

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

PAULA ALEXANDRA DOS SANTOS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DE
DIFERENTES TESTES LABORATORIAIS NO
DIAGNÓSTICO DA FILARIOSE EM
CRIANÇAS E ADOLESCENTES**

RECIFE
2010

PAULA ALEXANDRA DOS SANTOS OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DE DIFERENTES TESTES LABORATORIAIS NO
DIAGNÓSTICO DA FILARIOSE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

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

Orientador: Maria Cynthia Braga
Co-orientador: Abraham Cezar de Brito Rocha

Recife
2010

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

O48a Oliveira, Paula Alexandra dos Santos.

Avaliação da acurácia de diferentes testes laboratoriais no diagnóstico da filariose em crianças e adolescentes/ Paula Alexandra dos Santos Oliveira. — Recife: P. A. dos S. Oliveira, 2010.
59 p.

Dissertação (Mestrado acadêmico em saúde pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2010.

Orientadora: Maria Cynthia Braga, co-orientador: Abraham Cezar de Brito Rocha.

1. Filariose - diagnóstico. 2. Elisa. 3. Filtração por Membranas.
4. Testes Laboratoriais. I. Braga, Maria Cynthia. II. Rocha, Abraham Cezar de Brito. III. Título.

CDU 616.995.132

PAULA ALEXANDRA DOS SANTOS OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DE DIFERENTES TESTES LABORATORIAIS NO
DIAGNÓSTICO DA FILARIOSE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

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

Aprovado em: 06/08/2010

BANCA EXAMINADORA

Dr^a Cristine Bonfim
Fundação Joaquim Nabuco

Dr^a Cynthia Braga
FIOCRUZ Pernambuco

Dr^o Fábio Melo
FIOCRUZ Pernambuco

*Dedico esse trabalho aos meus queridos pais,
amado marido e filho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo grande amor que tem por mim.

A minha mais profunda gratidão os meus pais, Geraldo e Laudenilse, grandes amigos, pelo apoio e incentivo de sempre.

Ao meu esposo, Manassés, pela paciência e apoio. Um grande companheiro que esteve ao meu lado de forma incansável em todos os momentos.

A Orientadora, Dr^a Cynthia Braga, pela amizade, aprendizado e empenho.

Ao Orientador, Dr. Abraham Rocha, por mais esse trabalho, pela amizade, incentivo e comprometimento.

A toda equipe que fez e faz parte do Serviço de Referência Nacional em Filariose pela amizade e disponibilidade para o desenvolvimento desse trabalho.

A Eduardo, Almerice, Leandro, Paula, Maria José, Priscila. Sempre solícitos. Vocês são especiais. Obrigada pela grande amizade.

A todos que participaram das diárias e principalmente noitadas incansáveis coletando e processando amostras, superando todos os limites físicos e psicológicos.

A toda equipe da Secretaria de Saúde do município de Olinda pelo apoio.

A George Diniz, pelos cuidados estatísticos.

OLIVEIRA, Paula Alexandra dos Santos. Avaliação da acurácia de diferentes testes laboratoriais no diagnóstico da filariose em crianças e adolescentes. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2010.

RESUMO

Apesar de a filariose linfática (FL) ser considerada uma doença de adultos, estima-se que 22 milhões de crianças <15 anos de idade estejam infectadas no mundo. A Organização Mundial da Saúde tem recomendado o monitoramento da infecção nessa população. Este estudo teve como objetivo comparar a acurácia dos métodos parasitológicos e imunológicos no diagnóstico da filariose bancroftiana em escolares. O estudo foi desenvolvido em escolares, com idade entre 4 e 15 anos, residentes em três bairros do município de Olinda – Pernambuco, Brasil. As amostras de sangue capilar e venoso foram coletadas entre 23:00 e 1:00 hora da manhã. Em seguida, as amostras de sangue venoso foram guardadas para posterior realização das técnicas de filtração, concentração de Knott, Og4C3 - ELISA. Amostras de sangue capilar foram obtidas para confecção das lâminas de gota espessa e realização do teste rápido de imunocromatografia (ICT). As médias de densidade de microfilaremia foram calculadas em escala logarítmica. A acurácia dos testes foi avaliada em relação ao padrão-ouro (filtração). A especificidade do Og4C3 e ICT foi estimada utilizando a equação de Staquet et al. (1981). Um total de 805 escolares foi examinado. As médias de antigenemia filarial foram mais elevadas entre as crianças residentes nos bairros de alto da conquista e alto da bondade. As cargas parasitárias e os níveis de antigenemia não variaram com idade e sexo. A prevalência de microfilaremia pela técnica de filtração, de 5,2%, foi a mais elevada em relação às demais técnicas parasitológicas. A prevalência de antigenemia filarial pelo teste Og4C3 foi de 17,4%. Na comparação da acurácia dos testes em relação ao padrão-ouro, as técnicas de gota espessa e Knott apresentaram valores de sensibilidade de 85,2%, inferiores aos testes ICT e Og4C3, que foi de 100%. Conclui-se que as técnicas de filtração e Og4C3 são as mais apropriadas para a avaliação de transmissão em áreas com programas de eliminação em andamento.

Palavras chaves: Filariose – diagnóstico, ELISA, Filtração por Membranas, Testes Laboratoriais.

OLIVEIRA, Paula Alexandra dos Santos. Evaluation of the accuracy of different laboratory tests for the diagnosis of filariasis in children and adolescents. 2010. Dissertation (Masters in Public Health) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2010.

ABSTRACT

Although lymphatic filariasis be considered a disease adults, it is estimated that 22 million children <15 years old are infected worldwide. The World Health Organization has recommended monitoring of infection in this population. This study aimed to compare the accuracy of methods parasitological and immunological diagnosis of filariasis bancroftiana schoolchildren. The study was conducted in school children, aged between 4 and 15 years living in three neighborhoods of the city of Olinda-Pernambuco, Brazil. Samples capillary and venous blood were collected between 23:00 and 1:00 hours of the morning. Thereafter, venous blood samples were saved for later completion of filtration techniques, concentration of Knott, Og4C3 - ELISA. Capillary blood samples were obtained to make the slides of blood smear and testing from immunochromatography (ICT). The average density of microfilaraemia was calculated on a scale logarithmic. The accuracy of the tests was evaluated in relation to gold standard (filtration). The specificity of ICT and was Og4C3 estimated using the equation of Staquet et al.0 (1981). A total of 805 school children were checked. The averages of filarial antigenemia were higher among children living in neighborhoods of high of high achievement and kindness. The worm burdens and antigenemia levels did not vary with age and sex. The prevalence of microfilaraemia by the filtration technique of 5.2% was the highest compared to other techniques parasitological. The prevalence of filarial antigenemia by Og4C3 test was 17.4%. In comparing the accuracy of the tests compared to the gold standard, the techniques of blood smear and Knott showed sensitivity of 85.2%, lower than ICT tests and Og4C3, which was 100%. We conclude that the techniques filtration and Og4C3 are most appropriate for evaluating transmission in areas with elimination programs in progress.

Keywords: Filariasis - diagnosis, ELISA, Membrane Filtration, Laboratory Tests.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Variáveis quantitativas.....	26
Quadro 2 - Variáveis qualitativas.....	27
Figura 1 - Equação de Staquet et al. (1981).....	32
Figura 2 - Especificidade estimada do teste do cartão ICT e Og4C3 segundo a prevalência de filariose pela combinação dos testes parasitológicos.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela de contingência ou 2x2.....	33
Tabela 2 - Características da população de estudo do município de Olinda, Pernambuco nos anos de 2007 e 2009.....	35
Tabela 3 - Médias das densidades de microfilaremia e de antigenemia filarial das técnicas de gota espessa, concentração de Knott, filtração em membrana e Og4C3 segundo grupo etário, sexo e local de moradia.....	37
Tabela 4 - Prevalência de microfilaremia e antigenemia filarial em crianças pelas técnicas parasitológicas e imunológicas segundo grupo etário, sexo e localidade. Olinda, Pernambuco, 2007-2009.....	39
Tabela 5 - Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia e razão de verossimilhança (LR) das técnicas de gota espessa, Knott, ICT e Og4C3 em relação à técnica de filtração em membrana (padrão-ouro).....	41

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ACF	Antígenos Filarial Circulantes
AD12	Anticorpo Monoclonal
Bm14	Antígeno Recombinante
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CPqAM	Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
EDTA	Etilenodiaminotetra cético
ELISA	Imunoenzimático
EPT	Eosinofilia Pulmonar Tropical
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
ICT	Imunocromatografia
IgG4	Imunoglobulina G tipo 4
IgM	Imunoglobulina M
Km ²	Kilometro quadrado
L3	Larva infectante
MF	Microfilária
mL	Mililitro
n=	Número de Amostra
Og4C3	Anticorpo Monoclonal
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-americana de Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PE	Pernambuco
PGEFL	Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática
RMR	Região Metropolitana do Recife
SRNF	Serviço de Referência Nacional em Filarioses
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
µL	Microlitro
UA	Unidade de antígeno

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Aspectos gerais da filariose linfática	13
1.2	A filariose bancroftiana na infância	15
1.3	Diagnóstico laboratorial da filariose bancroftiana	16
2	OBJETIVOS	23
2.1	Objetivo geral	23
2.2	Objetivos específicos	23
3	MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1	Local de estudo	24
3.2	População de estudo	24
3.3	Delineamento do estudo	25
3.4	Cálculo da amostra	25
3.5	Variáveis do estudo	26
3.6	Cadastramento dos alunos e coleta das amostras sanguíneas	27
3.7	Descrição das técnicas parasitológicas	28
3.7.1	Técnica de gota espessa	29
3.7.2	Técnica de concentração de Knott	29
3.7.3	Técnica de filtração em membrana de policarbonato	30
3.8	Descrição das técnicas imunológicas	30
3.8.1	Teste Og4C3-ELISA	30
3.8.2	Teste do cartão ICT	31
3.9	Análise dos dados	31
3.10	Considerações éticas	34
3.11	Limitações do estudo	34
4	RESULTADOS	35
5	DISCUSSÃO	43

6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXOS	
Anexo A – Questionário do campo	56
Anexo B – Parecer do CEP/CPqAM	57
Anexo C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	58

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais da filariose linfática

A filariose linfática (FL) pode ser causada por uma das três espécies de filaria pertencentes à classe Nematoda, superfamília *Filarioidea* - a *Wuchereria bancrofti*, *Brugya Malayi* e *Brugya timori* – que têm o sistema linfático como sítio preferencial (OTTESEN, 1993; SASA, 1976). A *W. bancrofti* é o único agente etiológico da doença identificado no Brasil sendo responsável por mais de 90% dos casos registrados no mundo (OTTESEN, 2006). Estima-se em 120 milhões o número de pessoas infectadas, a maioria nos continentes Asiático e Africano e alguns países da América central e do Sul (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2002; OTTESEN et al., 2008) sendo considerada uma das principais causas de deformidades e limitações físicas em todo o mundo. Nas Américas, cerca de onze milhões de pessoas estão sob risco de adquirir a doença em países como o Brasil, Costa Rica, República Dominicana, Guiana, Haiti, Suriname e Trinidad-Tobago (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2010).

No Brasil, levantamentos recentes do Ministério da Saúde atestam que a Região Metropolitana do Recife, no estado de Pernambuco, constitui o principal foco ativo de transmissão da infecção no país (BRASIL, 2006; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2002). Outras áreas consideradas endêmicas no país, como as cidades de Maceió, em Alagoas, e Belém, no Pará, a endemia está sob controle e em vias de receber o certificado de eliminação (BRASIL, 2006; FONTES et al., 1998; FREITAS, 2008; LIMA, 2007; MICHAEL; BUNDY, 1997; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2008; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2002).

Com os avanços nas estratégias de enfrentamento da doença, particularmente a definição de esquemas de tratamento em massa seguros e efetivos e o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais sensíveis, e considerando certas características do ciclo biológico do parasita, como a inexistência de reservatórios não humanos e a transmissão ineficiente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a filariose uma das doenças passíveis de eliminação mundial e lançou, em 1997, o Plano de Eliminação Global da Filariose Linfática (PGELF) (WORLD HEALTH ASSEMBLY, 1997). O plano tem como meta a eliminação da

doença até 2020 (MOLYNEUX et al., 2000) por meio da instituição do tratamento em massa em áreas endêmicas e a assistência aos portadores de morbidade filarial (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1993; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2005; OTTESEN et al., 1997). A partir do lançamento do PGEFL, diversos países endêmicos deram início aos seus Planos de Eliminação. Em 2009, aproximadamente 385 milhões de pessoas, em 53 países, foram tratadas, ações que resultaram em uma importante redução da prevalência de microfilaremia e na prevenção de novos casos de filariose em crianças (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2005, 2008, 2010; OTTESEN et al., 2008).

