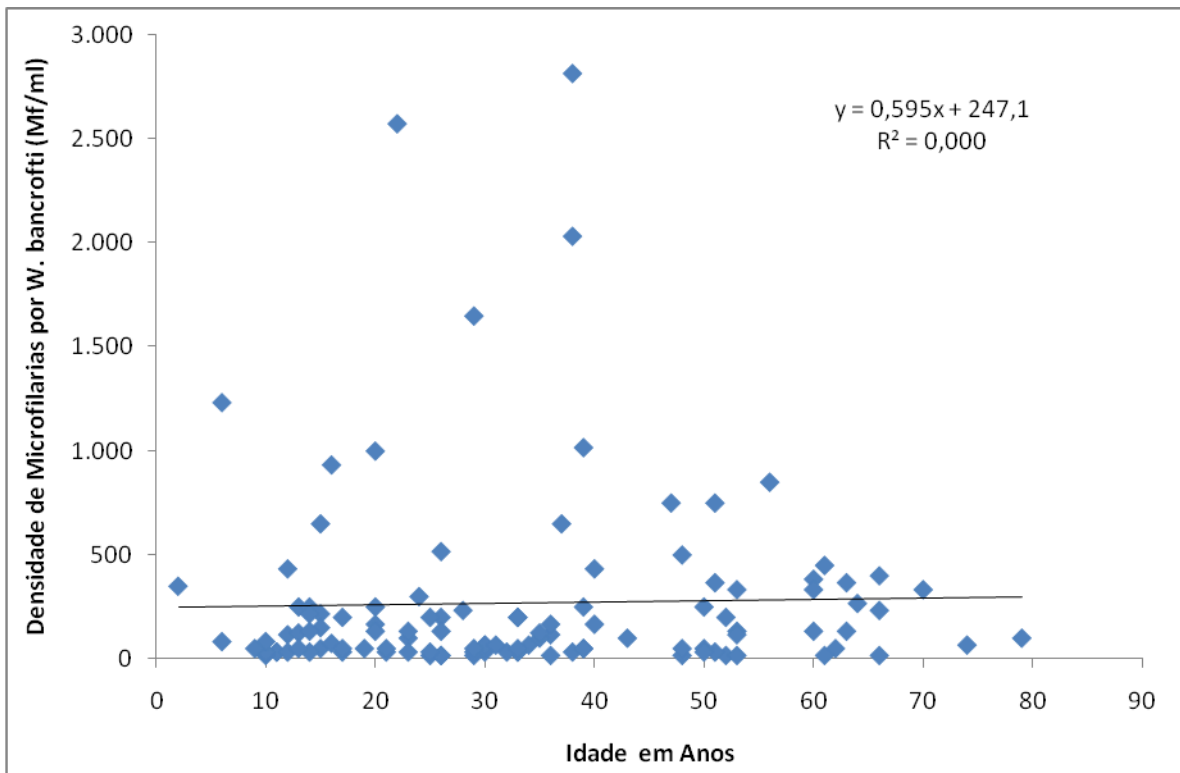
A densidade mediana de portadores de microfilárias de *W. bancrofti* detectada no inquérito de base foi de 129,17 MF/mL de sangue, com intervalo interquartil de 50 - 262,5, contra 66,67 MF/mL de sangue e intervalo interquartil de 33,3 - 250, detectada no inquérito pós Administração Massiva de Medicamentos contra a filaríase linfática. Segundo o teste estatístico Z(U) de Mann-Whitney, não há diferença estatisticamente significativa entre a mediana da densidade microfilarial observada no inquérito de base em relação a mediana observada no inquérito pós AMM, visto que  $p > 0,05$  ( $P = 0,1955$ ). Vide a tabela 3 abaixo.

**Tabela.3.** Distribuição das medianas da densidade de portadores de microfilárias por proveniência.

Variáveis	Período de seguimento		<i>p-valor</i>
	Inquérito de Base	Pós - AMM	
	Mf/mL de sangue	Mf/mL de sangue	
Mediana da densidade microfilarial (ITQ)	129,17 (50 - 262.5)	66,67 (33.3 – 250)	<b>0,1955</b>

O gráfico 1 mostrou que a relação entre a densidade de microfilárias e a idade é muito fraca ( $r=0,000$ ). Logo, não foi encontrada neste estudo nenhuma relação entre a microfilarémia e a idade dos participantes.

