



Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Aggeu Magalhães

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM  
SAÚDE

Josimara do Nascimento

**Avaliação da transmissão da filariose linfática, por xenomonitoramento  
molecular, em uma área de Recife, após o tratamento coletivo.**

Recife  
2022

Josimara do Nascimento

**Avaliação da transmissão da filariose linfática, por xenomonitoramento molecular, em uma área de Recife, após o tratamento coletivo.**

Dissertação de Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Cláudia Maria Fontes de Oliveira

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Alessandra Lima de Albuquerque

Recife

2022

Título do trabalho em inglês: Evaluation of lymphatic filariasis transmission, by molecular xenomonitoring, in the Recife area, after collective treatment.

O presente trabalho foi realizado com apoio de Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco. (FACEPE) - Código de Financiamento 001.

N244a Nascimento, Josimara do.  
Avaliação da transmissão da filariose linfática, por xenomonitoramento molecular, em uma área de Recife, após o tratamento coletivo / Josimara do Nascimento. -- 2022.  
62 p. : il.color, fotos, mapas.  
  
Orientadora: Cláudia Maria Fontes de Oliveira.  
Coorientadora: Alessandra Lima de Albuquerque.  
Dissertação (Mestrado Acadêmico em Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Aggeu Magalhães, Recife, 2022.  
Bibliografia: f. 1-54.  
  
1. Filariose Linfática. 2. Wuchereria bancrofti. 3. Culex. 4. Controle de Vetores de Doenças. I. Título.  
  
CDU 616.995.132

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Rede de Bibliotecas da Fiocruz com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecário responsável pela elaboração da ficha catalográfica: Adagilson Batista Bispo da Silva - CRB-1239  
Biblioteca Luciana Borges Abrantes dos Santos

Josimara do Nascimento

**Avaliação da transmissão da filariose linfática, por xenomonitoramento molecular, em uma área de Recife, após o tratamento coletivo.**

Dissertação de Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 16/12/2022

BANCA EXAMINADORA

---

Dr.<sup>a</sup> Zulma Maria de Medeiros  
Instituto Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz

---

Dr.<sup>a</sup> Eloína Maria de Mendonça Santos  
Instituto Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz

---

Dr.<sup>a</sup> Cláudia Maria Fontes de Oliveira  
Instituto Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz

*Aos meus amados pais.  
Às minhas orientadoras.  
A todos que permitiram a concretização deste projeto.*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos orixás e toda espiritualidade amiga, pelo amor revigorante.

À minha família, pelo amor, incentivo e carinho incondicional.

Aos meus amigos mais próximos por todo carinho, paciência e motivação.

À minha orientadora, Dra. Claudia Fontes, por todo incentivo, carinho e dedicação. Tê-la nessa jornada foi um privilégio. Eternamente grata pelo apoio.

À minha coorientadora, Dra. Alessandra Lima, por toda atenção, apoio e ensinamentos que foram fundamentais para concretização deste projeto.

Aos membros da banca, Dra. Zulma Medeiros e Dra. Eloína Santos pelas contribuições fundamentais dadas desde a qualificação deste projeto.

À Secretaria de Saúde do Recife pelo apoio operacional e informações prestadas, em especial Vânia Nunes e Raquel Pereira do CVA, e Érika Avelar Jatobá. À Ribeiro e demais Agentes de Combate à Endemias pela contribuição indispensável no trabalho de campo. Aos moradores do bairro de Água Fria que permitiram as atividades do projeto em suas casas.

Ao Instituto Aggeu Magalhães (IAM) e à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), que possibilitaram a execução desta pesquisa.

Ao programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde (PPGBBS) pela oportunidade de crescimento ofertada.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro por meio da concessão de bolsa.

## RESUMO

NASCIMENTO, J. Avaliação da transmissão da filariose linfática, por xenomonitoramento molecular, em uma área de Recife, após o tratamento coletivo. 2022. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde) - Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2022.

No Brasil, a filariose linfática (FL) é causada, exclusivamente, pelo verme filarial *Wuchereria bancrofti*, que é veiculado unicamente pelo mosquito *Culex quinquefasciatus*. Recife, no Nordeste brasileiro, foi um dos últimos locais no país a registrar casos de infecção filarial (humana e vetorial). Após ações bem-sucedidas do Plano Nacional de Eliminação da Filariose (PNEFL), com o Tratamento Coletivo (TC) e a Pesquisa de Avaliação de Transmissão, do inglês, *Transmission Assessment Survey* (TAS), a interrupção da transmissão da FL na cidade tem sido considerada. No entanto, devido a uma diversidade de fatores que possibilitam a existência de focos residuais ativos de infecção, inquéritos complementares devem ser realizados para evitar o recrudescimento da doença. Nesse contexto, este estudo propôs-se a avaliar o perfil de transmissão da filariose linfática (FL) em uma área do Recife após tratamento coletivo, utilizando o xenomonitoramento molecular (XM). O estudo foi conduzido em Água Fria, Recife, Pernambuco, Brasil, que carrega um importante histórico de endemicidade da doença, tendo recebido ações prioritárias do PNEFL. Após uma década do último TC realizado no bairro, foram capturados mosquitos em 200 imóveis para avaliação da infecção vetorial. Verificou-se 677 fêmeas de *C. quinquefasciatus*, distribuídas em 189 *pools*. Todos os *pools* validados constaram negativos para infecção por *W. bancrofti*. Em paralelo, foram obtidas informações a respeito das condições mosquitogênicas do bairro, o que nos possibilita sugerir ações de vigilância continuadas em Água Fria, visto que este ainda apresenta fatores extremamente favoráveis à proliferação e manutenção de mosquitos, com elevadas densidades, contribuindo fortemente para disseminação de doenças.

**Palavras-chaves:** Filariose Linfática; *Wuchereria bancrofti*; *Culex quinquefasciatus*; Xenomonitoramento Molecular.

**Descritores DeCS:** Filariose Linfática; *Wuchereria bancrofti*; *Culex*; Controle de Vetores de Doenças.

## ABSTRACT

NASCIMENTO, J. Evaluation of lymphatic filariasis transmission, by molecular xenomonitoring, in the Recife area, after collective treatment. 2022. Dissertation (Master in Biosciences and Biotechnology in Health) - Aggeu Magalhães Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Recife, 2022.

In Brazil, lymphatic filariasis (LF) is caused exclusively by the filarial worm *Wuchereria bancrofti*, which is transmitted exclusively by the *Culex quinquefasciatus* mosquito. Recife, in the Brazilian Northeast, was one of the last places in the country to register cases of filarial infection (human and vectorial). After successful actions of the National Plan for the Elimination of Filariasis (PNEFL), with the Collective Treatment (CT) and the Transmission Assessment Survey (TAS), the interruption of LF transmission in the city has been considered. However, due to a diversity of factors that allow the existence of active residual foci of infection, complementary surveys should be carried out to prevent the recrudescence of the disease. In this context, this study proposed to evaluate the transmission profile of lymphatic filariasis (LF) in an area of Recife after collective treatment, by means of a vector survey using molecular xenomonitoring (MX). The study was conducted in Água Fria, Recife, Pernambuco, Brazil, which carries an important history of endemicity of the disease, having received priority actions from the PNEFL. After a decade of the last CT performed in this neighborhood, mosquitoes were captured in 200 properties to assess vector infection. We found 677 females of *C. quinquefasciatus*, distributed in 189 pools. All pools validated were negative for *W. bancrofti* infection. In parallel, information was obtained about the mosquitogenic conditions of the neighborhood, which allows us to suggest continued surveillance actions in Água Fria, since it still presents extremely favorable factors for the proliferation and maintenance of mosquitoes, with high densities, strongly contributing to the dissemination of diseases.

**Keywords:** elephantiasis, filarial - lymphatic filariasis; *Wuchereria bancrofti*; *Culex quinquefasciatus*; molecular xenomonitoring.

**DeCS Descriptors:** Lymphatic Filariasis; *Wuchereria bancrofti*; *Culex*; Disease Vector Control.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Ciclo de transmissão da <i>Wuchereria bancrofti</i> no hospedeiro invertebrado e vertebrado.....	16
Figura 2 -	Fases evolutivas da <i>Wuchereria bancrofti</i> : forma adulta e microfilária.....	17
Figura 3 -	Ciclo de vida do mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> : do ovo à fase adulta.....	19
Figura 4 -	Número de tratamentos em massa e percentual de microfilarêmicos por <i>Wuchereria bancrofti</i> na Região Metropolitana do Recife/PE, 2003-2017.....	28
Figura 5 -	Localização da área de estudo, Água Fria (em vermelho), na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil.....	34
Figura 6 -	Estrutura do aspirador entomológico em corte longitudinal (A) e operador manuseando-o na rotina de campo (B).....	36
Figura 7 -	Espécimes de <i>Culex quinquefasciatus</i> sob placa de Petri.....	37
Figura 8 -	Método de classificação da aparência externa do abdômen de fêmeas de mosquito em diferentes estágios de alimentação e desenvolvimento ovariano, de recém ingurgitada a grávida em aproximadamente 48h.....	47
Figura 9 -	Mapa de captura dos mosquitos e Kernel (densidade de fêmeas <i>C. quinquefasciatus</i> )	42
Figura 10 -	Fêmeas <i>C. quinquefasciatus</i> segregadas segundo enchimento do abdome.....	43
Figura 11 -	Gel de agarose exibindo Xenomonitoramento molecular por PCR <i>WbCx</i> com amostras de Água Fria, Recife, Brasil.....	43
Figura 12-	Criadouros extradomiciliares de mosquitos visualizados em Água Fria, Recife, Brasil.....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE	Agente de Combate às Endemias
AL	Alagoas
ALB	Albendazol
AM	Amazonas
ASA	Agente de Saúde Ambiental
BA	Bahia
Bti	<i>Bacillus israelensis</i>
CDC	<i>Centers for Diseases Control and Prevention</i> (Centro de Controle e Prevenção de Doenças)
DA	Densidade de adultos
DEC	Citrato de dietilcarbamazina
DNT	Doenças Tropicais Negligenciadas
DS	Distrito Sanitário
ELISA	<i>Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay</i> (Ensaio imunoadsorvente ligado à enzima)
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FL	Filariose linfática
FTS	<i>Filariasis Test Strip</i> (Teste rápido em fita para filariose)
GE	Teste da Gota Espessa
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICT-CARD	Teste imunocromatográfico em cartão
IVM	Ivermectina
Lsp	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>
L1	Larva de primeiro estágio
L2	Larva de segundo estágio
L3	Larva de terceiro estágio
L4	Larva de quarto estágio
MA	Maranhão
MDA	<i>Mass drug administration</i>
mf	Microfilária
MIV	Manejo Integrado de Vetores
MMIP	Manejo de Morbidade e Prevenção de Incapacidade
Og4C3	Anticorpos monoclonais Og4C3
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PA	Pará
pb	Pares de base
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
PE	Pernambuco
PGEFL	Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática
PNEFL	Plano Nacional de Eliminação da Filariose Linfática
qPCR	PCR em Tempo Real ( <i>Real Time Quantitative PCR</i> )
RMR	Região Metropolitana de Recife
RPA	Região Político Administrativa
RS	Rio Grande do Sul
SANAR	Plano para Redução e Eliminação das Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco

SC	Santa Catarina
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
SRCCV	Serviço de Referência no Controle de Culicídeos Vetores
SRNFL	Serviço de Referência Nacional em Filarioses
TAS	<i>Transmission Assessment Survey</i> (Pesquisa de Avaliação da Transmissão)
TC	Tratamento Coletivo
UA	Unidade de Avaliação
UI	Unidade de Implementação
WbCx	Protocolo de PCR para detecção de <i>Wuchereria bancrofti</i> em
PCR	<i>Culex quinquefasciatus</i>
XM	Xenomonitoramento Molecular

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL.....</b>	<b>15</b>
2.1	ASPECTOS GERAIS, CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA FL.....	15
2.2	<i>Wuchereria bancrofti</i> (SPIRURIDA: ONCHOCERCIDAE).....	15
2.3	<i>Culex quinquefasciatus</i> (DIPTERA: CULICIDAE) .....	18
2.4	ELIMINAÇÃO DA FILARIOSE LINFÁTICA.....	20
2.4.1	<b>Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática.....</b>	<b>20</b>
2.4.2	<b>Inquérito vetorial como ferramenta do Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática.....</b>	<b>22</b>
2.4.2.1	Xenomonitoramento molecular.....	23
2.4.3	<b>Controle de vetores no Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática.....</b>	<b>24</b>
2.4.4	<b>Plano Nacional de Eliminação da Filariose Linfática no Brasil.....</b>	<b>25</b>
2.5	FILARIOSE LINFÁTICA NO RECIFE.....	26
2.5.1	<b>Filariose linfática no bairro de Água Fria.....</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>32</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
4.1	GERAL.....	33
4.2	ESPECÍFICOS.....	33
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
5.1	ÁREA DE ESTUDO.....	34
5.1.1	<b>Mapa de captura dos mosquitos.....</b>	<b>35</b>
5.2	AMOSTRAGEM.....	35
5.2.1	<b>Triagem da amostra.....</b>	<b>36</b>
5.3	DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO VETORIAL.....	38

5.3.1	Preparação de homogenato.....	38
5.3.2	Extração de DNA.....	38
5.3.3	Reação em cadeia da polimerase (PCR) .....	39
5.4	COLETA DE DADOS MOSQUITOGÊNICOS.....	39
5.4.1	Análise estatística dos dados.....	40
5.5	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	40
6	<b>RESULTADOS</b> .....	41
6.1	AMOSTRAGEM.....	41
6.2	DETERMINAÇÃO DA TAXA DE INFECÇÃO VETORIAL.....	43
6.3	CONDIÇÕES MOSQUITOGÊNICAS PARA <i>C. quinquefasciatus</i> .....	44
7	<b>DISCUSSÃO</b> .....	45
8	<b>CONCLUSÃO</b> .....	49
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50
	<b>APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO</b> .....	55
	<b>APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO</b> .....	56
	<b>ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b> .....	57

## 1 INTRODUÇÃO

A filariose linfática (FL), doença tropical negligenciada (DTN), representa forte entrave ao desenvolvimento socioeconômico de países como o Brasil. Atualmente, estima-se que cerca de 863 milhões de pessoas distribuídas em 47 países estejam ameaçadas pela doença e que pelo menos 36 milhões apresentem manifestações crônicas debilitantes (BRASIL, 2011a; OMS, 2022). Nas Américas, é causada exclusivamente pelo nematódeo *Wuchereria bancrofti*, responsável por 90% de todos os casos no mundo, e transmitida unicamente pelo mosquito *Culex quinquefasciatus* (BRASIL, 2011).

O Brasil, signatário ao Programa Global para Eliminação da Filariose Linfática (MOLYNEUX *et al.*, 2000; BRASIL, 2009; OMS, 2021), encontra-se atualmente em processo de construção do dossiê para validação da eliminação da FL. Pernambuco, estado localizado na região Nordeste, registrou os últimos casos de infecção humana e vetorial, esses nos municípios de Recife, Olinda, Jaboatão dos Guararapes e Paulista, na Região Metropolitana do Recife (BRASIL, 2021).

Após uma década de ações de controle, representadas principalmente pela administração de drogas antifilárias às populações em risco, ou seja, do Tratamento Coletivo (TC), os resultados da *Transmission Assessment Survey* (TAS) apontam para a interrupção da transmissão da FL no Recife (BRASIL, 2021). No entanto, a OMS destaca a necessidade de uma vigilância contínua mesmo após o TAS para obtenção de evidências suficientes que comprovem o término da circulação da *W. bancrofti* e assegurem o não recrudescimento da FL (OMS, 2017).

