

CONCEIÇÃO MARIA DE OLIVEIRA

**VALIDAÇÃO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS Og4C3 E
AD12 NO DIAGNÓSTICO DA FILARIOSE BANCROFTIANA EM
INQUÉRITO POPULACIONAL**

Dissertação apresentada ao Colegiado do
Curso de Mestrado em Saúde Pública do
Departamento de Saúde Coletiva do
Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães /
FIOCRUZ, para obtenção do grau de
Mestre em Saúde Pública.

Orientadores: Profa. Dra. Zulma Medeiros
Prof. Fábio Lessa

RECIFE
2003

CONCEIÇÃO MARIA DE OLIVEIRA

**VALIDAÇÃO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS Og4C3 E AD12 NO
DIAGNÓSTICO DA FILARIOSE BANCROFTIANA EM INQUÉRITO
POPULACIONAL**

Recife, 27 de março de 2003

Zulma Medeiros

Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães / Fundação Oswaldo Cruz

Amélia Maciel

Universidade de Federal Pernambuco

Cinthia Braga

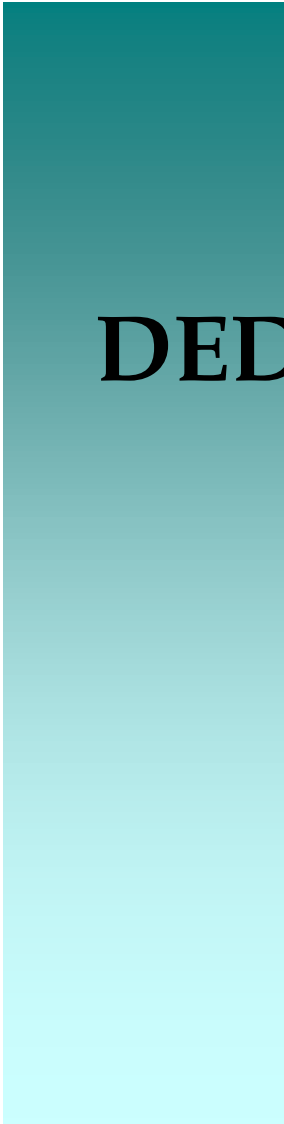
Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães / Fundação Oswaldo Cruz

Tereza Cartacho

Universidade de Pernambuco

*“...Não haveria criatividade sem a curiosidade que nos
move e que nos põe pacientemente impacientes
diante do mundo que não fizemos, acrescentando a ele
algo que fizemos...”*

Paulo Freire

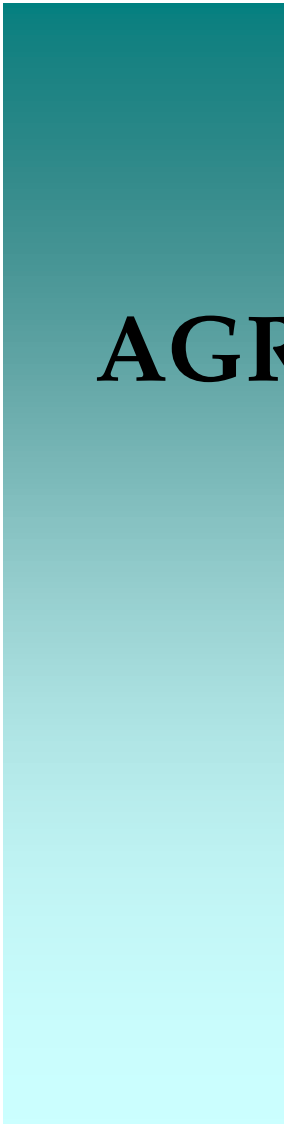


DEDICATÓRIA



*“Se um dia, já feito e realizado, sentires que a terra cede a teus pés, que tuas obras se desmoronam, que não há ninguém a tua volta para te estender a mão, esquece tua maturidade, passa pela tua mocidade, volta a tua infância e balbucia, entre lágrimas e esperanças, as últimas palavras que sempre te restarão na alma: **minha mãe (Maria), meu pai (Antônio)**”.*
{in memoriam}

Rui Barbosa



AGRADECIMENTOS



A DEUS, por todos os momentos da minha vida. Com base em Seus ensinamentos, fui aprendendo a ter fé e, na certeza de Sua presença ao meu lado, a coragem e firmeza para enfrentar todos os momentos difíceis.

Aos meus PAIS (*in memoriam*), Antônio e Maria, por todo o carinho, compreensão e respeito e, acima de tudo, muito AMOR que deram a mim e aos meus irmãos, legando-nos a melhor e maior fortuna que um ser humano pode ter, UMA FAMÍLIA MUITO FELIZ.

Aos meus queridos irmãos, Rudimar, Gilmar, Girlene, Gezelma, Girleide, Lindomar, Lucimar e Marcos, pelo imenso amor e apoio em todos os momentos, assumindo o papel de mestres em minha vida, face à perda de nossos Pais, conscientes de que não poderiam substituí-los, mas eram capazes de me ensinar, da melhor forma possível, a vencer os mais difíceis obstáculos e, acima de tudo, a fortalecer os atributos necessários para que, ganhando ou perdendo, eu me tornasse uma guerreira.

A Zulma Medeiros, admirável ser, que, com muita compreensão e agilidade, soube moldar a aluna de iniciação científica e transformá-la na colega de trabalho de todos os dias; orientando-me na vida profissional e pessoal; reconhecendo e respeitando os meus momentos e as minhas características, e até achando graça em minha simplicidade. Obrigada, por estar sendo minha amiga, companheira, confidente e protetora. Por tudo isso, não poderia ter havido uma melhor pessoa para ser minha orientadora.

A Fábio Lessa, meu segundo Orientador, pela efetiva ajuda nas dificuldades técnico-metodológicas enfrentadas nas diversas etapas do trabalho e pelo apoio imprescindível em minhas conquistas.

A João Thomaz, pela compreensão por tanta ausência, necessária em vários momentos, pela paciência para me ouvir e apoiar e, sobretudo, pelo amor.

A todos os amigos de Alagoinha: Sheylla, Glayse, Alessandro, Geraildo, Ladeilson, “Peba”, Alisson e Junior que, mesmo tão distantes, sempre me apoiaram, pela amizade verdadeira de tantos anos e fidelidade à “paixão predominante”.

A Ayla Alves, por compartilhar passo a passo da construção deste trabalho, sobretudo pelo companheirismo em todos os bons e difíceis momentos e pela amizade inestimável.

A Cristine Bonfim, pela formatação final deste trabalho, incentivo constante e por me mostrar os pequenos detalhes do mundo acadêmico.

A Ana Maria e Luiz Dias, pelas inúmeras sugestões oferecidas para esta dissertação, bem como pela companhia compreensiva, incentivo e amizade.

A Marlene Eunice e José Lancart, pelo apoio no processamento e desenvolvimento da técnica, por todas as dúvidas esclarecidas e por estarem sempre disponíveis para me atender e ajudar.

A Marcela Leal, pela ajuda e dedicação na realização deste trabalho.

A toda a equipe de campo: João Quaresma, José Costa, Fernando Silva, Marcos Rocha, Danielle Cabral, Lyane Barros, Mariana Tavares, Carlos Eduardo Montenegro, Cecília Gusmão, Roberta Carla, Marcela Leal, Rommel Pierre, Gerson Brasil, André Novaes, Ayla Alves e Maria José Netto, que tiveram importante papel na realização deste trabalho, pela qualidade e serenidade das atividades desenvolvidas em equipe e, principalmente, por tornar muito agradável cada momento deste estudo.

A todos os colegas do Departamento de Parasitologia, em especial a equipe de filaríose: Marlene Ribeiro, Edna Barbosa, Sandra Alves, Paula Oliveira, Fátima Beliz, Maria José, Paulo Izídio, Marcelo Albuquerque e Abraham Rocha, por tornar as horas na bancada mais agradáveis, ao mesmo tempo em que havia trocas de aprendizado e ensinamentos.

À Coordenação do Mestrado em Saúde Pública e a todos os professores, pelo apoio para a efetiva realização e conclusão da pós-graduação.

Ao Professor Djalma Agripino, pela prestimosa ajuda na construção deste estudo, oferecida durante as aulas da disciplina de Seminário de Pesquisa.

A Maria Luíza, pelo importante incentivo na seleção do Mestrado e por compartilhar firmemente dessa construção árdua.

Aos colegas de turma do Mestrado, Adiene, Ana Maria, Anchieta, Andréa, Betise, Marcílio, Maria Luíza, Odair e Solange, pelo convívio alegre e a amizade estabelecida durante o curso.

Ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM-FIOCRUZ), pelo auxílio financeiro e apoio institucional.

A Luciana Fontes, pela cuidadosa revisão bibliográfica.

A Ulisses Montarroyos, pela cuidadosa e carinhosa colaboração no processo de análise dos dados.

À Secretaria de Saúde do Município de Jaboatão dos Guararapes, por disponibilizar a execução deste trabalho.

Aos pacientes do Distrito de Cavaleiro, pela confiança depositada nos profissionais de saúde e na pesquisa.

A todos aqueles que, mesmo não citados, se propuseram a ajudar na realização desta dissertação.

E por fim, não poderia esquecer de agradecer a MARIANA MEDEIROS LESSA, por todos os momentos em que disponibilizou sua mãe e seu pai para a orientação deste trabalho.

RESUMO

Os métodos diagnósticos empregados nos programas de controle da filariose linfática têm sido baseados na coleta de sangue noturno para detecção de microfilária, podendo ser exaustivos, tanto para os residentes das áreas quanto para as equipes técnicas. Além disso, métodos parasitológicos apresentam inadequada sensibilidade, usualmente não diagnosticam o total de pessoas com risco de desenvolver manifestações crônicas ou agudas. Na abordagem epidemiológica, um dos métodos diagnósticos mais promissores é a pesquisa de antígeno circulante de *Wuchereria bancrofti*. Atualmente, dispõe-se de ensaios imunoenzimáticos (“enzyme-linked immunosorbent assay” – ELISA) e imunocromatográficos (ICT). Estes deverão ser capazes de identificar os locais que necessitam de intervenções e avaliar o impacto da estratégia a ser aplicada. Este trabalho se propôs validar os testes que detectam os antígenos circulantes filariais (ELISA-Og4C3 e ICT), em inquérito populacional, no distrito de Cavaleiro, município de Jaboatão dos Guararapes, área endêmica de filariose no Estado de Pernambuco, Brasil. Para tal, foi realizado o estudo de validação usando ELISA-Og4C3, ICT e a gota espessa, sendo este último o padrão ouro, em amostra oriunda de um banco de dados referente ao inquérito epidemiológico para filariose, realizado no distrito em estudo, no ano de 2001. A população do estudo abrangeu 214 indivíduos microfilarêmicos; destes, 34 não foram localizados ou não desejaram realizar o teste, sendo examinados 180 indivíduos pelos monoclonais e pela gota espessa. Para cada positivo foram identificados aleatoriamente dois negativos para o ICT, totalizando uma amostra de 546 pessoas e, para o Og4C3, foram selecionados aleatoriamente três negativos, atingindo uma amostra de 806 indivíduos. Foram encontrados os seguintes resultados na validação do Og4C3, utilizando como padrão ouro a gota espessa: sensibilidade de 96,1%, especificidade de 85,3%, valor preditivo positivo de 65,8%, valor preditivo negativo de 98,7% e acurácia de 87,7%. No entanto, os resultados da validação do ICT, empregando o mesmo teste de referência, apresentaram sensibilidade de 94,4%, especificidade de 90,7%, valor preditivo positivo de 83,3%, valor preditivo negativo de 97,1% e acurácia de 91,9%. O teste ideal para inquérito populacional seria aquele com alta sensibilidade e elevado valor preditivo negativo, que ofereceria maior segurança de que, no caso negativo, o indivíduo não teria a doença, associado a uma alta especificidade e valor preditivo positivo, que definiria com segurança que o resultado positivo se referia a um indivíduo doente. Com isso, o estudo de validade na pesquisa antigênica ELISA-Og4C3 e ICT não pode ser qualificado como um teste ideal. A técnica antigênica mais adequada para utilização em triagens de inquéritos populacionais na Região Metropolitana do Recife é o ICT que, além de apresentar uma melhor especificidade, valor preditivo positivo e acurácia, também é de fácil execução em trabalhos de campo, possibilitando a obtenção mais rápida dos resultados.

Palavras-chave: filariose bancroftiana, inquérito epidemiológico, ELISA-Og4C3, ICT, gota espessa

ABSTRACT

The classical methods for the diagnosis of *bancroftian filariasis* by the way of microscopic examination of thick blood smears, collected usually at night, are not sensitive enough neither perfectly trustful. Other available methods have been considered as more practical, as the enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA and ICT. These methods will be able to identify more precisely critical areas the target of Health Programs. This work try to evaluate those methods using a population inquiry realized in the district of Cavaleiro, in the city of Jaboatão dos Guararapes. The three methods mentioned ELISA, ICT and the classical thick blood smears, the last used as a gold standard, were compared with the data of 214 infected persons that were found in the epidemiological inquiry realized in 2001. These are some results: the ELISA-Og4C3 showed a 96.1% sensibility, a negative predictive value of 98.7% and a precision of 87.7%. The ICT showed a 94.4% sensibility, a negative predictive value of 97.1% and a precision of 91.9%. The most useful method is the one which present a higher sensibility and a higher negative predictive value. This dissertation argues that neither ELISA nor ICT can be considered ideal tests. Notwithstanding, ICT is indicated in this work as an adequate method to be used in Metropolitan Region of Recife, because of its better general results and because it is the more practical.

Key-words: bancroftian filariasis, epidemiological inquiry, ELISA-Og4C3, ICT e blood smears.

SUMÁRIO

	PÁG
Lista de Figuras	15
Fluxograma	16
Lista de Tabelas	17
Lista de Quadros	19
Lista de Abreviaturas e Siglas	20
1 – INTRODUÇÃO	22
1.1 – Distribuição geográfica da filariose linfática	24
1.2 – Diagnóstico laboratorial	28
1.2.1 – Pesquisa do parasita	29
1.2.2 – Pesquisa do DNA	33
1.2.3 – Pesquisa de anticorpos circulantes	34
1.2.4 – Pesquisa de antígenos circulantes	36
1.2.4.1 – AD12	37
1.2.4.2 – Og4C3	39
1.3 – Inquérito epidemiológico antigênico	41
2 – OBJETIVOS	45
2.1 – Geral	46
2.2 – Específicos	46
3 – PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	47
3.1 – Área de estudo	48
3.2 – Desenho de estudo	49
3.3 – População de estudo	50
3.3.1 – Cálculo da amostra	50
3.4 – Variáveis do estudo	54
3.5 – Instrumento de coleta dos dados secundários	56
3.6 – Descrição das técnicas	57
3.7 – Processamento e análise dos dados	61
3.8 – Aspectos éticos	63

3.9 – Normas para as referências bibliográficas	64
3.10 – Equipe executora	64
4 – RESULTADOS	66
5 – DISCUSSÃO	79
6 – CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES	88
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
8 – ANEXOS	102

LISTA DE FIGURAS

	PÁG
Figura 1 – Mapa da Região Metropolitana do Recife	47
Figura 2 – Material utilizado para o processamento da técnica ELISA – Og4C3	58
Figura 3 – Cartão do ICT – AD12	59

FLUXOGRAMA

	PÁG
Fluxograma – Seleção da amostra	52

LISTA DE TABELAS

	PÁG
Tabela 1 – Tabela de contingência 2 X 2	60
Tabela 2 – Validação da técnica ELISA - Og4C3, quando comparada com a técnica da gota espessa, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboaão dos Guararapes – 2003	66
Tabela 3 – Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboaão dos Guararapes – 2003	67
Tabela 4 – Validação da técnica ELISA - Og4C3, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o sexo, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboaão dos Guararapes – 2003	69
Tabela 5 – Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o sexo, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboaão dos Guararapes – 2003	70
Tabela 6 – Validação da técnica ELISA - Og4C3, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo a faixa etária, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboaão dos Guararapes – 2003	71
Tabela 7 – Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo a faixa etária, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboaão dos Guararapes – 2003	72
Tabela 8 – Validação da técnica ELISA - Og4C3, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tempo de residência, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboaão dos Guararapes – 2003	73
Tabela 9 – Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tempo de residência, em	73

inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

Tabela 10 – Validação da técnica ELISA - Og4C3, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tratamento anterior para filariose, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003 74

Tabela 11 – Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tratamento anterior para filariose, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003 75

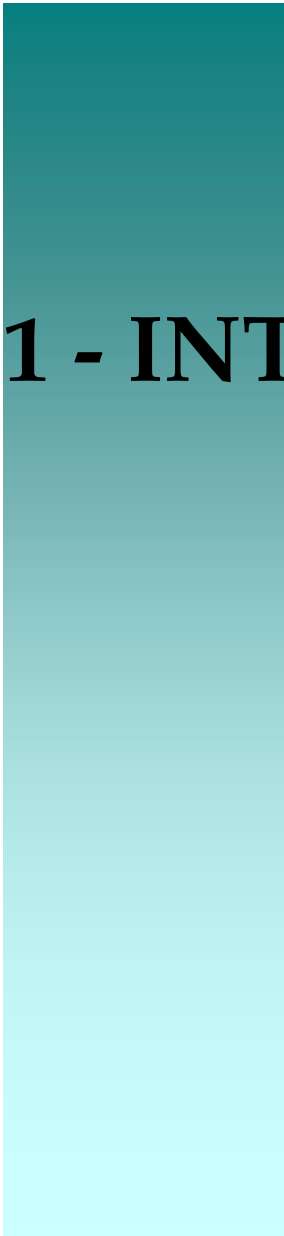
LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia das técnicas ELISA - Og4C3 e ICT, quando comparado com a técnica da gota espessa, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003	PÁG 68
Quadro 2 – Comparação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia da gota espessa e dos anticorpos monoclonais, Og4C3 e ICT, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Acurácia
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AcMo	Anticorpo Monoclonal
Ago	Agosto
AL	Alagoas
AM	Amazonas
BA	Bahia
<i>B. malayi</i>	<i>Brugia malayi</i>
°C	Graus centígrados
CDC	Center for Diseases Control
CNS	Centro Nacional de Saúde
CPqAM	Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães
D	Semi-amplitude do intervalo de confiança
DNA	Ácido Dexoribonucléico
E	Especificidade
ELISA	Enzime-Linked Immunosorbent Assay
Epi-info	Epidemiologia de microcomputadores
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
GE	Gota Espessa
h	Hora
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
ICT	Teste Imunocromatográfico
IgG	Imunoglobulina do isotipo G
IgG4	Imunoglobulina do isotipo G do subtipo 4
IgM	Imunoglobulina do isotipo M
KDa	Quilo Dáton
Kg	Quilograma

Km²	Quilômetro quadrado
MA	Maranhão
mg	Miligrama
ml	Mililitro
N	Tamanho da amostra
NBR	Norma Brasileira
nm	Nanômetro
P	Proporção esperada de casos com filariose com teste positivo
PA	Pará
PCR	Reação de polimerase em cadeia
PE	Pernambuco
RMR	Região Metropolitana do Recife
RPM	Rotação por minuto
RS	Rio Grande do Sul
S	Sensibilidade
SC	Santa Catarina
SUCAM	Superintendência de Campanhas de Saúde Pública
TDR-	Tropical Diseases Research
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
WHO	World Health Organization
<i>W. bancrofti</i>	<i>Wuchereria bancrofti</i>
μl	Microlitro
μm	Micrômetro
%	Porcentagem
®	Marca registrada



1 - INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO



A filariose linfática, em 1993, foi incluída pela Força Tarefa Internacional para a Erradicação de Doenças como uma das seis doenças infecciosas consideradas erradicáveis ou potencialmente erradicáveis (CENTER FOR DISEASES CONTROL, 1993). No Brasil, a plenária do Conselho Nacional de Saúde homologou a resolução CNS nº190, de 13 de junho de 1996, iniciando o programa de eliminação da filariose linfática. Esse programa é baseado em ações para o controle da endemia, sendo a coordenação delegada às Secretarias Estaduais e a execução às Secretarias Municipais (MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNASA, 1997).

Assim, os recursos para os municípios foram liberados através de convênios celebrados entre estes e a Fundação Nacional de Saúde. Desta forma, foram alocadas verbas para os seguintes estados e municípios brasileiros, respectivamente: no Pará, a capital, Belém; em Alagoas, a capital, Maceió; e, em Pernambuco, as cidades de Camaragibe, Cabo de Santo Agostinho, Jaboatão dos Guararapes, Itamaracá, Moreno, Olinda, Paulista e Recife. Cada um desses municípios tinha autonomia em relação às estratégias adotadas no inquérito (MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNASA, 2000).

Em Pernambuco, a Secretaria Estadual de Saúde convocou os municípios da Região Metropolitana do Recife para discutir uma proposta para o Estado e elaborou um plano de intervenção sobre a filariose, em 1998, cujas principais diretrizes foram: promover a articulação entre os diversos níveis do Governo, incluir ações de controle da filariose no planejamento orçamentário e capacitar recursos humanos (MINISTÉRIO DA SAÚDE - FUNASA, 2000).