**Gráfico 1.** Relação entre a densidade microfilarial e idade dos participantes.



### 5.3. Resultado do teste de cartão (ICT)

Os resultados do inquérito de base, indicaram que a prevalência de portadores do antígeno filarial circulante (AFC) pelo teste rápido de cartão (ICT) foi de 26% (176/678), sendo que destes, 28,2% (91/322) foram do sexo masculino, contra 23,8% (85/356) do sexo feminino.<sup>37</sup> A maior proporção de indivíduos com resultado positivo para AFC de *Wuchereria bancrofti* por ICT verificou-se na faixa etária dos maiores de 15 anos de idade, representando 41,3% segundo o disposto na tabela 4 abaixo. Devido à indisponibilidade desta ferramenta diagnóstica na altura de colheita de amostras após primeira ronda da administração massiva de medicamentos (Julho de 2014), não dispomos de qualquer informação de realce.

**Tabela.4.** Distribuição da frequência dos resultados de ICT em função da idade e sexo, antes de tratamento.

Variáveis	Inquérito de Base			
		Positivo (%)	n (%)	<i>p-valor</i>
Sexo	Masculino	91(28,2)	322(47,5)	<b>0,286</b>
	Feminino	85(23,8)	356(52,5)	
	Total	176(26)	678(100)	
Faixa etária (Anos)	< 5	15(6,2)	242(35,7)	<b>0,000</b>
	5 – 15	85(33,7)	252(37,2)	
	>15	76(41,3)	184(27,1)	

#### 5.4. Ensaio Imunoenzimático (ELISA-Og4c3)

No que tange à pesquisa de antígeno filarial circulante de *W.bancrofti*, por meio da técnica de ELISA-Og4c3, os resultados obtidos mostraram que do universo de 678 indivíduos seleccionados antes de administração massiva de medicamentos (Agosto de 2013), 18,1% (123/678) tiveram resultado positivo, sendo que destes 20,5% (66/322) foram do sexo masculino, contra 16% (57/356) do sexo feminino.

Para a mesma variável em indivíduos seleccionados seis meses depois da primeira ronda de administração massiva de medicamentos (Julho de 2014), os resultados obtidos mostraram que do universo de 313 indivíduos testados por ELISA-Og4c3, 14,3% (45/313) tiveram resultado positivo, sendo que destes 17,6% (30/169) foram do sexo masculino contra 10,4% (15/144) do sexo feminino.

A prevalência de portadores de antígenos filariais circulantes detectada por ELISA-Og4c3, no inquérito de base (antes de administração massiva de medicamentos (AMM), foi de 18,1%, contra 14,3% verificada seis meses depois da primeira ronda de AMM.

A maior proporção de portadores de antígeno filarial circulante de *W. bancrofti* por ELISA, antes de administração massiva de medicamentos (inquérito de base), verificou-se na faixa etária dos maiores de 15 anos de idade, representando 28,7% (96/334). No inquérito pós AMM, a tendência manteve-se com a faixa etária dos maiores de 15 anos de idade, com maior número de portadores de antígeno filarial com uma cifra de 18,6% (35/188).

A tabela 5, mostra a tendência dos resultados de ELISA-Og4c3 e a proporção de portadores de antígenos filariais de *W.bancrofti*, em função do sexo e idade nos períodos pré e pós administração massiva de medicamentos.

**Tabela.5.** Distribuição da frequência de Positivos por ELISA, em função do sexo e idade por proveniência dos participantes.

