



OPTIMAL-IT[®]: Uma revisão de seu desempenho no diagnóstico de malária¹

Luciana Pereira de Sousa², Luis André Mariuba³ e Paulo Afonso Nogueira³

Resumo

O presente trabalho relata o desempenho de um dos testes de diagnóstico rápido mais recomendados para a detecção de parasitas do gênero *Plasmodium*, o OptiMAL-IT[®], em vários contextos epidemiológicos globais. O teste é baseado em anticorpos monoclonais detectores de Lactato Desidrogenase (LDH) de *Plasmodium falciparum* e LDH pan-específico para a detecção das demais espécies de *Plasmodium* que infectam os seres humanos. Embora a maioria dos estudos citados neste trabalho tenha exibido sensibilidade do teste rápido OptiMAL-IT[®] abaixo do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), este parece constituir uma excelente ferramenta de diagnóstico de malária em áreas remotas, além de oferecer informações adicionais importantes a microscopia na detecção precisa e eficaz de infecções maláricas para o tratamento correto e oportuno da doença.

Palavras-Chave: Diagnóstico, Lactato Desidrogenase, Malária.

Abstract

This paper reports the performance of a rapid diagnostic tests more recommended for detection of parasites of the genus *Plasmodium*, the OptiMAL-IT[®] in various epidemiological context globally. This test is based on monoclonal antibodies detectors of *Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase (LDH) and LDH pan specific for the detection of other species of *Plasmodium* that infect humans. Although most of the studies cited in this paper has shown sensitivity of the rapid test OptiMAL-IT[®] below the level recommended by the World Health Organization, this seems to be an excellent diagnostic tool for malaria in remote areas and provide important additional information on microscopy effective and accurate detection of malarial infections for the correct and timely treatment of the disease.

Keywords: Diagnostic, Lactate Dehydrogenase, Malaria.

¹ Parte da dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil.

² Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), do Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil.

³ Pesquisador do Centro de Pesquisa Leônidas e Maria Deane, FIOCRUZ Amazônia, Rua Teresina, 476, Adrianópolis, Manaus, Amazonas, Brasil.

1. Introdução

A Malária continua a ter um enorme impacto na saúde global e o diagnóstico ainda é um desafio para a maioria dos países, onde há incidência desta parasitose. Os elementos principais na estratégia global para uma gestão eficaz de controle da Malária são o diagnóstico rápido, preciso e tratamento efetivo, estes, porém, possuem acesso limitado em áreas onde a Malária é endêmica.

Investimentos buscando uma mudança neste quadro vêm sendo arcados em diversos países tanto para a distribuição dos medicamentos utilizados para o tratamento desta doença como para o desenvolvimento de novas drogas e de vacinas. É imperativo, contudo, que este processo seja acompanhado por um compromisso paralelo buscando uma melhora das ferramentas de diagnóstico e sua disponibilidade pela população residente de áreas malarígenas (WONGSRICHANALAI et. al., 2001). Logo, uma reflexão sobre as técnicas utilizadas para a detecção dos patógenos causadores da malária é de grande importância para a execução de políticas públicas visando o controle da doença.

Atualmente, o diagnóstico confirmatório de infecções por plasmódios pode ser realizado por diferentes técnicas que englobam aspectos microscópicos, moleculares e imunológicos. Dentre este último, a detecção utilizando anticorpos em um sistema de fitas imunocromatográfica tem sido debatida pelos resultados divergentes entre diferentes grupos, variantes ambientais, genética e carga parasitária. Este texto fará uma abordagem sobre os temas relacionados ao único teste rápido do gênero validado nacionalmente, o do OptiMAL-IT[®].

2. Metodologia

A revisão da literatura sobre a sensibilidade e especificidade do teste de diagnóstico rápido OptiMAL-IT[®] foi realizado pela busca de publicações de pesquisas na linha de testes diagnósticos para a Malária disponíveis em banco de dados eletrônicos. O período destas publicações foi de 1959 a 2012, cujas palavras-chave foram: *rapid diagnostic test for malaria*, *malaria diagnostic*, *performance of OptiMAL-IT[®]*.