A Organização Mundial de Saúde sugere que, em áreas endêmicas para filariose linfática, devem ser utilizados testes rápidos (ICT card), bem como enzyme-linked

immunosorbent (ELISA) (OTTESEN, 1994; OTTESEN et al., 1997). Através dos testes, deverá ser possível identificar os locais que necessitam de intervenções e avaliar o impacto da estratégia a ser aplicada (MANOHARAN; KEERTHISEETAN; RAMAIAN, 1997). Já em áreas sabidamente endêmicas, os métodos laboratoriais deverão ser capazes de mensurar a real situação em termos de transmissibilidade, principalmente a prevalência e a extensão da endemia, parâmetros que devem estar igualmente disponíveis. Ademais, deverão identificar a interrupção da transmissão, em campanhas de controle, ou mesmo caracterizar o fracasso do controle.

Entretanto, são escassos os dados referentes ao uso de pesquisa antigênica, em inquéritos populacionais sobre filariose, para responder estes questionamentos, em especial no Brasil. Os dados disponíveis provêm, de uma maneira geral, de grupos específicos (pacientes assistidos em ambulatórios) que, muitas vezes, não refletem a população geral.

1.1 - Distribuição geográfica da filariose linfática

A filariose linfática, causada pela *Wuchereria bancrofti*, atinge aproximadamente 120 milhões de pessoas, no mundo. Como é uma doença que ocorre em regiões tropicais e subtropicais, distribui-se em regiões na África, com 50,57 milhões de pessoas infectadas, na Ásia, com 62,35 milhões, nas Ilhas do Oceano Pacífico, com 1,80 milhões, e nas Américas, com 40 mil (MICHAEL; BUNDY, 1997; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2000).

Nas Américas, a doença se distribuiu nos seguintes países: Brasil, Costa Rica, República Dominicana, Haiti, Guiana, Suriname e Trindade-Tobago (WHO, 2000). Em 1997, Michael e Bundy estimaram uma prevalência, para o Brasil, de 0,03% para a filariose bancroftiana, em relação à população total.

No Brasil, cerca de 3 milhões de pessoas residem em áreas de risco, o que equivale, aproximadamente, a 1,8% da população total (WHO, 2000). A primeira descrição desta patologia data de 1910, mas seu controle só foi iniciado nos anos 50 (FRANCO; SILVA LIMA, 1967). No período de 1951 a 1955 inquéritos hemoscópicos foram realizados, por meio de busca ativa, com cobertura populacional censitária em 24 localidades brasileiras, sendo consideradas com casos autóctones de microfilaremia as cidades de Manaus – AM, Florianópolis – SC, Porto Alegre – RS, Salvador – BA, Belém – PA, Maceió – AL e Recife – PE (FRANCO; SILVA LIMA, 1967; RACHOU; DEANE, 1954).

Em 1956, outros inquéritos foram realizados, em 852 localidades de 24 unidades da Federação. No entanto, apenas 11 dessas localidades foram classificadas como endêmicas, pela presença de indivíduos microfilarêmicos e de mosquitos vetores com larvas infectantes de *Wuchereria bancrofti*, conforme mencionadas a seguir, em ordem decrescente de índices de microfilaremia: 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 Luís – MA (0,6%); Salvador – BA (0,4%); Maceió – AL (0,3%); Manaus – AM (0,2%) e Porto Alegre – RS (0,1%); os maiores índices de infectividade vetorial foram encontrados nos estados do Pará, Pernambuco e Santa Catarina (FRANCO; SILVA LIMA, 1967).

A partir dos anos 60, o Departamento Nacional de Endemias Rurais considerou que, dentre as áreas trabalhadas, as únicas que ainda representavam problema de saúde pública eram Recife, Belém, Salvador e Florianópolis. Ainda segundo esse relatório, as cidades de Barra de Laguna e Ponta Grossa foram consideradas apenas pequenos focos, e, em Maceió, a endemia estava sob controle (RACHOU, 1960).

Assim, ao final da década de 60, as campanhas detectaram que os principais focos da endemia, no Brasil, estavam restritos às cidades de Recife, Belém e Salvador. Portanto, as intervenções realizadas, a partir desta constatação, deveriam priorizar essas áreas (MINISTÉRIO DA SAÚDE. SUCAM, 1985; 1989).

A partir de 1970, as ações de controle da filariose, no Brasil, passaram a ser realizadas pela Superintendência de Campanhas em Saúde Pública; as estratégias adotadas apresentavam poucas diferenças em relação às anteriores, excetuando a criação de postos fixos de coleta, do tipo busca passiva, para atendimento da demanda espontânea (MINISTÉRIO DA SAÚDE. SUCAM, 1983).

O Ministério da Saúde, em 1977, considerou como áreas endêmicas às cidades de Belém, Vigia, Soure e Cametá, no Pará; Salvador e Castro Alves, na Bahia; e Recife, em Pernambuco (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1977).

Os trabalhos desenvolvidos no período de 1979 a 1983 revelaram que a filariose, no Brasil, não apresentava a mesma gravidade do passado. Assim, a endemia continuou a ser considerada como de importância médico-sanitária apenas nos focos residuais de Belém – PA e Recife – PE (MINISTÉRIO DA SAÚDE. SUCAM, 1983).

Em 1989, o Ministério da Saúde considerou que o Recife ainda era o principal foco, no país (MINISTÉRIO DA SAÚDE. SUCAM, 1989), em decorrência do aumento da prevalência, de 0,5%, em 1985 (MINISTÉRIO DA SAÚDE. SUCAM, 1985), para

6,5%, em 1990 (MACIEL et al., 1996). Um estudo identificando a procedência de casos autóctones de infectados e o índice de infectividade vetorial evidenciou a ocorrência de transmissão ativa nos três principais municípios da Região Metropolitana do Recife: Olinda, Recife e Jaboatão dos Guararapes (MEDEIROS et al., 1992). No entanto, inquéritos epidemiológicos realizados na cidade de Olinda revelaram índices microfilarêmicos maiores que os do Recife, com uma prevalência de 12,3% (MACIEL et al., 1994).

Em 1996, após a elaboração do Plano Nacional de Eliminação da Filariose Linfática, pelo Ministério da Saúde, foram realizados inquéritos em oito municípios do Estado de Pernambuco, utilizando-se a pesquisa de microfilárias pela gota espessa (MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNASA, 2000).

No Recife, o trabalho foi estratificado por microrregiões, sendo encontradas prevalências que variaram desde 0,1% a mais de 3%. No município de Olinda foram realizadas 3.232 coletas, com uma prevalência média de 1,3%. Em Itamaracá, foram realizados 7.553 exames, sendo encontrados 13 casos de microfilaremia, distribuídos em sete localidades, cinco destas eram autóctones do município. No município de Camaragibe, foram analisadas 1.554 pessoas, com o diagnóstico de dois microfilarêmicos, sendo os casos alóctones do município. Em Moreno, examinaram-se 2.504 indivíduos, sendo identificados dois portadores de microfilaremia, provenientes do Recife; entretanto, nas entrevistas foram relatadas diversas queixas clínicas. No Cabo de Santo Agostinho, foram examinados 8.018 residentes, sendo diagnosticados seis microfilarêmicos. Os dados do município de Paulista não foram apresentados (MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNASA, 2000).

No caso de Jaboatão dos Guararapes, encontram-se disponíveis apenas os dados referentes ao Distrito de Cavaleiro, onde foram examinados 9.520 indivíduos, constatando-se uma taxa de prevalência de 2,2% (BONFIM, 2002).

1.2 - Diagnóstico da filariose

As dificuldades em realizar o diagnóstico da filariose bancroftiana decorrem, em parte, da grande diversificação das manifestações clínicas, dependentes de fatores relacionados com o parasita, com a resposta imunológica apresentada pelo paciente e outros co-fatores. O diagnóstico laboratorial da infecção filarial é tradicionalmente baseado na pesquisa do parasita, tanto pela detecção do embrião na corrente sanguínea, como pela identificação do verme adulto, vivo ou morto (DREYER; ROCHA, 1996).

A biologia molecular é atualmente utilizada para a pesquisa de DNA filarial (estrutural ou livre), detectado pela técnica da Reação de Polimerase em Cadeia – PCR, para verificação de infecção em mosquitos, como também nos diversos líquidos biológicos.

A técnica utilizando anticorpos circulantes para o diagnóstico da infecção ou doença filarial é pouco promissora, quer na rotina ou na pesquisa. Atualmente, a pesquisa de antígeno circulante é o foco de estudo de vários pesquisadores, demonstrando ser uma forma factível de diagnóstico.

Reações cruzadas entre os antígenos filariais e os antígenos de outros parasitas existentes nas regiões endêmicas contribuem para dificultar a padronização de um teste diagnóstico. Este fato, sem dúvida, constitui um dos problemas mais persistentes no imunodiagnóstico da infecção filarial (LAL; OTTESEN, 1988).

1.2.1 - Pesquisa do parasita

Qualquer que seja a metodologia parasitológica utilizada, a pesquisa da densidade parasitária deve obedecer à periodicidade da microfilária. No caso das áreas endêmicas de *W. bancrofti*, no Brasil, as microfilárias são de periodicidade noturna; em especial, na Região Metropolitana do Recife o pico de microfilaremia ocorre de 23:00 à 01:00 hora (DREYER et al., 1996a).

A técnica padrão para diagnosticar indivíduos com a infecção filarial, com base na detecção de microfilária no sangue periférico, é o exame da gota espessa, podendo ser mensurada ou não mensurada (DREYER et al., 1996a). Esta técnica tem a vantagem de apresentar boa sensibilidade e ser de baixo custo (MEDEIROS et al., 1999).

A partir da presença de 100 e 60 microfilárias por mililitro de sangue, a gota espessa apresenta 100% de sensibilidade, quando comparado com a filtração, usando-se 20 e 60 microlitros de sangue capilar, respectivamente. Entretanto, esta sensibilidade cai para 26% e 52%, se o nível de parasitemia estiver entre 1 e 30 microfilárias por mililitro, utilizando-se 20 e 60 microlitros de sangue, respectivamente (DREYER; ROCHA, 2001). Essa sensibilidade, no entanto, depende do volume de

sangue coletado, do horário de coleta (devido à periodicidade) e da habilidade e dedicação do microscopista (WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997). As microfilárias de *W. bancrofti* devem ser distinguidas das outras espécies, quando ocorrem na mesma área geográfica, ou quando o paciente tenha residido em locais onde existem diferentes espécies filariais (REY, 1991).

No entanto, Moulia-Pelat et al. (1992) consideram que a gota espessa não constitui uma ferramenta confiável para avaliação da microfilaremia, pois a técnica diagnosticou 44% (30/69) dos portadores com baixas e ultrabaixas densidades de microfilárias. Esse resultado ratifica as observações de Desowitz, Southgate e Mataika (1973), sugerindo que a gota espessa não deve ser a única técnica utilizada em inquéritos nas áreas hipoendêmicas.

Apesar de algumas discordâncias, a gota espessa permanece como padrão para o diagnóstico da infecção filarial (DREYER et al., 1996a), pelo seu custo, em inquéritos de base populacional. Apesar da baixa sensibilidade da técnica, ela pode fornecer uma medida indireta da carga de vermes adultos (ROCHA et al., 1996).

Dois técnicas de concentração em sangue venoso são adotadas na pesquisa de microfilárias, ambas utilizando maiores volumes de sangue (1 mililitro ou mais), o que aumenta bastante a sua sensibilidade (DREYER; DREYER, 2001). A técnica descrita por Knott, em 1939, foi a primeira a ser empregada, consistindo na análise da concentração do sedimento obtido, por centrifugação, de um volume de 1-5 mililitro de sangue; é a técnica escolhida para diferenciar as espécies de microfilárias (KNOTT, 1939).

A técnica de Knott foi a primeira a ser empregada. Contudo, por se tratar de uma técnica laboriosa, tende a ser substituída, especialmente em trabalhos de pesquisa, pela filtração em membrana de policarbonato, considerada o *gold test* para pesquisa de microfilária em diagnóstico individual (DREYER; DREYER, 2001).

A técnica de filtração em membrana de policarbonato é mais sensível, sendo atualmente muito utilizada em pesquisas, uma vez que quantifica com maior precisão a densidade da microfilária. Essa técnica possibilita a separação das microfilárias da amostra de sangue, através de membranas da marca Nuclepore[®] (DENNIS; KAEN, 1971).

Com o advento da membrana de policarbonato (DENNIS; KAEN, 1971), pode-se filtrar um volume bem maior de sangue e quantificar a microfilaremia de forma bastante acurada e rápida, possibilitando identificar o parasito em indivíduos com baixa densidade de parasitemia, fato particularmente importante para o critério de cura após o tratamento. O único inconveniente de sua utilização diz respeito ao elevado custo, quando comparado com a gota espessa (DREYER; NORÕES, 1997).

Ambas as técnicas, Knott e filtração, são pouco utilizadas na rotina epidemiológica, vez que a coleta do material biológico é feita no horário de 23:00 à 01:00 hora, por punção venosa. Ademais, o método de Knott é considerado laborioso e a filtração onerosa (DREYER, 1994).

A detecção do verme adulto de *W. bancrofti*, atualmente, pode ocorrer de duas formas: através do encontro do parasito, morto ou vivo. O exame histopatológico, através da biópsia de linfonodos e nódulos linfáticos, pode confirmar a presença de verme adulto no material examinado (JUNGMANN; FIGUEREDO-SILVA; DREYER,

1991). Através deste exame, é possível detectar, no mesmo material, vermes adultos degenerados, calcificados ou não, total ou parcialmente reabsorvidos, e outros aparentemente íntegros (FIGUEREDO-SILVA et al., 1994; JUNGSMANN; FIGUEREDO-SILVA; DREYER, 1991). Normalmente, a adenectomia, como método de diagnóstico de doença filarial, não deve constituir uma rotina na pesquisa do parasito, apesar de ter espaço, no diagnóstico diferencial, em relação a outras adenopatias. Por outro lado, a persistência da suspeita de filariose e sua falta de comprovação clínico-laboratorial levam à indicação de biópsia de nódulos em vasos linfáticos encontrados ao exame físico, principalmente no conteúdo escrotal (DREYER; DREYER, 2001).

A visualização dos vermes adultos de *W. bancrofti* por imagem ultra-sonográfica em linfáticos periféricos constitui atualmente um método de imagem utilizado para o diagnóstico da filariose. Sua utilização tornou-se possível devido ao fato de que os vermes adultos vivos têm um movimento peculiar dentro dos vasos linfáticos, que foi chamado de “*sinal da dança da filária*” (AMARAL et al., 1994). Os vermes são encontrados formando verdadeiros “*ninhos*” e não se deslocam do local em que se encontram (DREYER et al., 1994). Nos homens, os vasos linfáticos intra-escrotais parecem ser a localização preferencial dos vermes adultos. Cerca de 80% dos homens infectados têm parasitas adultos nesse sítio (DREYER et al., 1996d).

Nas mulheres e crianças, a freqüência na visualização de vermes adultos é menor, parecendo não haver um local preferencial para a permanência desses “*ninhos*”, embora já tenham sido detectados, por ultra-sonografia, em vasos linfáticos da região mamária feminina (DREYER et al., 1996d). Entre as crianças, já foram registrados casos na região axilar e cervical (DREYER et al., 1999).

Com base nesta metodologia, foi possível detectar os amicrofilarêmicos assintomáticos, portadores de vermes adultos vivos, incluindo-se assim no diagnóstico mais um grupo de indivíduos infectados nas áreas endêmicas (DREYER et al., 1996c).

1.2.2 – Pesquisa do DNA

Nos anos 90 foi constatado que o genoma da *W. bancrofti* tem seqüências curtas e repetidas (DISSANAYAKE; MIN; PIESENS, 1990). Posteriormente, Raghavan et al. (1991) construíram uma biblioteca de expressão (cDNA). Desta forma, tem-se demonstrado que o genoma de *B. malayi* e de *W. bancrofti* é formado por cerca de 70 a 80% de pares de bases do tipo timina – adenina (XIE; BAIN; WILLIAMS, 1994). Essas seqüências são distribuídas de forma altamente repetitiva e enfileirada (em tandem), sendo designadas de “famílias repetitivas” ((DISSANAYAKE; MIN; PIESENS, 1990; ZHONG et al., 1996).

Com isso, quatro seqüências de famílias, gênero e espécie-específicas foram identificadas por genoma haplóide, dispersas no genoma de *W. bancrofti*, podendo ser utilizadas com o propósito de diagnóstico: 1) *pWB35*, com 1.300 pares de base e 500-1.000 cópias (DENHAM; McGREEVY, 1977); 2) *pWb12*, com 969 pares de base e 450-700 cópias (SIRIDEWA et al., 1994); 3) *Sspl*, com 195 pares de base e 300 cópias (ZHONG et al., 1996) e 4) *Accl*, com 254 pares de base, não tendo sido determinado o número de cópias (ABBASI et al., 1999). Essas quatro seqüências de famílias repetitivas têm sido utilizadas na construção de indicadores (*primers*) que permitem uma alta sensibilidade e especificidade na detecção do DNA do gênero *Wuchereria* (WHO, 1993; WILLIAMS et al., 1999).

A Reação em Cadeia da Polimerase – PCR, no diagnóstico de *W. bancrofti*, tem sido utilizada para ampliar a seqüência de famílias repetitivas (*pWB35*, *pWb12*, *Sspl* e *AccI*), sendo sensível para detectar até 0,1 picograma de DNA. Isso corresponde a, aproximadamente, 1% do DNA contido numa microfilária ou larva infectante (CHANTEAU et al., 1994; ZHONG et al., 1996).

Por ser a PCR uma técnica que possibilita uma ampla aplicação do diagnóstico das doenças infecto-parasitárias, muitos pesquisadores estão trabalhando no sentido de detectar o DNA de *W. bancrofti* nos diversos líquidos biológicos humanos (LUCENA et al., 1998; ZHONG et al., 1996). Esta técnica apresenta uma alta sensibilidade; contudo, a positividade do teste, ao que parece, está diretamente relacionada com a presença da microfilária no material analisado (WILLIAMS et al., 1996).

A eficiência da seqüência desejada, através da PCR, pode variar de amostra a amostra, dependendo da quantidade de DNA obtida durante o processamento metodológico. A padronização da PCR poderá diminuir a quantidade de inibidores presentes nos diversos líquidos biológicos, evitando resultados falso-negativos. Apesar da técnica de biologia molecular não estar sendo utilizada na rotina em bancroftose, por ainda não ter sido validada, sua aplicação parece bastante promissora, tanto a nível individual, como em estudos epidemiológicos (ROCHA; AYRES; FURTADO, 2002).

1.2.3 - Pesquisa de anticorpos circulantes

Os testes preconizados para a pesquisa de anticorpos na doença filarial, até o momento, utilizam extratos brutos dos parasitos homólogos, por exemplo, a

imunofluorescência indireta para *W. bancrofti*, ou heterólogos, por exemplo, a imunoenzima ensaios (ELISA), com vermes adultos de *B. malayi*. Isso provoca, geralmente, reações cruzadas com outras infecções, acarretando prejuízo para a especificidade do teste (ROCHA, 1995).

Na década de 70, a imunofluorescência indireta foi aplicada no diagnóstico da filariose bancroftiana, utilizando como antígeno a própria microfilária de *W. bancrofti* (SANTOS; SANTOS; AZEVEDO, 1976). No entanto, foi verificada uma alta sensibilidade e uma baixíssima especificidade (DREYER et al., 1991). Assim, esta técnica não mais foi recomendada para uso na rotina clínica nem na rotina epidemiológica.

A presença de altos títulos de anticorpos da classe IgG e do isotipo IgG4 contra extrato antigênico bruto solúvel de verme adulto de *B. malayi* foi detectada em pessoas infectadas por *W. bancrofti* (OTTESEN et al., 1985). A reação cruzada nos testes sorológicos filariais, baseados na detecção de IgG total, é ocasionada pela presença de antígenos com fosforilcolina, como entre helmintos e protozoários, causando uma baixa especificidade (LAL; OTTESEN, 1988).

As técnicas sorológicas que utilizam a detecção de anticorpos geralmente não diferenciam os indivíduos com infecção ativa daqueles com infecção passada ou os indivíduos que já tenham sido expostos às larvas infectantes de forma esporádica ou contínua, mesmo que não se tornem infectados (ROCHA, 2000). Um problema adicional na detecção de anticorpos é a acentuada presença de antígenos de outros parasitas nematodas (KAGAN, 1963).

O uso de antígenos purificados certamente elevaria o grau de segurança dos testes diagnósticos na filariose bancroftiana, como ocorreu, por exemplo, na infecção por *O. volvulus*, já sendo possível detectar o período pré-patente, com o uso de um coquetel de antígenos recombinantes (RAMACHANDRAN, 1993).

Assim, o diagnóstico da infecção/doença bancroftiana utilizando anticorpos circulantes de *W. bancrofti* não deverá ser feito, quer na rotina, quer na pesquisa, sendo substituído pelos novos testes do antígeno circulante (DREYER; NORÕES, 2001).

1.2.4. - Pesquisa de antígenos circulantes

O primeiro pesquisador a demonstrar a presença de antígeno circulante nos indivíduos infectados com *W. bancrofti* foi Franks, em 1947, detectando antígeno em teste intradérmico. Na década de 70, uma variedade de anticorpos policlonais foi usada para detectar antígeno nos soros de indivíduos infectados com *W. bancrofti* e *B. malayi*. Em geral, esses testes não foram suficientemente sensíveis e/ou específicos para serem utilizados como instrumento diagnóstico. Assim, o uso de anticorpos monoclonais deverá substituir os policlonais, na tentativa de melhorar a qualidade dos testes diagnósticos em pesquisa de antígenos circulantes filariais (DREYER; ROCHA, 2001).