Variáveis	Inquérito de Base		Pós-AMM		<i>p-valor</i>	
	Positivo (%)	n (%)	Positivo (%)	n (%)		
Sexo	Masculino	66(20,5)	322(47,5)	30(17,6)	169(54)	<b>0,030</b>
	Feminino	57(16)	356(52,5)	15(10,4)	144(46)	
	Total	123(18,1)	678(100)	45(14,3)	313(100)	
Faixa etária (Anos)	< 5	2(1,6)	124(18,3)	2(16,6)	12(3,8)	<b>0,000</b>
	5 – 15	25(11,3)	220(32,4)	8(7,1)	113(36,2)	<b>0,010</b>
	>15	96(28,7)	334(49,3)	35(18,6)	188(60)	

A densidade mediana de portadores de antígenos filariais circulantes de *W. bancrofti* detectada no inquérito de base foi de 2.560 Ag/mL de sangue com intervalos interquartis de 640 -10.240. No período subsequente (inquérito pós administração massiva de medicamentos contra a filaríase linfática), verificou-se uma densidade mediana de 2.570 Ag/mL de sangue com intervalos interquartis de 2.560-10.240. De acordo com o teste estatístico Z(U) de Mann-Whitney, não há diferença estatisticamente significativa entre a mediana da densidade de portadores de antígenos filariais circulantes observada no inquérito de base em relação à mediana observada seis meses depois da 1ª ronda de AMM, visto que  $p= 0,2233$  (Tabela 6).

**Tabela.6.** Comparação das prevalências de portadores de microfilárias, AFC, densidade microfilarial e de antigenemia em função da proveniência dos participantes.

Ferramenta diagnóstica	Período de seguimento				<i>p-valor</i>
	Inquérito de base		Pós-AMM		
	Prevalência (%)	MF/mL ou Ag/mL sangue Mediana	Prevalência (%)	MF/mL ou Ag/mL sangue Mediana	
Microscopia	12,4		10		<b>0.189</b>
		129,17 (50 - 262,50)		66,67 (33,3 - 250)	<b>0,1955</b>
ELISA-Og4c3	18,1		14,3		<b>0.706</b>
		2.560 (640 - 10.240)		2.570 (2.560 - 10.240)	<b>0,2233</b>

Na tabela 6, estão representadas as tendências de prevalências de microfilárias, antígeno filarial circulante e as densidades medianas da microfilaremia e de antigenemia observadas no inquérito de base e seis meses depois da administração massiva de medicamentos contra a filaríase linfática, tendo em conta aos diferentes testes diagnósticos empregues no estudo.

Ao avaliar a prevalência de microfilárias detectada nos períodos pré e pós administração massiva de medicamentos, de acordo com o teste estatístico *t-student*, não há diferença estatisticamente significativa, visto que  $p = 0,189$ . A mesma análise feita para a densidade mediana da microfilarémia de *W. bancrofti* antes e depois da AMM, recorrendo ao teste Z(U) de Mann-Whitney, também não houve diferença estatisticamente significativa, uma vez,  $p = 0,1955$ . Esses resultados sugerem que a dose única anual de IVM+ALB não proporcionou uma redução significativa na microfilarémia.

No que tange à tendência da prevalência de portadores de AFC nos períodos em comparação, segundo o teste estatístico *t-student*, representado na tabela acima, não houve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,706$ ). E quanto a densidade mediana da antigenemia de *W. bancrofti*, no pré e pós administração massiva de medicamentos, de acordo com o teste estatístico Z(U) de Mann-Whitney, também não houve diferença estatisticamente significativa, visto que,  $p = 0,2233$ .



## 6. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou o impacto da administração massiva de medicamentos (AMM) contra a filaríase linfática, em relação a alguns marcadores da infecção filarial (microfilarémia e antigenemia) utilizando o esquema terapêutico adotado no contexto moçambicano (Ivermectina e Albendazol), de modo a fornecer informação de realce ao programa nacional para eliminação da filaríase linfática.