O vetor da filariose bancroftiana no Brasil é o mosquito hematófago da espécie *Culex quinquefasciatus* (SASA, 1976). O ciclo de transmissão da doença se inicia com a picada do vetor infectado que deposita as larvas infectantes (L3) sobre a pele (NAPIER, 1944; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1984). Em um período aproximado de seis meses a um ano após a penetração das larvas infectantes, as fêmeas fecundadas passam a liberar diariamente milhares de embriões no sangue periférico - as microfilárias - que são detectadas pelas técnicas parasitológicas usuais. As microfilárias circulam principalmente nos capilares pulmonares, de onde escapam para a corrente circulatória de acordo com o horário da sua periodicidade. Em locais cujos vetores têm hábitos noturnos, a exemplo do *Culex quinquefasciatus*, no Brasil, o pico da microfilaremia é noturno e se dá habitualmente no horário das 23h00 à 01h00 (DREYER; MEDEIROS, 1990; EBERHARD et al., 1988; GUBLER et al., 1973; HAWKING, 1965, 1967; KIMURA et al., 1984). Quando o inseto pica o homem infectado e ingere as microfilárias, estas perdem a bainha e migram em direção a seus músculos torácicos, onde, sob condições ideais de calor e umidade, se desenvolvem até L3 dentro de dez a treze dias.

A filariose bancroftiana pode afetar indivíduos de todas as idades e ambos sexos, possuindo baixo ou nenhum potencial letal (COX, 2000). O espectro clínico da doença é amplo podendo se apresentar como quadros assintomáticos (com ou sem microfilaremia); inflamações agudas dos vasos linfáticos e linfonodos, caracterizadas por surtos recorrentes de febre, linfangite e adenite em membros, órgãos genitais ou mamas; manifestações crônicas, como a hidrocele e linfedema de membros, órgãos genitais, e a quilúria; e mais raramente a eosinofilia pulmonar tropical (EPT) (DREYER; ROCHA, 2001). As manifestações mais graves da filariose, como a elefantíase, possuem caráter debilitante e estigmatizante, acarretando distúrbios da função sexual, quando o linfedema acomete os órgãos sexuais

(DREYER; NORÕES, 1998; GYAPONG et al., 1998). Nas crianças, as manifestações são usualmente subclínicas, sendo o aumento dos linfonodos a manifestação mais comum, sendo a presença de manifestações crônicas um evento relativamente raro em crianças menores de 10 anos de idade (DREYER et al., 2001; SHENOY, 2006; WITT; OTTESEN, 2001).

1.2 A filariose bancroftiana na infância

Apesar de a filariose ser historicamente reconhecida como uma doença de adultos estima-se que aproximadamente 22 milhões de crianças abaixo de 15 anos de idade estejam infectadas com a doença (MICHAEL et al., 1996). Witt e Ottesen (2001) atestam a ocorrência da infecção na população pediátrica, porém sua magnitude ainda é pouco conhecida na maioria das áreas endêmicas (WITT; OTTESEN, 2001). Esse fato está relacionado, principalmente, às características clínicas da doença, que geralmente apresenta longos períodos de evolução, progredindo lentamente para o surgimento das manifestações clínicas (SHENOY, 2006).

A literatura tem mostrado que tanto a prevalência de microfilaremia, quanto de antigenemia aumentam com a idade (WITT; OTTESEN, 2001). Este fato pode ser devido a certos fatores como o menor tempo de exposição à infecção das crianças em relação aos adultos e ao longo período de incubação da filariose em casos autóctones. Outro fator que pode contribuir é aumento da carga parasitária com a idade que eleva a sensibilidade dos testes diagnósticos, particularmente os parasitológicos. Alguns estudos realizados em áreas endêmicas confirmam esses achados e observam que a prevalência de crianças com idade <10 anos e entre 10 e 19 anos, em geral, representa cerca 30% e 69%, respectivamente da prevalência encontrada na população adulta (SHENOY, 2006; SHENOY et al., 2007; WITT; OTTESEN, 2001).

Com relação ao sexo, ao contrário do que é encontrado na população adulta, não têm sido encontradas diferenças significativas da prevalência da infecção (por microfilaremia ou antigenemia filarial) na população menor de 15 anos de idade, ou seja, não há diferença por sexo na população infantil (BRAGA et al., 1998; WITT; OTTESEN, 2001). Quanto à carga parasitária, as médias de densidade microfilarêmica são geralmente mais baixas nas crianças mais jovens quando comparadas com faixas etárias mais velhas (BAL et al., 2009; SHENOY,

2006). Estudos epidemiológicos realizados em áreas endêmicas da Região Metropolitana do Recife têm mostrado perfil semelhante para a população infantil, tanto em relação à distribuição por sexo, quanto em relação à carga parasitária (BRAGA et al., 1997, 2005).

Como a sensibilidade dos métodos parasitológicos disponíveis, os quais têm como princípio a identificação da microfilária no sangue, diminui com a redução da densidade de microfilárias (DREYER et al., 1996), a acurácia de tais métodos possivelmente tende a diminuir com a idade, já que prevalência de microfilaremia é menor nas faixas etárias mais jovens (BAL et al., 2009; SHENOY, 2006). Conseqüentemente, a prevalência da infecção filarial é geralmente subestimada em levantamentos realizados utilizando métodos parasitológicos (SHENOY 2006WITT; OTTESEN, 2001). Esse fato tem sido comprovado em inquéritos de filariose realizados com a utilização simultânea de métodos parasitológicos e imunológicos, como a pesquisa de antígenos filariais no sangue periférico que têm observado níveis de prevalência acentuadamente mais elevados por essa última técnica (WITT; OTTESEN, 2001). Inquérito realizado por Lammie et al. (1998), com crianças haitianas mostrou uma elevação na prevalência de aproximadamente 6% e 30% em crianças com dois e quatro anos de idade com a utilização da pesquisa de antigenemia filarial como método imunológico.

1.3 Diagnóstico laboratorial da filariose bancroftiana

Vários métodos parasitológicos e imunológicos estão disponíveis para o diagnóstico da FL, sendo a pesquisa noturna de microfilaremia em sangue periférico e venoso, a pesquisa de antígenos circulantes, a pesquisa de anticorpos e a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), os mais utilizados (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2005). A pesquisa noturna de microfilaremia e a pesquisa de antígenos filarial circulantes (ACF) estão padronizadas e são atualmente recomendadas pela OMS para uso nos Programas de Eliminação (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2005).

Os métodos parasitológicos têm como princípio a identificação direta da microfilária, forma embrionária da *W. bancrofti*, em sangue periférico ou venoso (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1984) e são realizados de acordo com a periodicidade do parasita que varia nas diversas regiões endêmicas no mundo. Uma das principais limitações desses

métodos consiste na incapacidade de detectarem os casos de infecções filariais amicrofilarêmicas ou nas infecções unissexuadas, quando o acasalamento e fecundação da fêmea não são possíveis, e nas situações em que haja baixa parasitemia, e infecções com densidades extremamente baixas. Em estudo realizado por Rocha et al. (1996) em área endêmica no Brasil demonstraram que o teste imunológico Og4C3 identificou aproximadamente 70% dos indivíduos amicrofilarêmicos, porém portadores de vermes adultos vivos, os quais não seriam diagnosticados pelos testes parasitológicos.

A pesquisa de microfilárias em gota espessa é um método diagnóstico largamente empregado em estudos populacionais. A técnica consiste na confecção de um esfregaço de conformação retangular utilizando uma amostra de sangue periférico de aproximadamente 60µL. Após a coloração da lâmina, a microfilária pode ser visualizada por meio de um microscópio ótico. Além de ser 100% específico, o método apresenta como vantagens o baixo custo, além do fato de requerer pouca infra-estrutura de laboratório. A sua principal desvantagem é a baixa sensibilidade, que só se eleva em níveis de infecções com densidades microfilarêmicas a partir de 30 mf/mL (DREYER et al., 1996; ROCHA, 2000; WEIL; RAMZY, 2006).

A técnica de filtração em membrana de policarbonato, desenvolvida por Bell em 1967, representou um grande avanço das técnicas parasitológicas por permitir a identificação de microfilárias em amostras de até 16 mL de sangue venoso, aumentando, assim, sua sensibilidade. O método consiste na filtração de sangue venoso através de uma membrana de policarbonato, de forma a permitir que as microfilárias se depositem na membrana, as quais são visualizadas pela microscopia óptica, após coloração. A vantagem dessa técnica parasitológica em relação às demais consiste na sua sensibilidade mais elevada, sendo considerada “padrão-ouro” na detecção e quantificação da microfilaremia nos períodos pré, durante e pós-tratamento (ROCHA, 2004). A desvantagem é o custo mais elevado, não estando disponível na rotina de investigação laboratorial dos Serviços Públicos de Saúde (ROCHA, 2000).

Outra técnica parasitológica, o método de concentração de Knott (KNOTT, 1939), é realizada em amostras de sangue venoso e apresenta maior sensibilidade em relação á gota espessa devido ao volume de sangue utilizado, que é usualmente maior, em geral 1 mL. Apesar de ser uma técnica descrita há cerca de 70 anos, permanece em uso nas diversas áreas endêmicas do mundo (MELROSE, 2002), principalmente nos países pobres, devido ao seu custo menor em relação à técnica da filtração em membrana. A técnica consiste na diluição de

1 mL de sangue venoso com formol a 2% com posterior formação de um sedimento onde estarão localizadas as microfilárias, caso positivo. Embora mais sensível que a gota espessa, a técnica de concentração de Knott é extremamente laborioso e demorado (ROCHA, 2000), não sendo adequado para levantamentos epidemiológicos (ROCHA, 2004).

Como a ação microfilaricida das drogas anti-filárias (dietilcarbamazina, ivermectina e albendazol) determina a redução ou o clareamento da microfilaremia dentro de um período de aproximadamente um ano após o tratamento, mesmo sem a completa eliminação dos vermes adultos, os métodos parasitológicos, particularmente a gota espessa, não são considerados ideais para a avaliação da efetividade dos programas de tratamento em massa em andamento (McCARTHY, 2000).

Quanto aos métodos imunológicos, existem atualmente dois testes comercialmente disponíveis – o Og4C3-ELISA e o cartão ICT – que foram desenvolvidos durante a década de 90 e representaram um importante avanço no diagnóstico da filariose, pois permitem a detecção da infecção mesmo na ausência da microfilaremia (MORE; COPEMAN, 1990; WEIL et al., 1997). Ambos os testes têm como princípio a detecção de antígenos circulantes de *W. bancrofti* no sangue a partir da utilização de anticorpos monoclonais específicos.

O teste Og4C3-ELISA, o primeiro kit laboratorial disponível comercialmente (TROPBIO 1996), é capaz de reconhecer produtos excretados e secretados por vermes adultos de *Wuchereria bancrofti*. O Og4C3 é um anticorpo monoclonal da classe das imunoglobulinas IgM, produzido contra antígenos do parasita bovino *Onchocerca volvulus*, que reconhece antígenos circulantes no soro ou plasma de indivíduos infectados com *W. bancrofti* e que não apresenta positividade frente a infecções com a *O. volvulus* (MORE; COPEMAN, 1990, 1991). O valor de resultado do teste é considerado positivo quando é igual ou maior que 128 unidades de antígeno. Estudos de validação têm encontrado sensibilidades que variam de 70%, em indivíduos amicrofilarêmicos, até 100%, em indivíduos microfilarêmicos, havendo uma relação direta do nível de sensibilidade com a densidade de microfilárias (LALITHA et al., 1998; ROCHA et al., 1996; ROCHA et al., 2004a; TURNER et al., 1993). O teste Og4C3 apresenta como vantagens o fato de permitir a realização da coleta de sangue a qualquer hora do dia e a execução de até 80 exames em um único momento e utilizando uma única placa. Suas desvantagens são o custo mais elevado em relação aos testes parasitológicos e a necessidade de razoável infra-estrutura no laboratório para sua realização (ROCHA, 2000).

A partir da necessidade crescente de um teste rápido e de fácil aplicação no campo, foi lançado o teste imunocromatográfico do cartão ICT (ICT Diagnostic, Balgowlah, New South Wales, Austrália, atualmente BINAX) que pode ser realizado com sangue total, soro ou plasma em qualquer horário do dia. É um teste rápido por imunocromatografia para detecção qualitativa do antígeno de *Wuchereria bancrofti*. O método utiliza um anticorpo monoclonal AD12, específico, que reconhece antígenos de *W. bancrofti* com até 200 kDa que parecem ser produzidos principalmente pela forma adulta do parasita (WEIL et al., 1987; WEIL et al., 1997). Numa amostra positiva, qualquer antígeno de *W. bancrofti* agregado ao anticorpo assinalado a ouro é capturado pelo anticorpo de captação na membrana formando uma linha cor-de-rosa. Já em uma amostra negativa, não é capturado nenhum anticorpo assinalado a ouro e não se forma nenhuma linha cor-de-rosa. Se o teste tiver sido feito corretamente, aparecerá sempre uma linha de controle do teste na área C.