Verifica-se que, diferentes fatores de risco, principalmente os socioambientais e econômicos, podem estar associados à existência de fontes residuais e manutenção da transmissão continuada da FL, algo comum mesmo em locais que passaram por extensivas rodadas de TC (NASCIMENTO *et al.*, 2018; MODI, *et al.*, 2021). À exemplo, o Sri Lanka, no qual em áreas que passaram por nove rodadas do TC ainda se detectou, por meio da alta sensibilidade do Xenomonitoramento Molecular (XM), a persistência da transmissão da FL mesmo a níveis extremamente baixos de infecção (Rao *et al.*, 2016).

Em Água Fria, bairro localizado na Zona Norte do Recife, que carrega um importante histórico de endemicidade da FL, ocorreu uma significativa redução da

densidade de microfilarêmicos e no número de mosquitos infectados, conseqüentemente (RECIFE, 2022). Porém, o último inquérito de infecção vetorial realizado no local ocorreu a mais de uma década, com uma técnica susceptível ao surgimento amostras falso-negativas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar, com um XM aprimorado, o perfil de transmissão da FL no bairro após 10 anos de interrupção do TC.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO-CONCEITUAL

### 2.1 ASPECTOS GERAIS, CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA FL

A filariose linfática (FL) consiste em uma infecção parasitária crônica de larga abrangência global, típica das regiões tropicais e subtropicais. É causada por helmintos do filo Nematodea das espécies *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), *Brugia malayi* (Bucley & Edeson, 1956) e *Brugia timori* (Partono, 1977), sendo a primeira responsável pelas infecções no Brasil e estima-se que seja o causador de 90% de todos os casos no mundo (BRASIL, 2009; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2021b). Esses vermes possuem como principais hospedeiros intermediários os mosquitos do gênero *Culex* (áreas urbanas e semi-urbanas), *Anopheles* (áreas rurais da África e em outros lugares) e *Aedes* (ilhas do Pacífico). Nas Américas, *Culex quinquefasciatus* é o vetor primário do verme porque apresenta características que o tornam mais eficiente que os demais culicídeos (REGIS *et al.*, 1995; OMS, 2022).

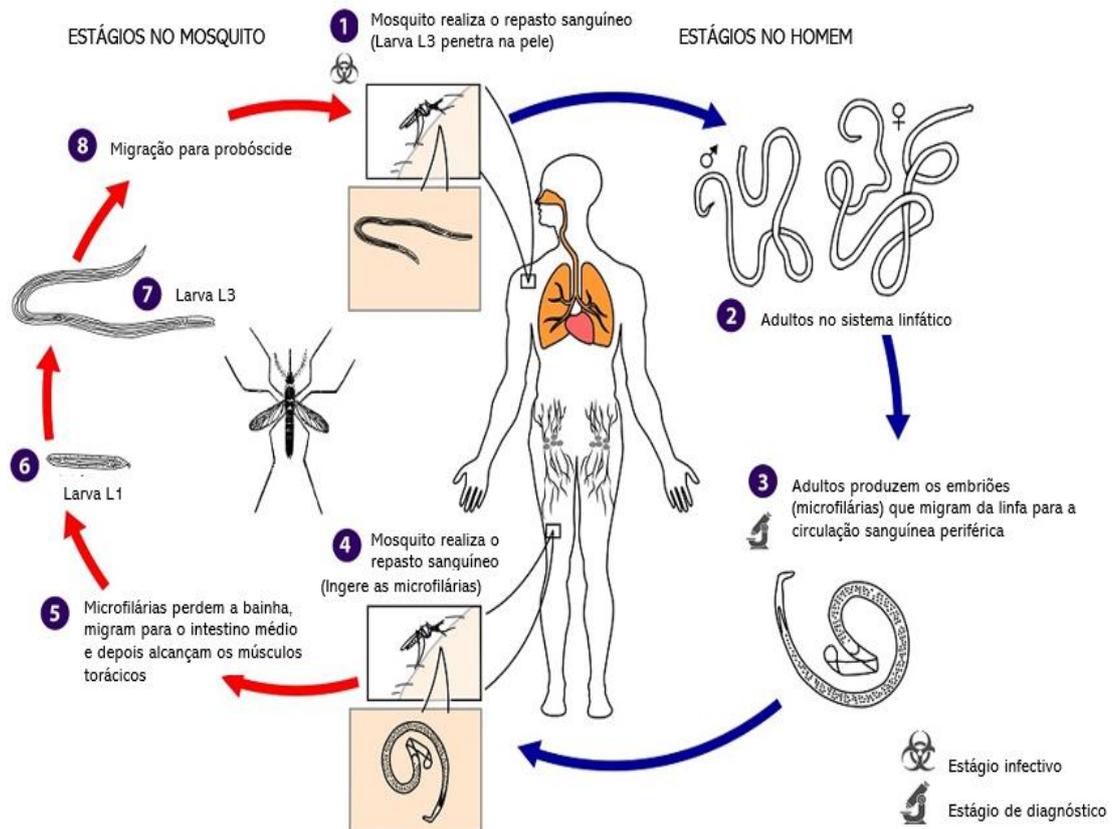
Atualmente, estima-se que 863 milhões de pessoas distribuídas em 47 países estejam ameaçadas pela FL e que pelo menos 36 milhões apresentem manifestações crônicas debilitantes. Estipula-se que 25 milhões de homens estejam acometidos pela hidrocele e mais de 15 milhões de pessoas com linfedema, principalmente mulheres (OMS, 2022). Classificada como uma DTN, afeta principalmente populações em situação de vulnerabilidade social, constituindo uma complexa relação bidirecional com a pobreza, pois ao mesmo tempo em que sua distribuição é facilitada por ela, também contribui para a persistência dessa condição econômica (MATTOS e DREYER, 2008; BRASIL, 2009; OMS, 2022).

Em ordem decrescente, o maior número de pessoas expostas à doença reside no Sudeste da Ásia, África, Mediterrâneo Oriental, Pacífico Oriental e Américas. Em relação a última região, cerca de 13,4 milhões de pessoas correm o risco de contrair a doença, estando essas distribuídas no Haiti, Guiana, Brasil e República Dominicana (ORIHÉL, 1985; OMS, 2019, 2022).

## 2.2 *Wuchereria bancrofti* (SPIRURIDA: ONCHOCERCIDAE)

Espécie dióica e heteroxênica, a *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), pertencente à ao filo Nematoda, superordem Spirurida e família Onchocercidae, é atribuída como agente etiológico exclusivo da filariose linfática nas Américas (OMS, 2022). Os estágios de maturação do verme ocorrem no hospedeiro invertebrado, o mosquito, e os de desenvolvimento com atividade reprodutiva no hospedeiro vertebrado, o homem (Figura 1) (NEVES *et al.*, 2016).

Figura 1 – Ciclo de transmissão da *Wuchereria bancrofti* no hospedeiro invertebrado e vertebrado

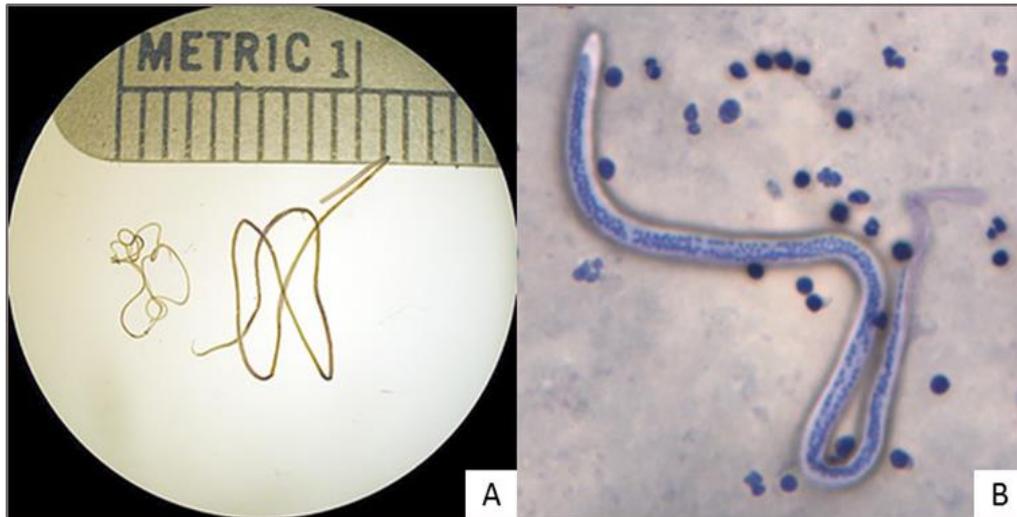


Fonte: Traduzido de CDC (2019).

No hospedeiro vertebrado, os vermes têm um período de desenvolvimento que varia de três meses a um ano. Induzem à patologia enovelando-se no sistema linfático humano, dilatando-o por meio de ações mecânicas e irritativas, condição denominada como linfangiectasia. Possuem tropismo pela região pélvica (afetando pernas e escroto), mamas e braços (mais raramente). Com a maturidade sexual

(Figura 2a), acasalam e passam a produzir milhares de embriões (microfilárias) (Figura 2b), os quais saem dos ductos linfáticos e ganham a circulação sanguínea em determinados períodos (BRASIL, 2009; NEVES *et al.*, 2016).

Figura 2 – Fases evolutivas da *Wuchereria bancrofti*: forma adulta e microfilária



Fonte: Compilado de CDC (2019)

Legenda: A: Adultos de *W. bancrofti*. O verme macho à esquerda e a fêmea à direita.

B: Microfilária de *W. bancrofti* em um esfregaço de sangue periférico corado com *Giemsa*.

As microfilárias medem de 250 a 300  $\mu\text{m}$  de comprimento e possuem uma bainha flexível, o que as diferencia de outros parasitos hemoscópicos (BRASIL, 2009). De forma peculiar, na maioria das regiões endêmicas para FL, esses embriões possuem periodicidade noturna, estando em maior concentração nos vasos periféricos em horários coincidentes com o de hematofagismo do mosquito *Culex quinquefasciatus*, que no Brasil corresponde entre 23:00h e 01:00h. Ao realizar o repasto sanguíneo em um indivíduo microfilarêmico, o mosquito ingere esses embriões que, em seu intestino médio, após poucas horas, perdem a bainha de revestimento, caem na cavidade geral e alojam-se nos músculos torácicos, onde fazem a primeira muda para a larva salsichóide ou L1 (larva de primeiro estágio). Entre seis e dez dias a larva sofre uma segunda muda, agora para L2 (larva de segundo estágio). Esse estágio larval cresce de forma significativa e, posteriormente, entre 10 e 15 dias, transforma-se em L3 (larva de terceiro estágio), também chamada de larva infectante, com cerca de 2 mm, a qual alcançará a probóscida do mosquito (NEVES *et al.*, 2016).

Em uma nova alimentação sanguínea, as larvas infectantes poderão escapar do lábio do mosquito e penetrar na solução de continuidade da pele, migrando para o sistema linfático, onde finalizam o processo de maturação, mantendo o ciclo de transmissão. Em temperaturas de 20 a 25° C, o processo de muda larval desse nematoide no artrópode vetor dura de 15 a 20 dias. Como o tempo médio de vida dos mosquitos do gênero *Culex* é curto, a fêmea infectada pode transmitir o parasito ao ser humano durante um curto intervalo de tempo. No humano, para que os vermes atinjam a maturidade sexual são levados oito meses, em média. Ao se encontrarem em um mesmo vaso, a *W. bancrofti* de sexos opostos e aptos ao acasalamento copulam, gerando as microfilárias. Desse modo, o indivíduo infectado passa a funcionar como fonte de infecção por longos períodos, que duram geralmente de quatro a oito anos (BRASIL, 2009; NEVES *et al.*, 2016).

### 2.3 *Culex quinquefasciatus* (DIPTERA: CULICIDAE)

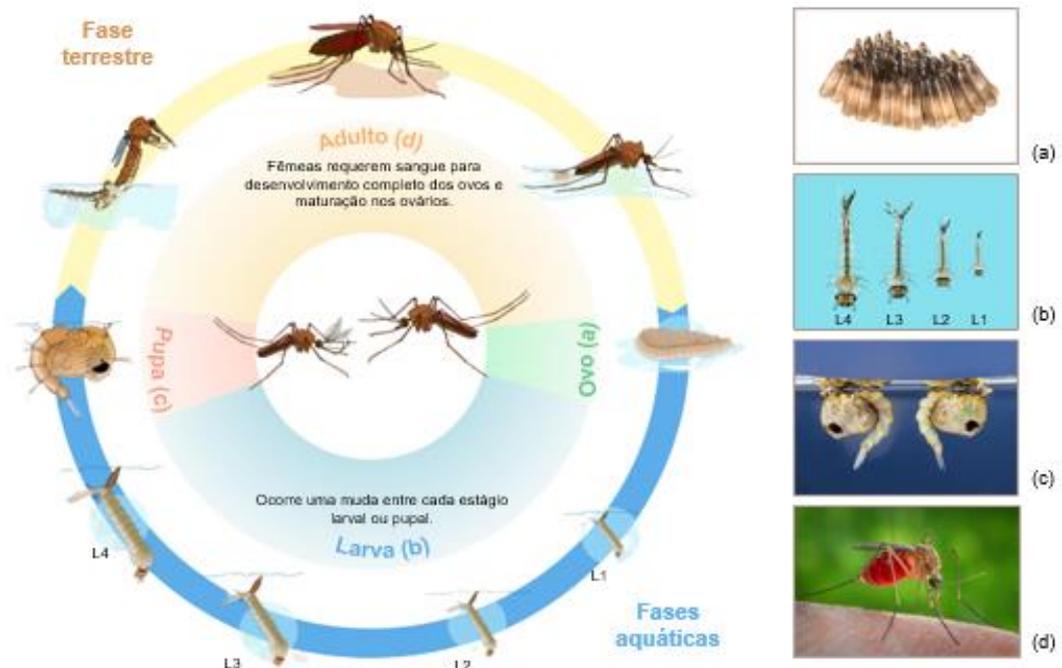
*Culex quinquefasciatus* (Say 1823), mosquito de porte médio e coloração marrom claro a escuro, possui ampla distribuição nas áreas urbanas entre as faixas equatorial e tropical. De comportamento acentuadamente antropofílico e endofílico, tem sua disseminação favorecida em locais com ausência de sistemas sanitários, infraestrutura deficiente e alto índice de ocupação humana. Dessa forma, o Brasil, país em desenvolvimento, ainda dispõe de abundantes cenários socioeconômicos e culturais bastantes favoráveis ao desenvolvimento massivo da espécie, cuja densidade populacional sofre flutuações ao longo do ano com picos nos meses quentes e chuvosos, geralmente (CONSOLI e OLIVEIRA, 1994; FORATTINI *et al.*, 2002).

Consoante com os demais culicídeos, *C. quinquefasciatus* apresenta uma metamorfose completa de desenvolvimento compreendida em quatro estágios (Figura 3): ovo, larvas (L1 a L4), pupa e a fase adulta, com duração média de 10 a 12 dias, ocorrendo em dois meios separados; aquático e terrestre. As fêmeas, que além de fitófagas são hematófagas obrigatórias, têm o homem como alvo preferencial para alimentação com sangue. Embora se abriguem nas habitações humanas durante o dia e à noite, esse hábito é estimulado apenas ao crepúsculo vespertino, atingindo o

pico por volta da meia-noite, que decresce até o crepúsculo matutino (CONSOLI e OLIVEIRA, 1994).