Das 313 lâminas preparadas no campo seis meses depois da primeira ronda de Administração Massiva de Medicamentos, 23 foram excluídas do estudo, por insuficiência da amostra, visto que, para preparar uma só lâmina eram necessários 60  $\mu$ L, distribuídos em três estrias de 20  $\mu$ L. Essa perda poderia de certa forma ocasionar disparidades nos resultados da avaliação, porém, a comparação entre portadores de microfílarias detectados no inquérito de base e seis meses depois da primeira ronda de Administração Massiva de Medicamentos não evidenciou diferença estatisticamente significativa entre as prevalências microfilariais, como também das prevalências de portadores de antígeno filarial circulante de *W. bancrofti*.

A ausência duma redução estatisticamente significativa da prevalência de portadores de microfílarias (MF), assim como da densidade mediana de microfílarias de *W. bancrofti*, na circulação sanguínea periférica, observada seis meses depois da primeira ronda de administração massiva de medicamentos, não era esperada, visto que, a quimioterapia de IVM+ALB, tem efeito microfilaricida<sup>28</sup>, não só mas também, estudos realizados em áreas endêmicas de FL, para avaliar a cinética da microfilaremia verificaram que a prevalência microfilarial sofria um declínio acentuado logo após a primeira ronda de administração massiva de medicamentos (trinta dias), chegando a atingir níveis próximos a zero depois da terceira ronda.<sup>24,29</sup>

Apesar da prevalência de portadores de microfílarias e a densidade microfilarial (microfilaremia) de *W. bancrofti* detectadas seis meses depois da primeira ronda de administração massiva de medicamentos (inquérito pós AMM) mostrar tendência de redução quando comparadas aos resultados obtidos antes da primeira ronda de administração massiva de medicamentos (inquérito de base), de acordo com os testes estatísticos *t-student*, e Z(U) de

Mann-Whitney, a diferença não é estatisticamente significativa, visto que,  $p > 0.05$ . Este facto pode estar relacionado ao período da amostragem (6 meses depois da primeira ronda de AMM), a prevalência de base, a cobertura real da AMM, assim como à quimioterapia usada, visto que, esta não tem efeito sobre os vermes adultos actuando apenas sobre as microfilárias.<sup>28</sup> Isto pode ter proporcionado uma redução microfilarial logo após o tratamento e provável aumento com o tempo devido a manutenção da reprodução dos vermes adultos, pois, alguns estudos, mostraram uma redução acentuada da prevalência microfilarial pouco tempo após primeira ronda de quimioterapia (trinta dias) e que depois da terceira ronda os níveis de redução aproximavam a zero.<sup>24, 29</sup>

Outros estudos também evidenciaram que a microfilarémia diminuía em 95-99%, num intervalo de um mês após uma ronda de administração massiva de medicamentos contra a filariase linfática.<sup>28</sup>

No que concerne a associação da idade, sexo com as taxas de MF e antigenemia, os resultados do presente estudo mostraram que não houve relação entre estas variáveis. Estudo realizado em cinco vilas endémicas da FL no Egipto, em indivíduos microfilarémicos e amicrofilarémicos, ao fazerem associação da idade, sexo com as taxas de MF e antigenemia também não encontraram nenhuma relação entre essas variáveis.<sup>38</sup>

Quanto a proporção de portadores de microfilárias segundo a variável idade, os resultados desta pesquisa mostraram que a faixa etária dos maiores de 15 anos de idade superou as outras, tanto no inquérito de base como seis meses depois da primeira ronda de AMM com cifras de 18,9% e 14,7%, respectivamente. Este achado converge com alguns estudos, segundo os quais a filariase linfática afecta indivíduos de todas as idades, porém, a prevalência e a intensidade tendem a aumentar com a idade, apresentando pico entre 15 e 25 anos e diminuindo na idade adulta.<sup>29</sup>

Neste estudo, observou-se que alguns indivíduos amicrofilarémicos tiveram resultado positivo para o ELISA-Og4C3. Este resultado corrobora com outras pesquisas, segundo as quais a detecção do antígeno filarial circulante por ELISA - Og4C3 não depende da presença ou

ausência de microfilárias circulantes no sangue. Como a contagem de microfilárias e o nível de antígenos filariais circulantes tem uma correlação fraca, pode haver um nível elevado de antígenos filariais circulantes do parasita em pacientes amicrofilarémicos com sinais clínicos.<sup>26</sup>