O teste é minimamente invasivo, sendo muito útil em inquéritos populacionais (WEIL et al., 1997). Segundo os estudos de validação realizados, a sensibilidade do ICT varia entre 96 e 100% e a especificidade é de 100% (ROCHA et al., 2004a; WEIL et al., 1997; WEIL; RAMZY, 2006). Entretanto, semelhante ao observado com o teste Og4C3-ELISA, a sua sensibilidade diminui nas infecções com baixa microfilaremia (ROCHA, 2004). Devido a sua elevada sensibilidade e facilidade de execução em condições de campo, o teste imunocromatográfico foi recomendado pela Aliança Global para a Eliminação da filariose (*Global Alliance to Eliminate Lymphatic filariasis*) como método diagnóstico de escolha para o mapeamento de áreas de transmissão da filariose, tendo sido amplamente utilizado em todo o mundo para essa finalidade (WEIL; RAMZY, 2006).

A sensibilidade reconhecidamente maior dos métodos imunológicos (Og4C3 e cartão ICT), a elevada especificidade, além da capacidade de detectar portadores de vermes adultos amicrofilarêmicos, representam uma grande vantagem em relação aos métodos parasitológicos. Dessa forma, a utilização dos testes Og4C3-ELISA e cartão ICT têm sido recomendados no rastreamento e determinação da prevalência da infecção em áreas endêmicas antes da instituição do tratamento em massa, bem como na avaliação da incidência de infecção (casos novos) nas áreas com programas de eliminação em andamento (WEIL; RAMZY, 2006).

Entretanto, apesar das vantagens dos testes que detectam antígenos filariais, estudos têm demonstrado a persistência de antigenemia positiva mesmo após a administração de esquemas agressivos com drogas anti-filarias, sendo incapazes de diferenciar indivíduos com

infecção ativa daqueles que tiveram infecção passada e de indivíduos que já tenham sido expostos às larvas infectantes de forma esporádica ou contínua, mesmo que não estejam infectados (FREEDMAN et al., 2001; ROCHA, 2000). Esses problemas de especificidade têm limitado o uso de tais métodos na avaliação do impacto de programas de eliminação em áreas endêmicas (FREEDMAN et al., 2001; SCHUETZ et al., 2000; WEIL; RAMZY, 2006).

Outros testes que avaliam a resposta imune humoral, como a intradermorreação, disponível há mais de sessenta anos (FAIRLEY, 1937), como os testes sorológicos, têm produzido interpretações conflitantes no diagnóstico laboratorial da bancroftose, possivelmente devido à baixa especificidade (AMBROISE-THOMAS 1974; DREYER et al., 1991; ROCHA, 1995; ROCHA, 2000; VOLLER; SAVIGNY, 1981). Outro teste sorológico baseado na pesquisa de anticorpos pelo antígeno recombinante filarial Bm14, foi desenvolvido podendo ser realizado a qualquer hora do dia (CHANDRASHEKAR et al., 1994). Estudos preliminares com soro de pacientes da Índia indicaram que o ELISA baseado na detecção de anticorpos IgG4 para Bm14 parece apresentar uma alta sensibilidade para o diagnóstico de pacientes com filariose por *Brugia* ou bancroftiana com infecção ativa ou em endêmicos normais (CHANDRASHEKAR et al., 1994). Esse teste é capaz de distinguir indivíduos com infecção ativa daqueles com infecção passada ou indivíduos que foram simplesmente expostos às larvas infectantes, sem se tornarem infectados. Verificaram também que não existe correlação entre a carga parasitária e a positividade do teste, demonstrando que a resposta de anticorpos ao produto do gene *sxp-1* não é estágio específico e a sua positividade indica a presença de vermes adultos jovens ou maduros com ou sem microfilaremia.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é outra ferramenta diagnóstica no estudo da filariose desenvolvida na década de 1980, que vem sendo utilizada no diagnóstico da infecção filarial em mosquitos, em substituição à dessecação manual de mosquitos, nas ações de monitoramento da infecção vetorial em programas de eliminação (ROCHA, 2004). Rocha et al. (2002) realizaram uma revisão onde chama a atenção para as vantagens da utilização da ferramenta molecular no diagnóstico da bancroftose em fluidos biológicos de humanos. Havendo, portanto a necessidade de padronização adequada, perante as diversas formas clínicas. Dentre as desvantagens destacam-se a indisponibilidade dos *primers* das famílias repetitivas para os diferentes estágios de desenvolvimento do parasito e o custo elevado é um dos fatores que distanciam a PCR de sua utilização na rotina laboratorial diagnóstica.

Diante da necessidade de monitoramento das ações dos programas de eliminação em andamento em diversos países, questões relativas à seleção do método diagnóstico mais adequado, a estratégia de amostragem e a medida de frequência de morbidade apropriada para a obtenção de medidas precisas, tornam-se centrais (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2005, 2008; OTTESEN et al., 2008).

Frente às limitações dos testes parasitológicos e imunológicos disponíveis para a avaliação da transmissão em áreas endêmicas com programas de eliminação em andamento, além das dificuldades operacionais para a obtenção de amostras de sangue na população, a OMS tem recomendado o monitoramento da infecção em populações sentinelas, particularmente na população pediátrica. A preferência pela população pediátrica em detrimento do restante da população se deve a certas peculiaridades, como o tempo de exposição relativamente menor e o fato de muitas vezes terem nascido após a instituição das medidas de eliminação, que possibilitariam a obtenção de medidas de incidência com maior grau de precisão (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2005).

Devido à facilidade operacional, inquéritos filariais na população escolar têm sido recomendados para a avaliação da efetividade dos programas de eliminação e a comprovação da interrupção da transmissão nessas áreas. Essa estratégia evitaria a necessidade da realização de visitas domiciliares e reduziria o custo das ações de monitoramento (LUCAS, 1992; RAMZI, 1994).

Uma questão fundamental na definição das ferramentas diagnósticas apropriadas para o rastreamento e o monitoramento das intervenções de saúde pública se refere à acurácia do método diagnóstico a ser utilizado. A acurácia de um teste diagnóstico pode variar substancialmente de acordo com certas características epidemiológicas, clínicas e demográficas da população de estudo, tais como, a prevalência da doença, o sexo e a idade, bem como com o tipo e o princípio da técnica, as condições nas quais o teste é realizado (campo *versus* laboratório, o perfil da população de estudo, prevalência da doença e composição etária, forma clínica, etc.) (JAESCHKE et al., 1994; REID et al., 1995).

Com relação aos métodos utilizados no diagnóstico da filariose bancroftiana, a maior parte tem sido validada na população adulta (CHANDRASENA et al., 2002; OMAR et al., 2000; PANI et al., 2004; RAMZY et al., 1999; SIMONSEN; DUNYO, 1999;) que freqüentemente apresenta médias de densidade microfilarêmica mais altas quando comparadas às crianças. Como se observa que a sensibilidade das técnicas parasitológicas e métodos de detecção de antigenemia filarial (ICT e Og4C3) diminuem com a redução da

carga parasitária (CHATEAU et al., 1994; ITOH et al., 1999; ROCHA et al., 1996; SIMONSEN; DUNYO, 1999), é possível que a sensibilidade desses métodos seja menor na população pediátrica. Além disso, a maioria tem sido validada em condições de laboratório, em pequeno número de indivíduos e em indivíduos microfilarêmicos (BHUMIRATANA et al., 1999; LALITHA et al., 1998; LAMMIE; WEISS, 1997; MORE; COPEMAN, 1990; NUCHPRAYOON et al., 2001; ROCHA et al., 1996; WATTAL et al., 2007; WEIL; SIMONSEN; DUNYO, 1999).

Considerando as diferenças no perfil clinico-epidemiológico da filariose, na população pediátrica, em relação à adulta, tais como, densidades microfilarêmicas mais baixas, maior número de infecções amicrofilarêmicas, e admitindo que essas características possam interferir na acurácia dos testes utilizados no diagnóstico laboratorial da doença, torna-se importante avaliar comparativamente a acurácia dos métodos disponíveis nessa população.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Comparar a acurácia de métodos parasitológicos (gota espessa e concentração de Knott) e da pesquisa de antígenos filariais (Og4C3-ELISA e cartão ICT) no diagnóstico da filariose bancroftiana em crianças e escolares.

2.2 Objetivos específicos

- a) Descrever a carga parasitária e a distribuição por variáveis sociodemográficas (grupo etário, sexo e local de moradia da população de estudo);
- b) Determinar a prevalência de filariose segundo grupo etário, sexo e local de moradia, pelos diferentes métodos parasitológicos e imunológicos;
- c) Estimar a sensibilidade, valor preditivo positivo e a diferença da fração de verdadeiros positivos das técnicas de gota espessa e de concentração de Knott em relação à técnica de filtração em membrana de policarbonato (padrão-ouro) segundo grupo etário;
- d) Estimar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positiva e negativa e a diferença de fração de verdadeiros positivos e negativos dos testes imunológicos Og4C3-ELISA e cartão ICT em relação à filtração em membrana de policarbonato, segundo grupo etário;
- e) Estimar e comparar a especificidade da pesquisa de antígeno pelo ICT e Og4C3 em relação ao padrão ouro (combinação de métodos parasitológicos).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de estudo

O estudo foi desenvolvido em escolas públicas municipais localizadas nos bairros de Alto da Conquista, Alto da Bondade e Sapucaia, no município de Olinda, Pernambuco, antes da instituição do tratamento em massa. Uma total de cinco escolas foi selecionada por pertencerem à rede municipal de ensino desses bairros. O município possui uma área territorial de 41.659 Km² e uma população estimada de 377.779 em 2010 (IBGE, 2010), se localiza na Região Metropolitana do Recife e constitui uma das áreas endêmicas de filariose do estado de Pernambuco. Inquérito parasitológico realizado em 1998 encontrou uma prevalência de microfilaremia pela técnica de gota espessa de 9,2% no Alto da Conquista e 2,8% em Sapucaia. Sendo bairros considerados de maior endemicidade segundo o inquérito realizado em 1998. O bairro do Alto da Bondade não foi avaliado neste inquérito, mas foi incluída no nosso estudo porque faz fronteira com o bairro do Alto da Conquista (BRAGA et al., 2001).

3.2 População de estudo

Participaram do estudo crianças e adolescentes de ambos os sexos, com idade entre quatro e 15 anos, os quais os pais ou responsável autorizaram por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que freqüentavam e residiam nos bairros das escolas selecionadas.

3.3 Delineamento do estudo

O desenho do estudo foi de corte seccional, considerado adequado para estudos de validação de testes diagnósticos (EBRAHIM; SULLIVAN, 1995; SACKETT; HONES, 2002; NEWMAN et al., 2003). O estudo foi classificado como de fase III segundo a classificação de Sackett (SACKETT; HONES, 2002), que se caracteriza pela aplicação simultânea do teste avaliado e do padrão-ouro em uma população suspeita de ter a doença.

3.4 Cálculo da amostra

O tamanho da amostra para o estudo foi calculado utilizando uma fórmula de cálculo de amostra para avaliação de acurácia de testes (FLAHAULT et al., 2005), considerando uma sensibilidade de 90% para o Og4C3 e ICT e um erro máximo tolerável de 5% , obtendo-se um n= 474 crianças e adolescentes.

3.5 Variáveis do estudo

As variáveis do estudo foram categorizadas em quantitativas e qualitativas de acordo com os quadros 1 e 2 a seguir.

Variáveis quantitativas	Definição	Categorização
<i>Antigenemia (Og4C3-ELISA)</i>	Quantidade de antígenos detectados em 100 µL da amostra avaliada.	Quantitativa
<i>Idade</i>	Crianças na faixa etária de 4 a 15 anos.	1. 4 a 9 anos 2. 10 a 15 anos
<i>Microfilaremia (gota espessa)</i>	Quantidade de microfilárias em aproximadamente 60 µL de sangue periférico.	Quantitativa
<i>Microfilaremia (Knott)</i>	Quantidade de microfilárias em 1 mL de sangue venoso.	Quantitativa
<i>Microfilaremia (filtração em membrana)</i>	Quantidade de microfilárias em 1 mL de sangue venoso.	Quantitativa

Quadro 1 – Variáveis quantitativas

Fonte: Elaborado pela autora.