Após o repasto sanguíneo, passam por um período de inatividade relativa, no qual a atividade de voo é reduzida devido à elevação do volume corporal. Na ocasião, as fêmeas buscam por locais úmidos, escuros e com pouca ventilação para iniciar o processo de digestão e maturação dos ovos, os quais serão depositados na lâmina d'água dos criadouros, agrupados em forma de uma jangada (em média, composta por 150 ovos). Nesses ambientes, o baixo teor de oxigênio é geralmente desfavorável aos predadores e competidores, o que permite o aumento e dominância da população desse mosquito. A longevidade da espécie na fase adulta corresponde a cerca de dois meses, período no qual as fêmeas podem passar por quatro a cinco ciclos gonadotróficos de elevada fecundidade (CONSOLI e OLIVEIRA, 1994; RIBEIRO *et al.*, 2004).

Figura 3 – Ciclo de vida do mosquito *Culex quinquefasciatus*: do ovo à fase adulta



Fonte: A autora, a partir de CDC (2021).

Legenda: a – Ovos agrupados em formato de "jangada"; b – Larvas (L1 a L4, da direita para esquerda); c - Pupas; d - Adulto fêmea ingurgitada.

Nas Américas, além do mosquito *C. quinquefasciatus* ser o vetor primário da *W. bancrofti*, é reconhecido como um notável agente transmissor de patógenos como o vírus da encefalite de *Saint Louis* (MONDINI *et al.*, 2007; WEBER *et al.*, 2021), vírus do Nilo Ocidental (SILVA, 2016; COSTA *et al.*, 2019, 2021), vírus Zika (GUEDES *et al.*, 2017; VIVEIROS-ROSA *et al.*, 2020) e do Oropouche (ROMERO-ALVAREZ e ESCOBAR, 2018; AMORIM *et al.*, 2020). Dessa forma, no Brasil, sua ampla distribuição geográfica e abundância caracteriza-se como um problema no campo da saúde pública (FORATTINI, 2002; BRASIL, 2009; WERNER, 2019).

## 2.4 ELIMINAÇÃO DA FILARIOSE LINFÁTICA

### 2.4.1 Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática

Em 1993, a FL foi considerada uma doença potencialmente eliminável. Mediante a resolução WHA 50.29 (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 1997), a OMS dedica-se eliminar, até o ano de 2030, a doença como um problema de saúde pública nos países endêmicos por meio do PGEFL (OMS, 2013; 2021). Este, estabelecido em 2000, apresenta dois pilares: interromper a propagação da infecção pela administração em massa de drogas filaricidas (MDA), denominado no Brasil como TC; e contemplar os indivíduos doentes com ações de manejo de morbidade e prevenção de incapacidades (MMPI), visando amenizar o sofrimento das populações afetadas com as complicações crônicas e extremamente estigmatizantes da doença (OMS, 2013).

Segundo a OMS (2013, 2017), para lograr a eliminação da FL nas áreas endêmicas devem ser seguidas as etapas de: mapeamento geográfico de áreas endêmicas (prevalência de microfilaremia ou antigenemia igual ou superior a 1%); implementação do TC nas áreas com transmissão comprovada; vigilância pós-TC; validação da interrupção da transmissão; e implementação de uma vigilância pós-validação. Além disso, garantia da continuidade do pacote de MMPI.

O TC é sugerido por um período de quatro a seis anos, podendo ser aplicado em doses anuais ou semestrais. O número de rondas dessa estratégia é definido após avaliação de fatores como a prevalência inicial da infecção, eficácia dos medicamentos a serem fornecidos e combinações de parasitas e vetores presentes

na área endêmica. Deve cobrir, no mínimo, 65% da população elegível, que agrega os indivíduos a partir dos 4 aos 65 anos de idade de ambos os sexos. Além da população fora da faixa etária estabelecida, não são elegíveis gestantes, nutrizes e portadores de doenças crônicas (cardiopatas e renais crônicos) (BRASIL, 2009; OMS, 2013).

As drogas citrato de dietilcarbamazina (DEC) (6mg/kg), ivermectina (IVM) (150-200 µg/kg) e albendazol (ALB) (400 mg) são opções para o TC dessa filaria (OMS, 2013). O delineamento do regime terapêutico depende do perfil epidemiológico na área-alvo, se apresenta ou não coendemicidade da filariose linfática com outras doenças filariais. No entanto, a partir de 2017, a OMS passou a recomendar o uso da terapia tripla (ALB + IVM + DEC) para todos os locais, pois uma dose única dessa combinação é mais eficaz para alcançar e manter a eliminação de microfilárias do que as combinações padrão de duas drogas usadas inicialmente pelo PGEFL (OMS, 2017; 2022).

A interrupção do TC deve ocorrer quando a transmissão filarial na área-alvo, lendo-se como Unidade de Intervenção (UI), for considerada não sustentável. O acompanhamento da efetividade dessa estratégia abrange, além do levantamento da sua cobertura a cada ronda, a avaliação de áreas sentinelas e sítios de verificação aleatória antes da primeira, quarta (opcional) e sexta ronda de TC e, ainda, aplicação de pesquisas epidemiológicas robustas, denominadas por TAS, após cinco rondas, no mínimo, para determinar se nível de infecção impede a continuidade da circulação do verme filarial. Quanto à *W. bancrofti*, a prevalência de antigenemia no homem deve corresponder a < 2% quando o vetor for do gênero *Anopheles* ou *Culex*, e a < 1% quando *Aedes* (OMS, 2013; 2017).

O componente chave do TAS é a busca do verme filarial com população sentinela. Assim, o diagnóstico de infecção vetorial é complementar ao humano (BRASIL, 2009; OMS, 2017). Em humanos, a população-alvo do TAS é composta por escolares na faixa dos 6 a 7 anos. Pressupõe-se que esses indivíduos viveram a maior parte ou toda a vida na área endêmica. Dessa forma, caso o TC tenha sido efetivo, a taxa de infecção nessa população representará um baixo risco de transmissão da FL (OMS, 2015). Atualmente, essa avaliação é dada principalmente por meio da busca do antígeno circulante. Nos vetores, o diagnóstico de infecção pelo parasito filarial é possibilitado pela captura dos mosquitos fêmeas. A identificação de qualquer fase

evolutiva da filária em mosquitos indica a existência de um reservatório humano (LANEY, 2010; RAO *et al.*, 2014; CAMERON e RAMESH, 2021, PRYCE *et al.*, 2021).

O primeiro marco de eliminação da FL para um país é que 100% das áreas endêmicas passem pelo TAS para interromperem o TC. Em seguida, é preciso demonstrar uma redução sustentada da infecção abaixo do limite. Atualmente, a OMS sugere a repetição do TAS, pelo menos, entre dois a quatro anos após o término do TC. Um país atende aos critérios de validação de eliminação da FL se 100% das áreas endêmicas ao passarem por uma terceira e última TAS (OMS, 2013; 2017).

Essa validação corresponde à documentação da eliminação da FL como problema de saúde pública por meio de um dossiê, que reunirá as evidências epidemiológicas e históricas pormenorizadas da ausência de transmissão da doença, e reconhecimento da meta alcançada pela OMS. Não é um estado permanente, bem como não representa o fim das atividades do PGEFL. Dessa forma, mesmo que o TC não seja mais necessário, a vigilância pós-validação e disponibilidade do pacote de MMPI no sistema de saúde devem ser garantidas pelos programas nacionais (OMS, 2017).

Segundo a OMS (2022), até o momento, o PGEFL distribuiu mais de 8,6 bilhões de tratamento antifilarial para evitar a propagação da FL. O sucesso de suas intervenções levou à 692 milhões de pessoas a não requererem mais a quimioterapia preventiva, o que representa uma redução de 49% da população em risco de se infectar em 2000, com exclusão de 33 países da lista de locais endêmicos para a doença.

#### **2.4.2 Inquérito vetorial como ferramenta do Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática**

A seleção das ferramentas de diagnóstico para monitorar e avaliar o progresso dos programas nacionais de eliminação da FL apoia-se em fatores como sensibilidade e especificidade dos testes, viabilidade de implementação em campo, habilidade técnica requerida e valor de custeio. Atualmente, a OMS tem dado destaque às ferramentas de investigação não-invasivas da infecção filarial na população humana, que correspondem àquelas que permitem a busca do parasita no artrópode vetor, dito como inquérito vetorial. Nesse contexto, traz-se duas técnicas distintas: dissecação

para visualização das larvas de *W. bancrofti* e identificação do DNA pela reação em cadeia de polimerase - PCR (BRASIL, 2009; OMS, 2011).

A captura e dissecação de mosquitos provenientes de áreas endêmicas permite a identificação específica das larvas encontradas do parasito, bem como discriminar os diferentes estádios de maturação larval. Dessa forma, é eficaz na monitorização da prevalência de infecção e infectividade em populações de vetores, sendo considerado um método padrão em diferentes inquéritos epidemiológicos. No entanto, exige demasiado tempo e pessoal qualificado, não tendo seu emprego sugerido em situações que exigem uma amostragem robusta, ou em áreas endêmicas com mais de uma espécie de filarídeos (BRASIL, 2009; OKORIE *et al.*, 2015; RAO *et al.*, 2016). Por isso, esse método tem sido frequentemente substituído pelo XM, que emprega a técnica da PCR, descrita em 1996 por McCarthy, bastante explorada e reconhecida na literatura pela eficiência na detecção de DNA filarial em mosquitos (ZHONG *et al.*, 1996; SCHMAEDICK *et al.*, 2014).

#### 2.4.2.1 Xenomonitoramento molecular

O XM é uma ferramenta complementar extremamente promissora na vigilância da FL, exercendo o papel de preditor indireto da prevalência da infecção filarial na população humana (CHADEE *et al.*, 2002; FARID *et al.*, 2007; OMS, 2017; PRYCE e REIMER, 2021). Este pode ser utilizando tanto durante (RAMAIAH *et al.*, 2003; WEIL *et al.*, 2008; RAMAIAH *et al.*, 2011) quanto após o TC (RAMAIAH *et al.*, 2003; FARID *et al.*, 2007; RAMAIAH; VANAMAIL, 2013; SIMONSEN *et al.*, 2014; RAO *et al.*, 2014; PI-BANSA *et al.*, 2018; SUBRAMANIAN *et al.*, 2020; McPHERSON *et al.*, 2022) para verificação da efetividade das intervenções do PGEFL de forma poderosa, permitindo a avaliação de grandes populações de vetores em um curto período de tempo (LAU *et al.*, 2016; RAO *et al.*, 2017; SUBRAMANIAN *et al.*, 2020).

As diretrizes atuais da OMS não estabelecem recomendações quanto ao protocolo mais adequado de execução do XM voltado à FL, como tipo de PCR a ser aplicado (convencional, multiplex ou PCR em tempo real - qPCR) ou método de amostragem (OMS, 2013). Desse modo, a literatura carrega divergências metodológicas que são determinadas, geralmente, pelo objetivo do inquérito, localidade a ser investigada e disponibilidade de recursos. Apesar da falta de padronização, as pesquisas que aplicaram o XM demonstram sua alta eficácia. Afinal,

a ferramenta é capaz de identificar uma única filária em amostras contendo até 50 mosquitos, e amplificar genes de *W. bancrofti* em qualquer estágio de maturação larval (CHANTEAU *et al.*, 1994; FURTADO *et al.*, 1997; VASUKI *et al.*, 2012). Albuquerque e colaboradores (2020), por exemplo, tendo em vista defasagens de outras metodologias, desenvolveram um protocolo de PCR duplex para detecção do DNA da *W. bancrofti* no *C. quinquefasciatus*, denominado por *WbCx*, que aprimorado com controle endógeno (gene da actina) é capaz de detectar menos de uma larva filarial.

Essa sensibilidade e especificidade que caracteriza essa ferramenta torna-a extremamente importante nas áreas endêmicas que passaram por extensas rondas de TC, visto que a intervenção leva a uma expressiva redução nas taxas de infecção. Isso, por vezes, torna insuficiente a vigilância tradicional de FL em humanos para detectar áreas com transmissão muito baixa, porém persistente sua transmissão (RAO *et al.*, 2016; 2017; SUBRAMANIAN *et al.*, 2020).

Em um levantamento bibliográfico, Pryce e Reimer (2021) constataram que o XM detectou mosquitos positivos em 28 áreas onde as pesquisas de infecção em humanos pela pesquisa de microfilária (mf) falharam em detectar quaisquer indivíduos positivos, alcançando uma sensibilidade geral de 98,3% para detectar áreas positivas com microfilaremia. Tendo em vista que a endemicidade da FL está relacionada diretamente a determinantes sociais como a pobreza, desinformação, favelização e ausência de esgotamento sanitário (BRASIL, 2000), ainda é mais interessante uma vigilância que agregue o XM porque este, por sua vez, engloba as relações entre patógeno, vetor e contexto socioambiental e econômico. Desse modo, a ferramenta permite obter uma gama de informações da área-alvo (PI-BANSA *et al.*, 2018; CAMERON e RAMESH, 2021)

### **2.4.3 Controle de vetores no Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática**

O controle vetorial é classificado como estratégia suplementar pela OMS nas ações do PGEFL. Este tem historicamente contribuído para a eliminação da FL em muitos países que não aplicam a quimioterapia preventiva por meio do TC. As intervenções a serem implementadas variam de acordo com a espécie do parasita-

vetor, e quando bem-sucedidas aumentam o impacto das ações do PGEFL (OMS, 2022). No Brasil, onde o vetor da FL é unicamente a espécie *C. quinquefasciatus*, discute-se que o controle da filariose foi beneficiado por intervenções em campanhas contra outros patógenos transmitidos por mosquitos, tendo permitido a extinção da maioria dos focos de transmissão ativa da infecção no país (BRASIL, 2009).

*C. quinquefasciatus*, colonizador de habitats instáveis, possui elevadas taxas de fecundidade e índice reprodutivo, o que exige diferentes métodos de controle e vigilância para limitar sua capacidade reprodutiva e controlar sua população. Esses, por sua vez, devem ser contínuos, visto que a espécie, devido a essas características, apresenta rápida recuperação da densidade populacional (FORATTINI, 2002). Nesse contexto, enquadra-se o manejo integrado de vetores (MIV), que contempla intervenções com aplicação conjunta das três categorias: ordenamento ambiental (eliminação ou redução de locais de proliferação de mosquitos e diminuição da frequência do contato mosquito-homem); ações para prevenir a produção de mosquitos em criadouros potenciais que não podem ser extinguidos; e educação e mobilização social (a participação e colaboração da comunidade na operacionalização do MIV (BRASIL, 2011).

Desse modo, sabendo que o crescimento desordenado dos centros urbanos afeta positivamente a proliferação de *C. quinquefasciatus*, é necessário investimento em infraestrutura para controle da espécie. De forma similar, as obras de saneamento ambiental requerem atenção. Isso, como dito anteriormente, com a coparticipação da comunidade, visto que a maioria dos criadouros estão no ambiente peridomiciliar (REGIS *et al.*, 2013). Algumas estratégias de controle biológico também podem ser sugeridas para o controle da espécie. Nesse sentido, ressalta-se o bacilo entomopatogênico *Lysinibacillus sphaericus* (*Lsp*), que o modo geral de ação culmina na morte das larvas permite que seja aplicado nas coleções d'água preferenciais para reprodução da espécie (LACEY, 2007).