Na pesquisa de antígeno circulante de *W. bancrofti* inexistente diferença da sensibilidade nos testes realizados com amostras coletadas durante o dia ou à noite, pelo fato de a concentração do antígeno filarial no sangue periférico não exibir variação periódica significativa (WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997). Contorna-se, assim, a dificuldade

encontrada na pesquisa da microfilária circulante em sangue coletado no período noturno, reconhecida mundialmente, e, ao mesmo tempo, representa um teste clássico para o diagnóstico da infecção filarial, que é o exame parasitológico (ROCHA, 2000).

Para a pesquisa de antígenos circulantes de *W. bancrofti*, atualmente, dispõe-se de ensaios imunocromatográficos (ICT) e imunoenzimáticos (“Enzyme-Linked Immunosorbent Assay” – ELISA).

1.2.4.1 - AD12

O AD12 é um anticorpo monoclonal (AcMo) que reconhece um antígeno de 200 kilo Daltons e, de acordo com alguns autores, é originário de vermes adultos (WEIL; LIFTIS, 1987). Esse AcMo parece reconhecer produtos excretórios e secretórios de vermes adultos de *W. bancrofti* (CHANTEAU et al., 1994; MORE; COPERMAN, 1990; TURNER et al., 1993; WEIL; LIFTIS, 1987; WEIL et al., 1987).

O “Diagnostics Immunochromatographic Diagnostic Tests®” lançou comercialmente o teste rápido em cartões imunocromatográficos (ICT), com o AcMo, cuja leitura pode ser feita em até 10 minutos, utilizando soro, plasma ou mesmo sangue total ou capilar (WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997). Pela simplicidade, esse teste parece bastante promissor para utilização em inquéritos nas áreas endêmicas, com a vantagem de poder ser empregado a qualquer hora, apresentando sensibilidade de 96% a 100% (WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997).

Segundo Weil, Lammie e Weiss (1997), o teste do ICT apresenta as seguintes vantagens: resultado em 10 minutos, fácil de ser executado, adequa-se às mais

precárias condições do trabalho de campo, não precisa das instalações de um laboratório, e o próprio agente do trabalho de campo pode ler o resultado.

Estudos realizados no banco de amostras de soros provenientes de áreas endêmicas de *W. bancrofti* demonstraram que o ICT apresenta elevada especificidade (96%) e sensibilidade (100%), quando comparado com outros testes de antígenos filariais (SIMONSEN; DUNYO, 1999; WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997; ZHENG et al., 1998). Simultaneamente, em outro ensaio clínico foi evidenciado que o ICT tem uma sensibilidade e especificidade de 93,3% e 98,5%, respectivamente, quando comparado ao teste ELISA – Og4C3 (MEARNS, 1996). Sua sensibilidade parece também ser menor em pacientes infectados, com densidades ultrabaixas de microfilárias circulantes (DREYER; ROCHA, 2001).

Chandrasena et al. (2002), em trabalho realizado no Sri Lanka, avaliaram o ICT, detectando uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 91,8%, quando comparado com a filtração. Os autores afirmam que, embora a filtração seja uma ferramenta diagnóstica extremamente sensível, ela é capaz de identificar apenas infecções com microfilaremia presente. Além disso, o ICT não reage positivamente no grupo controle não endêmico e diagnostica os infectados amicrofilarêmicos.

Phantana et al. (1999) demonstraram que o ICT tem alta sensibilidade, especificidade e eficiência. Na doença filarial crônica, o ICT mostrou uma alta sensibilidade (SUPHANTAVANIT, apud PHANTANA et al., 1999). Os autores consideram o ICT uma alternativa de teste para o futuro, embora o custo seja elevado, no caso de países em desenvolvimento.

Como o AcMo parece reconhecer antígenos no estágio do verme adulto de *W. bancrofti*, deve-se *a priori* interpretar o teste positivo como resultado da presença do verme adulto, independente do *status* de microfilarémia dos pacientes, quando são procedentes de áreas de alta transmissibilidade. Acredita-se que o ICT tenha 100% de especificidade, porém, estudos com amostras maiores ainda devem ser realizados, para garantir esta afirmativa (DREYER; DREYER, 2001).

1.2.4.2 - Og4C3

O Og4C3 é um anticorpo monoclonal da classe das imunoglobulinas IgM, obtido contra a *Onchocerca gibsoni*, um filarídeo bovino, que identifica fortemente antígenos de *W. bancrofti* (MORE; COPERMAN, 1990). A técnica é baseada no método sandwich ELISA e reconhece antígenos filariais de 50-60 e 130 kDa. Já se encontra comercialmente disponível, sob a denominação Trop-ag[®] *W. bancrofti*, produzido pela JCU Tropical Biotechnology Pty. Ltd., Townsville, Queensland, Austrália.

O anticorpo monoclonal do Og4C3 reconhece soros de pacientes infectados com a *W. bancrofti*, sendo empregado como específico na detecção de antígeno circulante de vermes adultos (MORE; COPERMAN, 1990). Ademais, os autores sugerem que a detecção do antígeno pelo ELISA - Og4C3 não é feita somente pela origem de microfilária, ou seja, independe da presença ou ausência de microfilária circulante no sangue. Isso decorre, primeiramente, porque a contagem de microfilárias e o nível de antígeno têm uma correlação fraca e, segundo, porque há um alto nível de antígeno circulante do parasita em pacientes amicrofilarêmicos com sinais clínicos.

A detecção de antígenos filariais circulantes com o ELISA-Og4C3 tem sido adotada sempre que se deseja um diagnóstico com maior acurácia de infecção por *W. bancrofti* do que aqueles utilizados na detecção de microfilária no sangue (CHANTEAU et al., 1994; ITOH et al., 1999; LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994). Uma outra vantagem do ELISA - Og4C3 sobre a gota espessa é que ele detecta os indivíduos infectados, porém, amicrofilarêmicos e apresenta, como desvantagem, a coleta venosa (DREYER et al., 1996b). Essa é, sem dúvida, uma vantagem no diagnóstico individual; contudo, o teste deve ser empregado com cautela nos programas de interrupção da transmissibilidade (MEDEIROS, 1998).

More e Coperman (1990) consideram que o teste apresenta 100% de sensibilidade, quando comparado com a filtração, para detectar os indivíduos microfilarêmicos. Contudo, ensaios clínicos que também utilizaram a filtração como padrão ouro, evidenciaram uma sensibilidade variando de 72% a 75%, afirmando que o teste identifica infecção em apenas 67% dos indivíduos amicrofilarêmicos, porém portadores de vermes adultos (DREYER et al., 1996b).

Por outro lado, pesquisa realizada no Recife mostrou que o ELISA - Og4C3 possui 100% de sensibilidade, quando comparado com os resultados da filtração e da ultra-sonografia, nos indivíduos que apresentam uma baixa densidade parasitológica (ROCHA et al., 1996), e que reconhece somente 70% dos indivíduos amicrofilarêmicos, porém portadores de vermes adultos vivos (DREYER; DREYER, 2001).

Chanteau et al. (1994) concluíram que a detecção de microfilária pelo exame da gota espessa é específico, mas, não é sensível; a pesquisa de anticorpo é sensível, porém, não é específica o suficiente, e o ELISA - Og4C3 apresenta um bom

compromisso com a especificidade e a sensibilidade para o diagnóstico da infecção ativa por filariose bancroftiana.

O diagnóstico sorológico, utilizando-se o anticorpo monoclonal Og4C3, oferece boa sensibilidade para detectar a infecção bancroftiana; contudo, sua especificidade ainda precisa ser melhor avaliada em indivíduos que compartilham de outras infecções parasitárias (ROCHA, 2000). Já houve relato de reação cruzada do Og4C3 em pacientes portadores de dracunculíase (BLOCH et al., 1998). Assim, é importante ter cautela ao interpretar um teste positivo de antigenemia em paciente procedente de uma área com concomitância de filariose bancroftiana e outras parasitoses (ROCHA et al., 1996).

A técnica ELISA - Og4C3 é o exame ideal para o diagnóstico da filariose linfática. Sabe-se, entretanto, que, mesmo os testes com excelente especificidade, quando usados para identificar indivíduos infectados em populações de baixa prevalência/transmissibilidade, podem apresentar resultados falsos negativos (DREYER et al., 1996b).

1.2.3 – Inquérito epidemiológico antigênico

Métodos de diagnóstico empregados nos programas de controle da filariose linfática têm sido baseados na coleta de sangue noturno para detecção de microfilária. Trata-se de procedimento exaustivo, tanto para os residentes das áreas em estudo como para as equipes técnicas. A falta de entusiasmo das duas partes pode constituir um risco à triagem e ao programa de controle. Além disso, métodos parasitológicos

possuem inadequada sensibilidade. E, assim, não diagnosticam pessoas infectadas e com risco de desenvolver manifestações crônicas ou agudas (HAARBRINK et al., 1995).

Desta forma, a detecção de antígenos é particularmente interessante para uma rápida avaliação epidemiológica e clínica da filariose bancroftiana, uma vez que a coleta de sangue pode ser feita a qualquer hora (ADDISS et al., 1995; CHANTEAU et al., 1994; LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994).

O ICT, em comparação com o ELISA – Og4C3, foi testado em um inquérito epidemiológico em três áreas endêmicas diferentes da Polinésia Francesa (hiperendêmica, em Taboa; mesoendêmica, em Opoa, e hipoendêmica, em Maupiti). A sensibilidade e especificidade encontradas foram, respectivamente, de 64,8% e 97,9%, na área hiperendêmica, 46,3% e 99,3%, na mesoendêmica, e 21,9% e 98,4%, na hipoendêmica. Embora a especificidade do teste ICT permaneça muito boa nas situações estudadas, sua sensibilidade decresce, embora não significativamente, quando a prevalência diminui (NGUYEN; PLICHART; ESTERRE, 1999).

Inquérito epidemiológico realizado em três distritos de Uganda – África, constatou diferenças de prevalência, em pesquisas de microfilárias e do antígeno filarial. A prevalência parasitológica foi de 18,4%, em Alebtong, 8,9%, em Lwala, e 20,7%, em Obalanga. Já a prevalência antigênica foi de 29,1%, em Alebtong, 18,3%, em Lwala, e 30,1%, em Obalanga (LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994; SIMONSEN et al., 1996). A prevalência do antígeno foi mais alta do que a parasitológica, em todas as comunidades e grupos de idade, provavelmente porque o antígeno tem origem em todos os estádios do parasita e não apenas na microfilária. Desta forma, a prevalência antigênica deve ser um melhor indicador da carga da

infecção e morbidade na população, quando comparada com a prevalência parasitológica por microfilária (ONAPA et al., 2001).

Estudos realizados por Freedman et al. (1997) e Chandrasena et al. (2002) indicam que o ICT pode constituir um instrumento efetivo para inquéritos da filariose bancroftiana, principalmente na identificação de novos focos com transmissão ativa da filariose. O alto custo do ICT, comparado com a gota espessa, pode ser parcialmente compensado pelo fato de não requerer muito treinamento para sua aplicação, associado às facilidades laboratoriais, coleta diurna de sangue, probabilidade de alta sensibilidade e rapidez do teste. Desta forma, o ICT é bastante atrativo para ser utilizado nos inquéritos de base populacional.

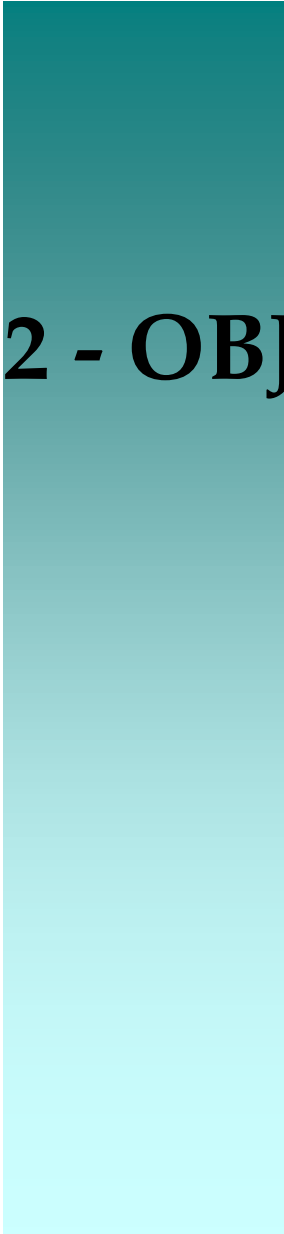
A utilização do ELISA - Og4C3 em inquérito populacional foi relatada por Sahoo et al. (2000), em trabalho realizado na Índia, identificando uma taxa de prevalência de 42%, comparável à de outros relatos: no Haiti (LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994), na Polinésia Francesa (NICOLAS et al., 1997) e no Egito (WEIL et al., 1996). Entretanto, uma taxa menor de antigenemia foi detectada no Sri Lanka (ITOH et al., 1999), e na Papua Nova Guinéa (KASURA et al., 1997).

Devido à dificuldade da coleta de sangue venoso para obtenção de soro, em estudos de base populacional, foi desenvolvido um método utilizando filtro de papel para a coleta das amostras sanguíneas para a aplicação do ELISA - Og4C3. No entanto, estudo desenvolvido em Ghana – África, demonstrou a baixa sensibilidade do ELISA – Og4C3, realizando coleta de sangue com papel de filtro, em comparação com o soro. Apesar do ensaio do ELISA - Og4C3 com amostras de banco de soro apresentar sensibilidade e especificidade de 99%, não é possível detectar esses níveis

nas condições do trabalho de campo, realizando a coleta de sangue com filtro de papel (GYAPON; OMANE-BADU; WEBBER, 1998).

A literatura registra poucos trabalhos sobre inquéritos epidemiológicos com antígenos circulantes, principalmente sobre o ELISA - Og4C3; no Brasil, encontrou-se apenas um estudo de validação do ICT com base populacional, para o Og4C3 nenhum trabalho sobre este tema foi encontrado.

O presente trabalho pretende validar os testes que detectam os antígenos circulantes (ELISA-Og4C3 e ICT-AD12), em inquérito populacional, cujo conhecimento contribuirá para os programas de controle. Assim, o projeto se propõe responder algumas questões a respeito da utilização da pesquisa de antígeno circulante para a identificação da infecção filarial na Região Metropolitana do Recife. Para efetivar este propósito, foi desenvolvido um estudo de validação diagnóstica no Distrito de Cavaleiro, município de Jaboatão dos Guararapes – PE.



OBJETIVOS

2 - OBJETIVOS



2.1 - Geral:

Validar a pesquisa dos anticorpos monoclonais Og4C3 e AD12, para o diagnóstico da filariose bancroftiana, quando comparada ao exame da gota espessa, em inquérito populacional.

2.2 - Específicos:

- 1 . Estimar, segundo as variáveis definição de caso, sexo, faixa etária, tempo de residência na área e tratamento anterior, a especificidade e os valores preditivos da pesquisa dos anticorpos monoclonais Og4C3 e AD12, comparando com a gota espessa, em inquéritos populacionais para filariose bancroftiana;
- 2 . Verificar a acurácia das técnicas que pesquisam antígenos filariais ELISA e Imunocromatográfica;
- 3 . Comparar a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos da gota espessa e dos anticorpos monoclonais Og4C3 e AD12.



3 – PROCEDIMIENTOS METODOLÓGICOS

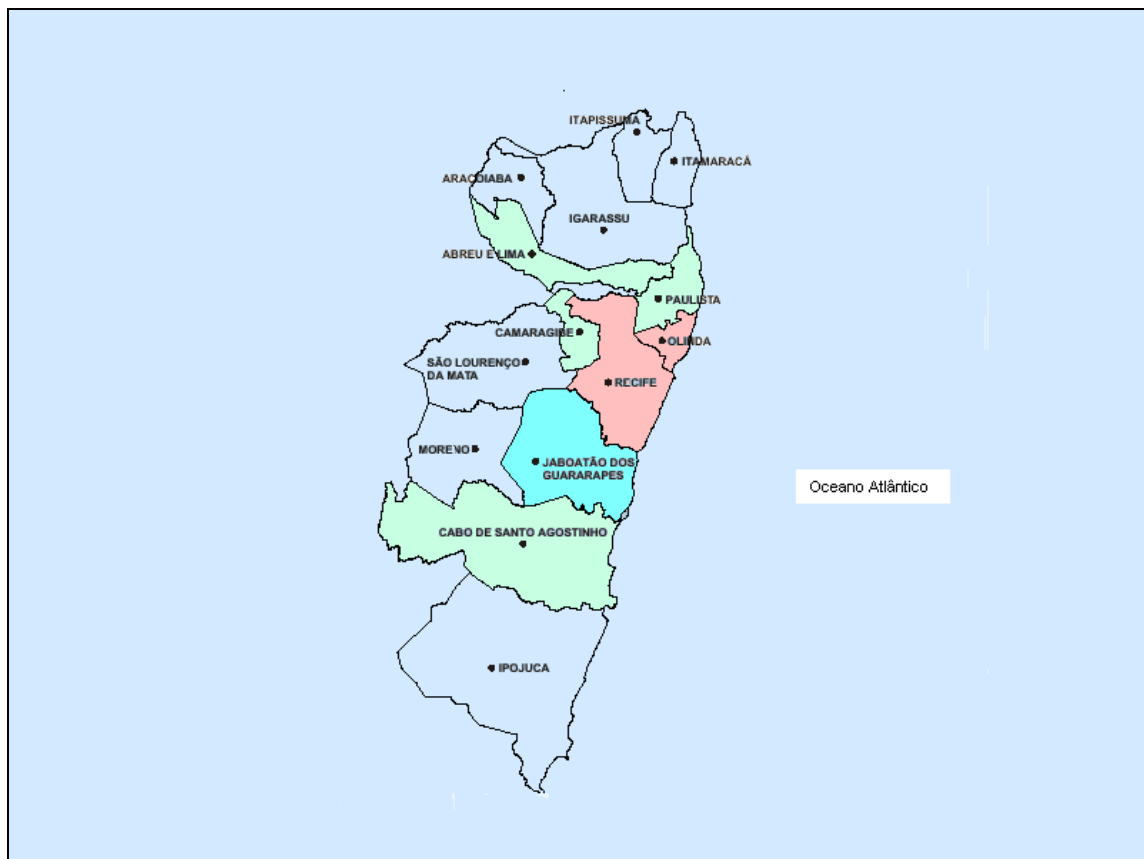


3.1 - Área de estudo:

A área de estudo abrangeu o Distrito de Cavaleiro, pertencente ao município de Jaboatão dos Guararapes, localizado na Região Metropolitana do Recife - RMR, com uma superfície total de 257,3 km², correspondente a 0,26% do Estado de Pernambuco. Limita-se, ao norte, com o Recife, ao sul, com o município do Cabo de Santo Agostinho, ao oeste, com Moreno e, ao leste, com o Oceano Atlântico (Figura 1).

Figura 1

Mapa da Região Metropolitana do Recife



No município de Jaboatão dos Guararapes 79,19% da população urbana é abastecida pela rede geral de água; 71,99% possuem coleta regular de lixo, todavia, apenas 22,1% dessa população é servida por sistema de esgotamento sanitário. Quanto ao serviço de saúde, a cidade tem 6 hospitais, com 485 leitos, um posto de saúde, 40 centros de saúde e 64 unidades de ambulatório (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2000).

A população do distrito é de aproximadamente 137.826 habitantes, distribuídos em 27.969 domicílios particulares, com média de cinco pessoas por domicílio, segundo a recontagem do IBGE, de 1996.

3.2. Desenho do estudo:

Para alcançar os objetivos propostos, foi realizado um estudo de avaliação diagnóstica, para análise da validade dos resultados apresentados pelo ELISA - Og4C3 e pelo ICT, quando comparados com a gota espessa, em inquérito epidemiológico.

A validade de um teste refere-se a quanto ele é útil para diagnosticar um evento ou predizê-lo. Para tal, compara-se os resultados dos testes em análise com os dos testes padrões. Este pode ser o verdadeiro estado do paciente, se a informação está disponível, um conjunto de exames julgados mais adequados, ou uma outra forma de diagnóstico que possa ser usada como referência. O teste diagnóstico ideal deveria fornecer, sempre, a resposta correta, ou seja, um resultado positivo, nos indivíduos com a doença, e um resultado negativo, nos indivíduos sem a doença (ANDRADE; ZICKER, 1997).

3.3. População de estudo:

Fizeram parte do estudo a população alvo de um inquérito epidemiológico realizado no Distrito de Cavaleiro, para pesquisa de filariose bancroftiana no ano de 2001. Neste estudo foram examinadas 9.520 pessoas, sendo diagnosticados, como positivos para filariose, 214 indivíduos, o que representou uma prevalência de 2,2%.

3.3.1. Cálculo da amostra:

A amostra foi dimensionada levando em consideração o desenho do estudo de avaliação diagnóstica descrito por Andrade e Zicker (1997).

O cálculo do tamanho da amostra, para variáveis dicotômicas, atendeu os mesmos princípios estabelecidos em estudos descritivos. O tamanho da amostra deve dar uma idéia da ordem de grandeza da população necessária para o estudo, sem contudo ser rígido, uma vez que o cálculo se baseia em estimativas e parâmetros. Geralmente, esta estimativa é obtida através de revisão bibliográfica (ANDRADE; ZICKER, 1997), sendo necessárias as seguintes informações:

1. Estimativa da proporção esperada da variável de interesse na população;
2. Amplitude do intervalo de confiança que se deseja;
3. Definição do intervalo de confiança.