Variáveis qualitativas	Definição	Categorização
<i>Gota espessa</i>	Teste parasitológico para diagnóstico da filariose bancroftiana que avalia a presença ou ausência de microfilárias no sangue periférico.	1. Positivo (≥ 1 mf/mL). 2. Negativo (ausência de mf).
<i>Concentração de Knott</i>	Teste parasitológico para diagnóstico da filariose bancroftiana que avalia a presença ou ausência de microfilárias no sangue venoso.	1. Positivo (≥ 1 mf/mL). 2. Negativo (ausência de mf).
<i>Filtração em membrana</i>	Teste parasitológico para diagnóstico da filariose bancroftiana que avalia a presença ou ausência de microfilárias no sangue venoso.	1. Positivo (≥ 1 mf/mL). 2. Negativo (ausência de mf).
<i>Og4C3-ELISA</i>	Teste imunoenzimático para diagnóstico da filariose bancroftiana que utiliza um anticorpo monoclonal que se liga a antígenos de <i>W. bancrofti</i> .	1. Positivo (≥ 128 UA) 2. Negativo (≤ 128 UA)
<i>Teste do cartão ICT</i>	Teste imunocromatográfico para diagnóstico da filariose bancroftiana que utiliza um anticorpo monoclonal que se liga a antígenos de <i>W. bancrofti</i> .	1. Positivo (quando aparecem duas listas no visor do cartão) 2. Negativo (quando aparece uma lista no visor do cartão)
<i>Local de Moradia</i>	Crianças residentes nos bairros das escolas avaliadas	1. Alto da Conquista 2. Alto da Bondade 3. Sapucaia
<i>Sexo</i>		1. Masculino 2. Feminino

Quadro 2 – Variáveis qualitativas

Fonte: Elaborado pela autora

3.6 Cadastramento dos alunos e coleta das amostras sanguíneas

Após o levantamento e cadastro das crianças e adolescentes de cada escola junto às secretarias de educação e direção das escolas, enviou-se convite aos pais ou responsável pelos estudantes para participarem de uma palestra sobre filariose. Durante a palestra, os pais ou responsáveis dos estudantes foram informados sobre a gravidade da doença na área de

residência, a respeito das ações do Plano de Eliminação da Filariose, sobre os objetivos da pesquisa e solicitada a permissão para a participação de seus filhos.

A coleta das amostras de sangue capilar e venoso foi realizada no momento de comparecimento do aluno ao local definido para a coleta de sangue (escola ou posto de saúde), no horário das 23:00 a 01:00 hora. Antes da obtenção das amostras de sangue, informações individuais, como nome, endereço, idade e sexo, foram levantados aplicando-se um questionário (Anexo A).

Coletou-se de cada criança incluída no estudo uma amostra de sete mililitros de sangue venoso utilizando seringas e agulhas descartáveis. As amostras coletadas foram acondicionadas em tubo contendo anticoagulante (EDTA) para realização da técnica de filtração em membrana, tubo contendo formalina a 2% para realização da técnica de concentração de Knott e em tubo seco para retração do sangue e obtenção do soro utilizado no teste Og4C3-ELISA. Em seguida, foi realizada a punção digital com auxílio de uma lanceta descartável e obtenção do sangue capilar, onde aproximadamente três gotas (60 µL) de sangue foram gotejadas em uma lâmina para a realização do esfregaço para a pesquisa de microfilárias pela técnica de gota espessa e 100 µL de sangue coletado em um tubo capilar heparinizado para realização do teste do cartão ICT. A leitura do cartão ICT foi feita no campo, por técnicos treinados, 10 minutos após a realização do exame. As amostras de sangue foram transportadas em caixas térmicas até o laboratório, onde foram armazenadas em geladeira a temperatura de 2 a 8 °C e processadas no dia subsequente. A interpretação dos resultados de cada técnica foi realizada por examinadores independentes, de forma cega, ou seja, os examinadores não tiveram conhecimento do resultado das outras técnicas de diagnóstico.

3.7 Descrição das técnicas parasitológicas

As técnicas parasitológicas foram realizadas para a pesquisa e quantificação da microfilaremia.

3.7.1 Técnica de gota espessa

As lâminas contendo aproximadamente 60 µL do esfregaço sanguíneo foram processadas no dia seguinte após a coleta. As lâminas foram desmembradas com água destilada (água tipo II), após a obtenção de um esfregaço límpido e seco, foram fixadas com álcool metílico, em seguida secas a temperatura ambiente e coradas por cinco minutos com eosina a 5% e posteriormente por 15 minutos com giemsa na concentração de 3 gotas por mililitro, de acordo como descrito na literatura (EBERHARD, LAMMIE 1991). Em seguida, foi realizada a pesquisa de microfilárias em microscópio óptico. A técnica foi considerada positiva quando encontrada na lâmina no mínimo uma microfilária e considerada negativa quando não foi encontrada nenhuma microfilária.

3.7.2 Técnica de concentração de Knott

A técnica de concentração de Knott foi realizada com um mililitro de sangue venoso da amostra coletada, em tubo contendo nove mililitros de formalina a 2%, e processada de acordo com a metodologia original descrita por Knott em 1939. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas várias vezes para que o sedimento depositado no fundo do tubo fosse lavado até se obter um sobrenadante límpido. O sedimento foi distribuído sobre várias lâminas, sendo número de lâminas definido pela quantidade de sedimento formado ao final do procedimento. Após distribuição e secagem do sedimento sobre a lâmina, o sedimento foi fixado com álcool metílico e corado com eosina por 5 minutos e giemsa por 15 minutos, e em seguida, lidas em microscópio óptico. A técnica foi considerada positiva quando encontrada em qualquer uma das lâminas no mínimo uma microfilária e considerada negativa quando não foi encontrada nenhuma microfilária.

3.7.3 Técnica de filtração em membrana de policarbonato (padrão-ouro)

As amostras de um mililitro de sangue venoso foram colocadas em tubo contendo anticoagulante para realização da técnica de filtração em membrana de policarbonato (nucleopore) (DENIS; KAEN, 1971). As amostras de sangue foram filtradas em membranas de 13mm e poros de 3 μm de diâmetro. Os filtros foram lavados com solução salina e água destilada (água tipo II) até que a membrana ficasse límpida. A membrana foi colocada em uma lâmina e deixada secar a temperatura ambiente. Em seguida, as membranas foram fixadas com álcool metílico, coradas com Hematoxilina de Carazzi e lidas em microscópio óptico. A técnica foi considerada positiva quando encontrada em qualquer um dos filtros no mínimo uma microfilária e considerada negativa quando não foi encontrada nenhuma microfilária.

3.8 Descrição das técnicas imunológicas

As técnicas imunológicas foram realizadas para a pesquisa e quantificação da antigenemia filarial.

3.8.1 Teste Og4C3-ELISA

As amostras de dois mililitros de sangue venoso, coletadas em tubo seco, foram processadas no dia seguinte após a coleta para retração do coágulo e separação do soro. Após retração do coágulo, as amostras sorológicas foram separadas, alíquotadas e estocadas a -20°C até a hora do processamento para pesquisa do antígeno circulante filarial pelo kit do teste imunológico Og4C3-ELISA (MORE; COPEMAN 1990). O teste foi realizado de acordo com as instruções do fabricante e protocolos laboratoriais. No momento da realização do teste, as amostras de soro foram descongeladas e uma alíquota de 100 μL de soro de cada criança foi diluída em 300 μL do diluente do kit. Em seguida, a solução soro-diluente foi fervida durante

5 minutos a uma temperatura de 99°C e em seguida centrifugada a 10.000 g por 5 minutos. Posteriormente, uma alíquota de 50 µL foi retirada do sobrenadante de cada amostra e aplicada nos poços da placa de ELISA previamente sensibilizada pelo anticorpo monoclonal Og4C3. Alíquotas de 50 µL dos sete padrões e do branco foram colocadas em duplicata na placa. Após a incubação da placa em câmara úmida por uma noite, ela foi lavada por três vezes, com incubações de 1 hora cada, acrescentando primeiro uma solução diluída de anticorpo anti-*Onchocerca* de coelho, conjugado e cromógeno que acompanham o kit. Depois do último período de incubação, a placa foi lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 414 e 492nm, onde os resultados foram expressos em absorbância (densidade ótica). Os valores expressos em densidade ótica foram convertidos em unidade de antígeno em um programa específico no Excel. O valor de referência em unidade de antígeno (UA) é de que se a amostra for positiva para o antígeno filarial terá valor igual ou maior que 128 unidades de antígeno (UA). Caso a amostra seja negativa terá valor menor que 128 UA.

3.8.2 Teste do cartão ICT

As amostras de 100 µL de sangue capilar coletadas em tubo heparinizado foram utilizadas posteriormente à coleta na realização do teste do cartão ICT. O sangue foi gotejado na parte superior da almofada rosa e branca, após a abertura do cartão, aguardando o deslocamento e a absorção por toda a área da almofada. Em seguida, o cartão foi fechado pressionando as bordas para selar. Após 10 minutos o resultado foi visualizado no visor do cartão. O teste foi considerado positivo quando duas listras vermelhas apareceram no visor do cartão e negativo quando fosse visualizada apenas uma listra vermelha na parte inferior do visor.

3.9 Análise dos dados

A entrada e análise dos dados foram realizadas utilizando os programas Epiinfo, versão 3.01 e R programme. Realizou-se a análise descritiva das características da população

de estudo segundo grupo etário, sexo e local de moradia. As médias de densidade microfilarêmica e seus respectivos desvios-padrão foram calculados após serem transformados para a escala logarítmica.

A acurácia de cada teste foi avaliada em relação ao padrão-ouro (filtração em membrana), sendo calculados a sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo, valor preditivo positivo, prevalência da doença, razões de maxiverossimilhança e seus respectivos intervalos de confiança.

Devido ao fato da sensibilidade dos métodos parasitológicos ser desconhecida, a especificidade dos Og4C3 e ICT não pode ser diretamente calculada. Sendo assim, a especificidade desses testes foi estimada como uma função da prevalência da microfilaremia, definida pela combinação dos resultados de todas as técnicas parasitológicas realizadas: gota espessa, knott e filtração, utilizando a equação proposta por Staquet *et al.* (1981) (Figura 1). A aplicação da fórmula permite o cálculo de uma série de valores possíveis para a especificidade de ambos os testes (ICT e Og4C3) de acordo com a prevalência de microfilaremia dada pelo teste de referência (combinação dos métodos parasitológicos – concentração de Knott, gota espessa e filtração em membrana) e permite a construção de uma curva que representa a relação entre esses dois parâmetros, ou seja, a especificidade e a prevalência.

$$\text{Prevalência} = \frac{(a+b)(N \cdot SP_n - b - d)}{N(SP_n(a+b) - b)}$$

Figura 1 – Equação da prevalência de Staquet *et al.* (1981).

Fonte: Staquet *et al.* (1981).

Onde:

a= número de positivos pelo teste de referência e pelo novo teste

b= número de positivos pelo teste de referência e negativos pelo novo teste

d= número de negativos pelo teste de referência e pelo novo teste

N= total de indivíduos examinados

SP_n= especificidade do novo teste

Para o cálculo da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, razão de verossimilhança, e seus respectivos intervalos de confiança utilizaram-se uma tabela de contingência (Tabela 1), ou tabela 2x2.

Tabela 1 – Tabela de contingência ou 2x2.

Novo teste	Teste de referência		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	a	b	a+b
Negativo	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	N

Fonte: Elaborado pela autora.

Onde:

Sensibilidade: $a/(a+c)$ É a capacidade que o teste diagnóstico apresenta de detectar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, de diagnosticar corretamente os doentes.

Especificidade: $d/(b+d)$ É a capacidade que o teste diagnóstico tem de detectar os verdadeiros negativos, isto é, de diagnosticar corretamente os indivíduos sadios.

Valor preditivo positivo: $a/(a+b)$ É a proporção de doentes entre os positivos pelo teste.

Valor preditivo negativo: $d/(c+d)$ É a proporção de sadios (sem a doença) entre os negativos ao teste.

Razão de verossimilhança: expressa o quanto é mais provável de se encontrar o teste positivo ou negativo em pessoas doentes, comparadas com não doentes.

$$RV (+) = \text{sensibilidade}/1\text{-especificidade}$$

$$RV (-) = 1\text{-sensibilidade}/\text{especificidade}$$

Acurácia: $a+d/N$ É a porcentagem de acertos obtidos através do teste avaliado, em comparação com os resultados de uma referência ou um teste padrão-ouro.

3.10 Considerações éticas

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ: 74/06 e CAEE: 0069.0.095.000-06) (Anexo B). A coleta dos dados pessoais dos escolares e das amostras de sangue somente foi realizada após a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo C) pelos pais ou responsáveis. Os resultados dos exames foram impressos em formulários apropriados e entregues aos pais ou responsável em sua residência e repassados à Diretoria de Epidemiologia da Secretária de Saúde do Município. Todos os participantes foram tratados com a dietilcarbamazina (6 mg/kg/dia/12 dias).

3.11 Limitações do estudo

A principal limitação do estudo consistiu na dificuldade de realização da técnica da coleta noturna capilar e venosa realizada no mesmo momento em crianças. Por esse motivo, algumas crianças não coletaram amostras sanguíneas suficientes para todas as técnicas avaliadas e, portanto, o quantitativo de crianças examinadas por cada técnica foi diferente. Contudo, um quantitativo significativo de crianças foi examinado pelas diferentes técnicas simultaneamente, tendo-se atingido o tamanho da amostra calculado para o estudo.