A prevalência de portadores de antígeno filarial circulante de *Wuchereria bancrofti*, tanto no inquérito de base como seis meses depois da administração massiva de medicamentos, foi maior que a prevalência de portadores de microfilárias nos dois períodos em análise. Este achado converge com outros que concluíram que a prevalência do antígeno filarial circulante (antigenemia) tem sido mais alta do que a microfilaremia, porque o antígeno tem origem em todos os estádios do parasita e não apenas na microfilária.<sup>26</sup> Deste modo, a prevalência antigénica seria um melhor indicador da carga de infecção na população, quando comparada com a prevalência parasitológica.

A redução não significativa da prevalência de portadores de antígenos filariais circulantes de *W. bancrofti* detectada por ELISA-Og4c3, seis meses depois da primeira ronda de AMM, foi a esperada quando comparada com resultados de outros estudos, segundo os quais a conversão lenta do antígeno influencia na morosidade do desaparecimento deste na circulação sanguínea.<sup>39</sup>

A prevalência de portadores de antígenos filariais circulantes de *W. bancrofti*, detectada seis meses depois da primeira ronda de administração massiva de medicamentos, mostra uma tendência de redução quando comparada com os resultados obtidos antes da administração massiva de medicamentos (AMM) ou no inquérito de base. Todavia, segundo o teste Z(U) de Mann-Whitney, a diferença não é estatisticamente significativa, visto que  $p > 0,05$ . Isto sugere que, seis meses após a 1ª ronda de AMM contra FL, a redução da antigenemia de *W. bancrofti* não tenha sido significativa provavelmente porque os antígenos filariais são produzidos em todos os estágios do parasita. Considerando que a quimioterapia pode actuar apenas sobre as microfilárias, os vermes adultos podem continuar a produzir antígenos filariais circulantes.<sup>39</sup>

Estudos feitos para avaliar a cinética do antígeno filarial de *W. bancrofti*, demonstraram que a redução dos níveis de antígenos filariais circulantes (antigenemia), geralmente observa-se depois da terceira dose de administração massiva de medicamentos, quando comparados aos do

inquérito de base. Todavia, o presente estudo foi realizado após a primeira ronda de administração massiva de medicamentos, facto que pode ter condicionado a não redução significativa da proporção dos portadores de antígenos filariais circulantes.<sup>24, 40</sup>

Outras pesquisas feitas no âmbito da monitoria da conversão antigénica, também constataram que esta só começou a ser observada dois anos depois do início de administração massiva de medicamentos (AMM). Este achado pode sustentar os resultados do presente estudo, provavelmente pelo facto de avaliação ter sido feita apenas após o sexto mês da primeira ronda de AMM.<sup>39</sup> Segundo o mesmo autor, a conversão lenta do antígeno pode estar relacionado com a morosidade do desaparecimento do antígeno filarial da circulação ou ainda da incapacidade das drogas empregues na eliminação dos vermes adultos.

A prevalência de indivíduos com resultados positivos para microfilarémia e antigenemia de *W. bancrofti* neste estudo, foi superior em indivíduos do sexo masculino, corroborando, deste modo, com a descrição da literatura segundo a qual, indivíduos do sexo masculino são os mais acometidos pela infecção filarial e que na maioria das vezes apresentam maior densidade microfilarial e manifestações clínicas da doença.<sup>24</sup>

Vários estudos feitos evidenciaram que a combinação de drogas no âmbito da estratégia de eliminação da FL, destrói as microfilárias ao longo do tempo permitindo que o verme adulto alcance uma morte natural. Portanto, a administração massiva de medicamentos (AMM) contra FL, deve ocorrer anualmente durante 4-6 anos, período considerado equivalente ao da reprodução do verme adulto, para que a redução da microfilarémia e antigenemia alcance níveis que não sustentem a transmissão da infecção.<sup>41</sup> Este achado converge com os resultados do presente estudo, uma vez que, feita avaliação seis meses depois da primeira AMM, não se verificou redução estatisticamente significativa da antigenemia, assim como da microfilarémia sugerindo a manutenção da quimioterapia. Aliado a este facto, a cobertura reportada do tratamento em Mulhaniua, Distrito de Murrupula, superou o mínimo recomendado pela OMS (> 65%) e fixou-se em 86%.<sup>35</sup>