Para se obter a estimativa da sensibilidade do ELISA - Og4C3 foi realizada uma vasta revisão bibliográfica, atual e retrospectiva, alcançando o primeiro trabalho

publicado sobre o ELISA - Og4C3 (MORE; COPERMAN, 1990), a partir do qual foi encontrada uma sensibilidade de 98%.

A revisão bibliográfica evidenciou que um dos primeiros trabalhos sobre a aplicação do método imunocromatográfico ICT para filariose (WEIL et al., 1997) apresentava uma sensibilidade de 98% para o ICT. Como a sensibilidade do ELISA - Og4C3 e do ICT era de 98%, o cálculo da amostra considerou os mesmos parâmetros.

Portanto, se:

$$N = Z * Z (P (1 - P)) / (D * D),$$

em que:

P = proporção esperada de casos com filariose com teste positivo = 0,02 (98% é maior que 50%; portanto, a proporção de indivíduos com filariose e teste negativo é de 2%);

D = semi-amplitude do intervalo de confiança = 0,04

Z = 1,96 (para $\alpha=0,05$ e IC 95%).

Chega-se à conclusão de que:

$$N = 1,96 * 1,96 (0,02 (1 - 0,02)) / (0,04 * 0,04) = 47$$

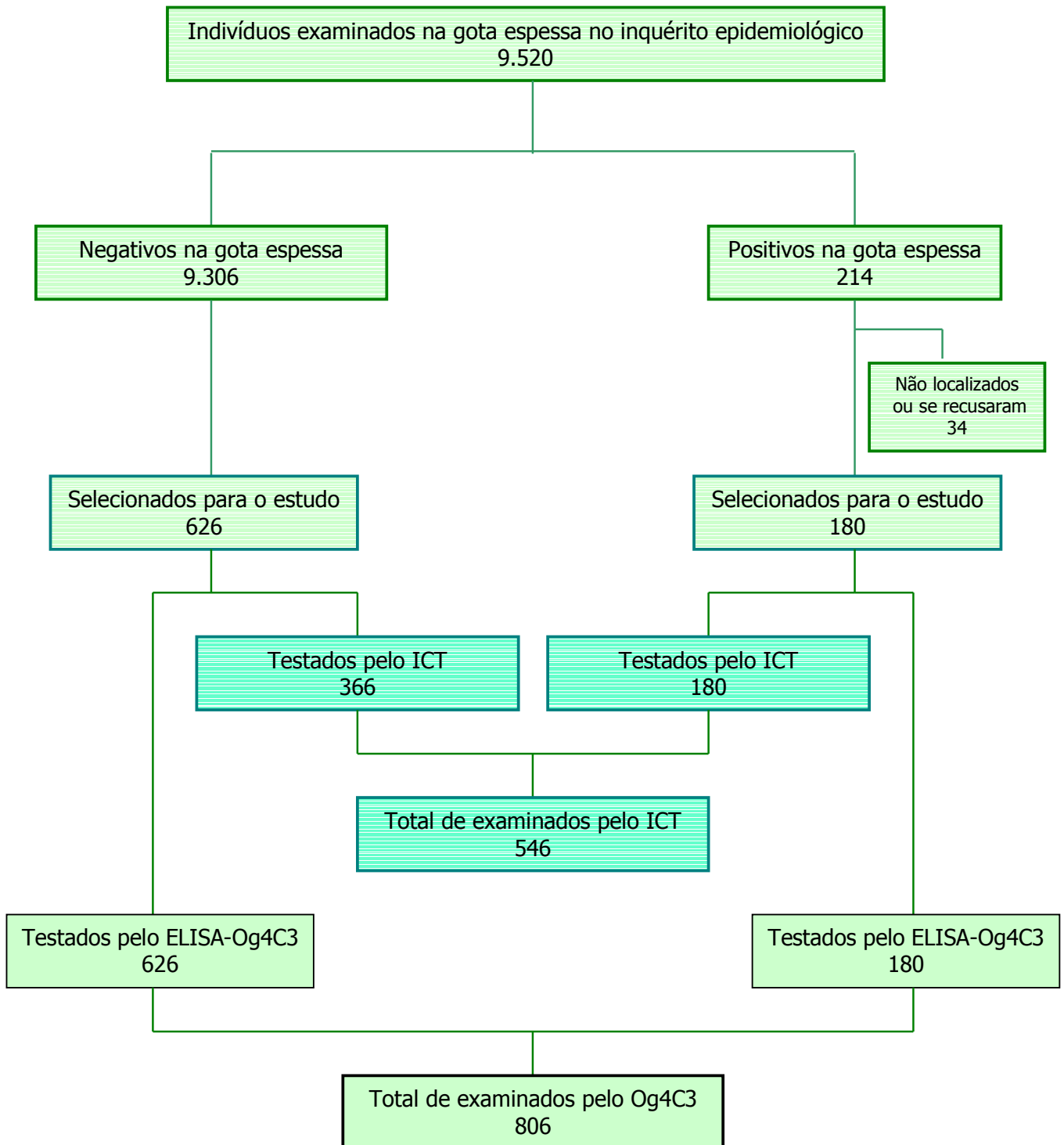
O estudo de validação diagnóstica, aqui referido, tomou por base os 214 indivíduos microfilarêmicos do inquérito epidemiológico realizado em 2001 (BONFIM, 2002). Destes, 34 não foram localizados ou não desejaram realizar os testes

antigênicos, restando 180 indivíduos, que foram examinados utilizando o ELISA - Og4C3 e o ICT.

Para cada indivíduo positivo na gota espessa (180) foram identificados aleatoriamente 2 negativos para o ICT e 3 para o ELISA - Og4C3, totalizando uma amostra de 547 e 806, respectivamente (Fluxograma).

Fluxograma

Seleção da Amostra



3.4. Variáveis do estudo:

Variáveis dependentes:

Definição de caso, segundo a técnica da gota espessa:

Negativo (ausência de microfilária na lâmina);

Positivo (presença de qualquer quantidade de microfilária na lâmina).

Definição de caso, segundo a técnica ELISA (Og4C3):

Para determinar o resultado desse exame deve ser calculado um ponto de corte.

Negativo (valores em absorbância inferiores ao ponto de corte);

Positivo (valores em absorbância superiores ao ponto de corte);

Limítrofe (valores em absorbância na mesma faixa do ponto de corte).

Definição de caso, segundo a técnica ICT (AD12):

Negativo (se apenas aparecer a linha de controle negativo);

Positivo (se duas linhas forem vistas na área da janela);

Indeterminado (se nenhuma das linhas for vista).

Variáveis independentes:

Tempo de residência na área

A variável tempo de residência na área foi distribuída em duas categorias:

Alóctones (não residentes no distrito desde o nascimento);

Autóctones (residentes no distrito desde o nascimento).

Idade

Os indivíduos foram distribuídos em sete categorias, conforme a idade:

0 a 9 anos

10 a 19 anos

20 a 29 anos

30 a 39 anos

40 a 49 anos

50 a 59 anos

Igual a ou maior que 60 anos

Sexo

Foi declarado pelo indivíduo, no momento da entrevista para preenchimento da ficha hemoscópica, sendo categorizado em;

Masculino

Feminino

Tratamento anterior para filariose

A variável tratamento anterior para filariose, com a Dietilcarbamazina, foi distribuída em duas categorias:

Sim

Não

3.5. Instrumento de coleta dos dados secundários:

Com base nos dados contidos na ficha hemoscópica, fonte de informações sobre os indivíduos que participaram do inquérito epidemiológico, foram selecionados alguns dados: tempo de residência, idade, sexo e realização ou não de tratamento anterior para filariose (Anexo A).

3.6. Descrição das técnicas:

➤ **Gota Espessa:** Consiste na punção capilar da face lateral de um dedo, preferencialmente o anelar esquerdo, coletando-se cerca de três gotas de sangue com aproximadamente 50µl, após uma assepsia do local (DREYER et al., 1996a). Essa atividade foi realizada no domicílio dos indivíduos em estudo, no horário de 23:00 à 01:00h. As lâminas com o sangue foram enviadas ao Laboratório de Parasitologia - Serviço de Referência Clínico Laboratorial de Filariose, CPqAM-FIOCRUZ, sendo processadas, 12 horas após a coleta.

De acordo com o protocolo deste serviço, o material foi processado da seguinte maneira: as lâminas foram colocadas em um reservatório contendo água destilada, por dez minutos, a fim de que ocorresse a desemoglobinação. Logo após, as lâminas foram colocadas para secar, em temperatura ambiente. Em seguida, foram fixadas com álcool metílico, por três minutos, e secadas, em temperatura ambiente.

A seguir, foram submetidas a coloração, com a eosina amarelada a 0,05%, durante um minuto, e colocadas posteriormente, para secar. Por fim, as lâminas foram contra-coradas em solução giemsa, na diluição de três gotas para um mililitro de água destilada, por quinze minutos, sendo lavadas com água corrente, posteriormente.

Essas lâminas foram examinadas ao microscópio óptico, utilizando-se um aumento final de 100 vezes. A lâmina com microfilária foi diagnosticada como positiva e identificou-se a espécie filarial.

🔗 ELISA (Og4C3): Uma amostra de 5 mililitros de sangue venoso sem anticoagulante foi coletada de todos os indivíduos selecionados para o estudo antigênico, no próprio domicílio do paciente. O sangue venoso, após retenção do coágulo, foi centrifugado a 2.500 RPM, durante 10 minutos, para obtenção do soro, e a seguir acondicionado a -20°C .

Os procedimentos para a realização da técnica obedeceram a orientação do fabricante, conforme segue:

Adicionou-se 100 μl de cada amostra de soro a 300 μl de diluente, em tubo adequado, em seguida os tubos foram levados ao banho-maria a 100 $^{\circ}\text{C}$, por cinco minutos; após a fervura, centrifugou-se as amostras a 14.000 RPM, por 10 minutos. O fluido sobrenadante transparente continha o antígeno estável. Deste sobrenadante retirou-se 50 μl e colocou-se no poço teste. Foram adicionados os padrões e o controle nas colunas 11 e 12. A placa foi colocada em câmara úmida e incubada durante a noite, para aumentar a sensibilidade.

Após a incubação, as placas foram lavadas três vezes, com tampão de lavagem, e inverteu-se a placa, com delicadeza, para remover a parcela residual. Em seguida, o anticorpo anti-*Onchocerca* de coelho foi diluído, adicionando-se 50µl a 6ml do diluente. Colocou-se 50µl deste anticorpo diluído em todos os poços e incubou-se, por uma hora.

As placas foram lavadas três vezes, como anteriormente. Adicionou-se 50µl do conjugado anti-coelho a 6 mililitros do diluente anticorpo; desta diluição, 50µl foram adicionados a todos os poços e incubados, por uma hora.

Lavou-se a placa três vezes, como anteriormente. 100µl do cromógeno (ABTS) foram acrescentados em cada poço e incubou-se, por mais uma hora.

Por fim, a placa foi lida com espectrofotômetro, por dois comprimentos de ondas, de 414nm e 492nm. Para interpretação dos resultados foi calculado um ponto de corte para cada placa, determinado através do cálculo da média dos valores em absorbância do controle negativo, acrescido de dois desvios-padrão. Amostras com valores em absorbância superiores ao ponto de corte são consideradas inicialmente positivas e aquelas com valores inferiores ao ponto de corte são consideradas negativas. Pode-se também determinar as amostras consideradas com valores limítrofes, que seriam aquelas com baixa reatividade e apresentando resultados duvidosos (Figura 2).

Figura 02

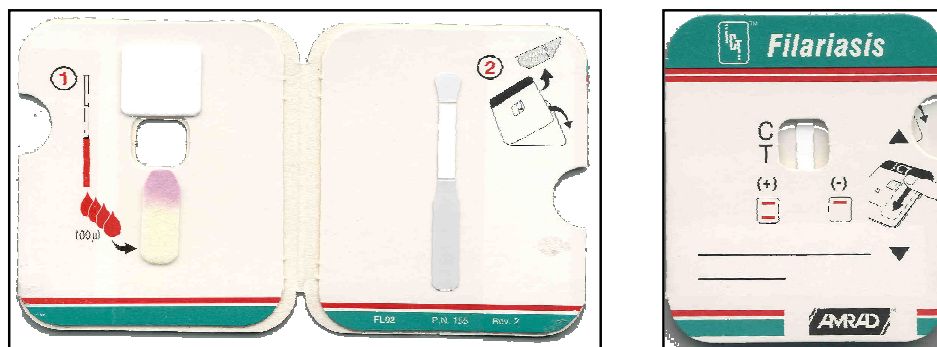
Material utilizado para o processamento da técnica ELISA-Og4C3

🌀 **ICT (AD12):** Conforme o fabricante, o processo prosseguiu do seguinte modo:

Removeu-se e descartou-se a linha adesiva do cartão teste, adicionando-se cerca de 100µl de soro na face rosada, evitando-se o contato direto no momento em que o soro foi adicionado. Fechou-se o cartão, pressionou-se firmemente ao longo de toda a área à direita da janela e iniciou-se a contagem do tempo. Leu-se o resultado, observando a janela em até 10 minutos.

O teste foi considerado positivo, quando duas linhas foram vistas na área da janela, negativo, se somente a linha controle foi vista, e inválido, se a linha controle não foi observada (Figura 3).

Figura 3
Cartão do ICT



3.7. Processamento e análise dos dados:

Os dados obtidos no estudo foram armazenados e analisados no programa Epi-Info versão 6.04b, produzido pelo Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos – CDC (DENNIS; DEAN, 1996), sendo utilizados os módulos *Eped*, *Enter*, *Analyses*, *Validate* e *Epetable*.

Esses dados foram apresentados em tabelas de contingência, para possibilitar o cálculo dos indicadores de validação do teste. Para identificar a significância estatística e validação do tamanho da amostra foi utilizado intervalo de confiança para um erro aceitável de 5%.

As fórmulas para o cálculo dos indicadores usados no estudo de validade encontram-se descritas na tabela 1.

TABELA 1
Tabela de contingência 2 x 2

Antígeno Circulante (Og4C3 ou ICT)	Gota Espessa		TOTAL
	PRESENÇA DE MICROFILÁRIA	AUSÊNCIA DE MICROFILÁRIA	
POSITIVO	a	b	a + b
NEGATIVO	c	d	c + d
TOTAL	a + c	b + d	a + b + c + d

No que concerne aos dados apresentados na tabela 1, vale esclarecer:

Grupo A – indivíduos positivos no exame da gota espessa e positivos para o teste antigênico, ELISA - Og4C3 ou ICT;

Grupo B – indivíduos negativos para a gota espessa e positivos para a antigenemia no ELISA - Og4C3 ou ICT;

Grupo C – indivíduos positivos no exame da gota espessa e negativos no teste antigênico, ELISA - Og4C3 ou ICT;

Grupo D – indivíduos negativos para a gota espessa e negativos no teste antigênico, ELISA - Og4C3 ou ICT.

VALIDADE

Sensibilidade: proporção de verdadeiros positivos entre todos os doentes. Expressa a probabilidade de um teste dar positivo na presença da doença.

$$S = a / a + c$$

Especificidade: proporção de verdadeiros negativos entre todos os sadios. Expressa a probabilidade de um teste dar negativo na ausência da doença.

$$E = d / b + d$$

Valor preditivo positivo: proporção de verdadeiros positivos entre todos os indivíduos com teste positivo. Expressa a probabilidade de um paciente com o teste positivo ter a doença.

$$VPP = a / a + b$$

Valor preditivo negativo: proporção de verdadeiros negativos entre todos os indivíduos com teste negativo. Expressa a probabilidade de um paciente com teste negativo não ter a doença.

$$VPN = d / c + d$$

Acurácia: proporção de acertos de um teste diagnóstico, ou seja, é a proporção entre verdadeiros positivos e negativos em relação a todos os resultados possíveis.

$$A = a + d / a + b + c + d$$

3.8. Limitações Metodológicas:

O investigador que realizou ambas as técnicas desconhecia quais indivíduos eram positivo para gota espessa e quais eram negativos, evitando desta forma vícios de interpretação de resultados especialmente nas situações limítrofes.

Para reduzir erros na manipulação das amostras e dos equipamentos, e, diminuir divergências na realização das técnicas e interpretação de resultados, ambas foram realizadas por dois técnicos.

3.9. Aspectos éticos:

Os indivíduos selecionados para compor a amostra, após contatados, receberam explicações sobre os objetivos do estudo, sendo-lhes solicitado o consentimento para a participação, através da assinatura de um termo de consentimento (Anexo B). No caso de menores de 18 anos, as informações foram repassadas aos pais ou responsáveis, que consentiram ou não com a respectiva participação.

Todos os indivíduos ou genitor(es) receberam os resultados do exame, por escrito. Os resultados foram informados à Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária da Secretaria de Saúde do Município de Jaboatão dos Guararapes e à Fundação Nacional de Saúde.

Informações sobre os aspectos básicos da doença filarial foram transmitidas à população-alvo da pesquisa. Os familiares dos indivíduos microfilarêmicos foram

orientados, em palestras educativas, quanto à importância da higiene pessoal, uso de medidas profiláticas da infecção, por exemplo, uso de mosquiteiro, exames regulares para a pesquisa de microfilária, a cada seis meses, para todos os membros da família, e procura de um posto de saúde, no momento de aparecimento de quaisquer sintomas e sinais correlacionados com a doença.

Todos os indivíduos positivos para microfilária e para a pesquisa de antígeno filarial foram tratados com a posologia preconizada pela TDR/WHO, com a Dietilcarbamazina, na dose de 6mg/Kg/dia, por 12 dias (WHO, 1994).

O projeto em pauta foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CPqAM – FIOCRUZ (Anexo C).

3.10. Normas para as Referências Bibliográficas:

As referências bibliográficas atenderam as diretrizes da Associação Brasileira de Normas Técnicas (2002).

3.11. Equipe executora:

ANA MARIA AGUIAR DOS SANTOS (Mestre em Pediatria) – Médica responsável pelas atividades clínicas e tratamento dos casos, em nível ambulatorial CPqAM / FIOCRUZ.;
CONCEIÇÃO MARIA DE OLIVEIRA (estudante de Mestrado em Saúde Pública, na área de concentração Controle de Endemias e Métodos Diagnósticos) – Supervisão das

atividades de coleta e realização dos métodos laboratoriais – pesquisa parasitológica e antigênica para filariose;

CRISTINE VIEIRA DO BONFIM (Mestre em Saúde Pública, na área de concentração Epidemiologia Social e Políticas de Saúde) – Supervisão das atividades de digitação, processamento dos dados informatizados.

FABIO JOSÉ DELGADO LESSA (Mestre em Saúde Pública) – Epidemiologista responsável pelos cálculos de amostragem, treinamento em *softwares* e supervisão dos resultados obtidos;

FERNANDO JOSÉ DA SILVA E MARCOS ERALDO DA ROCHA (motoristas) – Responsáveis pela locomoção da equipe ao local de trabalho, na comunidade;

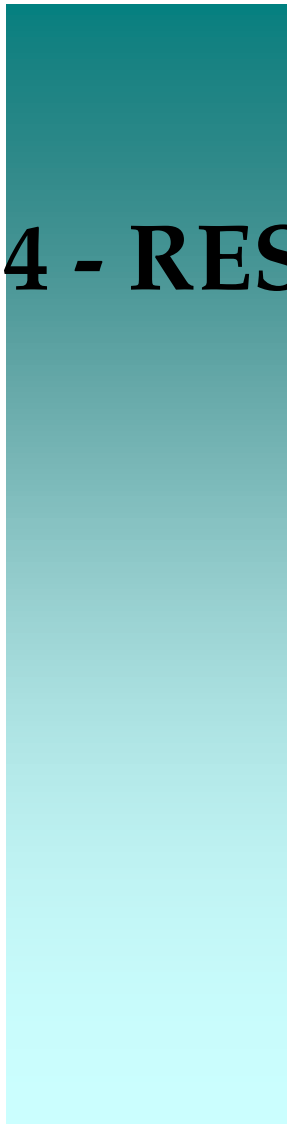
JOSÉ COSTA PEREIRA e JOÃO QUARESMA MENDONÇA (agentes de saúde) – Supervisores das atividades de campo (mapeamento, identificação da área e população de estudo, coleta de amostra biológica, entrega dos resultados e agenda do tratamento);

LUIA DIAS (Mestre em Ciências) – Supervisão das atividades laboratoriais.

MARIA JOSÉ EVANGELISTA NETTO (Especialista) – Médica responsável pelas atividades clínicas do campo e tratamento domiciliar dos casos detectados;

MARLENE EUNICE RIBEIRO DO ESPIRITO SANTO – Supervisão das atividades laboratoriais, realização dos exames sorológicos.

ZULMA MEDEIROS (Doutora em Ciências) – Coordenadora e supervisora das atividades do projeto.



RESULTADOS

4 - RESULTADOS



Na validação do ELISA - Og4C3, tendo como padrão ouro a gota espessa, foram examinados 806 indivíduos. Dos 180 indivíduos com gota espessa positiva, 172 (95,56%) também foram positivos para o ELISA - Og4C3, 7 (3,89%) foram negativos e em 1 (0,55%) o resultado foi limítrofe. Quando foram avaliadas as 626 pessoas negativas para o exame da gota espessa, observou-se que 517 (82,59%) foram negativas para o ELISA - Og4C3, 89 (14,22%) foram positivas e 20 (3,19%) estavam na faixa limítrofe (Tabela 2).