Outra limitação do estudo esteve relacionada ao fato do padrão-ouro utilizado, a filtração em membrana de policarbonato, que mesmo apresentando maior sensibilidade em relação às demais técnicas parasitológicas, é um teste imperfeito, pois não é capaz de detectar as infecções amicrofilarêmicas. Essa é uma limitação que deve ser considerada quando se avalia um teste mais sensível do que o padrão-ouro, uma vez que pode subestimar a especificidade do teste avaliado.

4 RESULTADOS

Um total de 805 escolares participou do estudo e foi submetido à pesquisa de infecção filarial por pelo menos uma das técnicas laboratoriais totalizando 3225 de testes realizados, dos quais 783 foram examinados pela técnica de gota espessa, 554 pelo método de concentração de Knott, 546 pela filtração em membrana, 797 pelo teste do cartão ICT e 545 pelo teste Og4C3-ELISA. Entre os participantes, 403 (50,1%) foram do sexo masculino e 402 (49,94%) do sexo feminino e tinham idades que variaram de 4 a 15 anos. As principais características da população de estudo estão descritas na tabela 2.

Tabela 2 – Características da população de estudo do município de Olinda, Pernambuco nos anos de 2007 e 2009

Variáveis (n= 783)	
<i>Sexo masculino – no. (%)</i>	403 (50,06)
<i>Sexo feminino – no. (%)</i>	402 (49,94)
<i>Idade – anos</i>	
Média ± DP	9,3 ± 2,6
Amplitude	4-15
<i>Bairros</i>	
Alto da Conquista – no. (%)	358 (44)
Alto da Bondade – no. (%)	271 (34)
Sapucaia – no. (%)	176 (22)
<i>Examinados</i>	
Gota espessa	783
Concentração de Knott	554
Filtração em membrana de policarbonato	546
Og4C3-ELISA	545
Cartão ICT	797

Fonte: Elaborado pela autora.

A densidade de microfilaremia pela técnica da gota espessa variou de 0 a 216 microfílias (mf)/60 μ L, entre 0 e 1423 mf/mL pelo método de concentração de Knott, e de 0 a 1834 mf/mL pela filtração em membrana. Não houve diferença estatisticamente significativa das médias de densidades segundo grupo etário e sexo. Ainda que tenha se observado médias de densidades de microfílias mais elevadas que nos bairros do Alto da Conquista e Alto da Bondade em relação ao bairro de Sapucaia, a diferença estatística não foi significativa (Tabela 3).

Os níveis de antigenemia filarial pelo teste Og4C3-ELISA variaram de 0 a 45.172 unidades de antígeno (ua), não havendo diferença estatisticamente significativa quanto ao sexo e idade. As médias de antigenemia filarial foram significativamente mais elevadas entre as crianças residentes nas localidades do Alto da Conquista e Alto da Bondade em relação ao bairro de Sapucaia ($\chi^2= 11.504$; $p= 0.0032$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Médias das densidades de microfilaremia e de antigenemia filarial das técnicas de gota espessa, concentração de Knott, filtração em membrana e Og4C3 segundo grupo etário, sexo e local de moradia

	Gota espessa** (mf/60 µL)			Knott*** (mf/1 mL)			Filtração**** (mf/1 mL)			Og4C3***** (ua)		
	Examinados n	Média (log.)	DP±	Examinados n	Média (log.)	DP±	Examinados n	Média (log.)	DP±	Examinados n	Média (ua)	min-max
Total	776	2.92	1.55	541	4.29	2.05	519	4.33	2.19	543	1836	0-45172
<i>Grupo etário</i>												
4-9	407	2.92	1.40	306	4.67	1.70	295	3.92	2.88	308	1245	0-45172
10-15	360	2.93	1.66	232	4.14	2.20	221	4.53	1.82	231	2655	0-44623
	F= 0.00; p=0.9946			F= 0.20; p= 0.6600			F= 0.44; p= 0.5118			χ ² = 2.6; p= 0.1060		
<i>Sexo</i>												
Masculino	393	2.82	1.41	288	3.96	2.03	281	4.03	2.32	290	2364	0-45172
Feminino	383	3.11	1.83	253	4.86	2.06	238	4.82	1.95	253	1230	0-44623
	F= 0.20; p= 0.6600			F= 1.12; p= 0.3013			F= 0.81; p= 0.3761			χ ² = 0.071; p= 0.7901		
<i>Local de moradia</i>												
Alto da Conquista	344	2.64	1.43	130	4.20	1.60	105	4.14	1.99	127	2022	0-40188
Alto da Bondade	268	3.54	1.51	243	4.78	2.32	247	5.01	2.14	247	2022	0-45172
Sapucaia	164	1.15	0.65	168	1.79	0.57	167	1.44	2.04	169	1423	0-31927
	F= 2.71; p= 0.0895			F= 2.00; p= 0.1586			F= 2.66; p= 0.0906			χ ² = 11.504; p= 0.0032		

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: DP= desvio padrão; pos/obs= número de positivos por observações; log.= escala logarítma; UA= unidade de antígeno; F= teste T; χ²= qui-quadrado; p= probabilidade. *Análise por grupo etário: gota espessa (n=767, 9 não tinham informação sobre a idade); Knott (n=538, 3 não tinham informação sobre a idade); Filtração (n=516, 3 não tinham informação sobre a idade); Og4C3 (n= 539, 4 não tinham informação sobre a idade); **Realizaram gota espessa 776/783, 7 apresentaram problemas com a amostra e não foram incluídos; ***Realizaram Knott 541/554, 13 apresentaram problemas com a amostra e não foram incluídas; ****Realizaram filtração 519/546, 27 apresentaram problemas com a amostra e não foram incluídas; *****Realizaram Og4C3 543/545, 2 apresentaram problemas com a amostra e não foram incluídas.

A prevalência de microfilaremia de 5,2% (IC 95%: 3,5-7,5), obtida pela técnica de filtração em membrana, foi mais elevada do que a observada pelas técnicas de concentração de Knott, de 4,6% (IC 95%: 3,1-6,8), e pela gota espessa, de 3,1% (IC 95%: 2,0-4,6). A prevalência de antigenemia filarial foi de 14,6% (IC 95%: 12,4-17,5), pelo ICT, e de 17,4% (IC 95%: 14,4-21,0), pelo Og4C3 (Tabela 4).

Quanto à idade, a prevalência de microfilaremia foi cerca de duas vezes mais elevada no grupo etário de 10 a 15 anos em relação aos escolares de 5 a 9 anos segundo as três técnicas parasitológicas, tendo as diferenças sido estatisticamente significante. No grupo etário de 4 a 9 anos, a prevalência de microfilaremia foi de 2,0% (IC 95%: 0,9-4,0) pela gota espessa, de 2,3% (IC 95%: 1,0-4,9), pela técnica de Knott, e 3,1% (IC 95%: 1,5-5,9), pela técnica de filtração, enquanto que no grupo etário de 10 a 15 anos, a prevalência de microfilaremia pela gota espessa foi de 4,4% (IC 95%: 2,6-7,3), 7,8% (IC 95%: 4,8-12,2) pela técnica de Knott e de 8,1% (IC 95%: 5,0-12,8) pela filtração. A prevalência de antigenemia filarial foi mais elevada no grupo etário de 10 a 15 anos em relação ao de 5 a 9 anos, porém não houve associação estatística tanto pelo ICT quanto para o Og4C3 (Tabela 4).

Em relação ao sexo, a prevalência de infecção filarial foi mais elevada no sexo masculino do que no sexo feminino segundo todas as técnicas empregadas, porém apenas o diagnóstico pelo ICT evidenciou associação estatística ($\chi^2= 4,50$; $p= 0.034$).

Segundo local de moradia, a prevalência de microfilaremia entre os residentes no bairro do Alto da Conquista foi maior pelas técnicas de concentração de Knott 8,46% (IC 95%: 4,5-15,0) e filtração 12,38% (IC 95%: 7,0-20,6), em relação aos bairros do Alto da Bondade e Sapucaia. Essa diferença foi significativamente maior para o Knott ($\chi^2= 8.89$; $p= 0.012$) e para filtração ($\chi^2= 16.46$; $p= 0.000$) (tabela 4).

Com relação ao local de moradia, a prevalência de antigenemia filarial não variou no bairro do Alto da Bondade por ambos os testes. Não houve diferença estatisticamente significativa na prevalência entre os bairros para o ICT, o que não aconteceu com o Og4C3. A prevalência de antigenemia filarial pelo Og4C3 foi significativa ($\chi^2= 23.59$; $p= 0.000$) entre os bairros, e o bairro do Alto da Conquista apresentou a prevalência mais elevada 31,5% (IC 95%: 23,7-40,4), quase 3 vezes maior que a prevalência do bairro do Alto da Bondade 12,2% (IC 95%: 8,5-17,0) (Tabela 4).

Tabela 4 – Prevalência de microfilaremia e antigenemia filarial em crianças pelas técnicas parasitológicas e imunológicas segundo grupo etário, sexo e localidade. Olinda, Pernambuco, 2007 – 2009

	Gota espessa (~60µL)		Knott (1mL)		Filtração (1mL)		ICT		Og4C3	
	N (pos)	% (IC 95%)	N (pos)	% (IC 95%)	N (pos)	% (IC 95%)	N (pos)	% (IC 95%)	N (pos)	% (IC 95%)
Total	776* (24)	3,1 (2,0-4,6)	541* (25)	4,6 (3,1-6,8)	519* (27)	5,2 (3,5-7,5)	796* (116)	14,6 (12,4-17,5)	543* (94)	17,4 (14,4-21,0)
<i>Grupo etário</i>										
4-9	407(08)	2,0 (0,9-4,0)	306 (07)	2,3 (1,0-4,9)	295 (09)	3,1 (1,5-5,9)	419 (55)	13,1 (10,1-16,8)	308 (47)	15,3 (11,5-19,9)
10-15	360(16)	4,4 (2,6-7,3)	232 (18)	7,8 (4,8-12,2)	221 (18)	8,1 (5,0-12,8)	368 (61)	16,6 (13,0-20,9)	231 (47)	15,5 (15,5-26,2)
	$\chi^2=3.87$; p=0.049		$\chi^2=8.91$; p=0.003		$\chi^2=6,61$; p=0,010		$\chi^2=1.85$; p= 0.173		$\chi^2=2.37$; p= 0.124	
<i>Sexo</i>										
Masculino	393 (15)	3,8 (2,2-6,3)	288 (16)	5,6 (3,3-9,0)	281 (17)	6,1 (3,7-9,7)	401 (69)	17,2 (13,7-21,3)	290 (53)	18,3 (14,1-23,3)
Feminino	383 (09)	2,3 (1,1-4,6)	253 (09)	3,6 (1,7-6,9)	238 (10)	4,2 (2,2-7,8)	395 (47)	11,9 (8,9-15,6)	253 (41)	16,2 (12,0-21,5)
	$\chi^2=1.39$; p=0.238		$\chi^2=1.22$; p=0.269		$\chi^2=0.89$; p=0.345		$\chi^2=4.50$; p= 0.034		$\chi^2=0.40$; p= 0.525	
<i>Local de moradia</i>										
Alto da Conquista	344 (11)	3,20 (1,7-5,8)	130 (11)	8,6 (4,5-15,0)	105 (13)	12,4 (7,0-20,6)	354 (55)	15,5 (12,0-19,8)	127 (40)	31,5 (23,7-40,4)
Alto da Bondade	268 (11)	4,10 (2,2-7,4)	243 (12)	4,9 (2,7-8,7)	247 (12)	4,9 (2,6- 8,5)	269 (33)	12,3 (8,7-16,8)	247 (30)	12,2 (8,5-17,0)
Sapucaia	164 (02)	1,22 (0,2-4,8)	168 (02)	1,2 (0,2-4,7)	167 (02)	1,2 (0,2-4,8)	173 (28)	16,2 (11,2-22,7)	169 (24)	14,2 (9,5-20,6)
	$\chi^2=2.84$; p=0.241		$\chi^2=8.89$; p=0.012		$\chi^2=16.46$; p=0.000		$\chi^2=1.77$ p= 0.412		$\chi^2=23.59$; p= 0.000	

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: Na análise por grupo etário: gota espessa (n= 767, 9 sem informação sobre a idade); Knott (n=538, 3 sem informação sobre a idade); Filtração (n=516, 3 sem informação sobre a idade); Realizaram gota espessa 776/783, em 7 problemas com a amostra e não foram incluídos no cálculo da prevalência; Realizaram Knott 541/554, em 13 problemas com a amostra e não foram incluídos no cálculo da prevalência; Realizaram filtração 519/546, em 27 problemas com a amostra e não foram incluídos no cálculo da prevalência. ICT (n= 787,10 não tinham informação sobre a idade); Og4C3 (n= 539, 4 não tinham informação sobre a idade); Realizaram ICT 796/797, 1 apresentou resultado inválido no cartão e não foi incluído no cálculo da prevalência; Realizaram Og4C3 543/545, 2 apresentaram problemas com a amostra e não foram incluídas no cálculo da prevalência. χ^2 = qui-quadrado de Pearson; p= probabilidade.