#### **2.4.4 Plano Nacional de Eliminação da Filariose Linfática no Brasil**

O perfil epidemiológico da filariose linfática no Brasil foi estabelecido na década de 1950, quando um inquérito epidemiológico buscando casos de microfilaremia apontou 89 localidades com transmissão ativa, sendo 11 com casos autóctones: São José da Ponta Grossa- SC, (14,5%); Belém-PA, (9,8%); Barra de Laguna-SC, (9,4%);

Recife-PE, (6,9%); Castro Alves-BA, (5,9%); Florianópolis-SC, (1,4%); São Luis-MA, (0,6%); Salvador-BA, (0,4%); Maceió-AL, (0,3%); Manaus-AM, (0,2%) e Porto Alegre-RS, (0,1%) (FONTES *et al.*, 2002). Durante cinco décadas as intervenções de controle seguiram centralizadas no tratamento dos infectados, controlando a maior parte desses focos (MEDEIROS *et. al*, 2003; BRASIL, 2009). A partir de 1997, norteado pelo PGEFL, o Brasil reuniu medidas com vista à eliminação dos focos endêmicos da FL restantes por meio PNEFL (BRASIL, 2011a).

Seu progresso levou à redução da maioria dos locais com transmissão da FL, na época Maceió (AL), Belém (PR) e os municípios de Recife, Olinda, Jaboatão dos Guararapes e Paulista (PE), com o TC como estratégia principal. Este com a administração massiva unicamente da DEC, sob protocolo de administração anual de 6 mg/Kg/dia por 12 dias, em áreas com prevalências  $\geq 1\%$  de microfilaremia ou antigenemia, em um período de quatro a seis anos, geralmente (BRASIL, 2011a).

Os últimos casos notificados de FL em humanos e de mosquitos infectados pela *W. bancrofti* foram apontados no estado de Pernambuco (PE) nos municípios de Recife, Olinda, Jaboatão dos Guararapes e Paulista. O TC foi realizado no período de 2003 a 2015 em Recife, Olinda e Jaboatão dos Guararapes. Em Paulista, ocorreu tratamento individual dos infectados devido sua menor taxa de infecção (BRASIL, 2009, 2021). O estado iniciou o TAS no ano de 2013, que, preconizado para ocorrer em três etapas com intervalos de dois anos, ainda está em execução da sua última etapa em uma Unidade de Avaliação (UA) de Jaboatão dos Guararapes (UA Jaboatão 2), isso devido interrupções acarretadas pela pandemia de COVID-19 (BRASIL, 2021). Esse evento emergencial de saúde pública possui o potencial de atrasar a eliminação da FL nas Américas (OPAS, 2020).

Quanto ao MMPI, necessário para prevenir o sofrimento e incapacidade dos que apresentam as manifestações crônicas da filariose linfática, o país ainda aguarda recursos para realizar atividades de vigilância, o que sugere uma defasagem de atenção em relação a esse pilar da morbidade (MEDEIROS *et al.*, 2022). Em Pernambuco, por exemplo, a rede de apoio a esses indivíduos ainda está em processo de implementação, discutindo-se as estratégias que serão utilizadas para o monitoramento da filariose linfática no pós-eliminação da doença (BRASIL, 2021).

## 2.5 FILARIOSE LINFÁTICA NO RECIFE

O Recife, capital pernambucana, é constituído por 94 bairros aglutinados em seis Regiões Político-Administrativas (RPA) e, quanto ao setor saúde, em 8 Distritos Sanitários (DS). Contrapondo o marco econômico que representa para seu estado, é reconhecido por problemas de saúde pública atrelados à baixa cobertura de serviços de esgotamento sanitário e outras deficiências infra estruturais (ALBUQUERQUE, 1993; IBGE, 2017; ARRUDA, 2019). Associado a esses fatores, as condições geofísicas da localidade reverberam na construção e manutenção de um oportuno espaço para proliferação de diversos vetores e patógenos, como o *C. quinquefasciatus* e o verme filarial *W. bancrofti* (BRASIL, 2000; 2021).

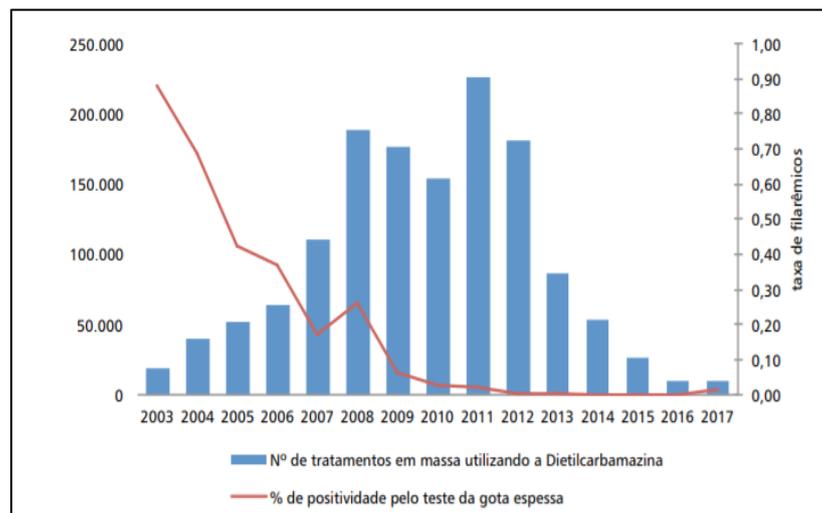
A presença desse verme foi detectada pela primeira vez no local em 1952 (AZEVEDO e DOBBIN, 1952), e desde então diversos levantamentos foram realizados. Um inquérito epidemiológico realizado entre agosto de 1999 e maio de 2000, com amostragem estratificada segundo os DS, cuja abrangência foi em 91 bairros, 529 setores censitários e atingiu um total de 18.279 pessoas. Esse inquérito foi capaz de demonstrar a existência de áreas de transmissão da FL em quase toda extensão territorial da cidade, apontando uma prevalência média de casos correspondente a 1,3%. No entanto, os níveis de endemicidade da FL, que variaram de baixo a intermediário entre as regiões, foram mais acentuados nas áreas periféricas, destacando o perfil urbano e focal de disseminação da doença (RECIFE, 2022).

Dada essas informações, entre 2001 e 2003, o enfrentamento da FL no Recife foi considerado primaz e dado por meio de um modelo de intervenção de base territorial alinhado com risco socioambiental de transmissão e nível de prevalência de microfilaremia nas diferentes regiões, determinando bairros prioritários. Assim, o foco das ações, que antes era sob os indivíduos, voltou-se para o espaço onde ocorre a FL (RECIFE, 2022). A partir de 2003, as intervenções foram intensificadas com o tratamento das pessoas infectadas pelo verme filarial, incremento no diagnóstico, e instituição da quimioterapia preventiva para as populações elegíveis em algumas microáreas prioritárias. O TC foi realizado por mais de cinco anos nas localidades de importante transmissibilidade.

De forma paralela, alguns desses locais receberam ações de controle vetorial, com a administração da bactéria entomopatogênicas *Lsp* em canais e canaletas

(RECIFE, 2002; ALBUQUERQUE, 2013). Segundo o Programa de Enfrentamento às Doenças Negligenciadas (SANAR), os resultados do TAS indicam o êxito do TC no Recife e demais municípios constituintes da Região Metropolitana do Recife (Figura 4) (OPAS, 2020; BRASIL, 2021).

Figura 4 – Número de tratamentos em massa e percentual de microfilarêmicos por *Wuchereria bancrofti* na Região Metropolitana do Recife/PE, 2003-2017



Fonte: Brasil (2021).

### 2.5.1 Filariose linfática no bairro de Água Fria

Água Fria localiza-se no Distrito Sanitário (DS) II do Recife. O inquérito epidemiológico supracitado demonstrou que uma porção desse distrito, cujos índices de desenvolvimento humano da cidade historicamente é um dos mais baixos da cidade, apresentou uma média de prevalência de microfilaremia de 5,5%, a maior encontrada no estado de Pernambuco. O local apresentou a segunda maior taxa de microfilarêmicos, correspondente a 6,27%, com os indivíduos infectados apresentando alta proporção de microfílarias por mililitro de sangue periférico. Desse modo, recebeu as intervenções da Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de forma prioritária, servindo como bairro piloto (RECIFE, 2022).

Rondas anuais com DEC (6mg/Kg/dia) ocorreram de 2003 a 2009, exceto para duas Equipes de Saúde da Família, que iniciaram o tratamento apenas em 2008, encerrando-o em 2012. A população elegível correspondeu aos indivíduos de ambos

os sexos a partir de 4 anos de idade residentes das microáreas endêmicas do bairro. Além dos indivíduos com idade inferior a essa, foram excluídos aqueles maiores de 65 anos, gestantes, mulheres no período de lactação e portadores de doenças crônicas (cardiopatas e renais crônicos), como recomenda a OMS (RECIFE, 2022).

A tabela 1 mostra que o TC alcançou uma cobertura média geral de 88,15%, com menor índice em 2004 (65,5%), e maior em 2006 (111,9%). Destaca-se que até o ano de 2007, a entrega da DEC seguiu o “modelo de campanha” no qual a própria população encarregava-se de recolher a droga nos postos de saúde. Com o objetivo de diluir a demanda dos Agentes de Combate à Endemias (ACEs) e ampliar a adesão e continuidade dos indivíduos ao tratamento, essa estratégia somou-se à busca ativa dos indivíduos elegíveis para o TC a partir de 2008, dito como “casa a casa” (RECIFE, 2022).

Tabela 1 – Rondas de tratamento coletivo no bairro de Água Fria, Recife-PE, Brasil

<b>Ano</b>	<b>Nº pessoas tratadas</b>	<b>Cobertura % (População elegível)</b>
2003	9.948	103,2
2004	8.096	65,5
2005	10.682	91,8
2006	12.394	111,9
2007	9.699	71,4
2008	18.225	90,8
2009	17.059	88,2
2010	5.228	86,3
2011	4.962	88,8
2012	4.864	83,6

Fonte: Elaborado pela autora a partir de dados secundários oriundos de Recife (2022).

Durante o monitoramento da infecção por *W. bancrofti* no DS II nos anos de 2003-2007, 2009 e 2010, uma coorte de microfilarêmicos com amostragem de 123 indivíduos fixos atestou a efetividade do TC na redução da densidade de microfilárias (mf) por mililitro (ml) de sangue periférico (Tabela 2). Os últimos dados fornecidos, correspondentes a 2009, penúltimo ano de inquérito, indicaram que apenas 1,6% da amostragem estava infectada, e esses indivíduos apresentaram apenas de 1 a 50 mf/ml (RECIFE, 2022).

Tabela 2 – Estudo de coorte de microfilarêmicos no Distrito Sanitário II

	2003		2004		2005		2006		2007		2009	
	Pré-tto		2º Tto		3º Tto		4º Tto		5º Tto		7º Tto	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>1 a 50mf/ml</b>	29	23,6	26	21,1	9	7,3	3	2,4	2	1,6	2	1,6
<b>51 a 100mf/ml</b>	11	8,9	9	7,3	2	1,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>101 a 500mf/ml</b>	45	36,6	14	11,4	1	0,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>&gt; 500mf/ml</b>	7	5,7	4	3,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<b>Positivo</b>	<b>92</b>	<b>74,8</b>	<b>53</b>	<b>43,1</b>	<b>12</b>	<b>9,7</b>	<b>3</b>	<b>2,4</b>	<b>2</b>	<b>1,6</b>	<b>2</b>	<b>1,6</b>
<b>Negativos</b>	12	9,8	46	37,3	76	61,8	67	54,5	49	39,8	71	57,7
<b>Não realizou coleta</b>	19	15,4	24	19,5	35	28,4	53	43,1	74	60,2	50	40,7
<b>Total</b>	<b>123</b>	<b>100</b>	<b>123</b>	<b>100</b>	<b>123</b>	<b>100</b>	<b>123</b>	<b>100</b>	<b>123</b>	<b>100</b>	<b>123</b>	<b>100</b>

Fonte: Elaborado pela autora a partir de dados secundários oriundos de Recife (2022).

Legenda: Tto: Tratamento Coletivo.

Seguindo as recomendações da OMS, como indicador de resultado do TC, também foi eleito na Unidade de Intervenção (UI) do bairro um “sítio sentinela”. A estratégia, dada por meio do teste da gota espessa (GE) para pesquisa de microfilária, ocorreu anualmente de 2009 a 2019, totalizando 9.346 pessoas avaliadas. Desse quantitativo, 500 indivíduos foram investigados durante todos os anos, enquanto outros 500 eram volantes dentro da área do TC. Nos anos concomitantes ao TC, de 2009 a 2012, a investigação ocorreu 6 meses após o TC (RECIFE, 2022).

O TAS no Recife teve como população-alvo indivíduos de 6 a 7 anos, alocados no 1º e 2º ano do Ensino Fundamental, de 10 instituições de ensino municipais. Para o inquérito, a metodologia diagnóstica escolhida foi o Teste em Tira da Filariose (FTS), sendo necessário cobrir, no mínimo, 75% da população-alvo por Unidade de Avaliação (UA). O bairro de Água Fria, juntamente com Alto Santa Terezinha e Linha do Tiro, compôs a UA Norte II, com um total de 52.330 moradores. O TAS nesse local ocorreu em três etapas, essas correspondentes aos anos de 2014, 2016 e 2018. No primeiro ano, foram avaliadas 10 escolas, tendo 95% dos indivíduos elegíveis testados. Na ocasião, todos os exames foram negativos. Em 2016, 19 escolas foram escolhidas, e 98% da população-alvo foi investigada, também havendo prevalência antigênica nula para *W. bancrofti*. No último ano do inquérito, com também 19 escolas albergadas pelo TAS e 92,9% da população elegível estudada, a UA apresentou o único caso positivo da cidade, esse proveniente de Água Fria (RECIFE, 2022). Após

tal pesquisa, não foram encontradas na literatura outras ações de vigilância em humanos (OMS, 2017).

Dentre as intervenções para as áreas endêmicas para FL, a Secretaria de Saúde do Recife estipulou mecanismos voltados à vigilância e controle do *Culex quinquefasciatus*, incluindo a investigação da infecção vetorial. Quanto a esse tópico, ocorreu uma parceria com o Serviço de Referência em Culicídeos Vetores do Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ/PE. O inquérito de infecção por *Wuchereria bancrofti* em Água Fria ocorreu de 2003 a 2007 e 2009, com capturas intradomiciliares de mosquitos, e indicou uma redução gradual significativa na taxa de infecção vetorial concordante com TAS (RECIFE. Secretaria Municipal de Saúde, comunicação pessoal, 2022).-Esse inquérito vetorial molecular ocorreu, no entanto, sem a presença de um controle endógeno, havendo a possibilidade de falsos-negativos surgirem. Especialmente, como a literatura sugere, pela investigação ter sido realizada após extensivas rodadas de TC (Rao *et al.*, 2016).

Durante o TC, ocorreram visitas de Agente de Saúde Ambiental (ASA) às residências para prestar orientações à população sobre a prevenção e eliminação de criadouros do *C. quinquefasciatus* e aplicação do *Lsp* nos criadouros não elimináveis. Armadilhas de captura de adultos foram dispersadas no bairro para avaliar o controle do mosquito e seu uso denotou uma redução superior a 80% na densidade populacional da espécie. No entanto, tais ações foram descontinuadas com a mudança da gestão municipal a partir do ano de 2009 (RECIFE, 2022).

Santos (2017) descreve uma ação de controle do mosquito vetor no bairro, quando tratou com biolarvicidas uma variedade de criadouros preferenciais para espécie (fossas sépticas, canais, canaletas, caixas de inspeção) em duas áreas durante um período de três anos (2010 a 2013). Foi demonstrado, pelo indicador entomológico de Densidade de Adultos (DA), que a medida acarretou significativa redução populacional da espécie. Atualmente, sabe-se que o programa de combate a endemias do Recife, por meio dos Agentes de Combate a Endemias (ACE), realiza visitas nos domicílios do bairro, geralmente bimensais, buscando identificar e tratar focos de mosquitos com esses biolarvicidas de forma semelhante (RECIFE, 2022).