TABELA 2
Validação da técnica ELISA - Og4C3, quando comparada com a técnica da gota espessa, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

Antígeno Circulante Og4C3	Gota Espessa		TOTAL
	PRESENÇA DE MICROFILÁRIA	AUSÊNCIA DE MICROFILÁRIA	
POSITIVO	172 (95,56%)	89 (14,22%)	261 (32,38%)
NEGATIVO	7 (3,89%)	517 (82,59%)	524 (65,01%)
LIMÍTROFE	1 (0,55%)	20 (3,19%)	21 (2,61%)
TOTAL	180 (100%)	626 (100%)	806 (100%)

Para a validação do ICT, quando comparado com a gota espessa, foram examinadas 546 pessoas. Das 180 positivas na gota espessa, 170 (94,44%) foram positivas no ICT e 10 (5,56%) foram diagnosticadas como negativas. Para os 366 negativos na gota espessa, 332 (90,74%) obtiveram o mesmo diagnóstico do teste padrão e 34 (9,26%) foram positivos, como se pode verificar na tabela 3.

TABELA 3

Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

Antígeno Circulante ICT	Gota Espessa		TOTAL
	PRESENÇA DE MICROFILÁRIA	AUSÊNCIA DE MICROFILÁRIA	
POSITIVO	170 (94,44%)	34 (9,26%)	204 (37,36%)
NEGATIVO	10 (5,56%)	332 (90,74%)	342 (62,64%)
TOTAL	180 (100%)	366 (100%)	546 (100%)

Para o estudo de validação do ELISA - Og4C3, tendo como padrão ouro a gota espessa, os resultados encontrados para a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia foram 96,1%, 85,3%, 65,8%, 98,7% e 87,7, respectivamente. Quanto à validação do ICT, comparado com a gota espessa, a sensibilidade foi de 94,4%, especificidade de 90,7%, valor preditivo positivo de 83,3%, valor preditivo negativo de 97,1% e acurácia de 91,9%. Todavia, foi possível verificar que o ELISA - Og4C3 apresentou uma melhor sensibilidade (96,1%) e um melhor valor preditivo negativo (98,7%); já o ICT apresentou melhor especificidade (90,7%), valor preditivo positivo (83,3%) e acurácia (91,9%). Esses resultados podem ser verificados no quadro 1.

QUADRO 1

Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia das técnicas ELISA - Og4C3* e ICT¹, quando comparadas com a técnica da gota espessa, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

PARÂMETROS	Og4C3* %	95% IC¹	ICT² %	95% IC¹
SENSIBILIDADE	96,1	91,8 – 98,3	94,4	89,7 – 97,2
ESPECIFICIDADE	85,3	82,2 – 88,0	90,7	87,2 – 93,4
VPP³	65,9	59,8 – 71,6	83,3	77,3 – 88,0
VPN⁴	98,7	97,1 – 99,4	97,1	94,5 – 98,5
ACURÁCIA	87,7	-	91,9	-

IC¹: Intervalo de confiança

ICT²: Teste imunocromatográfico

VPP³: Valor preditivo positivo

VPN⁴: Valor preditivo negativo

*** 21 pacientes foram considerados limítrofes para o teste ELISA - Og4C3.**

Quanto à validação do ELISA - Og4C3 segundo a variável sexo, tendo como padrão ouro a gota espessa, as maiores taxas foram encontradas no sexo masculino, com uma sensibilidade de 97,3% e especificidade de 85,4%. Em relação ao valor preditivo positivo, o sexo masculino apresentou resultado maior do que o feminino, com taxa de 75,3%. Já para o valor preditivo negativo, foi o sexo feminino que apresentou maior taxa, 98,7% (Tabela 4).

TABELA 4

Validação da técnica ELISA - Og4C3*, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o sexo, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

SEXO	(Grupo A)	(Grupo B)	(Grupo C)	(Grupo D)	Sensib.	Especif	VPP	VPN
	Og4C3/GE	Og4C3/GE	Og4C3/GE	Og4C3/GE				
	Freq.	Freq.	Freq.	Freq.	%	%	%	%
MASCULINO	110	36	3	210	97,3	85,4	75,3	98,6
FEMININO	62	53	4	307	93,9	85,3	53,9	98,7
TOTAL	172	89	7	517	96,1	85,3	65,9	98,7

Sensibilidade = a/a+c

Especificidade = d/d+b

Valor preditivo positivo = a/a+b

Valor preditivo negativo = d/c+d

* 21 pacientes foram considerados limítrofes para o teste ELISA - Og4C3.

Os resultados encontrados na validação do ICT, quando comparados com a gota espessa, apontaram para uma sensibilidade maior no sexo masculino (95,6%), e uma especificidade maior no feminino, com taxa de 92,9%. O valor preditivo positivo apresentou uma maior taxa para o sexo masculino (85,7%) e o valor preditivo negativo foi maior no feminino (97,7%), como já havia ocorrido no ELISA - Og4C3 (Tabela 5).

TABELA 5
Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o sexo, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

SEXO	(Grupo A) ICT/GE Freq.	(Grupo B) ICT/GE Freq.	(Grupo C) ICT/GE Freq.	(Grupo D) ICT/GE Freq.	Sensib. %	Especif %	VPP %	VPN %
MASCULINO	108	18	5	122	95,6	87,1	85,7	96,1
FEMININO	62	16	5	210	92,5	92,9	79,5	97,7
TOTAL	170	34	10	332	94,4	90,7	83,3	97,1

Sensibilidade = $a/a+c$
 Especificidade = $d/d+b$
 Valor preditivo positivo = $a/a+b$
 Valor preditivo negativo = $d/c+d$

Quanto à especificidade do ELISA - Og4C3, analisada segundo a variável faixa etária, verificou-se que os grupos etários que apresentaram maiores valores foram 40-49 e 0-9 anos, com 90,7% e 90,5%, respectivamente. As faixas que apresentaram menores taxas foram 60 e maior (78,7%) e 20-29 anos (82,4%).

A faixa etária de 0-9 anos foi a que apresentou a menor taxa quanto ao valor preditivo positivo, 25,0%, e a maior, no valor preditivo negativo, 98,3%. As maiores taxas do valor preditivo positivo foram verificadas nas faixas etárias de 20-29 anos (72,7%) e 30-39 anos (72,1%).

A sensibilidade e o valor preditivo negativo não foram analisados em algumas faixas etárias, devido à ausência de indivíduos no Grupo C. Estes dados estão apresentados na tabela 6.

TABELA 6
Validação da técnica ELISA - Og4C3*, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo a faixa etária, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

FAIXA ETÁRIA	(Grupo A)	(Grupo B)	(Grupo C)	(Grupo D)	Sensib.	Especif	VPP	VPN
	Og4C3/GE	OgC3/GE	OgC3/GE	Og4C3/GE	%	%	%	%
	Freq.	Freq.	Freq.	Freq.				
0-9	4	12	2	114	66,7	90,5	25,0	98,3
10-19	54	26	-	125	-	82,8	67,5	-
20-29	48	18	2	84	96,0	82,4	72,7	97,7
30-39	31	12	2	69	93,9	85,2	72,1	97,2
40-49	10	5	-	49	-	90,7	66,7	-
50-59	14	6	-	39	-	86,7	70,0	-
760 e +	11	10	1	37	91,7	78,7	52,4	97,4
Total	172	89	7	517	96,1	85,3	65,9	98,7

Sensibilidade = a/a+c

Especificidade = d/d+b

Valor preditivo positivo = a/a+b

Valor preditivo negativo = d/c+d

* 21 pacientes foram considerados limítrofes para o teste ELISA - Og4C3.

Quanto à especificidade por faixa etária, de acordo com o ICT as faixas etárias que apresentaram as maiores taxas foram de 20-29 anos (96,0%) e 60 e maior (91,7%), sendo a menor taxa encontrada na faixa de 0-9 anos (66,7%).

Em relação ao valor preditivo positivo, a menor taxa foi encontrada na faixa etária de 0-9 anos (50,0%) e a maior no intervalo de 20-29 anos (88,9%), semelhante ao que ocorreu no ELISA - Og4C3.

Devido à ausência de indivíduos no Grupo C, em algumas faixas etárias não foi possível verificar a especificidade e o valor preditivo negativo. Na faixa etária de 50 – 59 anos, não foram analisados a sensibilidade e o valor preditivo negativo, por falta de indivíduos no Grupo B (Tabela 7).

TABELA 7
Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo a faixa etária, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

FAIXA ETÁRIA	(Grupo A)	(Grupo B)	(Grupo C)	(Grupo D)	Sensib.	Especif	VPP	VPN
	ICT/GE	ICT/GE	ICT/GE	ICT/GE				
	Freq.	Freq.	Freq.	Freq.	%	%	%	%
0-9	4	4	2	63	66,7	94,0	50,0	96,9
10-19	54	8	-	65	-	89,0	87,1	-
20-29	48	6	2	66	96,0	91,7	88,9	97,1
30-39	30	7	3	49	90,9	87,5	81,1	94,2
40-49	10	2	-	36	-	94,7	83,3	-
50-59	13	-	2	22	86,7	-	-	91,7
60 e +	11	7	1	31	91,7	81,6	61,1	96,9
Total	170	34	10	332	94,4	90,7	83,3	97,1

Sensibilidade = $a/a+c$

Especificidade = $d/d+b$

Valor preditivo positivo = $a/a+b$

Valor preditivo negativo = $d/c+d$

Para a variável tempo de residência, o ELISA - Og4C3 apresentou maior sensibilidade (97,6%), especificidade (86,1%) e valor preditivo negativo (99,4%), nos pacientes autóctones. Nos pacientes alóctones, a taxa foi maior apenas quanto ao valor preditivo positivo (65,9%) (Tabela 8).

TABELA 8

Validação da técnica ELISA - Og4C3*, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tempo de residência, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

TEMPO DE RESIDÊNCIA	(Grupo A)	(Grupo B)	(Grupo C)	(Grupo D)	Sensib. %	Especif %	VPP %	VPN %
	Og4C3/GE Freq.	Og4C3/GE Freq.	Og4C3/GE Freq.	Og4C3/GE Freq.				
AUTÓCTONE	41	27	1	167	97,6	86,1	60,3	99,4
ALÓCTONE	131	62	6	350	95,6	85,0	67,9	98,3
TOTAL	172	89	7	517	96,1	85,3	65,9	98,7

Sensibilidade = a/a+c

Especificidade = d/d+b

Valor preditivo positivo = a/a+b

Valor preditivo negativo = d/c+d

* 21 pacientes foram considerados limítrofes para o teste ELISA - Og4C3.

Em relação ao ICT, todos os itens da validação tiveram valores superiores nos pacientes autóctones, apresentando sensibilidade de 97,6%, especificidade de 93,1%, valor preditivo negativo de 99,1% e valor preditivo positivo de 83,7%. Esses achados estão apresentados na tabela 9.

TABELA 9
Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tempo de residência, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

TEMPO DE RESIDÊNCIA	(Grupo A)	(Grupo B)	(Grupo C)	(Grupo D)	Sensib.	Especif	VPP	VPN
	ICT/GE Freq.	ICT/GE Freq.	ICT/GE Freq.	ICT/GE Freq.	%	%	%	%
AUTOCTONE	41	8	1	108	97,6	93,1	83,7	99,1
ALOCTONE	129	26	9	224	93,5	89,6	83,2	96,1
TOTAL	170	34	10	332	94,4	90,71	83,3	97,1

Sensibilidade = $a/a+c$

Especificidade = $d/d+b$

Valor preditivo positivo = $a/a+b$

Valor preditivo negativo = $d/c+d$

A sensibilidade do ELISA - Og4C3 em relação à gota espessa, em pacientes que não realizaram tratamento anterior para filariose, foi de 96,0%, a especificidade e o valor preditivo positivo foram maiores nos pacientes que realizaram tratamento anterior, com taxas de 90,0% e 80,6%, respectivamente. Devido à ausência de indivíduos no Grupo C, a sensibilidade e o valor preditivo negativo não foram calculados para os pacientes que relataram tratamento anterior, como mostra a tabela 10.

TABELA 10
Validação da técnica ELISA - Og4C3*, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tratamento anterior para filariose, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

TRATAMENTO ANTERIOR	(Grupo A)	(Grupo B)	(Grupo C)	(Grupo D)	Sensib.	Especif	VPP	VPN
	Og4C3/GE	Og4C3/GE	Og4C3/GE	Og4C3/GE				
	Freq.	Freq.	Freq.	Freq.	%	%	%	%
SIM	4	1	-	9	-	90,0	80,0	-
NÃO	168	88	7	507	96,0	85,2	65,7	98,6
IGNORADO	-	-	-	1	-	-	-	-
TOTAL	172	89	7	517	96,1	85,3	65,9	98,7

Sensibilidade = $a/a+c$

Especificidade = $d/d+b$

Valor preditivo positivo = $a/a+b$

Valor preditivo negativo = $d/c+d$

* 21 pacientes foram considerados limitrofes para o teste ELISA - Og4C3.

Em relação à validação do ICT, a sensibilidade e o valor preditivo negativo foram maiores nos pacientes que não realizaram tratamento anterior para filariose, com taxas de 94,9% e 97,3%, respectivamente. A especificidade e o valor preditivo positivo não foram calculados para os pacientes que relataram tratamento anterior, uma vez que não foi encontrado nenhum paciente no Grupo B (Tabela 11).

TABELA 11
Validação da técnica ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tratamento anterior para filariose, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

TRATAMENTO ANTERIOR	(Grupo A)	(Grupo B)	(Grupo C)	(Grupo D)	Sensib.	Especif	VPP	VPN
	ICT/GE Freq.	ICT/GE Freq.	ICT/GE Freq.	ICT/GE Freq.	%	%	%	%
SIM	3	-	1	6	75,0	-	-	85,7
NÃO	167	34	9	326	94,9	90,6	83,1	97,3
TOTAL	170	34	10	332	94,4	90,7	83,3	97,1

Sensibilidade = $a/a+c$

Especificidade = $d/d+b$

Valor preditivo positivo = $a/a+b$

Valor preditivo negativo = $d/c+d$

Na validação do ELISA - Og4C3, usando a gota espessa como padrão ouro, foi verificada uma melhor sensibilidade (96,1%) e valor preditivo negativo (98,7%). Partindo para a validação da gota espessa com o ELISA - Og4C3 como padrão ouro, a especificidade (98,7%) e o valor preditivo positivo (96,1%) foram os indicadores que apresentaram maiores taxas (Quadro 2).

Em relação à validação do ICT, utilizando a gota espessa como padrão ouro, a sensibilidade (94,4%) e o valor preditivo negativo (97,1%) apresentaram as melhores taxas. Já na validação da gota espessa, comparada com o ICT como padrão ouro, as maiores taxas foram verificadas na especificidade (97,1%) e no valor preditivo positivo (94,4%), como se pode verificar no quadro 2.

No que concerne à validação do ELISA - Og4C3, empregando como padrão ouro o ICT, as maiores taxas corresponderam à especificidade (97,2%) e ao valor preditivo positivo (95,6%). Na validação do ICT com o ELISA - Og4C3 como padrão ouro, a

sensibilidade (95,6%) e o valor preditivo negativo (97,2%) apresentaram as maiores taxas (Quadro 2).

Contudo, quanto à acurácia, o melhor resultado foi encontrado na comparação entre as técnicas que utilizam os anticorpos monoclonais. Esses dados estão apresentados no quadro 2.

QUADRO 2
Comparação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia da gota espessa e dos anticorpos monoclonais Og4C3* e ICT¹, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – Jaboatão dos Guararapes – 2003

PARÂMETROS	Og4C3	95% IC ¹	GE	95% IC ¹	ICT ²	95% IC ¹	GE	95% IC ¹	Og4C3	95% IC ¹	ICT	95% IC ¹
	frente GE %		frente Og4C3 %		frente GE %		frente ICT %		frente ICT %		frente Og4C3 %	
SENSIB..	96,1	91,8 – 98,3	65,9	59,8 – 71,6	94,4	89,7 – 97,2	83,3	77,3 – 88,0	89,4	84,4 – 93,1	95,6	91,5 – 97,8
ESPECIF.	85,3	82,2 – 88,0	98,7	97,1 – 99,4	90,7	87,2 – 93,4	97,1	94,5 – 98,5	97,2	94,5 – 98,6	93,0	89,6 – 95,4
VPP³	65,9	59,8 – 71,6	96,1	91,8 – 98,3	83,3	77,3 – 88,0	94,4	89,7 – 97,2	95,6	91,5 – 97,8	89,4	94,4 – 93,1
VPN⁴	98,7	97,1 – 99,4	85,3	82,2 – 88,0	97,1	94,5 – 98,5	90,7	87,2 – 93,4	93,0	89,6 – 95,4	97,2	94,5 – 98,6
ACURÁCIA	87,7	-	87,7	-	91,9	-	91,9	-	94,0	-	94,0	-

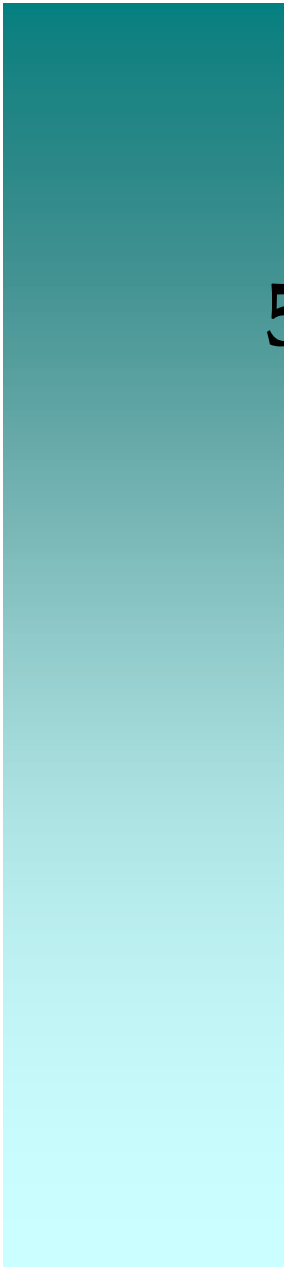
IC¹: Intervalo de confiança

ICT²: Teste imunocromatográfico

VPP³: Valor preditivo positivo

VPN⁴: Valor preditivo negativo

* 21 pacientes foram considerados limítrofes para o teste ELISA - Og4C3.



5 - DISCUSSÃO



A validação de uma técnica em relação a outra impõe a necessidade de definir qual é o testado e qual será o padrão ouro. Neste estudo, pelo fato da gota espessa ser o “gold test” para diagnóstico da filariose bancroftiana em inquérito populacional, admitiu-se que este fosse o modelo de comparação, devendo-se avaliar a validade das técnicas ELISA - Og4C3 e ICT.

Como foi enfatizado por Ransohoff e Feisntein (1978, apud JEKEL; ELMORE; KATZ, 1999), a população em que o teste diagnóstico ou de rastreamento é avaliado deve ter características semelhantes às das populações em que ele será usado; portanto, os trabalhos de validação dos testes antigênicos devem ser realizados em áreas endêmicas, locais em que estas técnicas serão aplicadas.

Os achados deste estudo de validação do ELISA - Og4C3 utilizando a gota espessa como padrão ouro não divergem dos relatos de Lammie, Hightower e Eberhard (1994), que encontraram uma sensibilidade variando de 75% a 100%, mas divergiram em relação ao valor preditivo positivo (100%) e à especificidade (70,4%).

Dreyer et al. (1996b), em estudo de validação do ELISA - Og4C3, realizado na RMR, utilizando indivíduos atendidos no serviço ambulatorial, com diagnóstico positivo para a gota espessa e amicrofilarêmicos, com evidências ultra-sonográficas de infecção, evidenciaram sensibilidade de 97,9% e especificidade de 98,4%.

A alta especificidade destes dois trabalhos, no entanto, deve-se ao fato dos negativos terem sido constituídos por residentes de áreas não endêmicas, o que pode levar a uma interpretação errônea de sua “alta especificidade”. Para distinguir infecção atual de exposição à larva infectante de *W. bancrofti*, o grupo negativo ideal deveria ser composto por indivíduos expostos às larvas infectantes, porém livres de infecção. Entretanto, é muito difícil, se não impossível, garantir a inexistência de infecção em

indivíduos que vivem em área endêmica, a despeito de todo o arsenal diagnóstico disponível, na atualidade (AMARAL; NORÕES; DREYER, 1995; DREYER et al., 1996c; ROCHA et al., 1995; 1996).

Rocha et al. (1996), avaliando o ELISA - Og4C3, quando comparado com pacientes microfilarêmicos diagnosticados pela gota espessa e/ou filtração e amicrofilarêmicos com presença de verme adulto, detectado pela ultra-sonografia ou pela biópsia de linfonodos, encontraram sensibilidade de 97,9% e especificidade de 98,4%. Neste estudo, o grupo de negativos foi composto por pacientes de área não endêmica.

Já na validação do ICT, utilizando a gota espessa como padrão ouro, os resultados foram inferiores aos encontrados por Weil, Lammie e Weiss (1997), em pacientes de um banco de soro da Índia, utilizando a mesma comparação, ICT versus gota espessa. Quanto aos valores que expressam a sensibilidade, se assemelham aos achados de Chandrasena et al. (2002), que utilizaram a gota espessa como padrão ouro, em indivíduos residentes no Sri Lanka, cujo grupo de negativos foi composto por pessoas sem histórico de filariose, selecionadas em uma área não endêmica na província central daquele país asiático.