Na comparação do desempenho dos testes parasitológicos e imunológicos em relação à filtração em membrana (padrão-ouro), observou-se que as técnicas de gota espessa e concentração de Knott apresentaram valores de sensibilidade semelhantes 85,2% (IC 95%: 65,4-95,1) e inferiores aos testes imunológicos (ICT e Og4C3), que apresentaram sensibilidade de 100%. Tanto os valores preditivos positivos e negativos da gota espessa e do Knott foram próximos a 100%. Os valores de VPP foram inferiores a 30% tanto para o ICT quanto para o Og4C3 (Tabela 5).

A fração de verdadeiros positivos pela gota espessa foi 85,2% enquanto que foi de 100,00 pelo ICT, havendo uma diferença de 14,4%. Com base nesses dados, pode-se estimar que para cada 1000 escolares com filariose testadas, o ICT detectaria 144 casos a mais do que a GE. A diferença de sensibilidade foi estatisticamente significativa (Teste de Fisher, $p=0,045$).

A razão de verossimilhança das técnicas imunológicas foi acentuadamente maior do que as técnicas parasitológicas. As chances de se obter resultados de testes ICT e Og4C3 positivos entre escolares com a doença em relação aos não doentes, foi 3,8 e 3,4 vezes maior, respectivamente.

Tabela 5 – Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia e razão de verossimilhança (LR) das técnicas de gota espessa, Knott, ICT e Og4C3 em relação à técnica de filtração em membrana (padrão-ouro)

Teste	Examinados n	Positivos n	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	VPP % (IC 95%)	VPN % (IC 95%)	Acurácia % (IC 95%)	LR+	LR-
<i>Gota espessa</i>	505*	24	85,2 (65,4-95,1)	99,8 (98,7-100)	95,8 (76,9-99,8)	99,2 (97,7-99,7)	99,0 (97,6-99,6)	0,88	0,99
<i>Knott</i>	507**	25	85,2 (65,4-95,1)	99,6 (98,3-99,9)	92,0 (72,5-98,6)	99,2 (97,7-99,7)	98,8 (97,3-99,5)	0,92	0,99
<i>ICT</i>	514***	103	100 (84,5-100)	84,4 (80,8-87,4)	26,2 (18,3-36,0)	100 (98,8-100)	85,2 (81,8-88,1)	3,81	1,18
<i>Og4C3</i>	515****	93	100 (84,5-100)	86,5 (83,0-89,3)	29,0 (20,3-39,5)	100 (98,9-100)	87,2 (83,9-89,9)	3,44	1,16

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: *número de crianças que foram examinadas pela técnica de gota espessa e filtração em membrana (padrão ouro) no mesmo momento; **número de crianças que foram examinadas pela técnica de concentração de Knott e filtração em membrana (padrão ouro) no mesmo momento. ***número de crianças que foram examinadas pela técnica de ICT e filtração em membrana (padrão ouro) no mesmo momento; ****número de crianças que foram examinadas pela técnica de concentração de Og4C3 e filtração em membrana (padrão ouro) no mesmo momento.

Foi observado que 76 crianças examinadas pelo teste do cartão ICT e 66 pelo teste Og4C3 foram consideradas negativas pelo teste padrão-ouro e positivas pelos testes imunológicos. Este fato influenciou diretamente na especificidade dos testes, que foi de 84,4% (IC 95%: 80,8-87,4) para o ICT e 86,5% (IC 95%: 83,0-89,3) para o Og4C3.

Os valores estimados para a especificidade do cartão ICT variaram de 85,5% a 100%, de acordo com a prevalência estimada pelo padrão-ouro, definido pela combinação dos diagnósticos dados pelas três técnicas parasitológicas (gota espessa, Knott e Filtração) e pelo teste do cartão ICT. A especificidade do teste Og4C3 variou entre 87,3% a 100%, com base na prevalência estimada pela combinação dos testes parasitológicos e ao mesmo tempo pelo Og4C3. A figura apresenta as curvas de especificidade do ICT e do Og4C3 e mostra que a especificidade do Og4C3 foi um pouco mais elevada do que o ICT para os diversos níveis de endemicidade (Figura 4).

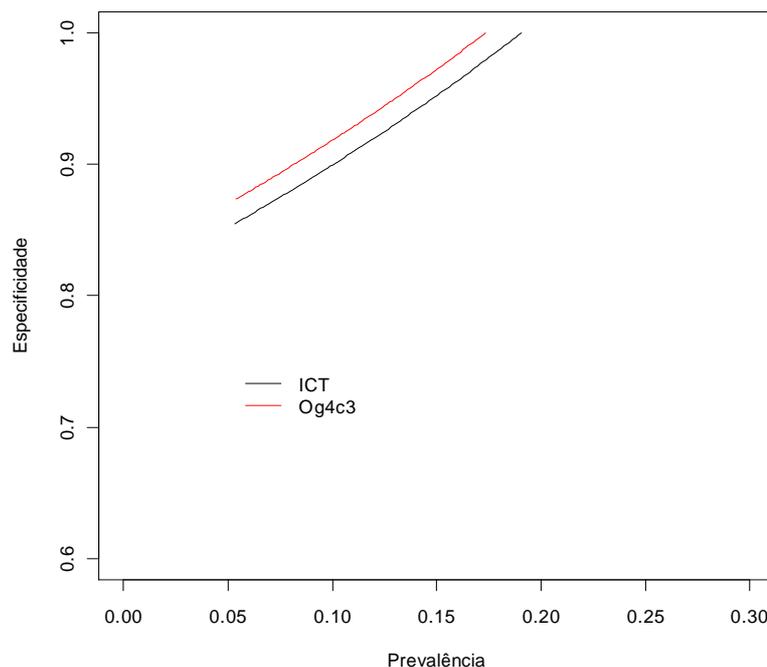


Figura 2 – Especificidade estimada do teste do cartão ICT e Og4C3 segundo a prevalência de filariose pela combinação dos testes parasitológicos

Fonte: Elaborado pela autora

5 DISCUSSÃO

A avaliação do desempenho dos testes para o diagnóstico da filariose bancroftiana na população infantil é de grande importância, considerando certas particularidades clínicas e epidemiológicas do grupo, tais como, a menor prevalência de infecção e menores densidades microfilarêmicas, que podem influenciar o desempenho dos testes diagnósticos (JAESCHKE et al., 1994; REID et al., 1995). Além disso, a população infantil tem sido proposta pela OMS como população sentinela para a avaliação da efetividade dos programas de eliminação nas áreas que estão sob intervenção.

A principal limitação do estudo esteve relacionada ao fato do padrão-ouro utilizado, a filtração em membrana de policarbonato, que mesmo apresentando maior sensibilidade em relação às demais técnicas parasitológicas, é um teste imperfeito, pois não é capaz de detectar as infecções amicrofilarêmicas. Essa é uma limitação que deve ser considerada quando se avalia um teste mais sensível do que o padrão-ouro, um vez que pode subestimar a especificidade do teste avaliado.

Os resultados do presente estudo mostram que a prevalência de filariose variou de acordo com o método empregado, tendo as estimadas pela técnica de filtração em membrana e pelos testes de pesquisa de antígeno filarial (teste imunocromatográfico e Og4C3-ELISA) sido acentuadamente mais elevadas. Observou-se que as prevalências obtidas pelos métodos imunológicos foram cerca de cinco vezes mais elevadas do que a observada pelo método da gota espessa, por exemplo. Esses dados confirmam os achados de estudos previamente realizados (BAL et al., 2009; CHANDRASENA et al., 2002; CHATEAU et al., 1994; FREEDMAN et al., 1997; ITOH et al., 1999; LAMMIE et al., 1994; NJENGA;WAMAE, 2001; OMAR et al., 2000; RAMZY et al., 1999; ROCHA et al., 1996; ROCHA et al., 2009) e mostram que uma parcela importante dos casos de infectados amicrofilarêmicos (portadores de vermes adultos) ou com baixa parasitemia na população de estudo não foi identificada por nenhum dos testes parasitológicos. Esses métodos, apesar de serem 100% específicos, apresentam baixa sensibilidade, particularmente nas infecções com baixa carga parasitária, que constituem uma importante parcela da população infantil (WITT; OTTESEN, 2001).

As médias de densidade microfilarêmicas pelas diferentes técnicas parasitológicas e a de antigenemia filarial, pelos métodos imunológicos, não diferiram quanto à idade e sexo na população de estudo, mostrando ter havido pouca variação das cargas parasitárias com a idade

e entre os sexos. Esses dados estão de acordo com os resultados de outros estudos epidemiológicos realizados em outras áreas endêmicas que tem observado elevações nas cargas parasitárias com a idade e na população masculina somente a partir da adolescência tardia (BAL et al., 2009; BRAGA et al., 1997, 2005; SHENOY, 2006; WITT; OTTESEN, 2001). Entretanto, as médias de densidade de microfilárias e de antigenemia filarial foram mais baixas entre as crianças residentes no bairro de Sapucaia, sugerindo uma menor intensidade de transmissão nessa área.

Quando se comparou a prevalência de microfilaremia, obtida pela técnica de gota espessa, com a prevalência de antigenemia estimada pelo teste do cartão ICT, (BAL et al., 2009; NJENGA; WAMAE, 2001; OMAR et al., 2000), as prevalências obtidas pelos testes imunológicos foram acentuadamente mais elevadas do que pelos testes parasitológicos, constatou-se que a prevalência estimada por essa técnica parasitológica foi subestimada, tendo a prevalência estimada pelo teste do cartão sido cinco vezes mais elevado. Esses resultados confirmam a inadequação do uso da gota espessa como método no diagnóstico clínico e em levantamentos epidemiológicos da filariose bancroftiana na população de escolares.

A prevalência de infecção estimada pela técnica de filtração em membrana foi a mais elevada dentre as técnicas parasitológicas, mesmo utilizando um volume de sangue igual ao utilizado na técnica de concentração de Knott. Esses dados mostram a menor sensibilidade da técnica de concentração de Knott em relação à filtração. No entanto, apesar da menor sensibilidade e de se tratar de técnica laboriosa, o método de Knott ainda é recomendado em áreas onde existe a necessidade de uma técnica mais sensível que a gota espessa, devido ao menor custo.

Quanto à idade, concordando com outros levantamentos epidemiológicos realizados na população pediátrica (BAL et al., 2009; LAMMIE et al., 1994; SHENOY 2006; SHENOY et al., 2007; WITT; OTTESEN, 2001), observou-se níveis de prevalência de microfilaremia pela técnica da gota espessa cerca de duas vezes menores no grupo etário mais jovem quando comparado ao grupo etário mais velho, tendo essa diferença sido mais acentuada pelas técnicas de concentração de Knott e filtração em membrana. No entanto, ao contrário da prevalência obtida pelas técnicas parasitológicas, essas diferenças não foram encontradas quando os métodos imunológicos foram utilizados. Esse fato é possivelmente explicado pela maior frequência de casos de infecções filariais com imaturidade sexual dos vermes adultos, nas quais ainda não há a produção de microfilárias, nas crianças mais jovens, quando

comparadas as com idade mais elevada. Conseqüentemente, há um maior percentual de infecções filariais não diagnosticadas nas crianças de 4 a 9 anos.

Quanto ao sexo, embora a prevalência de infecção filarial nas meninas tenha sido um pouco menor quando comparada a dos meninos, em todas as técnicas utilizadas, com exceção do teste do cartão, não houve diferenças estatisticamente significante entre os grupos. Esses dados concordam com os dados da literatura que, diferente da população adulta, na qual geralmente se observa prevalência de infecção mais elevada nos homens, mostram não haver diferenças entre os sexos nas prevalências de infecção filarial entre as crianças (BRAGA et al., 1997, 1998, 2005; WITT; OTTESEN, 2001).

A técnica de concentração de Knott e filtração em membrana apresentaram as maiores prevalências de microfilaremia em relação ao local de moradia do bairro do Alto da Conquista. A prevalência foi cerca de duas a três vezes maiores que em relação aos outros bairros. O teste Og4C3-ELISA apresentou uma prevalência de antigenemia filarial cerca de três vezes mais elevada no bairro do Alto da Conquista do que em relação aos outros bairros. Podemos explicar essa prevalência tão elevada neste bairro devido ao teste Og4C3-ELISA ser um teste quantitativo identificando como positivos indivíduos com níveis de antigenemia limítrofes e próximos ao ponto de corte.