3. Revisão de literatura

Tradicionalmente, o diagnóstico de malária ocorre pelo exame microscópico do sangue, o qual é realizado, a partir da técnica desenvolvida por Gustav Giemsa, em 1904. O exame denominado gota espessa é o diagnóstico microscópico considerado padrão ouro por apresentar custo operacional relativamente baixo, especificidade e sensibilidade alta (dependendo da experiência do microscopista), permitindo a identificação quantitativa e qualitativa de parasitas, sendo o exame mais utilizado mesmo diante aos avanços de técnicas para o diagnóstico de Malária nas últimas décadas. A técnica consiste na coleta de sangue periférico de pacientes com manifestações clínicas de malária para a preparação de lâminas coradas com o tampão de Giemsa para a visualização em campo microscópico, com óleo de imersão, visando à identificação das espécies e contagem do número de parasitas por campo para a obtenção da parasitemia.

O exame da gota espessa permite a detecção de densidade mínima de parasita, cerca de 5-10 parasitas por microlitro (μL) de sangue, desde que o examinador seja bastante experiente. Todavia, em condições de campo, normalmente, a capacidade de detecção salta para 100 parasitos por μL de sangue. A técnica permite o diagnóstico em cerca de 60 minutos entre a coleta de sangue, análise microscópica para a identificação de espécies, mensuração da parasitemia e entrega de resultado. Esta, porém, possui exigência de uma infraestrutura adequada para a realização dos exames e algumas limitações na preparação de lâminas (WHO, 2006; WHO, 2010). Dentre elas, há aspectos caracterizados como difíceis de serem solucionados, como a morfologia dos parasitas não preservada ou modificada, manuseio e coleta de amostras sanguíneas infectadas (material biológico mal fixado, possível lise de hemácias) e o fato da preparação e leitura de lâminas poder variar entre os microscopistas, tornando o diagnóstico, muitas vezes, inviável em áreas de difícil acesso. Estas entre outras variáveis podem acarretar em erros de diagnóstico e, conseqüentemente, erro na administração de antimaláricos favorecendo, assim, a disseminação



de *Plasmodium* sp. e manutenção da doença (WHO, 2011).

O diagnóstico molecular, o qual detecta ácido nucléico do parasita, pela tecnologia de amplificação do DNA por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é extremamente eficiente, porém menos utilizado, pois é restrito a grandes laboratórios em virtude do custo elevado de reagentes necessários para a reação e alta complexidade da técnica, além de ser inviável em campo. Os testes para diagnósticos imunológicos, tais como ELISA e Imunofluorescência, também são pouco utilizados para diagnóstico de Malária não só em decorrência do elevado custo, mas também em virtude de incertezas ao diagnóstico, pois a presença de anticorpos no soro de pacientes não significa necessariamente infecção ativa, tendo em vista que anticorpos podem permanecer algum tempo no organismo após a cura da doença.

3.1. Aspectos gerais sobre testes imunocromatográficos para Malária

Nos últimas décadas, tem-se desenvolvido testes para o diagnóstico rápido (TDR) e preciso de malária que utilizam os princípios da imunocromatografia, os quais se baseiam na captura de derivados proteicos maláricos (antígenos alvos) por anticorpos monoclonais reativos a tais antígenos encontrados no sangue periférico infectado por protozoários do gênero *Plasmodium* sp. (MOODY, 2002).

Basicamente, a imunocromatografia pela migração da fase líquida de sangue periférico infectado, sob anticorpos monoclonais (contra determinados antígenos) sensibilizados em uma membrana de nitrocelulose e acoplados a partículas de ouro em fase móvel (MOODY, 2002). A fase fixa é determinada por um anticorpo de captura aplicado a fita de nitrocelulose. Assim, a migração do complexo antígeno-anticorpo da fase móvel ao longo da fita possibilita a identificação do antígeno capturado pelo anticorpo da fase fixa, produzindo uma linha colorida visível (MOODY, 2002). Para assegurar o correto processo de migração em torno da membrana de nitrocelulose, é necessária a adição de um anticorpo anticamundongo como controle positivo do sistema (PIPPER et. al., 1999). A técnica permite o diagnóstico preciso entre 10 a 20 minutos (WONGSRICHANALAI, 2001).