O diagnóstico de eleição utilizado em inquéritos é a gota espessa, pois apresenta uma boa sensibilidade e baixo custo (MEDEIROS et al., 1999). As técnicas de ultrasonografia e a filtração em membrana, apesar da sensibilidade e especificidade terem taxas superiores às da gota espessa, apresentam dificuldades para utilização em inquéritos epidemiológicos: envolvem um grande número de indivíduos, além de algumas restrições quanto à sua aplicação, como custo, relutância da população na

coleta noturna de sangue venoso, demora no processamento do sangue, o que as torna impraticáveis, ou, pelo menos, de difícil aplicação.

Portanto, para verificar o emprego dos monoclonais em inquéritos populacionais, o padrão ouro utilizado foi a gota espessa e os negativos foram os indivíduos da mesma área endêmica dos casos diagnosticados, o que justifica a diferença dos resultados encontrados neste trabalho em relação aos de outros autores.

Existem relatos, na literatura, de que a prevalência da microfilaremia e da antigenemia, detectada pelo ICT, são maiores no sexo masculino (MICHAEL; BUNDY; GRENFELL, 1996; SUNISH et al., 2001). Estes dados divergem parcialmente dos encontrados nos indivíduos do Sri Lanka, diagnosticados pelo ELISA- Og4C3, comparados com a clínica, a gota espessa e a filtração, em que as taxas de sensibilidade e especificidade foram maiores no sexo feminino.

Weesooriya et al. (2002), estudando a prevalência de antigenemia detectada pelo ELISA - Og4C3, no Sri Lanka, verificaram que mulheres antígeno positivo detinham maior quantidade de microfilária negativa do que os homens antígenos positivos. Neste trabalho de validação do ELISA - Og4C3 foi verificado que a sensibilidade, a especificidade e o valor preditivo positivo apresentaram taxas mais elevadas no sexo masculino.

Estudos em modelos animais experimentais e observações epidemiológicas em humanos sugerem que os homens têm maior risco de infecção e doença filarial do que as mulheres e que essa susceptibilidade pode ser regulada por ambos os caminhos, imune e não-imune (FREEDMAN, 1998).

Partindo desses fatos, pode-se discutir a possibilidade das mulheres apresentarem ou não algum fator imunológico que inibe o desenvolvimento das

microfilarias, dificultando assim sua detecção pelo diagnóstico da gota espessa, entretanto, estudos específicos sobre esse tema devem ser desenvolvidos para uma melhor comprovação.

Na validação do ICT, a especificidade e o valor preditivo negativo foram maiores no sexo feminino. No sexo masculino a sensibilidade e o valor preditivo positivo foram maiores. Sunish et al. (2001), na Índia, encontraram maior prevalência de antígeno filarial e de microfilárias no sexo masculino.

É então lógico sugerir a realização de outros estudos, para comprovar esta maior predisposição do sexo masculino à infecção, enfatizada na maioria dos estudos de prevalência parasitológica (BRABIN, 1990). Contudo, nos estudos de prevalência antigênica pelo ICT, os achados ainda são divergentes.

Santhanam et al. (1989), em trabalho realizado na Índia, verificaram que, não obstante as discordâncias entre os resultados da detecção de antígeno e da microfilária, em todas as faixas etárias os resultados foram semelhantes. Já o trabalho realizado no Sri Lanka, constatou que o grupo de menores de 25 anos de idade apresentou uma tendência para maior número de indivíduos antígenos positivos, detectados pelo ELISA – Og4C3, e microfilária negativa, diagnosticada pela gota espessa e filtração, em relação aos mais velhos (ITOH et al., 1999). Na Índia, verificou-se na faixa etária de 2 a 5 anos, associação entre o ICT positivo e os amicrofilarêmicos diagnosticados pela gota espessa, superior às demais faixas etárias (SUNISH et al., 2001). Portanto, foi possível verificar, neste estudo de validação, que, em nenhuma faixa etária, há relação entre os resultados encontrados nas técnicas antigênicas e na gota espessa. Em algumas faixas etárias os parâmetros de validação não foram analisados, por falta de indivíduos nos grupos de composição da tabela de

contingência, o que talvez explique está afirmativa. Para maior esclarecimento faz-se necessário realizar investigações específicas na população da faixa etária pediátrica quanto ao uso dos anticorpos monoclonais no diagnóstico filarial entre residentes de área endêmica.

Quanto à variável tempo de residência, referente ao tempo que os indivíduos residiam no bairro, ou seja, se eram alóctones ou autóctones, não foi verificada diferença. Esses dados não foram discutidos, devido à ausência deste parâmetro na literatura consultada.

No que se refere ao tratamento anterior para filariose, os achados deste estudo chamam a atenção, principalmente no grupo de indivíduos que haviam realizado tratamento anterior. A literatura menciona que, após o tratamento, 78% dos microfilarêmicos se tornaram negativos, mas, entre estas curas parasitológicas, 76,1% ainda continuavam antígenos positivos 17 meses após o tratamento (WEERASOORIYA et al., 2002). A persistência da antigenemia, após o tratamento bem-sucedido, tem sido observada em diversos trabalhos (NICOLAS et al., 1997; ZHENG et al., 1990).

ITOH et al. (1999) chegaram à mesma conclusão, não encontrando diferença na proporção de casos antígenos positivos e microfilária negativa entre os indivíduos com tratamento anterior e sem tratamento anterior com a Dietilcarbamazina.

Embora a gota espessa seja a técnica padrão ouro e um exame sensível para a realização dos inquéritos, ela é capaz de escolher apenas infecções microfilárias óbvias. Contudo, infecções com amicrofilarêmicos têm sido documentadas. Por isso, os falsos positivos obtidos pelo ICT e pelo ELISA - Og4C3 poderiam ser positivos verdadeiros, em que a técnica de referência falhou para detectar (NGUYEN; PLICAHRT; ESTERRE, 1999; WEERASOORIYA et al., 2002). Assim, a principal razão

para a aparente especificidade de 85,3% do ELISA - Og4C3 e de 90,7% do ICT pode ser a falha do teste de referência para detectar todos os casos da infecção.

No entanto, caso as afirmações de Nguyen, Plichart e Esterre (1999) e Weerasooriya et al. (2002) fossem totalmente corretas, na validação do ELISA - Og4C3 e do ICT os resultados deveriam ser concordantes. Isso não foi constatado, ao comparar as duas técnicas, verificando-se que a sensibilidade do ELISA - Og4C3, em relação ao ICT, foi de 89,4%, e a especificidade de 97,2%. Já a sensibilidade do ICT, utilizando o ELISA - Og4C3 como padrão ouro, foi de 95,6%, e a especificidade de 93,0%. Por essa razão, é possível afirmar que os valores detectados quanto à sensibilidade e à especificidade do ICT e do ELISA - Og4C3 devem ter outras justificativas, além da referida pelos autores (NGUYEN; PLICHART; ESTERRE, 1999; WEERASOORIYA et al., 2002).

Outro motivo para justificar os resultados encontrados nesta validação pode ser constituído pelas reações cruzadas. Segundo More e Coperman (1990), o ELISA - Og4C3 apresenta reação cruzada com outros helmintos, filárias e não filárias, incluindo *Onchocerca gibsoni*, *Onchocerca volvulus*, *Dirofilaria immitis*, *Ancylostoma caninum* e *Toxocara canis*. Quanto a este último, foi detectada uma prevalência de 39,4%, nos pacientes da Região Metropolitana do Recife atendidos no ambulatório especializado em doenças parasitárias do CPqAM - FIOCRUZ (AGUIAR-SANTOS, 2001). A presença de *D. immitis* também foi verificada no Recife, com prevalência de 2,3%, em cachorros (ALVES et al., 1999).

Para o ICT, Phantana et al. (1999) e Bhumiratana et al. (1999) descartam a possibilidade de reação cruzada; no entanto, não descrevem os parasitas envolvidos. Para esse fim, seriam necessários estudos, para descartar tais reações na população.

Avaliações posteriores devem ser realizadas, para um melhor esclarecimento sobre possíveis reações cruzadas, em ambas as técnicas antigênicas, ICT e ELISA – ELISA - Og4C3; no entanto, esses estudos devem abranger grandes amostras, para maior segurança quanto aos resultados e melhor esclarecimento da questão, possibilitando descartar as dúvidas ainda existentes.

Na comparação do ICT utilizando o ELISA - Og4C3, verificou-se sensibilidade de 95,6% e especificidade de 93,0%. Esses resultados divergem do estudo realizado na Polinésia Francesa, em que foram encontradas sensibilidade e especificidade de 51,2% e 98,4%, respectivamente (NGUYEN; PLICHART; ESTERRE, 1999).

Os resultados encontrados na validação do ICT apresentaram taxas menores de sensibilidade, especificidade e valor preditivo negativo, em comparação com os achados de Phantana et al. (1999), adotando os mesmos critérios deste estudo, detectando valor preditivo positivo superior.

O ELISA - Og4C3 é uma técnica cara, demorada, cuja aplicação requer equipamento específico, além de laboratório estruturado. Já o ICT é rápido e de fácil execução na determinação da infecção filarial, o que o qualifica como uma técnica mais adequada para utilização em inquérito epidemiológico.

Para doenças semelhantes à filariose, a alta sensibilidade é mais importante do que a alta especificidade, fato proveitoso para os inquéritos epidemiológicos, em que os testes devem ser mais sensíveis e apresentar um melhor valor preditivo negativo, garantindo assim uma maior segurança de que um indivíduo com resultado negativo não tenha a doença.

Não obstante, ambos os anticorpos monoclonais apresentarem taxas semelhantes nos itens sensibilidade e valor preditivo negativo, foi possível verificar que,

nos itens especificidade, valor preditivo positivo e acurácia, que é a proporção de acertos do teste diagnóstico, a técnica ICT apresentou taxas consideravelmente superiores, demonstrando ser técnica antigênica mais indicada para utilização em triagem, nos inquéritos epidemiológicos na RMR. Esses dados são de importância na implementação de programas de eliminação da filariose linfática, em especial nas áreas endêmicas da RMR, no Estado de Pernambuco.



6 – CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES



O teste ideal para aplicação em inquérito populacional deve ser aquele com alta sensibilidade e valor preditivo negativo elevado para oferecer a devida segurança, em caso de resultado negativo, de que o indivíduo realmente não estaria acometido da doença. Ademais, este teste deveria ser dotado de elevado grau de especificidade e valor preditivo positivo, para assegurar, com toda certeza, em caso de resultado positivo, que o indivíduo estaria realmente doente. Os dados coletados neste estudo de validade da pesquisa antigênica indicam que o ELISA-Og4C3 e o ICT não correspondem ao perfil ideal para um teste desta natureza.

Os anticorpos monoclonais Og4C3 e AD12 apresentam um bom compromisso com a sensibilidade e o valor preditivo negativo para o diagnóstico da infecção ativa por filariose bancroftiana, em relação à gota espessa.

Pesquisas complementares deverão ser realizadas, no intuito de esclarecer a correlação entre a pesquisa de antígeno, o sexo e o tratamento anterior com Dietilcarbamazina, na RMR.

Estudos sobre possíveis reações cruzadas do ICT e do ELISA - Og4C3 com outros helmintos, e até com protozoários, devem ser realizados em grandes amostras, para que se esclareçam as dúvidas acerca desses possíveis resultados falso-positivos com anticorpos monoclonais.

A técnica antigênica mais adequada para utilização em triagens de inquéritos populacionais, na RMR, é o ICT, que, além de apresentar uma melhor especificidade,

valor preditivo positivo e acurácia, também é de fácil execução em trabalhos de campo, possibilitando a obtenção mais rápida dos resultados.



7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



ABBASI, I. et al. Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection by the polymerase chain reaction employing patients sputum. **Review of Parasitology**, v. 85, p. 844-849, 1999.

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

AGUIAR-SANTOS, A.A.M. **Toxocaríase humana: soroprevalência em crianças e adolescentes atendidos no ambulatório do CPqAM – Recife – PE**. 2001. 102f. Dissertação (Mestrado em Pediatria) – Departamento Materno Infantil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

ALVES, L.C. et al. Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brasil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 5, p. 587-590, 1999.

AMARAL, F.; NORÕES, J.; DREYER, G. Uso da ultrasonografia no diagnóstico da filariose linfática escrotal: relato de dois casos. **Revista Brasileira de Radiologia**, São Paulo, v. 28, p. 217-219, 1995.

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

ANDRADE, A.L.S.S.; ZICKER, F. **Métodos de investigação epidemiológica em doenças transmissíveis**. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, Fundação Nacional da Saúde, 1997. v. 1.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BHUMIRATANA, A. et al. Field trial on the ICT filariasis for diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infections in an endemic population of Thailand. **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Asian, v. 30, p. 562-568, 1999.

BLOCH, P. et al. The significance of guinea worm infection in the immunological diagnosis of onchocerciasis and bancroftian filariasis. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 92, p. 518-521, 1998.

BONFIM, C. **Filariose bancroftiana: a representação espacial das desigualdades sociais**. 2002. 137f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife.

BRABIN, L. Sex differentials in susceptibility to lymphatic filariasis and implications for maternal child immunity. **Epidemiology Infection**, v. 105, p. 335-353, 1990.

- CENTER FOR DISEASES CONTROL. Recommendations of the International Task Force for Disease Eradication. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 12, n. RR-16, p. 1-38, 1993.
- CHANDRASENA, T.G.A.N. et al. Evaluation of the ICT whole-blood antigen card test to detect infection due to *Wuchereria bancrofti* in Sri Lanka. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 96, p. 60-63, 2002.
- CHANTEAU, S. et al. Detection of *Wuchereria bancrofti* larvae in pools of mosquitoes by the polymerase chain reaction. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 88, p. 665-666, 1994.
- DENHAM, D.A.; MCGREEVY, P.B. Brugian filariasis: epidemiological and experimental studies. **Advances in Parasitology**, v. 15, p. 243-309, 1977.
- DENNIS, D.T.; DEAN, A.G. **Epi Info, version 6.0b**: a word processing database and statistical program for epidemiology on microcomputer. Stone Mountain: Centers for Disease Control, 1996.
- DENNIS, D.T.; KAEN, B.H. Isolation of microfilariae: report of a new method. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 57, p. 1146-1157, 1971.
- DESOWITZ, R.S.; SOUTHGATE, B.A.; MATAIKA, J.U. Studies on filariasis in the Pacific. 3. Comparative efficacy of the stained blood-film, counting chamber and membrane filtration-techniques for the diagnosis of *Wuchereria bancrofti* microfilaremia in untreated patients in areas of low endemicity. **South East Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 4, p. 329-335, 1973.
- DISSANAYAKE, S.; MIN, X.; PIESSENS, W.F. Cloning and characterization of *Wuchereria bancrofti*-specific DNA sequence. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 39, p. 147-150, 1990.
- DREYER, G. Diagnóstico parasitológico da filariose bancroftiana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 27, supl. 4, p. 162-168, 1994.
- DREYER, G.; DREYER, P. Diagnóstico laboratorial da filariose bancroftiana. In: DE CARLI, G. A. (Ed). **Parasitologia clínica**: seleção e uso de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 373-394.
- DREYER, G.; NORÕES, J. Dietilcarbamazina no tratamento da filariose bancroftiana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 30, p. 229-240, 1997.

DREYER, G.; NORÕES, J. Filariose bancroftiana. In: SIQUEIRA, R.B. et al. (Org.) **Medicina tropical: abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2001. p. 291-312.

DREYER, G.; ROCHA, A. Filariose bancroftiana. In: FERREIRA, W.; ÁVILA, S. (Org.) **Diagnóstico laboratorial: avaliação dos métodos diagnósticos das principais doenças infecciosas parasitárias e auto-imune. Correlação clínico laboratorial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 194-200.

DREYER, G.; ROCHA, A. Filariose bancroftiana . In: FERREIRA, W.; ÁVILA, S. (Org.) **Diagnóstico laboratorial: avaliação dos métodos diagnósticos das principais doenças infecciosas parasitárias e auto-imune. Correlação clínico laboratorial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 299-306.

DREYER, G. et al. Avaliação do teste de imunofluorescência indireta para diagnóstico da filariose bancroftiana usando a microfilária de *Wuchereria bancrofti* como antígeno, em Recife – PE., Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 397-404, 1991.

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

DREYER, G. et al. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae impaired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 1, n. 2, p. 264-272, 1996a.

DREYER, G. et al. O teste Og4C3 no diagnóstico da filariose bancroftiana: uso e limitações. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, v. 41, n. 1, p. 43-47, 1996b.

DREYER, G. et al. Amicrofilaraemie carries of adult *Wuchereria bancrofti*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 90, p. 188-189, 1996c.

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

DREYER, G. et al. Bancroftian filariasis in a paediatric population: an ultrasonographic study. **Transactions of the Royal Society of the Medicine and Hygiene**, London, v. 93, p. 633-636, 1999.

FREEDMAN, D.O. et al. Field trial of a rapid card test for *Wuchereria bancrofti*. **The Lancet**, London, v. 350, n. 6, p. 1681, 1997.

- FIGUEREDO-SILVA, J. et al. Bancroftian lymphadenopathy: absence of eosinophils in tissue despite peripheral blood hypereosinophilia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 97, p. 55-59, 1994.
- FRANCO, O.; SILVA LIMA, J.F. Alguns aspectos das atividades contra a filariose bancroftiana no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 73-89, 1967.
- FRANKS, M.B. Specific soluble antigen in the blood of filarial patients. **Journal of Parasitology**, London, v. 32, p. 400-406, 1947.
- FREEDMAN, D.O. Immune dynamics in the pathogenesis of human lymphatic filariasis. **Parasitology Today**, London, v. 104, p. 71-79, 1998.
- GYAPON, J.O.; OMANE-BADU, K.; WEBBER, R.H. Evaluation of the filter paper blood collection method for detecting Og4C3 circulating antigen in bancroftian filariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 92, n. 4, p. 407-410, 1998.
- HAARBRINK, M. et al. IgG4 antibody assay in the detection of filariasis. **Lancet**, London, v. 346, n. 23, p. 853-854, 1995.
- IBGE. **Censo demográfico, 2000**. Rio de Janeiro, 2000.
- IBGE. **Recontagem populacional, 1996**. Rio de Janeiro, 1996.
- ITOH, M.L. et al. *Wuchereria bancrofti* antigenemia in Sri Lanka. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 4, p. 207-210, 1999.
- JEKEL, J.F.; ELMORE, J.G.; KATZ, D.L. **Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva**. Porto Alegre: Ed. Artes Médicas Sul, 1999. p. 99-112.
- JUNGMANN, P.; FIGUEREDO-SILVA, J.; DREYER, G. Bancroftian lymphadenopathy: a histopathologic study of fifty-eight cases from Northeastern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 45, p. 325-331, 1991.
- KAGAN, I.G. A review of immunologic methods in the diagnosis of filariasis. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 49, p. 773-798, 1963.
- KASURA, J.W. et al. Transmission intensity and its relationship to infection disease due to *Wuchereria bancrofti* in Papua, New Guinea. **Journal of Infectious Diseases**, v. 176, p. 242-246, 1997.
- KNOTT, J. A method for making microfilarial surveys on day blood. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 32, p. 191-196, 1939.

LAL, R.B.; OTTESEN, E.A. Enhanced diagnostic specificity in human filariasis by IgG4 antibody assessment. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 158, p. 1034-1037, 1988.

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

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

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

MACIEL, M.A.V. et al. Estudo comparativo de filariose bancroftiana em região metropolitana do Recife. **Cadernos de Saúde Pública**, v.10, s. 2, p. 301-309, 1994.

MANOHARAN, A. et al. Trend of *Wuchereria bancrofti* infection in Pondicherry urban agglomeration after the withdrawal of a five year vector control programme. **Journal of Communicable Diseases**, New Delhi, v. 23, n. 3, p. 255-261, 1997.

MEARNS, G. Rapid diagnosis of bancroftian filariasis. **Filar Links**, v. 1, p. 4, 1996.

MEDEIROS, Z. **Contribuição ao estudo epidemiológico da filariose na Região Metropolitana do Recife**. 1998. 143f. Tese (Doutorado em Helminologia/Biologia Celular e Molecular) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

MEDEIROS, Z. et al. *Wuchereria bancrofti* microfilarial density of autochthonous cases and natural *Culex* infectivity rates in Northeast Brazil. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 95, p. 214-217, 1992.

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

MICHAEL, E.; BUNDY, D.A.P. Global mapping of lymphatic filariasis. **Parasitology Today**, London, v. 13, n. 12, p. 472-476, 1997.

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

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Bancroftose. In: **Conferência Nacional de Saúde**, 6., 1977, Brasília. Anais... Brasília, 1977. p. 83-91.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. **Controle das endemias em 1983**. Brasília, 1983.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. **O controle das endemias no Brasil (de 1979 a 1984)**. Brasília, 1985.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Diretoria Regional de Pernambuco. **Programa de controle da filariose. Relatório anual**. Recife, 1989. p. 1-10.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Gerência de Endemias Focais. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. **Programa de Eliminação da Filariose Linfática no Brasil**. Brasília, 1997. 15 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. **Relatório da Reunião de Avaliação do Programa de Controle da Filariose Linfática, referente ao Plano de Eliminação da Filariose Linfática no Brasil, Recife – PE. 2000**. Brasília, 2000. 58 p.