A sensibilidade das técnicas de gota espessa e de concentração de Knott foram semelhantes, apesar da gota espessa utilizar um volume de sangue bem inferior. Como a amostra é composta em sua maioria por crianças e adolescentes, as quais, em geral, possuem período de exposição mais curto em relação à população adulta, conseqüentemente, constituído por uma maior freqüência de casos de infecções em sua fase mais precoce, cujos vermes adultos ainda imaturos, são incapazes de produzir microfíliarias, a sensibilidade das técnicas parasitológicas tende a ser menor nessa população. Dreyer et al. (1996) demonstraram que a sensibilidade da GE está diretamente relacionada com a densidade de MF/ml, ou seja, ela apresenta uma boa sensibilidade quando a microfilaremia estiver acima de 30 MF/ml.

Portanto, esses métodos perdem a utilidade em inquéritos realizados nessa população específica. Por outro lado, os testes imunológicos são capazes de identificar infecções amicrofilarêmicas ou de baixa carga parasitária e neste estudo mostraram 100% de sensibilidade em relação à filtração em membrana, o padrão-ouro utilizado nesse estudo.

Além disso, avaliando a fração de verdadeiros positivos pela gota espessa em relação ao ICT constatou-se que o teste do cartão ICT, de cada 1000 crianças com filariose, foi capaz

de identificar cerca de cento e cinquenta mais casos de filariose do que a gota espessa. As técnicas imunológicas também apresentaram melhor desempenho que os testes parasitológicos quando medimos a razão de verossimilhança onde as chances de se obter resultados positivos foram cerca de três vezes maior. Esses resultados mostram ser o ICT o teste mais apropriado no rastreamento de casos de infecção filarial na população escolar.

A análise comparativa da especificidade dos testes imunocromatográfico e Og4C3 ELISA em relação aos testes parasitológicos mostraram que esse último apresentou níveis de especificidades ligeiramente superiores ao teste do cartão ICT nos diversos níveis de prevalência. Ao se aplicar a fórmula de Staquet, observou-se que a especificidade do Og4C3-ELISA foi uniformemente mais elevada do que a do cartão ICT em todos os níveis de endemicidade calculados. Estimou-se os valores da especificidade pela prevalência da filariose, utilizando como padrão-ouro a combinação dos testes parasitológicos, também foi encontrado uma discreta elevação da especificidade do teste Og4C3-ELISA. Esses dados sugerem que o Og4C3 juntamente com a técnica da filtração em membrana seria a técnica mais apropriada para a avaliação da quebra da transmissão em áreas com programas de eliminação em andamento.

6 CONCLUSÕES

Confirmando dados da literatura, a análise comparativa da acurácia dos testes parasitológicos e imunológicos utilizados no diagnóstico da filariose bancroftiana em escolares, mostrou que os testes imunológicos Og4C3-ELISA e do cartão ICT apresentaram sensibilidade mais elevada do que as técnicas parasitológicas gota espessa e concentração de Knott. Conclui-se que são os métodos mais adequados para o rastreamento da infecção nessa população.

As cargas parasitárias e os níveis de antigenemia não variaram com idade e sexo. Quanto ao local de moradia, observou-se que os níveis médios de densidade de microfilaremia e de antigenemia foram mais baixos no bairro de Sapucaia.

O teste Og4C3 foi mais específico que o teste do cartão ICT nos diferentes níveis de prevalência.

A sensibilidade das técnicas de gota espessa e concentração de Knott foram semelhantes na população estudada.

Conclui-se que as técnicas de filtração e Og4C3 são as mais apropriadas para a avaliação de transmissão em áreas com programas de eliminação em andamento.

REFERÊNCIAS

- AMBROISE-THOMAS, P. Immunological diagnosis of human filariasis: present possibilities, difficulties and limitations. Acta Tropica, Basel, v. 31, p. 108-128, 1974.
- BAL, M. S. et al. Antigenemia in young children living in *Wuchereria bancrofti* – endemic areas of Orissa, India. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 103, p. 262-265, 2009.
- BELL, D. Membrane filters and microfilarial surveys on day blood. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 61, p. 220-223, 1967.
- BRAGA, C. et al. Perfil epidemiológico da filariose linfática em crianças residentes em áreas endêmicas. Jornal de Pediatria, Rio de Janeiro, v. 73, p. 95-100, 1997.
- BRAGA, C. et al. Risk factors for the occurrence of bancroftian filariasis infection in children living in endemic areas of northeast of Brazil. Journal of Tropical Pediatrics, Oxford, v. 44, p. 87-91, 1998.
- BRAGA, C. et al. Avaliação de indicador sócio-ambiental utilizado no rastreamento de áreas de transmissão de filariose linfática em espaços urbanos. Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.17, p.1211-1218, 2001.
- BRAGA, C. et al. Bancroftian filariasis in an endemic area of Brazil: differences between genders during puberty. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba, v.38, p. 224-228, 2005.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Síntese epidemiológica da filariose. Informe epidemiológico da filariose bancroftiana, Brasília, DF, maio 2006. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/filariose.pdf>>. Acesso em: 08 jul. 2010.
- BHUMIRATANA, A. et al. Field trial of the ICT filariasis for diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infections in an endemic population of Thailand. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health, Thailand, v. 30, p. 562-568, 1999.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (Estados Unidos da América). Recommendations of the International Task Force for Disease Eradication. Morbidity and Mortality Weekly Report, Atlanta, n. 42, p. 1-38, 1993.
- CHANDRASENA, T. et al. Evaluation of the ICT whole-blood antigen card test to detect infection due to *Wuchereria bancrofti* in Sri Lanka. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 96, p. 60-63, 2002.
- CHANDRASHEKAR, R. et al. Evaluation of a recombinant antigen-based antibody assay for diagnosis of bancroftian filariasis in Egypt. Molecular and Biochemical Parasitology, Amsterdam, v. 64, p. 261-271, 1994.

- CHANTEAU, S. et al. Og4C3 circulating antigen: a marker of infection and adult worm burden in *Wuchereria bancrofti* filariasis. The Journal of Infectious Diseases, Oxford, v. 170, p. 247-250, 1994.
- COX, F. Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem. Parasitology Today, Oxford, v. 16, p. 135, 2000.
- DENNIS, D.T.; KAEN, B.H. Isolation of microfilariae: report of new method. The Journal of Parasitology, Washington, v. 57, p. 1146-1147, 1971.
- DREYER, G.; MEDEIROS, Z. Filariose linfática: ainda um desafio. Ciência Hoje, Rio de Janeiro, v. 12, p. 6-7, 1990.
- DREYER, G. et al. Avaliação do teste de imunofluorescência indireta para diagnóstico da filariose bancroftiana usando a microfilária de *Wuchereria bancrofti* como antígeno, em Recife - PE, Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, v. 33, p. 397-404, 1991.
- DREYER, G. et al. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. Tropical Medicine and International Health, Oxford, v. 1, p. 264-272, 1996.
- DREYER, G.; NORÕES, J. Filariose bancroftiana: o reverso das alterações orgânicas. Jornal Brasileiro de Psiquiatria, Rio de Janeiro, v. 47, p. 227-231, 1998.
- DREYER, G et al. Lymphatic filariasis in children: adenopathy and its evolution in two young girls. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, v. 65, p. 204-207, 2001.
- DREYER, G.; ROCHA, A. Filariose bancroftiana. In: FERREIRA, W.; ÁVILA, S. Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. cap. 29, p. 299-306.
- EBERHARD, M. et al. Comparative densities of *Wuchereria bancrofti* microfilaria in paired samples of capillary and venous blood. Tropical Medicine and Parasitology, Stuttgart, v. 39, p. 295-298, 1988.
- EBERHARD, M. L.; LAMMIE, P. J. Laboratory diagnosis of filariasis. Clinics in Laboratory Medicine, Philadelphia, v. 11, p. 977-1010, 1991.
- EBRAHIM, G. J.; SULLIVAN, K. R. Tipos de estudos I. In: EBRAHIM, GJ, SULLIVAN KR. Métodos de Pesquisa em Saúde Materno Infantil. 1. ed. Recife: Bagaço. 1995. p. 89-103.
- FAIRLEY, N. H. Serologic and interdermal tests in filariasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 24, p. 635-648, 1937.
- FLAHAULT, A.; CADILHAC, M.; THOMAS, G. Sample size calculation should be performed for design accuracy in diagnostic test studies. Journal of Clinical Epidemiology, Oxford, v. 58, p. 859-862, 2005.

- FONTES, G. et al. Lymphatic filariasis in Brazilian urban area (Maceió, Alagoas). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 93, n. 6, p. 705-710, 1998.
- FREEDMAN, D. et al. Field trial of a rapid card test for *Wuchereria bancrofti*. The Lancet, London, v. 350, p. 1681, 1997.
- FREEDMAN, D. et al. Effect of aggressive prolonged diethylcarbamazine therapy on circulating antigen levels in bancroftian filariasis. Tropical Medicine and International Health, Oxford, v. 6, p. 37-41, 2001.
- FREITAS, H. et al. Workshop para a avaliação da situação epidemiológica da filariose linfática no Município de Belém, Pará, Norte do Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília, v. 41, p. 212-216, 2008.
- IBGE. Censo demográfico 2010: Características populacionais e domiciliares, Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br> >. Acesso em: 30 jun. 2010.
- GUBLER, D. et al. Comparisons of microfilaria density in blood samples by finger-prick, venipuncture, and ingestion by mosquitoes. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, v. 22, p. 174-178, 1973.
- GYAPONG, J. et al. Prevalence of hydrocele as a rapid diagnostic index for lymphatic filariasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 92, p. 40-43, 1998.
- HAWKING, F. Filariasis and its biological rhythms. Triangle, Basel, v. 7, p. 49-54, 1965.
- HAWKING, F. The 24-hours periodicity of microfilariae: biological mechanisms responsible for its production and control. Proceedings of the Royal Society of London - Series B - Biological sciences, London, v. 169, p. 59-76, 1967.
- ITOH, M. et al. *Wuchereria bancrofti* antigenemia in Sri Lanka. Tropical Medicine and International Health, Oxford, v. 4, p. 207-210, 1999.
- JAESCHKE, R.; GUYATT, G.; SACKETT, D.L. Users' Guides to the Medical Literature. III How to Use an Article About a Diagnostic Test. A. Are the Results of the Study Validated. JAMA, Chicago, v. 271, n. 5, p. 389-391, 1994.
- KIMURA, E.; PENAIÁ, L.; SPEARS, G. F. Comparison of methods for the detection of microfilaraemia in subperiodic bancroftian filariasis in Western Samoa. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, Bangkok, v. 15, p. 167-174, 1984.
- KNOTT, J.A. Method for making microfilarial surveys on day blood. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 32, p. 191-196, 1939.
- LALITHA, P. et al. Quantitative assessment of circulating antigens in human lymphatic filariasis: a field evaluation of monoclonal antibody-based ELISA using blood collected on filter strips. Tropical Medicine and International Health, Oxford, v. 3, p. 41-45, 1998.

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

LAMMIE, P. et al. Longitudinal analysis of the development of filarial infection and antifilarial immunity in a cohort of Haitian children. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, v. 59, p. 217-221, 1998.

LIMA, A. Situação epidemiológica da filariose linfática no foco endêmico de Maceió-Alagoas após a implantação do programa de eliminação. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

MCCARTHY, J. Diagnosis of lymphatic filarial infections. In: NUTMAN, T. Lymphatic Filariasis, 1. ed. London: Tropical Medicine, 2000. cap. 6, p. 127-150.

MELROSE, W. Lymphatic filariasis: new insights into an old disease. International Journal for Parasitology, New York, v. 32, p. 947-960, 2002.

MICHAEL, E.; BUNDY, D.A.P.; GRENFELL, B.T. Reassessing the global prevalence and distribution of lymphatic filariasis. Parasitology, London, v. 112, p. 409-428, 1996.

MICHAEL, E.; BUNDY, D.A.P. Global mapping of lymphatic filariasis. Parasitology Today, Cambridge, v. 13, p. 472-476, 1997.

MOLYNEUX, D. et al. Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem. Lymphatic filariasis: setting the scene for elimination. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 94, p. 589-591, 2000.

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

MORE, S.J.; COPEMAN, D.B. Antigen detection ELISA: pre-treatment of serum to reduce interferences by specific host antibodies. Tropical Medicine and Parasitology, Stuttgart, v. 42, p. 91-94, 1991.

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

NEWMAN, T.B.; BROWNER, W.S.; COMMINGS, S.R. Delineando estudos de testes medicos. In: HULLEY, S. Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p. 203-224.

NJENGA, S.M.; WAMAE, C.N. Evaluation of ICT filariasis card test using whole capillary blood: comparison with Knott's concentration and counting chamber methods. Journal of Parasitology, Lawrence, v. 87, n. 5, p. 1140-1143, 2001.