Os antígenos mais utilizados como alvos são: HRP-2 (“Proteína 2” Rica em Histidina), LDH (Lactato Desidrogenase) e Aldolases. A HRP-2 é utilizada para a detecção exclusiva de *Plasmodium falciparum* (pfHRP-2). Esta proteína é solúvel e somente expressa por esta espécie de parasita durante o estágio sanguíneo assexual e estágio de gametócitos jovens (PARRA et. al., 1991; ÁVILA & FERREIRA, 2000). Este foi o primeiro antígeno a ser utilizado em teste de diagnóstico rápido (SHIFF et. al., 1993), podendo ser detectada inclusive na saliva de pacientes (WILSON, 2008) e embora apresente um bom desempenho quando comparado com os outros marcadores de infecção malárica (HENDRIKSEN, 2011), vale ressaltar que a HRP-2 possui algumas limitações, como sua persistência no organismo, por alguns dias após a cura da doença podendo acarretar resultados falsos positivos e, conseqüentemente, a administração desnecessária de antimaláricos (IQBAL et. al., 2004, FOGG et. al., 2008). Além disso, estudos mostrando a existências de isolados apresentando uma variação ou deleção gênica da HRP-2 (MALTHA et. al., 2011; LEE et. al., 2006; BAKER, 2005) e a ocorrência do fenômeno de pró-zona (ocorrência de um equilíbrio entre antígeno e anticorpo) em testes rápidos que detectam este antígeno (GILLET et. al., 2009) demonstram a necessidade de uma grande avaliação do uso deste antígeno como marcador de infecção.

Detectada como marcador de malária cerebral (FUHRMANN & PELTZER, 1959) e testada como candidata a vacina nos anos 80, do século XX (CERTA et. al., 1988), a enzima aldolase foi detectada por ELISA em pacientes infectados (SRIVASTAVA, 1989) e tem sido utilizada até hoje como antígeno alvo para o diagnóstico de espécies de *Plasmodium* em testes para diagnóstico rápido. Apesar deste grande potencial da aldolase, um maior número de produtos busca a detecção da enzima LDH (Lactato Desidrogenase), a qual faz parte do metabolismo do parasita, especificamente, encontrada na via glicolítica, principal fonte de ATP para crescimento e desenvolvimento intracelular do parasita (MAKLER & GIBBINS, 1991). Esta vem sendo utilizada como marcadora de infecções maláricas deste a década de 90, do século XX (MAKLER e GIBBINS, 1993), sendo produzida tanto na fase sexuada quanto assexuada do parasita, o que a torna um bom indicador de

infecção ativa, pois é produzida somente por parasitas vivos (PALMER et. al., 1998; IQBAL et. al., 2004). Novos estudos mostram que é possível detectar a LDH também em amostras de saliva de pacientes (GBOTOSHO, 2010), por não sofrer com o efeito de pró-zona (GILLET et. al., 2009) e não apresentar um polimorfismo significativo (TALMAN et. al., 2007; MARIETTE et. al., 2008).

Os testes de diagnóstico rápido (TDR) fornecem opções adicionais que podem estabelecer parâmetros para análise e comparação ao método tradicional de diagnóstico da doença. Apesar de se apresentarem como de difícil implantação em muitos países devido ao elevado custo operacional (PIPPER, 2011), proporcionam simplicidade, rapidez e eficiência ao diagnóstico. Essa técnica é bastante específica, sensível e útil para o diagnóstico em áreas remotas, onde o acesso à microscopia é praticamente impossível.

Em 2011, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu diretrizes ao diagnóstico rápido de malária, visando eficácia e precisão para um tratamento correto e oportuno, pois estes são apontados como os meios mais adequados para reduzir a disseminação, a gravidade e a letalidade da Malária. A OMS recomenda que a sensibilidade dos testes imunocromatográficos deve ser superior a 95% quando comparada com a microscopia, sendo que a parasitemia, em níveis de 100 parasitos/ μ L (0,002% parasitemia) deve ser detectada, confiantemente, com uma sensibilidade de 100%; disponibilizar as informações quantitativas ou semiquantitativas sobre as densidades parasitárias circulantes no sangue; seja hábil para distinguir parasitos viáveis de não viáveis, e de antígenos ou ácidos nucleicos associados a outras infecções; e, por fim, que indique o prognóstico de tratamento ou resistência às drogas antimaláricas comuns.

Diante disso, uma análise comparativa da sensibilidade e especificidade da microscopia em relação a um dos testes rápidos mais utilizados para o diagnóstico de malária, o OptiMAL-IT[®], é de grande relevância, principalmente, para projetos futuros que visam o uso desta ferramenta.