Os resultados deste estudo sugerem a necessidade de realização de avaliações contínuas com intervalos de tempo reduzidos (1º mês, 6º mês e 12º mês) após AMM nos locais com altos

valores de prevalência da infecção. Esta estratégia seria necessária para se apurar o real período em que a microfilarémia tende a aumentar após quimioterapia com IVM +ALB, de modo a determinar o número de doses anuais eficazes.

Embora sejam necessários dados adicionais de outras áreas endêmicas, os resultados do presente estudo sugerem que a quimioterapia com IVM + ALB em dose única anual, seis meses após primeira ronda de administração massiva de medicamentos contra FL, não permitiu um decréscimo significativo dos marcadores filariais analisados (microfilarémia e antigenemia). Todavia, deve-se ressaltar o papel que o mesmo trouxe, ao avaliar a proporção de portadores de microfilárias e de antígenos filariais num posto de verificação aleatória numa comunidade onde existe um posto sentinela, para descrever a real situação da manutenção de altas prevalências no local.

## **7. PERSPECTIVAS**

A maior perspectiva é continuar com a pesquisa de modo a fazer a monitoria e avaliação contínuas dos níveis da microfilarémia e antigenemia de *W. bancrofti* até que se atinja a eliminação da doença prevista para o ano de 2020, segundo recomendações da OMS.

## **8. LIMITAÇÕES**

Constituíram grandes limitações para esta pesquisa as barreiras sócio culturais para poder sensibilizar as comunidades a permitir a colheita nocturna de sangue.

Indisponibilidade do teste rápido (ICT) para o diagnóstico da filaríase linfática após primeira ronda da administração massiva de medicamentos (Julho de 2014).

E o facto da avaliação do impacto da medicação ter sido feita apenas num único período (seis depois da primeira ronda de administração massiva de medicamentos contra filaríase linfática).

## 9. CONCLUSÕES

Feita a análise e interpretação dos resultados obtidos seis meses após a primeira ronda de Administração Massiva de Medicamentos contra filaríase linfática em Murrupula, Província de Nampula concluiu-se que:

- Na primeira ronda de administração massiva de medicamentos com IVM+ALB, não houve redução dos níveis de microfilárias e de antígenos de *Wuchereria bancrofti*.
- A prevalência de microfilárias e de antígenos filariais circulantes de *Wuchereria bancrofti* continua alta.
- O espaçamento duma dose a outra durante a administração massiva de medicamentos, sugere fraca efectividade da estratégia na eliminação da doença no período previsto.
- Os resultados deste estudo sugerem a necessidade de adequar os guiões universais para eliminação da FL à realidade de cada local.

## 9. RECOMENDAÇÕES

Provadas as altas prevalências de antígenos filariais, e em particular a microfilaremia, seis meses depois da primeira ronda de AMM, recomenda-se ao Ministério da Saúde, Departamento de Outras Doenças (DTNs) o seguinte:

- Que a estratégia de AMM continue, garantindo que em regiões de alta prevalência como Murrupula, a avaliação intermédia opcional após a terceira ronda, seja um imperativo para analisar a tendência da microfilarémia e antigenemia, durante o progresso do programa.
- Em regiões com prevalências altas como Murrupula, avaliar a possibilidade de realizar duas rondas anuais de quimioterapia.
- Além da AMM contra a FL, deve se integrar intervenções de controlo de vectores (redes mosquiteiras, repelentes, controlo biológico e ou manipulação ambiental), de modo a maximizar os esforços para a eliminação da doença.
- A mobilização social e o envolvimento comunitário devem ser intensificados para permitir maior adesão à quimioterapia contra filariase linfática, em todas as regiões com ênfase nas localidades com altos valores de prevalências.