NUCHPRAYOON, S. et al. Endemic bancroftian filariasis in Thailand: detection by Og4C3 antigen capture ELISA and the Polymerase Chain Reaction. Journal of the Medical Association of Thailand, Bangkok, v. 84, n. 9, p. 1300-1307, 2001.

NUCHPRAYOON, S. et al. Comparative assessment of an Og4C3 ELISA and an ICT filariasis test: a study of Myanmar migrants in Thailand. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology, Bangkok, v. 21, p. 253-257, 2003.

OMAR, M. et al. Field evaluation of two diagnostic antigen tests for *Wuchereria bancrofti* infection among Indian expatriates in Saudi Arabia. Southeast Asian journal of tropical medicine and public health, Bangkok, v. 31, n. 2, p. 415-418, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Expert Committee on Filariasis: Lymphatic Filariasis, Fourth Report. Geneva, 1984. (Technical Report Series, n. 702)

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

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Monitoring and epidemiological assessment of the programme to eliminate lymphatic filariasis at implementation unit level. Geneva, 2005. (WHO/CDS/CPE/CEE/2005.50)

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis: Progress report on mass drug administration in 2007. Weekly Epidemiological Record, Geneva, v. 83, p. 333–348, 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis: Progress report on mass drug administration in 2009. Weekly Epidemiological Record, Geneva, v. 38, p. 365–372, 2010.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. Lymphatic filariasis elimination in the Americas. III Regional program manager's meeting. Port-Au-Prince, 2002.

OTTESEN, E. A. Filarial infections. Infectious disease clinics of North America, Philadelphia, v. 7, p. 619-633, 1993.

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

OTTESEN, E.A. Lymphatic filariasis: treatment, control and elimination. Advances in Parasitology, London, v. 61, p. 395-441, 2006.

OTTESEN, E. et al. The Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis: Health Impact after 8 Years. PloS Neglected Tropical Diseases, San Francisco, v. 2, n. 10, p. 1-12, 2008.

PANI, S. et al. Comparison of an immunochromatographic card test with night blood smear examination for detection of *Wuchereria bancrofti* microfilaria carriers. The National Medical Journal of India, New Delhi, v. 17, n. 6, p. 304-306, 2004.

RAMZY, R. et al. Efficient assessment of filariasis endemicity by screening for filarial antigenemia in a sentinel population. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 88, p. 41-44, 1994.

RAMZY, R. et al. Field evaluation of a rapid-format kit for the diagnosis of bancroftian filariasis in Egypt. East Mediterranean of Health Journal, Cairo, v. 5, p. 880-887, 1999.

REID, C.; LACHS, M.S.; FEINSTEIN, A.R. Use of methodological standards in diagnostic test research. JAMA, Chicago, v. 274, n. 8, p. 645-651, 1995.

ROCHA, A. Estudo imunológico da síndrome de eosinofilia pulmonar tropical causada pela filária e outros helmintos. 1995. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1995.

ROCHA, A. et al. Evaluation of the Og4C3 ELISA in *Wuchereria bancrofti* infection: infected persons with undetectable or ultra-low microfilarial densities. Tropical Medicine and International Health, Oxford, v. 1, p. 859-864, 1996.

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

ROCHA, A.; AYRES, C.J.; FURTADO, A. Molecular Approach in the diagnosis of lymphatic filariasis by *Wuchereria bancrofti*. Revista de Patologia Tropical, Goiânia, v. 31, n. 2, p. 161-174, 2002.

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

ROCHA, A. et al. Circulating filarial antigen in the hydrocele fluid from individuals living in a bancroftian filariasis área-Recife-Brasil, detected by the monoclonal antibody Og4C3-assay. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 99, p. 101-105, 2004a.

ROCHA, A. et al. Comparison of tests for the detection of circulating filarial antigen (Og4C3-ELISA and AD12-ICT) and ultrasound in diagnosis of lymphatic filariasis in individuals with microfilariae. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 104, n. 4, p. 621-625, 2009.

SACKETT, D.; HONES, R.B. The architecture of a diagnostic research. British Medical Journal, London, v. 321 p. 539-541, 2002.

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

SHENOY, R.K. Lymphatic filariasis in children. The Journal of Communicable Diseases, Delhi, v. 38, n. 2, p. 118-123, 2006.

SHENOY, R.K. et al. Preliminary findings from a cross-sectional study on lymphatic filariasis in children, in an area of India endemic for *Brugia malayi* infection. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, Liverpool, v. 101, n. 3, p. 205-213, 2007.

SIMONSEN, P.E.; DUNYO S.K. Comparative evaluation of three new tools for diagnosis of bancroftian filariasis based on detection of specific circulating antigens. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 93, n. 3, p. 278-282, 1999.

SCHUETZ, A. et al. Evaluation of the whole blood filariasis ICT test for short-term monitoring after antifilarial treatment. American Journal Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, v. 62, p. 502-503, 2000.

STAQUET, M. et al. Methodology for the assessment of new dichotomous diagnostic testes. Journal of Chronic Disease, Amsterdam, v. 34, p. 599-610, 1981.

TURNER, P. et al. A comparison of the Og4C3 antigen capture ELISA, the Knott, and IgG4 assay and clinical signs in the diagnosis of bancroftian filariasis. Tropical Medicine and Parasitology, Stuttgart, v. 44, p.45-48, 1993.

VOLLER, A.; De SAVIGNY, D. Diagnostic serology of tropical parasitic diseases. Journal of Immunology Methods, Netherlands, v. 46, p. 1-29, 1981.

WATTAL, S. et al. Evaluation of Og4C3 antigen ELISA as a tool for detection of bancroftian filariasis under lymphatic filariasis elimination programme. The Journal of Communicable Diseases, Delhi, v. 39, n. 2, p. 75-84, 2007.

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

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

WEIL, G.J.; RAMZY, R.M.R. Diagnostic tools for filariasis elimination programs. Trends in Parasitology, Oxford, v. 23, n. 2, p. 78-82, 2006.

WITT, C.; OTTESEN, E.A. Lymphatic filariasis: an infection of childhood. Tropical Medicine and International Health, Oxford, v. 6, n. 8, p. 582-606, 2001.

WORLD HEALTH ASSEMBLY, Geneva, 1997. Elimination of Lymphatic Filariasis as a Public Health Problem: Resolution 50.29. Geneva: Organização Mundial da Saúde, 1997.

ANEXOS

ANEXO B - PARECER CEP/CPqAM



Título do Projeto: Monitoramento da infecção por *Wuchereria bancrofti* em uma coorte de adultos e escolares submetidos ao tratamento em massa com Dietilcarbamazina em dois bairros de Olinda-PE, com vistas ao controle e eliminação

Pesquisador responsável: Abraham Rocha

Instituição onde se realizará o projeto: CPqAM/FIOCRUZ

Data de apresentação ao CEP: 25/09/2006

Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ: 74/06

Registro no CAEE: 0069.0.095.000-06

PARECER

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

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP e este parecer tem validade até 09 de novembro de 2009. Em caso de necessidade de renovação do Parecer, encaminhar relatório e atualização do projeto.

Recife, 09 de novembro de 2006.

Drª Ana Maria Aguiar dos Santos
Medica
Coordenadora
CEP/CPqAM/FIOCRUZ

Observação:

Anexos:

- Orientações ao pesquisador para projetos aprovados;
- Modelo de relatório anual com 1º prazo de entrega para 09/11/2007.

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



ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Filariose
Serviço de Referência Nacional em Filariose

Departamento de Parasitologia
Serviço de Referência Nacional em Filariose



Centro de Pesquisas
AGGEU
MAGALHÃES



Prefeitura Municipal de Olinda
Secretaria de Saúde

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____ autorizo
o menor _____ em participar como voluntário no projeto intitulado: “**Monitoramento da infecção por *Wuchereria bancrofti* em uma coorte de adultos e escolares submetidas ao tratamento em massa com dietilcarbamazina em dois bairros de Olinda-PE com vistas ao controle e eliminação da filariose linfática Sub-projeto 1: Validação dos métodos diagnósticos e avaliação do tratamento em massa, com dose única anual de Dietilcarbamazina, na infecção por *Wuchereria bancrofti* em escolares**”, desenvolvido pelo Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães- Serviço de Referência Nacional em Filariose – SRNF/CPQAM/FIOCRUZ em parceria com a Secretaria Municipal de Saúde de Olinda.

Recebi a informação que o propósito principal do referido projeto é descobrir, utilizando diferentes tipos de exames para filariose, se o participante da pesquisa é portador de filariose, uma doença causada por um verme que é transmitido pela picada da muriçoca. Fui informado (a) que crianças morando em áreas onde têm casos de filariose podem estar com esse verme e não apresentar quaisquer sintomas dessa doença. Assim é importante fazer os exames para filariose. Para o menor participar da pesquisa precisa responder a um questionário com algumas perguntas sobre filariose e permitir a retirada de 7 ml de sangue da veia para a realização dos exames. Fui esclarecido (a) que a coleta do sangue ocorrerá com material (seringa e agulha) descartável e estéril (sem contaminação) e que será realizada uma punção na veia do braço e poderá ter como risco um desconforto e mancha roxa (hematoma) nesse local.

Concordo que, caso o menor, seja positivo para os exames para filariose, ou seja, sorteado dentro dos grupos dos negativos, realizar, além do exame de sangue, uma avaliação complementar através do exame clínico e a realização de ultra-sonografia. Se for menino, o exame de ultrassom será realizado na bolsa escrotal, axila, virilha e membros superiores e inferiores e, se for menina, na axila, virilha, membros superiores e inferiores, e nas mamas. Este exame é feito com uma sonda que irá passar pela sua pele e me foi explicado que não irá provocar dor nem danos ou qualquer agressão ao seu corpo. Foi-me explicado que esse exame é para tentar saber se ele (ela) tem vermes adultos de filárias nessas regiões do seu corpo.

Caso alguns dos exames de meu filho (ou dependente) seja positivo para filariose, concordo que ele ou ela se submeta a essas mesmas avaliações acima descritas durante os 4 anos seguintes para controle da doença. Fui esclarecido também, que devo comparecer com o menor no Ambulatório do Serviço de Referência Nacional em Filariose do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM/FIOCRUZ) onde será realizada a avaliação clínica e ultra-sonografia.

Desta forma, autorizo o laboratório do Departamento de Parasitologia do CPqAM - Serviço de Referência Nacional em Filariose a conservar, sob sua guarda, qualquer espécime coletado para exame de laboratório com o objetivo futuro de pesquisa médica ou educacional. Os registros médicos e dados de pesquisa serão considerados propriedades do Serviço de Referência Nacional em Filariose, e serão arquivados de acordo com as normas da ética médica, respeitando a —privacidade do menor. Fui informado(a) também, que qualquer outra pesquisa a ser realizada com o material estocado, eu serei contatado para autorização do seu uso.

Autorizo ainda a utilização destas informações médicas obtidas do menor, em reuniões, congressos e publicações científicas preservando, neste caso, a sua identidade.

Amabari Rocha
Téc. em Parasitol. FIOCRUZ
Coordenadora do SRNF-PE

Ana Aquino Sampaio
Téc. em Parasitol. FIOCRUZ
Coordenadora clínica

Zilmar Falcão
Médica Parasitóloga FIOCRUZ
Coordenadora de saúde epidemiológica

Luiz Cláudio de Amorim
Doutor em Parasitologia FIOCRUZ
Banco de qualidade laboratorial

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
Av. Moraes Paes, s/n - CEP: 55070-471 Recife-PE
Fone: (81) 2101-2500 - Fax: (81) 3453-1911
http://www.cpqam.fio-cruz.br - Bases de dados: Filariose.br

Esse "termo de consentimento" me foi totalmente explicado e eu entendi seu conteúdo. Finalmente, estou ciente que poderei recusar ou retirar meu consentimento, em qualquer momento da investigação, sem qualquer penalização.

Antes de minha participação neste projeto, o responsável ou outro profissional envolvido no trabalho, me forneceu informações detalhadas e me deu informações adicionais que eu necessitei para meu melhor entendimento, quando então, convidou **o menor** a participar do projeto através da assinatura desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, elaborado em duas vias, ficando uma comigo e outra arquivada com o responsável pelo projeto. Finalmente, estou ciente que poderei recusar ou retirar meu consentimento, em qualquer momento da investigação, sem qualquer prejuízo ao menor no tratamento realizado pela Secretaria Municipal de Olinda.

Contato para esclarecimentos futuros:

Responsável pelo projeto: Dr. Abraham Rocha – Fone (81) 21012575 ou 21012500 (PABX)

Para verificar a aprovação do presente projeto pelo Comitê de ética em pesquisa visite o site:

www.saude.gov.br/sisnep

Assinatura do responsável

Data

Endereço-

N.º Apt

Bairro

Cidade-Estado

CEP

Tel contato:

Assinatura Membro da Equipe de Pesquisa – CPqAM/Fiocruz

Data