### 3 JUSTIFICATIVA

As ações de vigilância sustentam o Plano Nacional de Eliminação da Filariose Linfática (PNEFL) norteando-o e possibilitando seu progresso. Recife, a capital pernambucana, foi um dos últimos locais no Brasil a detectar casos de indivíduos microfilarêmicos e mosquitos infectados pela *Wuchereria bancrofti*. Atualmente, estudos apontam a eliminação da circulação do patógeno na população humana na região. No entanto, diante da variedade de fatores que possibilitam a existência de focos residuais ativos de infecção, inquéritos complementares devem ser instaurados para evitar o recrudescimento da doença. Nesse contexto, este estudo propôs-se a avaliar, com um xenomonitoramento molecular aprimorado, o perfil de transmissão da filariose linfática (FL) em uma área do Recife após tratamento coletivo que traz um importante histórico de endemidade da filariose. Assim, este estudo forneceu suporte PNEFL por meio de laudos técnicos emitidos pelo Serviço de Referência em Controle de Culicídeos Vetores (SRCCV) a respeito do diagnóstico de infecção vetorial de *C. quinquefasciatus* por *W. bancrofti*.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 GERAL

Avaliar o perfil da transmissão da filariose linfática em uma área da cidade do Recife após tratamento coletivo por meio de um inquérito vetorial.

### 4.2 ESPECÍFICOS

- a) Elaborar mapa de risco de transmissão da filariose linfática com base no histórico de casos anteriores e/ou recentes (infecção vetorial e humana) fornecidos pelo Serviço de Referência Nacional para Filariose (SRNF), ou pelo município para orientar a captura do mosquito vetor;
- b) Coletar dados mosquitogênicos para *C. quinquefasciatus* na área de captura definida pelos mapas de risco de FL;
- c) Identificar a densidade e diversidade de culicídeos da amostragem realizada;
- d) Determinar a taxa de infecção vetorial de *C. quinquefasciatus* por *W. bancrofti*.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 ÁREA DE ESTUDO

Este estudo foi realizado no bairro de Água Fria, localizado na Zona Norte do Recife (8° 04' 03" S 34° 55' 00" W) (Figura 5), que ocupa uma extensão territorial de 193 hectares e possui com população residente aproximada de cerca de 43.530 habitantes distribuída em 12.294 domicílios (IBGE, 2017). Totalmente urbano, apresenta um clima tropical úmido, com temperatura média anual variando de 24°C a 27°C e umidade média relativa do ar de 84%. As chuvas ocorrem ao longo de todo o ano, com precipitações maiores nos meses de junho a setembro, e menores de outubro a fevereiro (INMET, 2020). Cenários característicos de um deficiente saneamento ambiental são comumente observados no local, sobretudo nas regiões periféricas, o que se torna condizente com o elevado grau de desigualdade de renda da capital em que se localiza e consequente inacessibilidade de parte da população a melhores condições habitacionais (SALATA e RIBEIRO, 2021). Tais condições climáticas e ambientais favorecem a presença de mosquitos ao longo de todo o ano.

Figura 5 – Localização da área de estudo, Água Fria (em vermelho), na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil



Fonte: Prefeitura do Recife (2006)

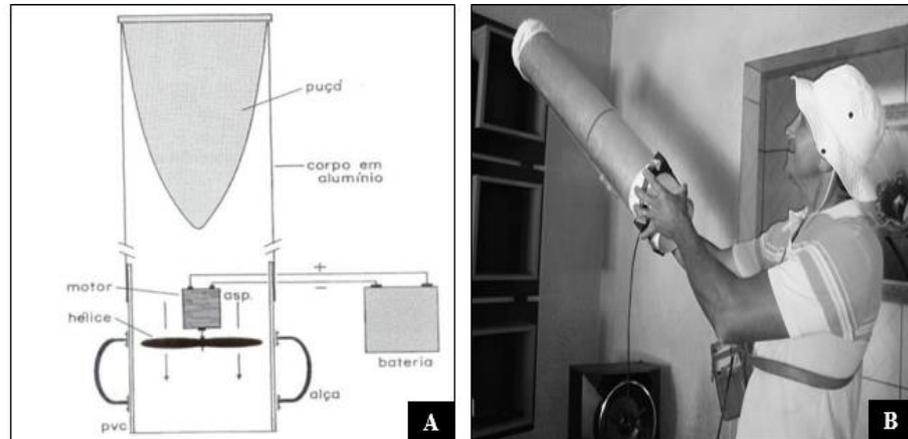
### 5.1.1 Mapa de captura dos mosquitos

A captura dos culicídeos foi direcionada pelo registro histórico de casos de infecção filarial humana (microfilaremia e antigenemia) e vetorial (diagnóstico molecular) por *W. bancrofti* do bairro. Foram levantados oito casos em humanos entre os anos de 2007 e 2012 (2007: 2 casos, 2008: 1 caso, 2010: 3 casos, 2011: 1 caso, 2012: 1 caso); e 24 *pools* de mosquitos positivos entre os anos de 2003 e 2005 (2003: 12 casos, 2004: 6 casos, 2005: 6 casos) (SRNF, comunicação pessoal, 2022). A plotagem dos logradouros de registro dos casos permitiu identificar zonas de risco com um raio de influência de 100m. Após subdivisão dessas regiões em quadrantes de 50 metros, foram elencados 200 imóveis para captura das fêmeas (Figura 9, subitem 6.1).

## 5.2 AMOSTRAGEM

Houve a captura intra e peri domiciliar de mosquitos em 200 imóveis. Foi dada pelos Agentes de Combate às Endemias (ACE) do município do Recife e agente de campo do Departamento de Entomologia do Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz Pernambuco, por meio do aspirador entomológico elétrico grande (HORST®) (Figura 6). Esse equipamento gera uma ventilação inversa que propicia a sucção do mosquito do ambiente e seu aprisionamento imediato, ainda vivo, em um saco de malha fina (saco de coleta). As aspirações ocorreram, em média, dois dias por semana, de setembro/2021 a maio/2022, no período da manhã, entre 8:00 e 12:00 horas, devido à maior probabilidade de capturar fêmeas. Durou por volta de 15 minutos/imóvel e os principais ambientes a serem visitados foram quartos, banheiros, por trás e embaixo de móveis, onde os mosquitos costumam se abrigar. Os sacos de coleta foram cuidadosamente encaminhados ao Serviço de Referência em Controle de Culicídeos Vetores do Departamento de Entomologia, FIOCRUZ/PE.

Figura 6 – Estrutura do aspirador entomológico em corte longitudinal (A) e operador manuseando-o na rotina de campo (B)



Fonte: Nascimento (2019).

### 5.2.1 Triagem da amostra

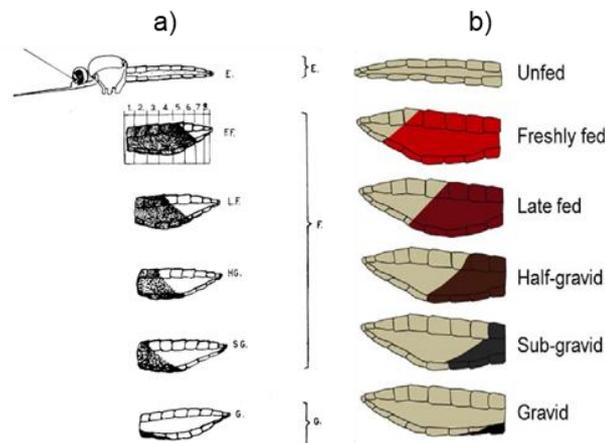
Inicialmente, os mosquitos foram adormecidos por congelamento, processo no qual foram armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 20 minutos. Após isso, foram transferidos dos sacos de coleta para uma placa de Petri (Figura 7), onde foram triados, em condições de resfriamento, quanto a espécie e sexo mediante chave dicotômica por Consoli; Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002). As fêmeas ingurgitadas e/ou grávidas da espécie *Culex quinquefasciatus* foram armazenadas em um mesmo *pool* de até 10 mosquitos em microtubos de 2 ml, enquanto as fêmeas com abdômen colapsado foram agrupadas em *pools* distintos (Figura 8) e então foram adicionados 300  $\mu\text{L}$  de *RNAlater*, reagente conservante. As amostras foram devidamente identificadas e armazenadas.

Figura 7 – Espécimes de *Culex quinquefasciatus* sob placa de Petri



Fonte: A autora (2022).

Figura 8 – Método de classificação da aparência externa do abdômen de fêmeas de mosquito em diferentes estágios de alimentação e desenvolvimento ovariano, de recém ingurgitada a grávida em aproximadamente 48h



Fonte: a) OMS (1975); b) Broom (2015).

Legenda: *Empty* ou *Unfed* - recém-emergidas ou paridas - inclui fêmeas que não realizaram novo repasto sanguíneo e o abdômen está colapsado. *Freshly fed* - ingurgitada - com sangue vermelho mais claro com ovário ocupando um espaço reduzido que vai progredindo para *late-fed*, enquanto o sangue vai sendo digerido e ocupando menos espaço no abdômen passando pelos estágios de semi-grávida (*Half-gravid* e *Sub-gravid*) até estar completamente grávida.

## 5.3 DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO VETORIAL

### 5.3.1 Preparação do homogenato

Após a remoção do *RNA later*, lavagem dos mosquitos e adição de 400 µl de água ultrapura nos *pools*, foram preparados macerados com auxílio de pistilos autoclaváveis e macerador elétrico portátil. Alíquotas de 200 µl do homogenato foram armazenadas no banco de amostras a -80°C e o volume restante seguiu para extração de DNA (AYRES *et al.*, 2002).

### 5.3.2 Extração de DNA

O DNA foi extraído seguindo protocolo minimamente modificado de Ayres e colaboradores (2002). Ao homogenato foi adicionado 400 µl de tampão de lise contendo NaCl 5M, EDTA 0,5M, Tris 1M e água miliQ, 72 µl de Dodecil Sulfato de

Sódio (SDS) 10%, e 7 µl de Proteinase K (10 mg/ml). Após a homogeneização, a mistura foi incubada a 65°C por 8 horas (*overnight*). Passada a incubação, foi adicionado 420 µl de NaCl 5M à suspensão, que vortexada por 1 minuto, seguiu para centrifugação a 14.000 rpm por 20 minutos. A fase aquosa foi transferida para um novo microtubo. Adicionou-se à amostra 700 µl de isopropanol e a incubou durante 1 hora para a precipitação do DNA, -20°C. Posteriormente, esta foi centrifugada a 14.000 rpm durante 20 minutos e descartou-se o sobrenadante. O *pellet* foi lavado com etanol a 70%, posteriormente centrifugado a 14.000 rpm durante 10 minutos. Novamente desprezou-se o sobrenadante. Após passagem no concentrador de amostras por 20 minutos, o sedimento de DNA foi ressuspendido em TE 1X (Tris 10mM, EDTA 1mM). Os *pools* que continham apenas 1 espécime em 50 µl e os com acima desse quantitativo em 100 µl de TE 1X. A concentração de DNA e pureza foram mensuradas com o auxílio do espectrofotômetro (Thermo Scientific NanoDrop™ 2000, Wilmington, USA). Foi extraído o DNA de 677 fêmeas de *C. quinquefasciatus* quanto à presença de *W. bancrofti*, distribuídas em 186 *pools*, os quais foram armazenados a -20°C.

### 5.3.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Neste estudo foi utilizado o protocolo PCR *WbCx* descrito por Albuquerque e colaboradores (2020). Este baseia-se na amplificação simultânea do DNA do verme e do mosquito com o propósito de evitar diagnósticos falso-negativos. Para as reações duplex foram utilizados um par de primers específicos para o nematódeo *Wuchereria bancrofti* – NV1/NV2 (fragmento de 188 pb); e um par de primers universais para *Culex quinquesfasciatus* – Act-2F/Act-8R (fragmento de 683 pb). Essas ocorreram com um volume final médio de 30 µl, com junção dos seguintes componentes: 20 µl de PCR Master Mix (Taq DNA polymerase, dNTPs e MgCl<sub>2</sub>) (Promega®, USA), 0,5 µl do primer NV1 (10 pmol) (5'CGTGATGGCATCAAAGTAGCG 3'), 0,5 µl do primer NV2 (10 pmol) (5'CCCTCACTTACCAAAGTAGCG 3') descritos por Zhong e colaboradores (1996), 0,36 µl do primer Act-2F (10 pmol) (5'ATGGTCGGYATGGGNCAGAAGGACTC 3'), 0,36 µl do primer Act-8R (10 pmol) (5'

GATTCATACCCAGGAAG-GADGG 3') descritos por Staley e colaboradores (2010) 6,9 µl H<sub>2</sub>O e 1-3 µl de DNA de fêmea(s) da espécie *C. quinquefasciatus*.

Para verificar possíveis contaminações, foram utilizados controles negativos contendo todos os reagentes, exceto o DNA extraído (amostra). Os controles positivos foram compostos por todos os reagentes, além de 1 µl do DNA do nematódeo *W. bancrofti*. As amostras foram amplificadas nas seguintes condições de ciclagem: 35 ciclos a 94°C durante 45 seg, 55°C durante 1 min, 72 C durante 45 segundos, seguido de uma extensão final a 72 ° C durante 10 min. Os produtos de PCR e o marcador de peso molecular foram analisados, durante 60 minutos, por eletroforese em gel de agarose a 2% em tampão de corrida TBE (Tris 45mM, ácido bórico 45mM, EDTA 1mM pH 8,0), corados com brometo de etídeo e visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (UV). Foram validadas 510 amostras em 140 *pools*.

#### 5.4 COLETA DE DADOS MOSQUITOGÊNICOS

Para avaliar a área no que tange as condições ambientais e mosquitogênicas, isto é, fatores favoráveis à proliferação de mosquitos, principalmente o *C. quinquefasciatus*, foi realizada uma varredura em 10 ruas e suas mediações, essas determinadas pelo mapa de risco de captura de mosquitos, por meio do *Google Street View*, recurso de acesso livre do *software Google Maps*. A ferramenta permitiu a visualização das ruas ao nível do solo, bem como documentar em imagens o ambiente, inclusive em diferentes períodos, contribuindo para a observação das transformações espaciais deste sofridas ao longo dos anos. Foi registrada a presença de criadouros extra e intradomiciliares e respectivas caracterizações (artificiais ou naturais; no solo ou recipientes; permanentes, semipermanentes ou temporários). O registro dessas características locais é importante para efeito de mapeamento de zonas de maior ou menor problema diante das ações de vigilância e monitoramento (BRASIL, 2011).

##### 5.4.1 Análise estatística dos dados

Para determinar a taxa de infecção vetorial, os dados foram analisados pelo modelo estatístico *Pool screen* (KATHOLI *et al.*, 1995), que observa o número de *pools*

analisados e o número total de *pools* positivos para *W. bancrofti*, com intervalo de confiança ao nível de 95%.

## 5.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Foi solicitado o preenchimento individual do Termo de Consentimento e Livre Esclarecido (TCLE) (APÊNCIDE A) pelos chefes dos imóveis elegíveis para a captura dos mosquitos. O estudo possui aprovação do Comitê de Ética do Instituto Aggeu Magalhães sob o CAAE nº. 07392812.6.0000.5190 (ANEXO A).