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

MOULIA-PELAT, J.P. et al. A comparative study of detection methods for evaluation of microfilaremia in lymphatic filariasis control programmes. **Tropical Medicine and Parasitology**, Stuttgart, v. 43, n. 3, p. 146-148, 1992 .

NGUYEN, N.L.; PLICHART, C.; ESTERRE, P. Assessment of immunochromatographic test for rapid lymphatic filariasis diagnosis. **Parasite**, Paris, v. 6, n. 4, p. 355-358, 1999.

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

ONAPA, A.W. et al. Lymphatic filariasis in Uganda: baseline investigations in Lira, Soroti and Katakwi districts. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 95, n. 2, p. 161-167, 2001.

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

OTTESEN, E.A. et al. Proeminence of IgG4 antibody response to human filariasis. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 134, p. 2707-2712, 1985.

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

PHANTANA, S. et al. ICT filariasis test: a new screening test for bancroftian filariasis. **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Asian, v. 30, n. 1, p. 47-51, 1999.

RACHOU, R.G. Conceito e programa de profilaxia da filariose bancroftiana no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 11-39, 1960.

RACHOU, R.G.; DEANE, L. Índices epidemiológicos em inquiridos de filariose bancroftiana. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 6, p. 35-40, 1954.

RAGHAVAN, N. et al. A recombinant clone of *Wuchereria bancrofti* with DNA specificity for human filarial parasites. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 47, p. 63-72, 1991.

RAHMAH, N. et al. Specificity and sensitivity of a rapid dipstick test (Brugia Rapid) in the detection of *Brugia malayi* infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 95, p. 601-604, 2001.

RAMACHANDRAN, C.P. Report on a multidisciplinary effort to develop improved immunodiagnostic test to monitor onchocerciasis control programs. **Parasitology Today**, London, v. 9, p. 76, 1993.

REY, L. *Wuchereria bancrofti* e a filaríase linfática. In: _____ **Parasitologia: parasitas e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 544-552.

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

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

ROCHA, A.; AYRES, C.J.; FURTADO, A. Abordagem molecular no diagnóstico laboratorial da filária linfática: *Wuchereria bancrofti*. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 31, n. 2, p. 161-174, 2002.

ROCHA A. et al. Syndrome resembling tropical pulmonary eosinophilia but of non-filarial aetiology: serological findings with filarial antigens. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 89, p. 573-575, 1995.

ROCHA, A. et al. Evaluation of the Og4C3 ELISA in *Wuchereria bancrofti* infection: Infected persons with undetectable or ultra-low microfilarial densities. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 1, n. 6, p. 859-864, 1996.

SAHOO, P.K. et al. Bancroftian filariasis: prevalence of antigenemia and endemic normals in Orissa, India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 94, p. 515-517, 2000.

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

SANTOS, L.G.; SANTOS, D.S.; AZEVEDO, R. Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* by immunofluorescence using microfilaria as antigen. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Amsterdam, v. 70, p. 21-225, 1976.

SIMONSEN, P.E.; DUNYO, S.K. Comparative evaluation of three new tools for diagnosis of bancroftian filariasis based on detection of specific circulating antigen. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 93, p. 278-82, 1999.

SIMONSEN, P.E. et al. Bancroftian filariasis: the patterns of filarial-specific immunoglobulin G1 (IgG1), IgG4, and circulating antigens in an endemic community of Northeastern Tanzania. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 55, p. 69-75, 1996.

SIRIDEWA, K. et al. Cloning and characterization of repetitive DNA sequence specific for *Wuchereria bancrofti*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 51, p. 495-500, 1994.

SUNISH, I.P. et al. Immunochromatographic test (ICT) for estimation of true prevalence of bancroftian filariasis in an endemic area in Southern India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 95, n. 6, p. 607-609, 2001.

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

WEERASOORIYA, M.V. et al. Prevalence and intensity of *Wuchereria bancrofti* antigenemia in Sri Lanka by Og4C3 ELISA using filter paper-absorbed whole blood. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 96, n. 1, p. 41-45, 2002.

WEIL, G.J.; LIFTIS, F. Identification and partial characterization of a parasite antigen in sera from humans infected with *Wuchereria bancrofti*. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 138, p. 3035-3041, 1987.

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

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

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

WILLIAMS, S.A. et al. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Wuchereria bancrofti* in blood samples from French Polynesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 90, p. 384-387, 1996.

WILLIAMS, A.S. et al. Deep within the filarial genome: progress of the filarial genome project. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 15, p. 219-224, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Whorkshop on DNA probes and PCR for detection of filarial parasites in vectores**. Geneva, 1993.(mimeographed document TDR/WKSP/FIL/93.1).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Lymphatic filariasis infection & disease: control strategies**. Report of a consultative meeting held at the University Sains Malaysia Penang, Malaysia: WHO/TDR – Division of Control of Diseases, 1994. 30p. (TDR/CTD/FIL/PENANG/94.1).

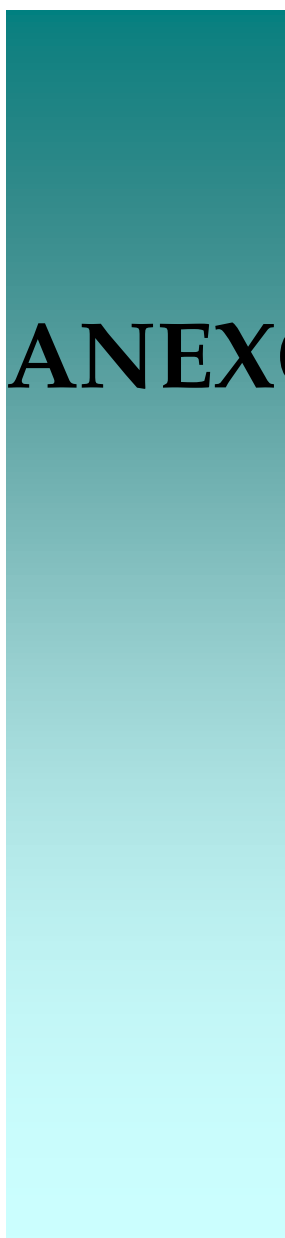
WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Eliminate filariasis: attack poverty**. The global alliance eliminate lymphatic filariasis of the first meeting. Santiago de Compostela: 2000. 42p.

XIE, H.; BAIN, O.; WILLIAMS, A.S. Molecular phylogenetic studies on filarial parasites based on 5S ribosomal spacer sequences. **Parasitology**, Stuttgart, v. 1, p. 141-151, 1994.

ZHENG, H.J. et al. Parasite antigenemia in untreated and treated lymphatic filarial infections. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 43, p. 481-488, 1990.

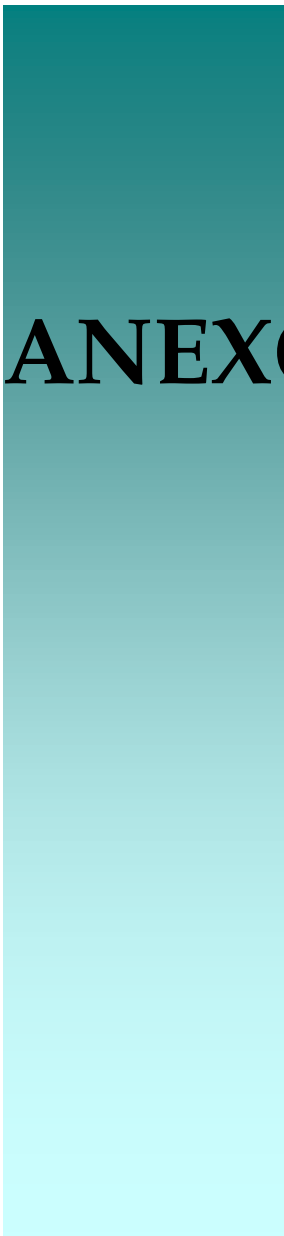
ZHENG, H.Z. et al. Application of immuno-chromatographic test for diagnosis and surveillance of bancroftian filariasis. **Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases**, Shangai, v. 16, p. 168-171, 1998.

ZHONG, M. et al. A polymerase chain reaction for detection of the parasite *Wuchereria bancrofti* in human blood samples. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 54, p. 357-363, 1996.



ANEXO A





ANEXO B

ANEXO B



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____
 permito minha participação voluntária no projeto intitulado "Validação dos monoclonais Og4C3 e AD12 no diagnóstico da filariose bancroftiana em inquérito populacional" que será desenvolvido no Município de Jaboatão dos Guararapes em parceria com a Secretária de Saúde do Município, a Fundação Oswaldo Cruz (CPqAM/FIOCRUZ) e a Universidade de Pernambuco (ICB/UPE).

Recebi a informação que o propósito principal do referido projeto é a investigação relativa à filariose, enfatizando em especial o diagnóstico sorológico. Em consequência, permito ser submetido a uma coleta de 10 ml de sangue venoso para realização dos referidos testes.

Antes de minha participação no referido projeto, um membro da equipe de pesquisa forneceu as informações adicionais que eu julguei necessárias para meu melhor entendimento e solicitou meu consentimento para os procedimentos relacionados à pesquisa.

Autorizo a Fundação Oswaldo Cruz (CPqAM/FIOCRUZ) a utilização das informações obtidas através dos resultados destes exames em reuniões, congressos e publicações científicas preservando, neste caso, a minha identidade.

Esse "Termo de Consentimento" me foi totalmente explicado e eu entendi seu conteúdo.

Finalmente, estou ciente de poderei recusar ou retirar meu consentimento, em qualquer momento da investigação, sem qualquer penalização.

 Assinatura do usuário

 Data

 Assinatura dos pais ou representante legal
 (menores)

 Data

 Endereço - Rua (paciente ou responsável)

 N.º Apt.º

 Bairro

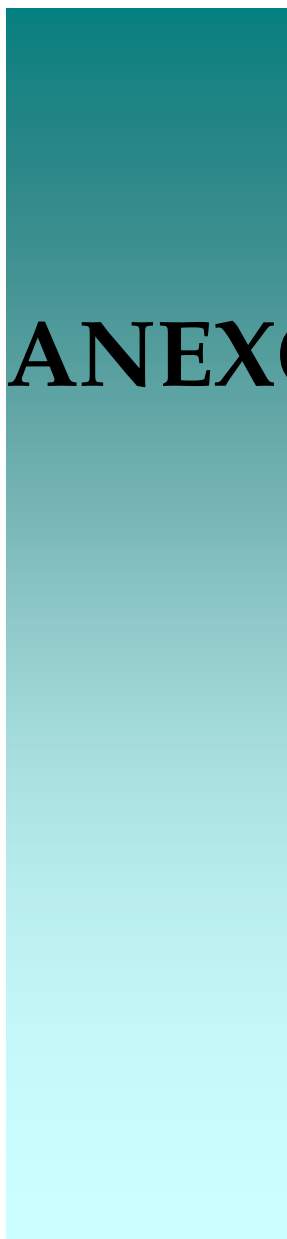
 Cidade

 Estado

Testemunha:

 Assinatura Membro da Equipe de Pesquisa - CPqAM/FIOCRUZ e ICB/UPE

 Data



ANEXO C



COMISSÃO DE ÉTICA DO CPqAM/FIOCRUZ

Projeto

“Validação dos antígenos circulantes Og4C3 e AD12 como diagnóstico para filariose bancroftiana em inquérito populacional”

Coordenador: Conceição Maria de Oliveira

Núcleo de Estudo em Saúde Coletiva/CPqAM

PARECER

A Comissão declara para os devidos fins que o projeto referido acima foi submetido para julgamento e está em processo de avaliação. Estamos à disposição para qualquer esclarecimento e comunicamos que o Parecer definitivo será concedido na próxima reunião do CEP/CPqAM em 07 de maio de 2002.

Recife, 05 de abril de 2002



Nilma Cintra Leal

Coordenador

Validação dos anticorpos monoclonais Og4C3 e AD12 no diagnóstico da filariose bancroftiana em inquérito populacional

Oliveira, C.M.; Medeiros, Z.; Lessa, F.

Conceição Maria de Oliveira

Departamento de Saúde Pública / Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães / Fundação

Oswaldo Cruz

coliveira@cpqam.fiocruz.br

Zulma Medeiros

Departamento de Parasitologia / Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães / Fundação

Oswaldo Cruz

Fábio Lessa

Departamento de Saúde Pública / Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães / Fundação

Oswaldo Cruz

Resumo

Este estudo teve como proposta validar a pesquisa dos anticorpos monoclonais, Og4C3 e AD12, para o diagnóstico da filariose bancroftiana, quando comparada ao exame da gota espessa, em inquérito populacional realizado no distrito de Cavaleiro, Jaboatão dos Guararapes - PE. Tomou-se por base 214 indivíduos microfilarêmicos do inquérito epidemiológico realizado em 2001. Destes, 34 não foram localizados ou não desejaram realizar os testes antigênicos, restando 180 indivíduos, que foram examinados pelo ELISA - Og4C3 e ICT. Para cada indivíduo positivo na gota espessa (180) foram identificados aleatoriamente 2 controles para o ICT e 3 para ELISA - Og4C3, totalizando uma amostra de 547 e 806, respectivamente. A técnica antigênica mais adequada para utilização em triagens de inquéritos populacionais, na RMR, é o ICT, que, além de apresentar uma melhor especificidade, valor preditivo positivo e acurácia, também é de fácil execução em trabalhos de campo, possibilitando a obtenção mais rápida dos resultados.

Palavras Chaves: Validação, Og4C3, ICT, Inquérito epidemiológico.

Introdução:

Os métodos de diagnóstico empregados nos programas de controle da filariose linfática têm sido baseados na coleta de sangue noturno para detecção de microfilária. Este pode ser exaustivo, tanto para os residentes das áreas em estudo quanto para as equipes técnicas, além do risco que correm em relação a segurança. Ademais, métodos parasitológicos possuem inadequada sensibilidade dependendo de vários fatores: volume de sangue coletado, horário da coleta e habilidade e dedicação do microscopista (WEIL; LAMMIE; WEISS, 1997).

Desta forma, a detecção de antígenos é particularmente interessante pois a coleta de sangue pode ser feita a qualquer hora, associado ao diagnóstico de indivíduos infectados amicrofilêmicos (LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994).

Nos inquéritos epidemiológicos, um dos métodos diagnósticos mais promissores é a pesquisa de antígeno circulante de *Wuchereria bancrofti*, usando os ensaios imunoenzimáticos (“enzyme-linked immunosorbent assay” – ELISA) e os imunocromatográficos (ICT).

Estudo realizado por Chandrasena et al. (2002) indica que o ICT pode constituir um instrumento efetivo para inquéritos da filariose bancroftiana, principalmente na identificação de novos focos com transmissão ativa da filariose. O alto custo do ICT, comparado com a gota espessa, pode ser parcialmente compensado pelo fato de não requerer muito treinamento para sua aplicação, associado às facilidades laboratoriais, coleta diurna de sangue, probabilidade de alta sensibilidade e rapidez do teste. Desta forma, o ICT é bastante atrativo para ser utilizado nos inquéritos de base populacional.

A utilização do ELISA-Og4C3 em inquéritos populacional foi relatada por vários autores, entretanto seus resultados são contraditórias na comparação com as técnicas

parasitológicas (2000; LAMMIE; HIGHTOWER; EBERHARD, 1994; NICOLAS et al., 1997; WEIL et al., 1996).

A literatura registra poucos trabalhos de inquéritos epidemiológicos com antígenos circulantes que foram desenvolvidos nos países endêmicos para filariose bancroftiana. No Brasil, especialmente com relação a validação das técnicas nas áreas endêmicas de *W. bancrofti*, foi encontrado apenas um estudo de validação do ICT com base populacional, para o Og4C3 nenhum trabalho sobre este tema foi verificado.

Este trabalho pretende validar os testes que detectam os antígenos circulantes (ELISA-Og4C3 e ICT-AD12), em inquérito populacional, cujo conhecimento contribuirá para os programas de controle. Assim, o projeto objetivo validar a pesquisa dos anticorpos monoclonais, Og4C3 e AD12, para o diagnóstico da filariose bancroftiana, quando comparada ao exame da gota espessa, em inquérito populacional.

Material e Métodos

A área de estudo refere-se ao distrito de Cavaleiro, pertencente ao município de Jaboatão dos Guararapes, localizado na Região Metropolitana do Recife - RMR, possuindo uma área total de 257,3 km², correspondente a 0,26% do estado de Pernambuco. Limita-se ao norte com Recife, ao sul com o município do Cabo de Santo Agostinho, ao oeste com Moreno e ao leste com o Oceano Atlântico. A população do distrito é de aproximadamente 137.826 habitantes, distribuídos em 27.969 domicílios particulares, com média de cinco pessoas por domicílio, segundo a recontagem populacional do IBGE de 1996.

A seleção da amostra foi realizada partindo do banco de dados do Centro Pesquisa do Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz – CPqAM / FIOCRUZ, constituído a partir do inquérito epidemiológico no distrito de Cavaleiro para filariose bancroftiana.

O referido inquérito foi realizado pelo exame da gota espessa não mensurada no ano de 2001 (BONFIM, 2002). Neste estudo foram examinadas 9.520 pessoas, sendo diagnosticado como positivo para filariose 214 indivíduos, o que representou uma prevalência de 2,2%.

A amostra para realização deste estudo foi dimensionada levando em consideração o desenho de estudo de avaliação diagnóstica descrito por Andrade e Zicker, 1997.

O estudo de validação diagnóstica aqui referido, partiu dos 214 indivíduos microfilarêmicos do inquérito epidemiológico realizado em 2001 (BONFIM, 2002).

Destes, 34 não foram localizados ou não desejaram realizar os testes antigênicos, restando 180 indivíduos que foram examinados pelo ELISA - Og4C3 e o ICT.

Para cada indivíduo positivo na gota espessa (180), foram identificados aleatoriamente 2 controles para o ICT e 3 para ELISA - Og4C3, totalizando uma amostra de 547 e 806 respectivamente.

As variáveis utilizadas neste estudo foram: definição de caso, sexo, tempo de residência e tratamento anterior para filariose bancroftiana.

Os dados obtidos no estudo foram armazenados e analisados no programa Epi-Info versão 6.04b, produzido pelo Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos – CDC (DENNIS; DEAN, 1996), onde foram utilizados os módulos *Eped*, *Enter*, *Analyses*, *Validate* e *Epetable*, para construção dos parâmetros de sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo, valor preditivo positivo e acurácia.

Resultados

Na validação do ELISA - Og4C3, tendo como padrão ouro a gota espessa, foram examinados 806 indivíduos. Dos 180 com gota espessa positiva, 172 (95,56%) também foram positivos para o ELISA - Og4C3, 7 (3,89%) foram negativos e em 1 (0,55%) o resultado foi limítrofe. Quando foram avaliadas as 626 pessoas negativas para o exame da gota espessa, observou-se que 517 (82,59%) foram negativas para o ELISA - Og4C3, 89 (14,22%) foram positivas e 20 (3,19%) estavam na faixa limítrofe.

Para a validação do ICT, quando comparado com a gota espessa, foram examinadas 546 pessoas. Das 180 positivas na gota espessa, 170 (94,44%) foram positivas no ICT e 10 (5,56%) foram diagnosticadas como negativas. Para os 366 negativos na gota espessa, 332 (90,74%) obtiveram o mesmo diagnóstico do teste padrão e 34 (9,26%) foram positivos.

Os resultados encontrados na validação do ELISA - Og4C3, tendo como padrão ouro a gota espessa os resultados encontrados para a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e a acurácia foram 96,1%, 85,3%, 65,8%, 98,7% e 87,7, respectivamente. Quanto a validação do ICT comparado com a gota espessa, a sensibilidade foi de 94,4%, especificidade igual a 90,7%, valor preditivo positivo de 83,3%, valor preditivo negativo igual a 97,1% e a acurácia de 91,9%. Com isso, foi possível verificar que o ELISA - Og4C3 apresentou uma melhores sensibilidade e valor preditivo negativo, já o ICT apresentou melhores especificidade, valor preditivo positivo e acurácia.

Quanto à validação do ELISA - Og4C3 segundo a variável sexo, tendo como padrão ouro a gota espessa, percebeu-se que as maiores taxas foram encontradas no sexo masculino, com uma sensibilidade de 97,3% e especificidade de 85,4%. Em

relação ao valor preditivo positivo o sexo masculino apresentou resultado maior do que o sexo feminino, com taxa 75,3%. Já para o valor preditivo negativo, foi o sexo feminino que apresentou maior taxa 98,7% (Tabela 1).

Os resultados encontrados na validação do ICT, quando comparado com a gota espessa, apontaram para uma sensibilidade maior no sexo masculino (95,6%), e uma especificidade maior no sexo feminino com taxa de 92,9%. O valor preditivo positivo apresentou uma maior taxa para o sexo masculino (85,7%) e o valor preditivo negativo foi maior no sexo feminino (97,7%), assim como no ELISA - Og4C3 (Tabela 1).

Para a variável tempo de residência o ELISA - Og4C3 apresentou maior sensibilidade (97,6%), especificidade (86,1%) e valor preditivo negativo (99,4%) nos pacientes autóctone. Nos pacientes alóctones a taxa foi maior apenas o valor preditivo positivo (65,9%) (Tabela 2).

Em relação ao ICT todos as taxas da validação foram maior nos pacientes autóctones apresentando sensibilidade de 97,6%, especificidade de 93,1%, valor preditivo negativo de 99,1% e o valor preditivo positivo de 83,7%. Esses achados estão apresentados na tabela 2.