## 10. BIBLIOGRAFIA

1. **WHO.** *Progress report 2000-2009 and strategic plan 2010-2020 of the global programme to eliminate Lymphatic Filariasis.* Geneva : s.n., 2010.
2. **WHO.** *Lymphatic Filariasis Fifth report of the WHO expert committee on Filariasis.* Geneva : s.n., 1992. 821 p.
3. **WHO.** *Report:bridging the gaps.* Geneva : s.n., 1995.
4. **WHO.** *Lymphatic Filariasis: Reasons for Hope.* Geneva : s.n., 1997b.
5. **WHO.** *Weekly epidemiological record.* Geneva : s.n., 2016.
6. **WHO.** *Resolution WHA50.29. Elimination of Lymphatic Filariasis as a public health problem , in Fiftieth World Health Assembly 5-14 May.* Geneva : s.n., 1997a.
7. **WHO.** *Global programme to eliminate lymphatic filariasis: progress report.* Geneva : s.n., 2013.
8. **Gurgel, CBFM; Carneiro, FC and Coutinho, EC** 2011. *Ciência no Século XIX: A contribuição brasileira para a descoberta do agente etiológico da Filariose Linfática..* Rev Patol-Trop: s.n, pp. 251-260.
9. **Inglis, WG. 1983.** *An outline classification of the phylum.* Aust J Zool: s.n, pp. 243-255.
10. **Zaman, V and Narayanan, E.** 1986. *Differentiation of infractive larvae of Brugia malayi and Wuchereria bancrofti by scanning electron microscopy.* Ann Trop Med Parasitol: s.n, pp. 333-338.
11. **Denham, DA** 1975. *The diagnosis of filariasis..* Ann. Soc.belge Med.trop: s.n, pp. 517-524.
12. **Paily, KP et al. .** *Longevity and migration of Wuchereria bancrofti infective.,* Ann Trop Med.Parasitol:s.n, pp. 39-47.

13. **KP, Paily, SI, Hoti and PK, Das. 2009.** *A review of the complexity of biology of lymphatic filarial parasites.* J Parasit Dis:s.n, pp. 3-12.
14. **Hawking, F; Pattanayak, S and Sharma, HL. 1996.** *The periodicity of microfilariae. The effect of body temperature and other stimuli upon the cycles of Wuchereria bancrofti, Brugia malayi, B.ceylonensis and Dirofilaria repens.*,Trans Royal Soc Trop Med Hygiene:s.n, pp. 497-513. 60.
15. **Vanamail, P and Ramaiah, KD. 1991.** *Biting periodicity index of Culex quinquefasciatus and its relationship with microfilaria periodicity in Pondicherry.*,Indian J Med Res:s.n, pp. 379-383. 93.
16. **Simonsen, P and Mwakitalu, M. 2013.** *Urban lymphatic filariasis. Parasitol Res 112: 35-44.*
17. **Vanamail, P. 1990.** *Estimation of fecundic life span of Wuchereria bancrofti from longitudinal study of human infection in an endemic area of Pandicherry.*, Indian J Med Res:s.n, pp. 293-297. 91.
18. **Pfarr, KM et al. 2009.** *Filariasis and lymphedema. Parasite Immunology 31: 664-672.*
19. **Rocha, Eliana M. Maurício; Fontes, Gilberto. 2000.** *Diagnóstico da filariose linfática bancroftiana. Revista de Patologia Tropical vol 29(2): 161-173 jul-dez.*
20. **Dreyer, G; Dreyer, P and Norões, J. 2002.** *Recommendations for the treatment of bancroftian filariasis in symptomless and diseased patients. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 35: 43-50.*
21. **Gass, K et al. 2012.** *A Multicenter Evaluation of Diagnostic Tools to Define Endpoints for Programs to Eliminate Bancroftian Filariasis.*, Plos Negli Trop Dis.
22. **Weil, G. 2013.** *Laboratory and Field Evaluation of a New Rapid Test for Detecting Wuchereria bancrofti.*, Am J Trop Med Hyg, pp. 11-15.
23. **Weil, G. 1997.** *The ICT Filariasis Test: A rapid format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis.*, Parasitol Today, pp. 401-404. 13.