## 6 RESULTADOS

### 6.1 AMOSTRAGEM

Ao longo de oito meses de estudo, foram realizadas 227 visitas ao bairro de Água Fria para captura de mosquitos. No intradomicílio, as aspirações dos alados ocorreram em 1.178 cômodos (salas, quartos, banheiros, cozinhas, áreas de serviço, varandas, jardins e afins). De um total de 1.570 culicídeos de interesse médico obtidos, um percentual de 85,61% (1.334) correspondeu a espécimes-alvo, os demais foram do gênero *Aedes*. Dentre os 1.334 *C. quinquefasciatus*, foram capturados 667 machos e 677 fêmeas, em uma proporção de 1,01 ♀:1 ♂. Um percentual de 88,92% (602) das fêmeas estava com o abdome visivelmente preenchido (alimentada com sangue e/ou grávida). A amostragem de *C. quinquefasciatus* (Tabela 3) foi obtida espacialmente de forma heterogênea, sendo delimitadas áreas no mapa com maior densidade de adultos fêmea capturada (Figura 9).

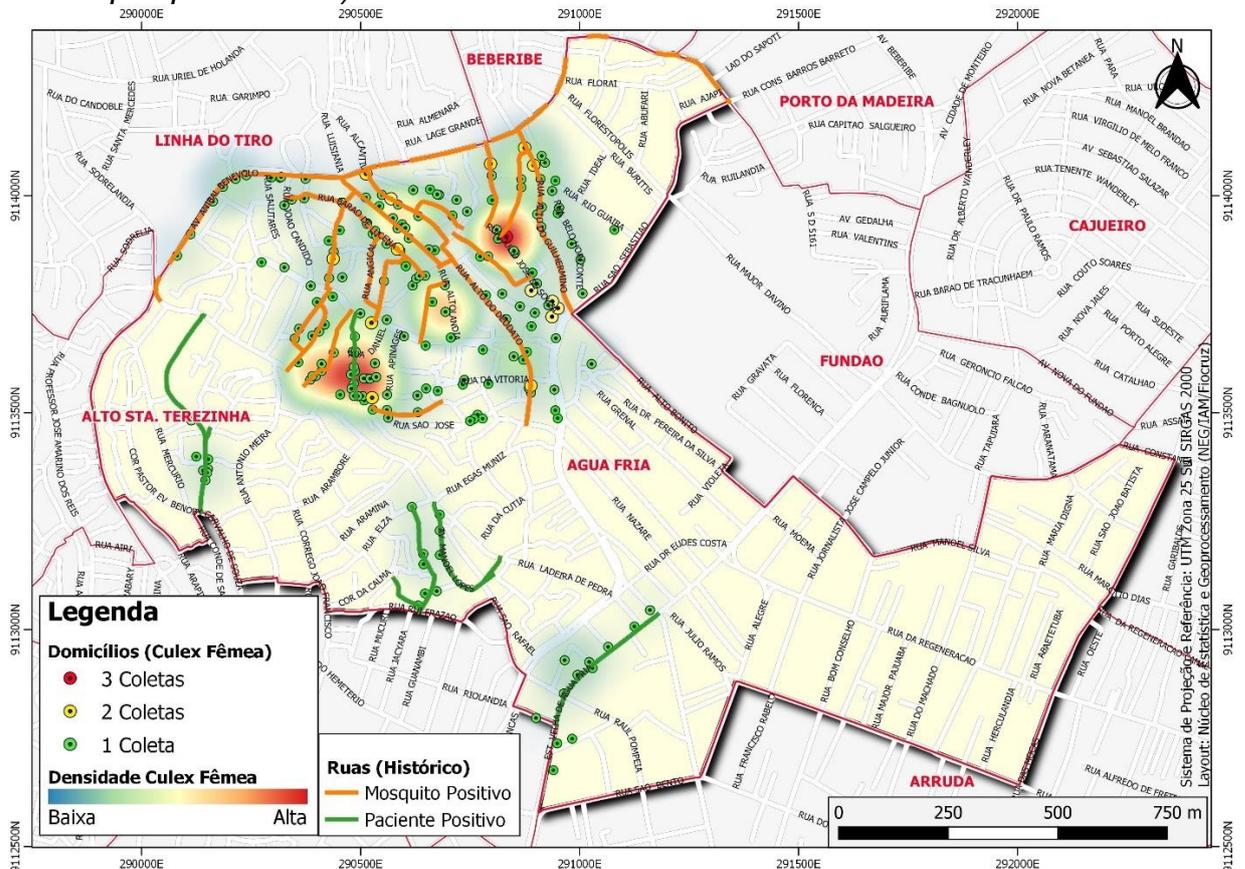
Tabela 3- Descrição da amostragem de mosquitos da espécie *C. quinquefasciatus* obtida no bairro de Água Fria de setembro a dezembro de 2021 e de fevereiro a abril de 2022

Mês/Ano	Dias de coleta	Visitas	Cômodos aspirados	<i>C. quinquefasciatus</i>		
				♂	♀	♀*
set/21	8	58	289	173	13	129
out/21	7	54	277	129	27	119
nov/21	5	51	274	141	12	118
dez/21	2	15	74	36	14	31
fev/22	2	21	101	23	0	26
mar/22	1	7	42	24	0	12
abr/22	1	11	59	48	0	73
mai/22	1	10	62	93	9	94
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>227</b>	<b>1178</b>	<b>667</b>	<b>75</b>	<b>602</b>

Fonte: A autora (2022).

Legenda: ♂: Adulto macho; ♀: Adulto fêmea não alimentada (vazia); ♀\*Adulto fêmea ingurgitada (com sangue) e/ou grávida (com ovos).

Figura 9 – Mapa de captura dos mosquitos e Kernel (densidade de fêmeas *C. quinquefasciatus*)



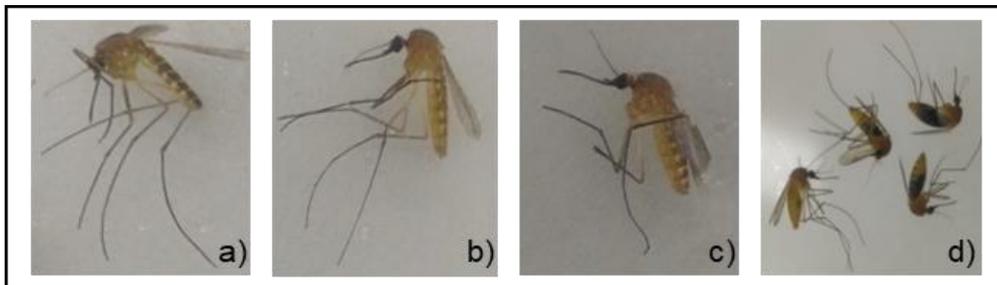
Fonte: Núcleo de Estatística e Geoprocessamento do IAM (2022).

Nota: O mapa de captura dos mosquitos foi delineado a partir do histórico de casos de infecção filarial (humana e vetorial) fornecido pelo Serviço Nacional de Referência para Filariose Linfática (SNRFL).

## 6.2 DETERMINAÇÃO DA TAXA DE INFECÇÃO VETORIAL

Devido à dificuldade em distinguir as fêmeas recém-emergidas das recém-paridas (Figura 10), aquelas que entraram nas residências para realizar novo repasto, todas as fêmeas foram processadas. Os 140 *pools* validados por meio da PCR duplex *WbCx*, que totalizaram 510 fêmeas (466 ingurgitadas ou grávidas e 44 fêmeas recém-emergidas), constaram negativos para infecção vetorial por *W. bancrofti*, ou seja, foi observada amplificação do controle endógeno, mas não do DNA do parasita, como demonstrado na Figura 11.

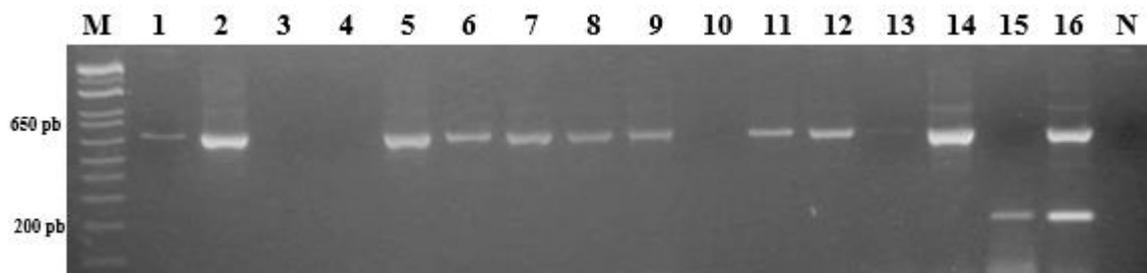
Figura 10 – Fêmeas *C. quinquefasciatus* segregadas segundo enchimento do abdome



Fonte: A autora (2021).

Legenda: Adulto fêmea *C. quinquefasciatus* a) recém-emergida; b) semi-grávida; c) parida; d) ingurgitada e semi-grávidas.

Figura 11 – Gel de agarose exibindo Xenomonitoramento molecular por PCR *WbCx* com amostras de Água Fria, Recife, Brasil



Fonte: A autora (2022).

Legenda: M: 1Kb plus Ladder; 1, 2, 5-9, 11-14: amostras negativas validadas por controle endógeno; 3,4,10: amostra não validadas; 15: *Wb* – controle positivo; 16: controle positivo de amostra de campo conhecida; N- controle negativo.

### 6.3 CONDIÇÕES MOSQUITOGÊNICAS PARA *C. quinquefasciatus*

Cenários característicos de esgotamento sanitário e infraestrutura deficientes foram detectados em todas as ruas vistoriadas. Foram registrados numerosos criadouros extra e intradomiciliares preferenciais da espécie *C. quinquefasciatus*, como canaletas a céu aberto, acúmulo de lixo próximo as residências, exemplificados na Figura 12. Esses puderam ser caracterizados como artificiais permanentes ou semipermanentes em recipientes, como lajes sem dreno e carcaças de automóveis abandonados; em artificiais nos recipientes temporários, como dejetos, pneus, vasos e floreiras.

Também constaram àqueles artificiais permanentes ou semipermanentes no solo, como bueiros, valas, valões e canaletas de grande extensão; e os temporários, como acúmulo de pedras nas ruas e caixas de retenção de chuva. Quanto aos

criadouros naturais em recipientes, foram observados buracos em árvores, constando como permanentes ou semipermanentes. No solo, frequentemente foram observadas poças de água da chuva, como criadouros temporários. Além disso, na área ocorre desregular abastecimento de água, principalmente nos imóveis localizados nas porções mais altas do bairro. Desse modo, os moradores frequentemente armazenam a água em recipientes inadequados, que são sítios de criação atrativos para os mosquitos.

Figura 12 - Criadouros extradomiciliares de mosquitos visualizados em Água Fria, Recife, Brasil



Fonte: Compilado pela autora a partir do Google, 2021.

Nota: Criadouros do tipo artificial permanente ou semipermanente (A, B e C); criadouros do tipo artificial temporário em recipientes (B e D).

## 7 DISCUSSÃO

O processo saúde-doença tem íntima relação com condições de sobrevivência a que as populações humanas são expostas, o que permite predizer a localização espacial oportuna de algumas doenças e segregar grupos de risco (CASTELLANOS, 1997; BABONE, 2008). A FL existe no contexto da pobreza, pois depende dos determinantes favoráveis à proliferação do artrópode vetor (MACIEL *et al.*, 1994), que no Brasil é o mosquito *C. quinquefasciatus* (FORATTINI, 2002).

A amostragem obtida evidencia a constante presença de *C. quinquefasciatus* nas habitações humanas no bairro de Água Fria, assim como demonstrado em outra investigação realizada no local (SANTOS, 2018). Tal avaliação é fundamental para traçar o perfil da localidade e definir áreas críticas no que tange ações de controle e vigilância de vetores (BRASIL, 2021). Esse mosquito, extremamente beneficiado pelas ações antrópicas no meio ambiente (BRASIL, 2011; JOHANSEN, 2011), geralmente possui preferência pelas coleções d'água ricas em matéria orgânica em decomposição, como valas, valões e canaletas. Todos esses criadouros foram observados e caracterizados na área de estudo, tanto nas porções mais baixas quanto nas altas, sem exceção. Nas áreas mais elevadas, como fator extenuante, o sistema de abastecimento de água é ainda mais comprometido, o que condiciona os moradores a montarem reservas em recipientes, expandindo a existência de locais postura. Em nossa pesquisa, visualizamos a formação de *clusters* ou aglomerados de maior captura de fêmeas em ruas com maior proximidade a criadouros artificiais do tipo semipermanente ou permanente.

Essa associação entre as condições socioambientais e áreas com maior infestação vetorial de *C. quinquefasciatus* é descrita na literatura (XAVIER, 2022). Os mosquitos se estabelecem bem em áreas onde existem sítios de criação e fonte alimentar, permitindo um deslocamento perimetral curto. Dessa forma, constatamos que as condições mosquitogênicas de um ambiente elevam as densidades populacionais. Assim, os mosquitos estão sempre próximos às residências, onde podem buscar locais para oviposição, mas também no interior das residências, pois as fêmeas, altamente antropofílicas, procuram o homem para exercer o hábito do hematofagismo. É durante essa atividade que ocorrem as transmissões de agentes infecciosos, caracterizando a importância médica do culicídeo. Neste estudo, mais de

80% das fêmeas capturadas estavam com o abdome preenchido por sangue e/ou ovos, ou seja, após o contato com a fonte de alimentação, encontravam-se aptas a dar continuidade a um ciclo intenso de proliferação. Desse modo, a remoção dessas fases reprodutivas do ambiente serviu como medida de controle vetorial mesmo que de forma pontual (PiBANSA, 2019; McPHERSON *et al.*, 2022).

No entanto, ao avaliar o número de mosquitos coletados em relação ao número de cômodos vistoriados, é possível observar uma baixa densidade de adultos (DA). Por se tratar de um indicador entomológico de medida relativa à presença do mosquito (GOMES, 2022), pode não refletir o tamanho real da população de *C. quinquefasciatus* no local. Porém, alguns interferentes podem estar atrelados a essa observação, como a diferença na habilidade do Agente de Controle de Endemias (ACE) em manusear o aspirador entomológico, que pode ter limitado a capacidade de coleta de mosquitos pela ferramenta (REITER e NATHAN, 2001; FOCKS, 2004), mesmo que o aspirador entomológico tenha sido elencado como superior a outros métodos de coleta de vetores (RAMESH *et al.*, 2018).

Além disso, deve ser considerado o resultado de medidas de controle de mosquitos tomadas pelos próprios moradores, como uso de inseticidas domésticos, o que foi relatado verbalmente durante as visitas, reduzindo instantaneamente o número de mosquitos no intradomicílio ou até mesmo gerando o que se denomina por resistência comportamental. Como descrito por Consoli e Oliveira (1994), nesse fenômeno, os mosquitos mantêm a suscetibilidade intrínseca ao composto letal, mas alteram seu comportamento no sentido de evitar o contato com ele, afugentando-se de ambientes perigosos, justamente os alvos do racional de coleta de mosquitos desta investigação. Também, tendo esta pesquisa ocorrido durante a pandemia de Covid-19 e por, durante esse período, a população ter permanecido mais nas residências, pressupõe-se que ações de eliminação de criadouros tenham sido intensificadas e interferido na amostragem. Agrega-se, ainda, que devido a esse evento emergencial em saúde pública, as atividades de campo do estudo, compreendida pela captura de mosquitos, foram afetadas devido à indisponibilidade dos ACEs.