A sensibilidade do ELISA - Og4C3 em relação a gota espessa, em pacientes que não realizaram tratamento anterior para filariose foi de 96,0%, a especificidade e o valor preditivo positivo foram maior nos pacientes que realizaram tratamento anterior com taxas de 90,0% e 80,6%, respectivamente. Devido a ausência de indivíduos positivos pela gota espessa e negativos pelo ELISA - Og4C3, a sensibilidade e o valor preditivo negativo não foram calculadas para os pacientes que relataram tratamento anterior, como mostra a tabela 3.

Em relação a validação do ICT, a sensibilidade e o valor preditivo negativo foram maiores nos pacientes que não realizaram tratamento anterior para filariose, com taxas de 94,9% e 97,3%, respectivamente. A especificidade e o valor preditivo positivo não foi calculado para os pacientes que relatavam tratamento anterior, uma vez que não foi encontrado nenhum paciente negativo pela gota espessa e positivo pelo ICT (Tabela 3).

Na validação do ELISA - Og4C3 usando a gota espessa como padrão ouro, encontrou-se uma melhor sensibilidade (96,1%) e valores preditivo negativo (98,7%). Partindo para a validação da gota espessa com o ELISA - Og4C3 como padrão ouro, a especificidade (98,7%) e os valores preditivos negativo (96,1%), foram os indicadores que apresentaram maiores taxas.

Em relação à validação do ICT utilizando a gota espessa como padrão ouro, a sensibilidade (94,4%) e o valor preditivo negativo (97,1%) foram os itens que apresentaram as melhores taxas. Já na validação da gota espessa comparado com o ICT como padrão ouro as maiores taxas foram verificadas na especificidade (97,1%) e no valor preditivo positivo (94,4%).

Nos resultados da validação do ELISA - Og4C3 empregando como padrão ouro o ICT encontrou-se maiores taxas na especificidade (97,2%) e no valor preditivo positivo (95,6%). Na validação do ICT com o ELISA - Og4C3 como padrão ouro a sensibilidade (95,6%) e o valor preditivo negativo (97,2%) foram os itens que apresentaram maiores taxas.

Na acurácia o melhor resultado foi encontrado na comparação entre as técnicas que utilizam os anticorpos monoclonais. Esses dados estão apresentados no quadro 1.

Quadro 1 - Comparação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia da gota espessa e dos anticorpos monoclonais, Og4C3 e ICT¹, realizados em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – 2003

PARÂMETROS	Og4C3 frente GE %	95% IC ¹	GE Frente Og4C3 %	95% IC ¹	ICT ² Frente GE %	95% IC ¹	GE Frente ICT %	95% IC ¹	Og4C3 Frente ICT %	95% IC ¹	ICT frente Og4C3 %	95% IC ¹
SENSIB..	96,1	91,8 – 98,3	65,9	59,8 – 71,6	94,4	89,7 – 97,2	83,3	77,3 – 88,0	89,4	84,4 – 93,1	95,6	91,5 – 97,8
ESPECIF.	85,3	82,2 – 88,0	98,7	97,1 – 99,4	90,7	87,2 – 93,4	97,1	94,5 – 98,5	97,2	94,5 – 98,6	93,0	89,6 – 95,4
VPP ³	65,9	59,8 – 71,6	96,1	91,8 – 98,3	83,3	77,3 – 88,0	94,4	89,7 – 97,2	95,6	91,5 – 97,8	89,4	94,4 – 93,1
VPN ⁴	98,7	97,1 – 99,4	85,3	82,2 – 88,0	97,1	94,5 – 98,5	90,7	87,2 – 93,4	93,0	89,6 – 95,4	97,2	94,5 – 98,6
ACURÁCIA	87,7	-	87,7	-	91,9	-	91,9	-	94,0	-	94,0	-

IC¹: Intervalo de confiança

ICT²: Teste imunocromatográfico

VPP³: Valor preditivo positivo

VPN⁴: Valor preditivo negativo

Tabela 1 - Validação das técnicas ELISA - Og4C3 e ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o sexo, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – 2003

SEXO	Og4C3 x GE				ICT x GE			
	Sensib. %	Especif. %	VPP %	VPN %	Sensib. %	Especif. %	VPP %	VPN %
MASCULINO	97,3	85,4	75,3	98,6	95,6	87,1	85,7	96,1
FEMININO	93,9	85,3	53,9	98,7	92,5	92,9	79,5	97,7
TOTAL	96,1	85,3	65,9	98,7	94,4	90,7	83,3	97,1

Tabela 2 - Validação das técnicas ELISA - Og4C3 e ICT, quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tempo de residência, em inquérito populacional no Distrito de Cavaleiro – 2003

TEMPO DE RESIDÊNCIA	Og4C3 x GE				ICT x GE			
	Sensib. %	Especif. %	VPP %	VPN %	Sensib. %	Especif. %	VPP %	VPN %
AUTOCTONE	97,6	86,1	60,3	99,4	97,6	93,1	83,7	99,1
ALOCTONE	95,6	85,0	67,9	98,3	93,5	89,6	83,2	96,1
TOTAL	96,1	85,3	65,9	98,7	94,4	90,71	83,3	97,1

Tabela 3 - Validação das técnicas ELISA - Og4C3 e ICT quando comparada com a técnica da gota espessa, segundo o tratamento anterior, em inquérito populacional no distrito de Cavaleiro – 2003

TRATAMENTO ANTERIOR	Og4C3 x GE				ICT x GE			
	Sensib. %	Especif. %	VPP %	VPN %	Sensib. %	Especif. %	VPP %	VPN %
SIM	-	90,0	80,0	-	75,0	-	-	85,7
NÃO	96,0	85,2	65,7	98,6	94,9	90,6	83,1	97,3
TOTAL	96,1	85,3	65,9	98,7	94,4	90,7	83,3	97,1

Discussão

A validação de uma técnica sobre outra impõe a necessidade de definir qual é o testado e qual será o padrão ouro. Neste estudo, pelo fato da gota espessa ser o “gold test” para diagnóstico da filariose bancroftiana em inquérito populacional, admitiu-se que este fosse o modelo de comparação, devendo-se avaliar a validade das técnicas ELISA - Og4C3 e ICT.

Como foi enfatizado por Ransohoff e Feisntein (1978 apud JEKEL; ELMORE; KATZ, 1999), a população em que o teste diagnóstico ou de rastreamento é avaliado deve ter características semelhantes às populações em que ele será usado; portanto, os trabalhos de validação dos testes antigênicos devem ser realizados em áreas endêmicas, locais onde estas técnicas serão usadas.

Os achados deste estudo de validação do ELISA - Og4C3 utilizando a gota espessa como padrão ouro não divergem em relação ao relato de Lammie, Hightower e Eberhard (1994), que encontraram uma sensibilidade que varia de 75% a 100%, mas divergiram em relação ao valor preditivo positivo (100%) e na especificidade (70,4%).

Dreyer et al. (1996a), em estudo de validação do ELISA - Og4C3, realizado na Região Metropolitana do Recife, utilizando indivíduos atendidos no serviço ambulatorial com a gota espessa positiva e amicrofilarêmicos com evidências ultra-sonográficas de infecção, evidenciaram sensibilidade de 97,9% e especificidade de 98,4%.

A alta especificidade nestes dois trabalhos, no entanto, deve-se ao fato dos controles negativos terem sido constituídos por residentes de áreas não endêmicas, o que pode levar a uma interpretação errônea de sua “alta especificidade”. Para distinguir infecção atual de exposição à larva infectante de *W. bancrofti*, o grupo controle negativo

ideal deveria ser composto por indivíduos expostos às larvas infectantes, porém livres de infecção. Entretanto, é muito difícil, se não impossível, garantir a inexistência de infecção em indivíduos que vivem em área endêmica, a despeito de todo o arsenal diagnóstico disponível, na atualidade (AMARAL; NORÕES; ROCHA et al., 1995; ROCHA et al., 1996).

Já na validação do ICT, utilizando a gota espessa como padrão ouro, os resultados foram inferiores aos encontrados por Weil; Lammie e Weiss (1997), em pacientes de um banco de soro da Índia, utilizando a mesma comparação, ICT versus gota espessa. Quanto aos valores que expressão a sensibilidade, se assemelham aos achados de Chandrasena et al. (2002), que utilizou a gota espessa como padrão ouro, em indivíduos residentes no Sri Lanka, cujo grupo controle foi composto por pessoas sem histórico de filariose, selecionadas em uma área não endêmica na província central daquele país asiático.

O diagnóstico de eleição utilizado em inquéritos é a gota espessa, pois apresenta uma boa sensibilidade e baixo custo (MEDEIROS et al., 1999). As técnicas de ultrasonografia e a filtração em membrana, apesar da sensibilidade e especificidade terem taxas superiores às da gota espessa, apresentam dificuldades para utilização em inquéritos epidemiológicos: envolvem um grande número de indivíduos, além de algumas restrições quanto a sua aplicação, como custo, relutância da população na coleta noturna de sangue venoso, a demora no processamento do sangue, o que as torna impraticáveis, ou, pelo menos, de difícil aplicação.

Portanto, para verificar o emprego dos monoclonais em inquéritos populacionais, o padrão ouro utilizado foi a gota espessa e os controles foram os indivíduos da mesma

área endêmica dos casos diagnosticados, o que justifica a diferença dos resultados encontrados neste trabalho em relação aos de outros autores.

Existem relatos na literatura, (MICHAEL; BUNDY; GRENFELL, 1996; SUNISH et al., 2001) de que a prevalência da microfilaremia e da antigenemia, detectada pelo ICT, são maiores no sexo masculino. Estes dados divergem parcialmente dos encontrados nos indivíduos do Sri Lanka, diagnosticados pelo ELISA- Og4C3, comparado com a clínica, a gota espessa e a filtração, em que as taxas de sensibilidade e especificidade foram maior no sexo feminino.

Weesooriya et al. (2002), estudando a prevalência de antigenemia detectada pelo ELISA - Og4C3, no Sri Lanka verificaram que mulheres com antígeno positivo detinham maior quantidade de microfilária negativa do que os homens antígenos positivos. Neste trabalho de validação do ELISA - Og4C3 foi verificado que a sensibilidade, a especificidade e o valor preditivo positivo apresentaram taxas mais elevadas no sexo masculino.

Estudos em modelos animais experimentais e observações epidemiológicas em humanos sugerem que os homens têm maior risco de infecção e doença filarial do que a mulher e que essa susceptibilidade pode ser regulada por ambos os caminhos, imune e não-imune (FREEDMAN, 1998). Partindo desses fatos, pode-se discutir a possibilidade das mulheres apresentarem algum fator imunológico ou não que iniba o desenvolvimento das microfilarias, dificultando assim sua detecção pelo diagnóstico da gota espessa, entretanto, estudos específicos sobre esse tema devem ser desenvolvidos para uma melhor comprovação.

Assim, sugiro que outros estudos devam ser realizados, para comprovar essa maior predisposição do sexo masculino e em relação a autóctonia do caso nos estudos

de validação, uma vez que, na maioria dos estudos de prevalência parasitológica a maior taxa é encontrada no sexo masculino (BRABIN, 1990), mas nos estudos de prevalência antigênica pelo os achados ainda são divergentes. Esses dados não foram discutidos devido a ausência dessa discrição na literatura consultada.

Os resultados deste estudo, no que se refere ao tratamento anterior para filariose chama a atenção principalmente no grupo de indivíduos que haviam realizado tratamento anterior. Existe discrição de que após o tratamento 78% dos microfilarêmicos tornaram-se negativo, mas que dessas curas parasitológicas, 76,1% ainda foram antígeno positivo 17 meses após o tratamento (WEERASOORIYA et al., 2002). A persistência da antigenemia após o tratamento bem-sucedido, tem sido observado em diversos trabalhos (ZHENG et al., 1990; NICOLAS et al., 1997).

Itoh et al. (1999) chegaram à mesma conclusão, em seu estudo não encontraram diferença na proporção de casos antígenos positivos e microfilaria negativa entre os indivíduos com tratamento anterior e sem tratamento anterior com a Dietilcarbamazina.

Embora a gota espessa seja a técnica padrão ouro e um exame sensível para a realização dos inquéritos, ela é capaz de escolher apenas infecções microfilárias óbvias. Contudo, infecções com amicrofilarêmicos têm sido documentadas. Por isso, os falsos positivos obtidos pelo ICT e pelo ELISA - Og4C3 poderiam ser positivos verdadeiros, em que a técnica de referência falhou para detectar (NGUYEN; PLICAHRT; ESTERRE, 1999; WEERASOORIYA et al., 2002). Assim, a principal razão para a aparente especificidade de 85,3% do ELISA - Og4C3 e de 90,7% do ICT pode ser a falha do teste de referência para detectar todos os casos da infecção.

No entanto, caso as afirmações de Nguyen; Plicahrt; Esterre (1999) e Weerasooriya et al. (2002), fossem totalmente corretas, na validação do ELISA - Og4C3

e do ICT os resultados deveriam ser concordantes. Isso não foi verificado, ao comparar as duas técnicas, verificando-se que a sensibilidade do ELISA - Og4C3, em relação ao ICT, foi de 89,4%, e a especificidade foi de 97,2%. Já a sensibilidade do ICT, utilizando o ELISA - Og4C3 como padrão ouro, foi de 95,6%, e a especificidade foi de 93,0%. Por essa razão, é possível referir que os valores achados quanto à sensibilidade e à especificidade do ICT e do ELISA - Og4C3 devem ter outras justificativas, além da referida pelos autores (NGUYEN; PLICHART; ESTERRE, 1999; WEERASOORIYA et al., 2002).

Outro motivo para justificar os resultados encontrados nesta validação pode ser devido a reações cruzadas. Segundo More e Coperman (1990), o ELISA - Og4C3 apresenta reação cruzada com outros helmintos, filárias e não filárias, incluindo *Onchocerca gibsoni*, *Onchocerca volvulus*, *Dirofilaria immitis*, *Ancylostoma caninum* e *Toxocara canis*. Este último, foi detectada uma prevalência, de 39,4%, nos pacientes da RMR atendidos no ambulatório especializado em doenças parasitárias do CPqAM - FIOCRUZ (AGUIAR-SANTOS, 2001). A presença de *D. immitis* também foi verificada no Recife, com prevalência de 2,3% em cachorros na cidade do Recife (ALVES et al., 1999).

Para o ICT, Phantana et al. (1999), e de Bhumiratana et al. (1999), descartam a possibilidade de reação cruzada; no entanto, não descrevem os parasitas envolvidos. Para tal necessita-se de estudos para descartar tais reações na população.

Avaliações posteriores devem ser realizadas, para um melhor esclarecimento sobre possíveis reações cruzadas em ambas as técnicas antigênicas, ICT e ELISA – ELISA - Og4C3; no entanto, esses estudos devem ser realizados em amostras grandes,

para maior segurança quanto aos resultados e melhor esclarecimento da questão, possibilitando descartar as possíveis dúvidas ainda existentes.

Com isso, destacamos que o ELISA - Og4C3, é uma técnica cara, demorada, cuja aplicação requer equipamento específico com laboratório estruturado. Já o uso do ICT é rápido e de fácil execução, para determinação da infecção filarial tornando-se uma técnica mais adequada para a utilização em inquérito epidemiológico do que o ELISA - Og4C3.

Para doenças semelhantes à filariose, a alta sensibilidade é mais importante do que a alta especificidade, e isto é proveitoso para os inquéritos epidemiológicos, onde os teste devem ser mais sensíveis e apresentar um melhor valor preditivo negativo, garantindo assim uma maior segurança de que um indivíduo com resultado negativo não tenha a doença.

Com isso, apesar de ambos os anticorpos monoclonais apresentarem taxas semelhantes nos itens sensibilidade e valor preditivo negativo. Foi possível verificar que nos itens especificidade, valor preditivo positivo e a acurácia, que é a proporção de acertos do teste diagnóstico, apresentaram taxas consideravelmente superiores na técnica ICT, demonstrando que esta seria a técnica antigênica mais indicada para a utilização em triagem nos inquéritos epidemiológicos na RMR. Esses dados serão importante para a implementação do programa de eliminação da filariose linfática, em especial para áreas endêmicas da RMR no estado de Pernambuco.

A técnica antigênica mais adequada para a utilização em triagens de inquéritos populacionais na RMR é o ICT que, além de apresentar uma melhor especificidade, valor preditivo positivo e acurácia, também é de fácil execução em trabalhos de campo, possibilitando a obtenção mais rápida dos resultados.

Referências Bibliográficas:

- AGUIAR-SANTOS, A.A.M. **Toxocaríase humana: soroprevalência em crianças e adolescentes atendidos no ambulatório do CPqAM – Recife – PE**, 2001, 102f. Dissertação (Mestrado em Pediatria) – Departamento Materno Infantil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- ALVES, L.C. et al. Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 5, p. 587-590, 1999.
- AMARAL, F.; NORÕES, J.; DREYER, G. Uso da ultrasonografia no diagnóstico da filariose linfática escrotal: relato de dois casos. **Revista Brasileira de Radiologia**, São Paulo, v. 28, p. 217-219, 1995.
- ANDRADE, A.L.S.S.; ZICKER, F. **Métodos de investigação epidemiológica em doenças transmissíveis**. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, Fundação Nacional da Saúde, 1997. v. 1.
- BHUMIRATANA, A. et al. Field trial on the ICT filariasis for diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infections in an endemic population of Thailand. **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Asian, v. 30, p. 562-568, 1999.
- BONFIM, C. **Filariose bancroftiana: a representação espacial das desigualdades sociais**. 2002. 137f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife.
- BRABIN, L. Sex differentials in susceptibility to lymphatic filariasis and implications for maternal child immunity. **Epidemiology Infection**, v. 105, p. 335-353, 1990.
- CHANDRASENA, T.G.A.N. et al. Evaluation of the ICT whole-blood antigen card test to detect infection due to *Wuchereria bancrofti* Sri Lanka. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 96, p. 60-63, 2002.
- DENNIS, D.T.; DEAN, A.G. **Epi Info, version 6.0b**: a word processing database and statistical program for epidemiology on microcomputer. Stone Mountain: Centers for Disease Control, 1996.
- DREYER, G. et al. O teste Og4C3 no diagnóstico da filariose bancroftiana: uso e limitações. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, v. 41, n. 1, p. 43-47, 1996a.
- FREEDMAN, D.O. Immune dynamics in the pathogenesis of human lymphatic filariasis. **Parasitology Today**, London, v. 104, p. 71-79, 1998.
- IBGE. **Recontagem populacional, 1996**. Rio de Janeiro, 1996.
- JEKEL, J.F.; ELMORE, J.G.; KATZ, D.L. **Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva**. Porto Alegre, Ed. Artes Médicas Sul, 1999, p. 99-112,
- LAMMIE, P.J.; HIGHTOWER, A.W.; EBERHARD, M.L. The age specific prevalence of antigenemia in a *Wuchereria bancrofti*-exposed population. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 51, p. 348-355, 1994.

- MEDEIROS, Z. et al. Screening of army soldiers for *Wuchereria bancrofti* infection in the Metropolitan Recife Region, Brazil: implications for epidemiological surveillance. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 4, n. 7, p. 499-505, 1999.
- MICHAEL, E.; BUNDY, D.A.P.; GRENFELL, B.T. Reassessing the global prevalence and distribution of lymphatic filariasis. **Parasitology**, Stuttgart, v. 112, p. 409-428, 1996.
- MORE, S.J.; COPERMAN, D.B. A highly specific and sensitive monoclonal antibody based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. **Tropical Medicine and Parasitology**, Stuttgart, v. 41, p. 403-406, 1990.
- NGUYEN, N.L.; PLICHART, C.; ESTERRE, P. Assessment of immunochromatographic test for rapid lymphatic filariasis diagnosis. **Parasite**, Paris, v. 6, n. 4, p. 355-358, 1999.
- NICOLAS, L. et al. . Reduction of *Wuchereria bancrofti* adult worm circulating antigen after annual treatment of diethylcarbamazine combined with ivermectin in French Polynesia. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 175, p. 489-492, 1997.
- PHANTANA, S. et al. ICT filariasis test: a new screening test for bancroftian filariasis. **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Asian, v. 30, n. 1, p. 47-51, 1999.
- ROCHA A. et al. Syndrome resembling tropical pulmonary eosinophilia but of non-filarial aetiology: serological findings with filarial antigens. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 89, p. 573-575, 1995.
- ROCHA, A. et al. Evaluation of the Og4C3 ELISA in *Wuchereria bancrofti* infection: Infected persons with undetectable or ultra-low microfilarial densities. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 1, n. 6, p. 859-864, 1996.
- SUNISH, I.P. et al. Immunochromatographic test (ICT) for estimation of true prevalence of bancroftian filariasis in an endemic area in southern India. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 95, n. 6, p. 607-609, 2001.
- WEERASOORIYA, M.V. et al. Prevalence and intensity of *Wuchereria bancrofti* antigenemia in Sri Lanka by Og4C3 ELISA using filter paper-absorbed whole blood. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 96, n. 1, p. 41-45, 2002.
- WEIL, G.J.; LAMMIE, P.J.; WEISS, N. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 13, n. 10, p. 401-404, 1997.
- WEIL, G.J. et al. Parasite antigenemia without microfilaremia in Bancroftian filariasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 55, p. 333-337, 1996.
- ZHENG, H.J. et al. Parasite antigenemia in untreated and treated lymphatic filarial infections. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 43, p. 481-488, 1990.