3.2. OptiMAL-IT[®]: princípios

O OptiMAL-IT[®], produzido por Dia-Med AG (Morat, Suíça), sob licença da Flow Inc. (Portland, OR) (COLEMAN, 2002) discrimina

infecções causadas por *Plasmodium falciparum* e não *falciparum*, esta última, na maioria das vezes, diagnosticadas como *P. vivax* (PIPPER et al., 1999). Esta capacidade de detecção é particularmente importante em países onde estas espécies de *Plasmodium* coexistem (FERRO, 2002). O teste foi produzido a partir de um painel de anticorpos monoclonais capazes de se ligar a pLDH, os quais foram desenvolvidos a partir de eritrócitos infectados por *P. falciparum*. Três anticorpos monoclonais são utilizados no teste imunocromatográfico OptiMAL-IT[®] (Figura 1). Dois dos anticorpos monoclonais são pan-específicos, reconhecendo quatro espécies de *Plasmodium* que infectam o homem (*P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* e *P. falciparum*), sendo um deles imobilizado na membrana imunocromatográfica do sistema em fluxo lateral e outro ligado ao ouro coloidal. O terceiro anticorpo monoclonal é específico para LDH de *P. falciparum* e fica ligado à fita imunocromatográfica. Os anticorpos monoclonais utilizados no ensaio OptiMAL-IT[®] foram exaustivamente testados para reatividade cruzada com a LDH humana no sangue, assim como para a detecção de micro-organismos causadores de outras doenças infecciosas como *Leishmania*, bactérias e fungos patogênicos, porém nenhuma evidência de tal reatividade cruzada foi encontrada, sugerindo, ser uma excelente ferramenta ao diagnóstico de malária (MOODY, 2002).

Há vários estudos sobre a utilização dos TDR publicados na literatura, sendo que muitos avaliaram a sensibilidade e ou especificidade do OptiMAL-IT[®] comparado a microscopia. O texto que segue abordará este tema com diferentes populações do mundo, residentes de áreas endêmicas e indenes, sintomáticos, assintomáticos e coinfectados, além das condições ambientais de armazenamento e custo benefício do OptiMAL-IT[®].

3.3. OptiMAL-IT[®]: desempenho na região Amazônica

A partir dos relatos encontrados na literatura, pode-se observar que os valores de sensibilidade e especificidade do OptiMAL-IT[®] no Brasil variam entre os estudos, apresentam-se aquém do estabelecido pela Organização Mundial de Saúde. O OptiMAL-IT[®] foi validado

nacionalmente, em 2002, por análises realizadas na “Rede Amazônica de Vigilância da Resistência as Drogas Antimaláricas no Brasil” (RAVREDA), apresentando sensibilidade e especificidade global igual a 93,6 e 99,4% (OLIVEIRA, 2010). Arcanjo e colaboradores (2007), entretanto, observaram uma concordância entre a gota espessa e este teste rápido igual a 72,1 % e 92,9%, quanto à copositividade e conegatividade, respectivamente. Neste estudo, as análises de parasitemia variaram de 100 a 46.500 parasitas por mm³ de sangue. Segundo estes autores, a gota espessa possui

melhor positividade para o diagnóstico da malária em área endêmica, porém, acrescenta que são necessários outros estudos semelhantes em localidades com diferentes perfis epidemiológicos. Algumas hipóteses explicativas sugeridas para o baixo desempenho do teste rápido foram ligação inespecífica do anticorpo monoclonal ao substrato, baixa densidade parasitária de indivíduos assintomáticos e a temperatura de armazenamento do “kit” para uso em campo.

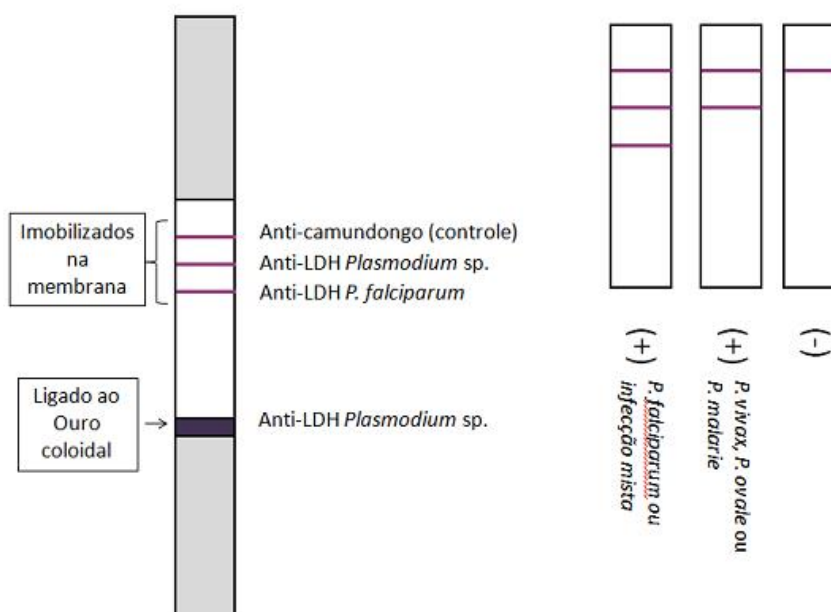


Figura 1. Princípios do teste diagnóstico rápido OptiMAL-IT® para a detecção de LDH de *Plasmodium falciparum* e LDH pan específico para a detecção das demais espécies de *Plasmodium* que infectam os seres humanos.

