

# AVALIAÇÃO DOS EXAMES DE DIAGNÓSTICO DA MALÁRIA POR *PLASMODIUM falciparum*, NO SERVIÇO DE URGÊNCIA DO HOSPITAL CENTRAL DE LUBANGO: qPCR MÉTODO PADRÃO

Francisco António Fernando Manuel<sup>1,2</sup>, Fortunato Ribeiro Silva<sup>6</sup>, Esmeralda Clarice Beth Sacato<sup>6</sup>, Elsa Graciana Taliengue<sup>6</sup>, Elsa Paula Kaingona Daniel<sup>6</sup>, Fátima Nogueira<sup>3</sup>, Luís Manuel Varandas<sup>3,4,5</sup>, Maria Lina de Menezes Antunes<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina da Universidade Agostinho Neto, Luanda, Angola

<sup>2</sup>Universidade Jean Piaget de Angola, Luanda, Angola

<sup>3</sup>Saúde Global e Medicina Tropical, Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal.

<sup>4</sup>Escola Médica NOVA, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa Portugal.

<sup>5</sup>Departamento de Pediatria, Hospital Dona Estefânia, Unidade Local de Saúde de São José, Lisboa, Portugal.

<sup>6</sup>Hospital Central de Lubango, Lubango, Angola.

Correspondência: [franmanuel8@hotmail.com](mailto:franmanuel8@hotmail.com)

## Resumo

**Introdução:** A cidade de Lubango é a capital da província da Huíla onde a malária continua sendo a principal causa de morbidade e mortalidade e, em 2022, a taxa de letalidade foi estimada em 5,1%, acima da média nacional de 2,9%. As recomendações da Organização Mundial da Saúde preconizam o diagnóstico precoce e preciso, por microscopia óptica (método padrão) e/ou testes rápidos de diagnóstico (TRD), antes do início do tratamento, como um dos principais meios para o controle da doença. Porém, estes métodos possuem vantagens, mas também desvantagens na sua aplicabilidade, sendo por isso necessário a realização periódica de estudos de avaliação. Os exames microscópicos permitem a identificação das espécies de *Plasmodium spp.* e a determinação da parasitemia, com o limite de deteção que varia entre 50-100 parasitas/ $\mu$ L de sangue, em amostras de campo. Porém, necessitam de tempo considerável para obtenção de resultados, técnicos bem qualificados para se minimizar a ocorrência de resultados falso-negativos, nos casos de baixa parasitemia, e falso-positivos, nos casos de mau processamento de amostras e deficiente conservação de reagentes. Os TRD não necessitam de grande qualificação técnica para a sua realização, permitem a obtenção rápida de resultados, com o limite de deteção que varia entre 100-200 parasitas/ $\mu$ L de sangue, em amostras de campo. Porém, podem ocorrer resultados falso-positivos, nos casos de persistência antigénica após o tratamento, e resultados falso-negativos, nos casos de deficiente qualidade dos TRD, efeito prozona e, fundamentalmente, a deleção dos genes que detetam as proteínas 2 e 3 ricas em histidina (p<sub>fh</sub>rp2/3). Num estudo realizado para identificar evidências iniciais de deleção dos genes p<sub>fh</sub>rp2/3 de *P. falciparum*, no serviço de urgência (SU) do Hospital Central de Lubango (HCL), a avaliação dos TRD,

utilizando como padrão os resultados dos exames microscópicos, determinou o coeficiente Kappa de Cohen de 0,82, correspondente a classificação de perfeita confiabilidade, de acordo com a classificação de Landis & Koch. Porém, neste estudo, não foi possível avaliar os resultados dos exames microscópicos utilizados como método padrão. **Objectivo:** avaliar os resultados dos exames microscópicos e TRD da malária (*Malaria PF/Pan Teste Rápido CE*) realizados, no SU do HCL, de 17 de fevereiro a 06 de março de 2023, utilizando como método padrão a qPCR. **Métodos:** realizamos um estudo observacional, transversal, utilizando 91 amostras de sangue colhidas em doentes com síndrome febril suspeito de malária. Destas, incluímos 31 amostras em que foi possível fazer a extração de ADN, pelo método Chelex. Para identificação de *P. falciparum*, foi padronizada uma reação de qPCR baseada na amplificação do gene que codifica a subunidade menor 18S de ARN ribossomal (18S rARN), de *P. falciparum*, descrita por Rosanas-Urgell et al, 2010. Para a avaliação de resultados, foi calculada a sensibilidade e especificidade (Curva ROC pelo SPSS Versão 26), os valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) e a acurácia (fórmulas específicas), o grau de confiabilidade (coeficiente Kappa de Cohen  $p < 0,05$ , pelo SPSS Versão 26) e a classificação de resultados mediante a escala de Landis e Koch). Nenhum técnico de laboratório e médicos das equipas do SU do HCL integrou a equipa de avaliação de resultados. O estudo foi aprovado pelo Comité de Ética Independente da Faculdade de Medicina da Universidade Agostinho Neto e do HCL (Deliberação N°08/2020, aos 14 de novembro de 2020). **Resultados:** das 31 amostras estudadas, 18(58,1%) eram de indivíduos do sexo masculino, idade média  $35,5 \pm 2,3$  e 28(90,3%) residentes na cidade de Lubango. Para os exames microscópicos e TRD, respetivamente, as taxas de positividade para o *P. falciparum* foram de 58,1/58,1%, sem registo de casos de malária *não-falciparum*; as curvas ROC 1.5(0,70-0,85; AUC=0,779) e 1.5(0,80-0,85; AUC=0,829) mostraram as sensibilidades e especificidades de 70/80% e 85/85%; os cálculos determinaram VPP e VPN de 85,7/90% e 70/72,7%, as acurácias de 80,6/83,8%; e o SPSS determinou os coeficientes Kappa de Cohen de  $K=0,557$   $p=0,002$  e  $K=0,64$   $p=0,000$ , correspondentes as classificações de moderada e suficiente confiabilidade, de acordo com a escala de Landis e Koch. **Considerações finais:** não obstante as limitações relacionadas com o tamanho da amostra e da seleção de doentes por conveniência, o presente estudo constitui a primeira avaliação de resultados dos exames microscópicos e TRD realizados no SU do HCL, tendo como método padrão a qPCR, e mostra moderada confiabilidade para os exames microscópicos, e suficiente confiabilidade para os TRD, no diagnóstico

da malária por *P. falciparum*. Recomendamos a realização periódica de estudos com amostras representativas e processos de amostragem probabilística.

Palavras-chave: Exames de diagnóstico da malária, qPCR, Lubango.