24. **Weil, G.** et al. **2008.** *The Impact of Repeated Rounds of Mass Drug Administration with Diethylcarbamazine Plus Albendazole on Bancroftian Filariasis in Papua New Guinea.* *Plos neglected tropical diseases* , 344.
25. **More, S** and **Copeman, D.** 1990, *A highly specific and sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis.*, *Tropical Medicine and Parasitology*, pp. 403-406.
26. **Araujo, Marcela Eugênia Belém de Barros.** *Avaliação da cinética do antígeno circulante em pacientes portadores de Wuchereria bancrofti/ Marcela Eugênia Belém de Barros Araújo.*-Recife: M.E.B.B.Araújo, s.n., 2009.
27. **Specht, S** et al. 2013 *GMS Infections Diseases.*, *Parasitol Journals*.
28. **Coutinho, A** and **Dreyer, G.** *História da filariose linfática em Pernambuco.*. Pernambuco: s.n., 1996, *Rev Soc Bras Med Trop* , pp. 607-612.
29. **PEREIRA, Jennifer Sabrina Ferreira da Silva.** *Efeito do tratamento em massa com Diethylcarbamazina na microfilarémia, antigenemia e anticorpos antifilariosais em uma área endêmica do município de Olinda.* Recife-Brasil : s.n., 2014.
30. **OMS 2000.** *Preparing and implementing a national plan to eliminate lymphatic filariasis(in areas where onchocerciasis is co-endemic).* Genebra : s.n., 2000.
31. **MICHAEL, E.** 2004 *Mathematical modeling and the control of lymphatic filariasis.*, *Lancet*, pp. 223-234.
32. **BODY, A.** Leogane-Haiti : s.n., 2010, *A community-based study of factors associated with continuing transmission of lymphatic filariasis in Leogane, Haiti.* *Plos Negl Tropical Diseases.*
33. **OMS.** *Primeiro relatório da OMS sobre Doenças Tropicais Negligenciadas: Avanços para superar o impacto global de doenças tropicais negligenciadas.* Genebra : s.n., 2010.

34. **OMS.** *Monitoramento e avaliação epidemiológica da intervenção com tratamentos colectivos:Manual para programas nacionais de eliminação da filariose.* Genebra : s.n., 2015.
35. **Ministério da Saúde.** *Relatório anual do Programa Nacional para Eliminação de Filariase Linfática.* Maputo : s.n., 2015.
36. **Ministério da Saúde.** *Relatório do Inquérito Nacional sobre mapeamento da filariase linfática em Moçambique:* s.n., 2005.
36. **MINAE.** *Perfil de Murrupula. In INE, Perfis distritais.* Maputo : Imprensa, 2005.
38. **Weil G.** et al 1999. *A longitudinal study of bancroftian filariasis in the Nile Delta of Egypt: Baseline data and one year follow –up.* Egypt : s.n., American journal Tropical Medicine and Hygiene., pp. 53-58.
39. **SOUZA, PF.** *Monitoramento da infecção filarial por Wuchereria bancrofti através da cinética de anticorpos com o antígeno recombinante Bm14, em áreas endémicas da RMR-PE, submetidas ao tratamento colectivo para filariose/Paula Fernanda Alcântara de Souza.- Recife: sn, 2012.*
40. **Njenga, SM** et al. 2011, *Sustained reduction in prevalence of lymphatic filariasis infection in spite of missed rounds of mass drug administration in an area under mosquito nets for malaria control.* Parasites e Vectors., pp. 90-98.
41. **Neto, José Almeida da Silva, Silva, Jennifer Sabrina Ferreira, Oliveira, Paula Alexandra dos Santos, Silva, Maria Almerice Lopes, Silva, Eduardo Caetano Brandão Ferreira, Lima, Josué Araújo, Rocha, Abraham .** 2008 *Análise da cinética de antígeno circulante filarial em pacientes microfilarêmicos após um ano de tratados por doses da dietilcarbamazina.* Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical .Recife-Brasil : s.n.