Conforme o exposto, Água Fria carrega um extenso histórico junto às intervenções de eliminação da filariose linfática, principalmente quanto às rondas de entrega da droga antifilarial, tendo sido o primeiro bairro do Recife a recebê-las devido sua alta prevalência de microfilaremia. No local, foram realizados, também, esquemas de tratamento de criadouros de *Culex* ou *Aedes* com biolarvicidas à base de Lsp e

*Bacillus israelensis* (Bti), para controle dessas espécies de mosquitos vetores nos anos de 2016 e 2017, cuja redução da população de mosquitos foi constatada (Santos *et al.*, 2018). Considera-se, também, que os efeitos dessas intervenções podem estar refletidos no volume de amostragem neste estudo.

Para além do que fora preconizado pela OMS, o bairro passou por 10 rondas de TC, englobando mais de 100 mil residentes, com uma cobertura do tratamento sempre acima de 65%, percentual mínimo desejável. Em relação ao monitoramento da infecção por *W. bancrofti*, os prazos ocorreram como o estabelecido pelo PNEFL desde o TC ao pós-TC, com a aplicação do TAS. No entanto, voltando para o TC, é importante ressaltar que a população-alvo dessa ação se referiu àquela presente apenas na microárea endêmica do bairro, o que discorda com a literatura. Essa característica pode potencialmente incidir sobre a probabilidade de recrudescimento da FL na área. Desse modo, recomenda-se que tal particularidade deva ser considerada em posteriores inquéritos de vigilância.

Neste estudo, o protocolo de PCR duplex, denominado por *WbCx*, trouxe resultados concordantes com as últimas investigações de infecção humana e vetorial no bairro, ocorridas há quatro e 13 anos, respectivamente, com nenhum dos *pools* avaliados tendo amplificação do DNA de *W. bancrofti*. Mesmo tendo contemplado majoritariamente apenas única coleta do mosquito, esta investigação foi construída com uma metodologia de detecção de DNA de *W. bancrofti* sensível e validada.

Assim, após uma década da suspensão do TC em Água Fria, não foram encontrados mosquitos com *W. bancrofti*. Esse achado, em conjunto os demais previamente estudados, reforça que as ações realizadas para quebra de transmissão foram eficazes, visto que as fêmeas de mosquitos *C. quinquefasciatus* analisadas foram provenientes dos pontos estabelecidos como de risco de acordo com os mapas elaborados. Sugere-se que haja uma vigilância contínua para FL após o TAS, com ações anuais com inquéritos entomológico utilizando PCR e humano com pesquisa de antígeno com teste rápido nos municípios endêmicos no Brasil. Caso não se tenha capacidade instalada, deverá ser priorizada os territórios com histórico de maior prevalência de infecção filarial e que tenham condições socioambientais para manutenção de criadouros de *C. quinquefasciatus*.

## 8 CONCLUSÃO

- Os mapas de risco de transmissão são ferramentas importantes para nortear busca de mosquitos para compor a amostra de um inquérito entomológico.
- As desfavoráveis condições socioambientais contribuem para o surgimento de condições mosquitogênicas no ambiente, o que pode favorecer a recrudescência da doença. Assim, uma vigilância entomológica contínua por XM é indicada.
- Os gêneros de mosquitos *Culex* e *Aedes* foram os únicos amostrados em Água Fria.
- A densidade média de mosquitos obtidos no bairro de Água Fria foi considerada baixa, possivelmente devido às ações de controle vetorial.
- A ausência de infecção natural em *Culex quinquefasciatus* coletados no bairro de Água Fria Recife-PE, sugere a interrupção da transmissão do nematoide *W. bancrofti*, representando o sucesso das ações do PNEFL.

## REFERÊNCIAS

- ALI, O. *et al.* The impact of podoconiosis, lymphatic filariasis, and leprosy on disability and mental well-being: a systematic review. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 15, n. 7, p. 0009492-0009497, 8 jul. 2021. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0009492>.
- BATISTA DO NASCIMENTO, J. *et al.* **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v. 47, n. 4, 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Reunião de avaliação do Programa de Controle da Filariose Linfática no Brasil. Brasília, DF: Centro Nacional de Epidemiologia, 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. **Doenças Tropicais Negligenciadas**. Número especial. 76 p. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância do *Culex quinquefasciatus*** – Brasília. 1ª ed. 76 p. 2011a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica e eliminação da filariose linfática** – Brasília. 80 p. 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da Hanseníase, Filariose, Esquistossomose e Oncocercose como problema de Saúde Pública, Tracoma como causa de cegueira e controle das Geohelmintíases** – Brasília. 18-20 p. 2011b.
- CAMERON, M. M.; RAMESH, A. The use of molecular xenomonitoring for surveillance of mosquito-borne diseases. **Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 376, n. 1818, p. 20190816, 28 dez. 2020. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2019.0816>.
- CAMERON, M. M.; RAMESH, A. The use of molecular xenomonitoring for surveillance of mosquito-borne diseases. **Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 376, n. 1818, p. 20190816, 28 dez. 2020. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2019.0816>.
- CHADEE, D. D.; WILLIAMS, S. A.; OTTESEN, E. A., Xenomonitoring of *Culex quinquefasciatus* mosquitoes as a guide for detecting the presence or absence of lymphatic filariasis: a preliminary protocol for mosquito sampling, **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 96, n. 8, p. 47–53, 2002.
- CHANTEAU S. *et al.* CHANTEAU, L.P.; FAILLOUX, S, A.B.; WILLIAMS, S.A. Detecção de larvas de *Wuchereria bancrofti* em pools de mosquitos pela reação em cadeia da polimerase. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, 55 (1994), pp. 665-666

CONSOLI, R. A. G. B. e OLIVEIRA, R.L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil [online]**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 228 p. ISBN 85-85676-03-5.

COSTA, E. A. *et al.* West Nile virus detection in horses in three Brazilian states. **Biorxiv**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 1-1, 6 jan. 2021. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/2021.01.06.425363>.

COSTA, G. B. *et al.* Silent Circulation of the Saint Louis Encephalitis Virus among Humans and Equids, Southeast Brazil. **Viruses**, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 1029-1039, 5 nov. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/v11111029>.

FOCKS, Dana A.; TROPICAL. **A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors**. Who.int, 2020. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/68575>>. Acesso em: 1 dez. 2022.

FONTES, Gilberto; BRAUN, Reinaldo F.; FRAIHA NETO, Habib; *et al.* Filariose linfática em Belém, Estado do Pará, Norte do Brasil e a perspectiva de eliminação. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p. 131–136, 2005. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/Ypk8THmrrBzrFyy3VtkxmYn/?lang=pt>>. Acesso em: 17 nov. 2022.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica: Identificação, Biologia e Epidemiologia**. 2ª Edição. São Paulo: EDUSP, 2002. 864 p.

FURTADO, A. F.; ABATH, F.G.; REGIS, L.; GOMES, Y.M.; LUCENA, W.A. FURTADO, P.B; DHALIA, R.; MIRANDA, J.C.; NICOLAS, L. Melhoria e aplicação de um sistema de reação em cadeia da polimerase para detecção de *Wuchereria bancrofti* em *Culex quinquefasciatus* e amostras de sangue humano. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 92, pp. 85-86, 1997.

GOMES, Almério de Castro. **Vigilância entomológica**. Informe Epidemiológico do Sus, v. 11, n. 2, 2002.

GUEDES, Duschinka Rd *et al.* Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-11, 1 jan. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1038/emi.2017.59>.

Influence of social and environmental factors for *Culex quinquefasciatus* distribution in Northeastern Brazil: a risk index. **International Journal of Environmental Health Research**.

LACEY, L. A. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 23, n. 2, p. 133-163, jul. 2007

MATTOS, D.; DREYER, G. A complexidade do custo socioeconômico da filariose linfática. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 399-403, ago. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822008000400015>.

MATTOS, Denise; DREYER, Gerusa. A complexidade do custo socioeconômico da filariose linfática. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 399–403, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/3sqTrsD9kFkYypRMZJgkYrQ/?lang=pt>>. Acesso em: 30 nov. 2022.

MEDEIROS, Zulma M.; VIEIRA, Amanda V. B.; XAVIER, Amanda T.; *et al.* Lymphatic Filariasis: A Systematic Review on Morbidity and Its Repercussions in Countries in the Americas. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 1, p. 316, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-4601/19/1/316/htm>>. Acesso em: 16 nov. 2022.

MEDEIROS, Zulma *et al.*, Controle da filariose linfática no Brasil, 1951 - 2000, **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 12, n. 2, p. 77–86, 2022.

MODI, Anjali *et al.*, Lymphatic filariasis elimination endgame in an urban Indian setting: the roles of surveillance and residual microfilaremia after mass drug administration, **Infectious Diseases of Poverty**, v. 10, n. 1, 2021.

MOLYNEUX, D.H. *et al.*, Lymphatic filariasis: setting the scene for elimination, **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 6, p. 589–591, 2000.

MONDINI, A. *et al.* Saint Louis Encephalitis Virus, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 176-178, jan. 2007. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1301.060905>.

NEVES, D. P. *et al.* **Parasitologia Humana**. 13. ed. [S. L.]: Atheneu, 2016. OMS. Organização Mundial da Saúde. **Filariose linfática**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lymphatic-filariasis>. Acesso em: 05 out. 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: A road map for neglected tropical diseases 2021–2030**. 196 p. 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Lymphatic filariasis**: population requiring preventive chemotherapy for lymphatic filariasis: 2019. Disponível em: [https://apps.who.int/neglected\\_diseases/ntddata/lf/lf.html](https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/lf/lf.html). Acesso em: 12 ago. 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Lymphatic filariasis: a handbook of practical entomology for national lymphatic filariasis elimination programmes**. Geneva, 2013.

ORIHIL, T.C. Filariae. In: BEAVER, P.C. & JUNG, R.C. **Animals Agents and Vectors of Human Disease**, 5ª ed., Philadelphia: Lea & Febiger, p. 171-191, 1985.

PRYCE, Joseph; REIMER, Lisa J. Evaluating the Diagnostic Test Accuracy of Molecular Xenomonitoring Methods for Characterizing Community Burden of

Lymphatic Filariasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. Supplement\_3, p. S203–S209, 2021.

Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33906238/>>. Acesso em: 16 nov. 2022.

RAMANIAN, S. *et al.* Molecular xenomonitoring as a post-MDA surveillance tool for global programme SUBto eliminate lymphatic filariasis: field validation in an evaluation unit in India. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 0007862-0007887, 24 jan. 2020. Public Library of Science (PLoS).

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0007862>.

RAO, R. U. *et al.* A Comprehensive Assessment of Lymphatic Filariasis in Sri Lanka Six Years after Cessation of Mass Drug Administration. **Plos Neglected Tropical Diseases** 8(11): e3281, 2014. doi:10.1371/journal.pntd.0003281.

RAO, R. U. *et al.* Reassessment of areas with persistent Lymphatic Filariasis nine years after cessation of mass drug administration in Sri Lanka. **Plos Neglected Tropical Disease**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1-17, 30 out. 2017. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0006066>.

REGIS *et al.* Integrated Control Measures against *Culex quinquefasciatus*, The Vector of Filariasis in Recife. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** (Impresso), RIO DE JANEIRO, v. 90, n.1, p. 115-119, 1995.

REGIS LN, Acioli RV, Silveira JC Jr, Melo-Santos MAV, Souza WV, *et al.* (2013) Sustained Reduction of the Dengue Vector Population Resulting from an Integrated Control Strategy Applied in Two Brazilian Cities. **PLOS ONE** 8(7): e67682.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067682>.

RECIFE. Secretaria Municipal de Saúde, comunicação pessoal. 2022.

REITER, P; NATHAN, Michael B.; WORLD. **Guidelines for assessing the efficacy of insecticidal space sprays for control of the dengue vector Aedes aegypti.**

Who.int, 2020. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/67047>>.

Acesso em: 1 dez. 2022.

RIBEIRO, P. B. *et al.* **Exigências térmicas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera, Culicidae) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.** Iheringia. Série Zoologia, [S.L.], v. 94, n. 2, p. 177-180, jun. 2004. FapUNIFESP (SciELO).

<http://dx.doi.org/10.1590/s0073-47212004000200010>.

ROMERO-ALVAREZ, D. e ESCOBAR, L. E. Oropouche fever, an emergent disease from the Americas. **Microbes And Infection**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 135-146, mar.

2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2017.11.013>.

SCHMAEDICK A. M., *et al.* Molecular Xenomonitoring Using Mosquitoes to Map Lymphatic Filariasis after Mass Drug Administration in America Samoa. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, 2014.

VASUKI, V.; SUBRAMANIAN, S.; HOTI, S.L. JAMBULINGAM, P. Uso de um método simples de extração de DNA para detecção de alto rendimento do parasita filária *Wuchereria bancrofti* nos mosquitos vetores. **Parasitol. Res.**, 111, pp. 2479-2481, 2012.

VIVEIROS-ROSA, Sandro G. *et al.* Vector competence of *Culex* mosquitoes (Diptera: culicidae) in zika virus transmission. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [S.L.], v. 44, p. 1, 3 fev. 2020. Pan American Health Organization. <http://dx.doi.org/10.26633/rpsp.2020.7>.

WEBER, M. N. *et al.* Serologic evidence of West Nile virus and Saint Louis encephalitis virus in horses from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 1055-1055, 28 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-021-00504-4>.

WERNER JUNIOR, Heron *et al.* Zika virus infection. **Radiologia Brasileira**, [S.L.], v. 52, n. 6, p. 9-10, dez. 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-3984.2019.52.6e3>.

**WHA50.29: Elimination of Lymphatic Filariasis as a Public Health Problem; 1997 - PAHO/WHO | Pan American Health Organization.** PAHO.org. Disponível em: <<https://www.paho.org/en/documents/wha5029-elimination-lymphatic-filariasis-public-health-problem-1997>>. Acesso em: 10 out. 2022.

World Health Organization. (2017). Validation of elimination of lymphatic filariasis as a public health problem. World Health Organization.

WYND, S. *et al.* Understanding the community impact of lymphatic filariasis: a review of the sociocultural literature. **Bulletin of The World Health Organization**, [S.L.], v. 85, n. 6, p. 493-498, 1 jun. 2007. WHO Press. <http://dx.doi.org/10.2471/blt.06.031047>.

ZHONG, M. *et al.* Ensaio de reação em cadeia da polimerase para detecção do parasita *Wuchereria bancrofti* em amostras de sangue humano, Am. J. **Trop. Med. Hyg.**, 54, pp. 357-363. 1996.

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa "Inquérito entomológico, por xenomonitoramento molecular, para confirmar o status da transmissão da filariose linfática em uma área tratada no Recife, Pernambuco", sob a responsabilidade da pesquisadora Josimara do Nascimento. Se decidir participar dela, por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o senhor (a) não consiga entender, converse com a pesquisador(a) responsável pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para esclarecê-los. A proposta deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) é explicar o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo.

Essa pesquisa pretende identificar a infecção de mosquitos (muniçoca, *Culex quinquefasciatus*) para a filariose linfática. Com esta, acredita-se poder contribuir para ampliar as informações sobre a doença. Os dados obtidos serão repassados para Secretária de Saúde do município no que concerne à vigilância vetorial dos mosquitos.

Essa é uma atividade voluntária, sendo possível desistir a qualquer momento e a participação não envolve remuneração. Mas, caso venha a ter algum gasto pela sua participação nessa pesquisa, o Sr (a) será ressarcido (a). Em situações de danos devido a sua participação na pesquisa, é garantido o direito de indenização caso seja comprovado o dano e garantida a indenização por vias legais.

O participante poderá se recusar e/ou retirar este consentimento a qualquer momento que desejar, sem prejuízo a ambas as partes. Todos os seus dados também serão removidos da pesquisa, a não ser que o Sr (a) autorize a permanência desses na nossa análise. A sua contribuição na pesquisa permitirá a entrada pontual dos Agentes de Endemias/Saúde no interior da sua residência para coletar mosquitos e obter informações básicas como o número de residentes do local. A aspiração dos mosquitos adultos dura, em média, 15 minutos. Informamos que essa ação não trará quaisquer despesas ou riscos para a saúde de sua família nem de animais domésticos. O risco relacionado a participação será apenas o constrangimento causado pela presença desse profissional na residência, mas de forma pontual. Garantimos, contudo, que todos os nossos esforços estarão direcionados para que situações de constrangimento não ocorram. Inclusive, garantimos que sua identidade não venha a público sob hipótese alguma.

Os resultados dessa pesquisa ficarão disponíveis para o Sr (a) por meio de comunicação posterior com os Agentes de Saúde/Pesquisadora e divulgação/fornecimento do estudo completo quando esse for concluído. Os dados armazenados poderão ser usados em pesquisas futuras, mas um novo consentimento será pedido. Todas as informações colhidas serão analisadas, mantendo-se a confidencialidade (segredo) do paciente a todo o momento, ou seja, em nenhum momento os dados que o identifique serão divulgados, a menos que seja exigido por lei. Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em reuniões ou publicações, contudo, sua identidade não será revelada nessas apresentações.

Rubricas: \_\_\_\_\_  
 (Pesquisador (a)) (Participante)

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO



Página 2 de 2

Em caso de dúvidas ou preocupações quanto aos seus direitos como participante deste estudo, o (a) senhor (a) pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deste centro de pesquisas, localizado na Av. Professor Moraes Rego, s/n - Campus da UFPE - Cidade Universitária, Recife/PE, CEP: 50.670-420, através do telefone (81) 2101-2639 ou pelo e-mail: comiteetica@cpqam.fiocruz.br. O horário de funcionamento é das 8 – 12 h e das 13 – 17h. O CEP é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

Após a leitura desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, dou meu consentimento de livre e espontânea vontade, para participar como voluntário, deste estudo, assinando esse termo em duas vias, pois uma via pertencerá a mim e a outra a (o) pesquisador(a).

Recife, \_\_\_\_/\_\_\_\_/2021.

Assinatura: \_\_\_\_\_  
Nome completo: \_\_\_\_\_

Alesto que expliquei cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante.

Pesquisadora- Assinatura: \_\_\_\_\_  
Nome completo da Pesquisadora: \_\_\_\_\_

Para qualquer esclarecimento entrar em contato com:

Pesquisadora: Josimara Nascimento  
Endereço: Av. Prof. Moraes do Rego, Cidade Universitária, s/n. Recife/PE.  
E-mail: josimara.nascimento@outlook.com  
Telefone: (81)2101-2648

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** INQUÉRITO ENTOMOLÓGICO, POR XENOMONITORAMENTO MOLECULAR, PARA CONFIRMAR O STATUS DA TRANSMISSÃO DA FILARIOSE LINFÁTICA EM UMA ÁREA TRATADA NO RECIFE, PERNAMBUCO

**Pesquisador:** JOSIMARA DO NASCIMENTO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 52047321.5.0000.5190

**Instituição Proponente:** FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A CIÊNCIA E TECNOLOGIA - FACEPE

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 5.143.344

#### Apresentação do Projeto:

As informações dos campos Apresentação do Projeto, Objetivo da Pesquisa e Avaliação dos Riscos e Benefícios foram retiradas do documento PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1826621.pdf cujo preenchimento foi realizado pela pesquisadora responsável.

Trata-se de projeto de dissertação do Curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde.

#### Resumo:

A filariose linfática (FL), doença infecto-parasitária negligenciada, representa forte entrave ao desenvolvimento socioeconômico de países como o Brasil. Nas Américas, esta tem por agente etiológico o nematódeo *Wuchereria bancrofti* e por vetor primário o culicíneo *Culex quinquefasciatus*. Este estudo propõe a avaliação do status de transmissão da *W. bancrofti* em uma área tratada do Recife, Pernambuco, Brasil, por meio de um xenomonitoramento molecular aprimorado, técnica que possibilita a detecção do parasito no vetor com validação das amostras mesmo quando negativas. Serão construídos questionários de coleta de informações bioecológicas e sociais para identificação dos dados mosquitogênicos da região. Informações sobre as condições ambientais da localidade, como tipos de criadouros

**Endereço:** Av. Prof. Moraes Rego, s/nº  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.670-420  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2101-2639 **Fax:** (81)2101-2639 **E-mail:** cep.iam@fiocruz.br

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.143.344

existentes e condições de infraestrutura predial e sanitária poderão contribuir para a identificação de indicadores do potencial de transmissão da FL. Os vetores serão capturados em áreas direcionadas por mapas construídos com base no histórico de indivíduos microfilarêmicos e mosquitos infectados. A obtenção dos mosquitos será dada por meio do aspirador entomológico durante o período da manhã por, em média, 15 minutos. Nesse horário, o *C. quinquefasciatus* abriga-se e repousa em locais escuros e protegidos como em baixo ou por trás de móveis e cortinas, facilitando uma amostragem significativa. O procedimento será conduzido pelos agentes de saúde da Prefeitura do Recife previamente treinados. Após a obtenção das amostras, estas seguirão imediatamente para o Laboratório de Entomologia-IAM. No local, será realizada a triagem do material para identificação da diversidade de espécies, quantificação dos espécimes coletados, sexagem e estado de alimentação das fêmeas. As ingurgitadas ou grávidas serão utilizadas para a formação de pools de até 10 indivíduos. Serão preparados os macerados de mosquitos (homogenato), posteriormente armazenados para reserva de segurança no banco de amostras; haverá a extração de DNA e quantificação; PCR duplex, eletroforese e documentação. Quando a taxa de infecção der positiva para *W. bancrofti* será feita a investigação da taxa de infectividade. Os dados serão analisados pelo modelo estatístico Pool screen, que observa o número de pools analisados e o número total de pools positivos para *W. bancrofti* (fase infectiva ou não), com intervalo de confiança ao nível de 95%.

#### Hipótese:

Os ciclos de tratamento coletivo realizados no bairro de Água Fria, como preconizado pelo PNEFL, podem ter sido insuficientes para eliminar a circulação do verme filarial nesse bairro.

#### Metodologia Proposta:

a) Construção de mapas de risco de transmissão da FL para coleta dos vetores: i. Área de coleta: os mapas de coleta de culicídeos serão construídos com base nas informações históricas de casos tratados de FL no bairro de Água Fria – Recife – PE (área pilotoestudada entre 2003- 2009), ou ainda, baseados nos casos confirmados por ocasião da confirmação de novos indivíduos microfilarêmicos. ii. Mapas de coleta: na elaboração dos mapas de risco, quando a investigação vetorial ocorrerem antigos focos endêmicos, será escolhida uma área que apresentava maior adensamento de casos para a coleta dos mosquitos; enquanto que, para a investigação de novos casos, os mosquitos serão coletados em torno da

**Endereço:** Av. Prof. Moraes Rego, s/nº  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.670-420  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2101-2639 **Fax:** (81)2101-2639 **E-mail:** cep.iam@fiofocruz.br

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



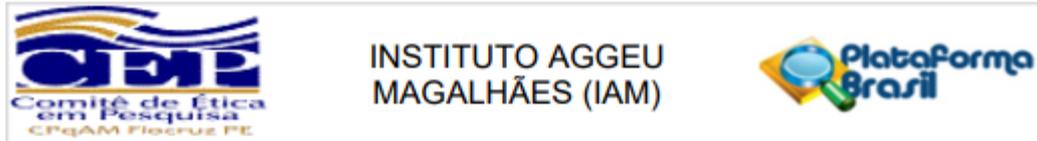
Continuação do Parecer: 5.143.344

residência do indivíduo microfilarêmico. Serão construídos mapas através do estimador de densidade de Kernel para identificar zonas quentes circulares com um raio de influência de 100 m na vizinhança do caso ou histórico de FL, essa área será subdividida em quadrantes de 50 m com um ponto de coleta em cada subdivisão.

b) Coleta de dados mosquitogênicos para *Cx. quinquefasciatus* na área de captura definida pelos mapas de risco de FL: Serão construídos questionários para coleta de informações bioecológicas e sociais para identificação dos dados mosquitogênicos da região. As informações sobre as condições ambientais da localidade, como tipos de criadouros existentes e condições de infraestrutura predial e sanitária, também serão registradas e poderão contribuir para a identificação de indicadores do potencial de transmissão da FL na área. c) Identificação da densidade e diversidade de culicídeos da amostragem realizada: Será realizada a triagem para identificação da diversidade, quantidade das espécies coletadas de culicídeos. Além do sexo e condição de repasto sanguíneo, ingurgitada, semi-grávida, grávida, nulíparas fêmeas. Os mosquitos serão coletados por agentes de saúde/endemias do município após receberem o curso de capacitação para o uso do instrumento de coleta, um aspirador elétrico de mosquitos (Horst). A coleta dos mosquitos ocorrerá, por busca ativa do agente utilizando o aspirador entomológico. Os mosquitos serão coletados no interior das residências no período entre 09:00 e 13:00 h. Estas amostras serão enviadas juntamente com o relatório de campo ao laboratório de Entomologia do IAM, Recife-PE. A partir dos relatórios com os dados brutos das amostras coletadas, será estimada a frequência e abundância das espécies de mosquitos de cada município. d. Determinação a taxa de infecção e/ou infectividade vetorial de *Cx. quinquefasciatus* por *W. bancrofti*: Para a determinação da taxa de infecção vetorial de *Cx. quinquefasciatus* por *W. bancrofti*, espera-se obter amostras entre 1.000 – 3000 fêmeas, ingurgitadas ou grávidas, na localidade com condições mosquitogênicas mais favoráveis a proliferação dessa espécie. Após o registro das amostras, essas seguirão para as etapas de remoção do reagente conservante, RNA later; preparação do macerado de mosquitos (homogenato) e armazenamento de material para reserva de segurança no banco de amostras; extração de DNA e quantificação; PCR duplex, eletroforese e documentação. Quando a taxa de infecção for positiva para *W. bancrofti* será feita a investigação da taxa de infectividade. Para determinar a taxa de infecção vetorial os dados serão analisados pelo modelo estatístico Pool screen, que observa o número de pools analisados e o número total de pools positivos para *W. bancrofti*, com intervalo de confiança ao nível de 95%. Para a determinação da taxa de infectividade vetorial de *Cx. quinquefasciatus* por *W.*

**Endereço:** Av. Prof. Moraes Rego, s/nº  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.670-420  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2101-2639 **Fax:** (81)2101-2639 **E-mail:** cep.iam@fiocruz.br

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.143.344

bancrofti, na ocasião de serem identificadas amostras positivas para *W. bancrofti* por PCR duplex, será realizada extração de RNA do homogenato reserva com o reagente TRIzol® (Invitrogen), de acordo como protocolo dos fabricantes e quantificação; RT-PCR multiplex multiplex em tubo único, eletroforese e documentação para estimar a taxa de infectividade.

### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Confirmar o status da transmissão da filariose linfática em uma área tratada da cidade do Recife através de um levantamento entomológico.

Objetivos Secundários:

- a) Elaborar mapas de risco de transmissão da filariose linfática com base no histórico de casos anteriores e/ou recentes (infecção vetorial e humana) fornecidos pelo SRNF ou pelo município para orientar a captura do mosquito vetor;
- b) Coletar dados mosquitogênicos para *C. quinquefasciatus* na área de captura definida pelos mapas de risco de FL;
- c) Identificar a densidade e diversidade de culicídeos da amostragem realizada;
- d) Determinar a taxa de infecção e/ou infectividade vetorial de *C. quinquefasciatus* por *W. bancrofti*.

### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A captura do inseto vetor nas residências não acarreta em riscos/danos para os residentes ou possíveis animais domésticos. Ressalta-se que o procedimento ainda será pontual, uma única vez, e ocorrerá em, no máximo, 15 minutos. Além disso, será realizado por agentes de saúde do próprio bairro, que possuem afinidade com os moradores do bairro.

Benefícios:

Com este trabalho espera-se contribuir para a verificação da eliminação da transmissão da filariose linfática em um bairro do Recife com histórico positivo. Seja certificando que não há transmissão ativa, seja identificando possíveis focos ativos para imediato tratamento. Evitando assim a ressurgência de novos focos de FL. Além disso, os dados sobre densidade e diversidade de vetores coletados nas residências e as condições mosquitogênicas indicarão o risco potencial de transmissão de qualquer doença transmitida por mosquitos vetores, principalmente pelos

**Endereço:** Av. Prof. Moraes Rego, s/nº  
**Bairro:** Cidade Universitária **CEP:** 50.670-420  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)2101-2639 **Fax:** (81)2101-2639 **E-mail:** cep.iam@fiocruz.br

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.143.344

mosquitos Cx. quinquefasciatus.

### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo está bem desenhando e apresenta todas as delimitações necessárias para o desenvolvimento do projeto. Trata-se de um estudo de inquérito entomológico o trabalho está bem estruturado e com a metodologia viável para o que foi proposto no projeto.

### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos apresentados sem pendências.

### Recomendações:

Entregas de relatórios parciais e final devem ser feitas via notificação. Os relatórios parciais devem ser apresentados, pelo menos, semestralmente. Qualquer alteração no protocolo no decorrer da pesquisa, como também mudança de equipe, devem ser informados via emenda. Todas as ações deve ser realizadas via Plataforma Brasil.

### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências descritas no parecer 5.043.166 foram atendidas em sua totalidade.

Conclusão: O Comitê avaliou 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 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012 e complementares.

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP.

### Considerações Finais a critério do CEP:

Vale ressaltar que, em relação ao protocolo de pesquisa, é previsto na Resolução 466/2012 no item XI - DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL, que o pesquisador deve apresentar ao CEP relatórios parciais e finais (subitem: d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final). Pede-se que o pesquisador entregue os relatórios como previsto no texto da resolução. Informamos que a entrega dos relatórios parciais precisam ser feitas a cada semestre, conforme cronograma de execução da pesquisa, via Plataforma Brasil.

### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº  
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.670-420  
 UF: PE Município: RECIFE  
 Telefone: (81)2101-2639 Fax: (81)2101-2639 E-mail: cep.iam@fiocruz.br

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.143.344

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1826621.pdf	12/11/2021 10:26:05		Aceito
Outros	cartarespostaatualizada.pdf	12/11/2021 10:23:54	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Outros	TCLDESTAQUECORRECOES.pdf	19/10/2021 16:54:35	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaoparticipantes.pdf	19/10/2021 16:48:11	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLVERSAOLIMPA.pdf	19/10/2021 16:39:41	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Outros	DeclaracaorelatorioCEP.pdf	23/09/2021 14:11:40	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderostoassinada.pdf	23/09/2021 14:06:30	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Orçamento	OrcaamentoCEP.pdf	23/09/2021 14:03:21	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Declaração do Patrocinador	outorgaassinado.pdf	23/09/2021 13:58:54	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracaoinfraestrutura.pdf	23/09/2021 13:57:08	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Cronograma	CronogramaCEP.pdf	23/09/2021 13:56:49	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	AguaFriaProjeto.pdf	23/09/2021 13:56:32	JOSIMARA DO NASCIMENTO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 03 de Dezembro de 2021

Assinado por:  
**Maria Almerice Lopes da Silva**  
 (Coordenador(a))

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº  
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.670-420  
 UF: PE Município: RECIFE  
 Telefone: (81)2101-2639 Fax: (81)2101-2639 E-mail: cep.iam@fiocruz.br