Segundo a OMS (2006) o desempenho de TDR para malária é seriamente afetado em ambiente de alta temperatura, tal como é prevalente em zonas tropicais. A influência do ambiente de estocagem do teste é uma variante que talvez possa ser considerada decisiva para sua utilização em áreas remotas, onde a falta de refrigeração é um fator aguardado. Contudo, este fator não apresentou influência no desempenho do teste na Amazônia Brasileira, como mostrado por Penhalbel e colaboradores (2005). Neste foi avaliado seu desempenho sob diferentes condições de armazenamento: 25°C, 30°C e 39°C por 24, 48 e 72 horas antes do uso. O teste imunocromatográfico detectou todas as amostras positivas corretamente, com exceção das duas

amostras de *P. malariae*, provavelmente devido à baixa parasitemia (<100 parasitos por microlitro). Os resultados mostram um excelente desempenho do teste OptiMAL-IT® sob as diferentes condições avaliadas, porém mais pesquisas com diversas condições ambientais, como a umidade, um maior tempo de exposição as diferentes temperaturas são importantes para determinar a aplicabilidade do teste em áreas endêmica e não endêmicas da Amazônia Brasileira.

A densidade parasitaria é relatada como importante limitador de desempenho do teste. Em estudos realizados na Colômbia, Ferro e colaboradores (2002) observaram resultados falso-negativos com OptiMAL-IT® em parasitemias de 80 e 480 parasitas/ml. De forma semelhante,



Mendoza e colaboradores (2007) encontraram uma diminuição da sensibilidade na detecção de *P. falciparum* para 60% em concentrações inferiores a 200 parasitas e para 50 % na detecção de *P. vivax* em amostras com 300 a 2500 parasitas. Metzger e colaboradores (2011) também relataram perda de precisão do teste em baixos níveis de parasitemia, assim como Tarazona et. al. (2004), em níveis parasitários menores que 1000 parasitas por microlitro. Uma análise do desempenho do OptiMAL-IT® abaixo do recomendado pela OMS (2011) também foi relatada em um estudo realizado por Cerón et. al. (2005) no México, cuja sensibilidade e especificidade foram de 93,3% e 99,5%,

Neste contexto, fica perceptível que a utilização do OptiMAL-IT® na Amazônia deve ser analisada com cautela, visto que aparentemente para a obtenção de um bom desempenho são necessárias condições específicas. Logo, uma discussão cuidadosamente deve ser realizada sobre a introdução de TDR como método efetivo de diagnóstico de malária, não só nesta região, mas em outras áreas endêmicas. Porém, um ponto determinante para a difusão e uso estratégico desta metodologia nestes países é o que concerne ao custo vendido aos governos por cada teste. Tarazona et. al. (2004), em um estudo realizado no Peru, destacou este fator como uma grande desvantagem para a implantação desta técnica em países em desenvolvimento. Oliveira et. al. (2010), em um estudo detalhado sobre custo-efetividade do teste para o diagnóstico de malária em áreas remotas da Amazônia brasileira, coletou dados em 12 municípios do estado do Pará. Os custos foram expressos em dólar por casos devidamente diagnosticados, em 2006 (EUA \$ 1,00 = R\$ 2,17). A análise de sensibilidade foi realizada considerando a microscopia como modelo padrão de diagnóstico da doença. Como resultado foi observado que considerando 33.491 procedimentos de diagnóstico para Malária realizada, em 2006, o custo total da microscopia foi de \$ 227,315.53 dólares, e para o OptiMAL-IT® foi de \$ 172,082.09 dólares. O custo por caso diagnosticado adequadamente foi de 5,14 dólares usando OptiMAL-IT® e 6,79 utilizando a microscopia. A microscopia e o OptiMAL-IT® diagnosticaram adequadamente 32.989 e 32.888 casos, respectivamente. Nesse contexto, comparando a microscopia, o teste rápido só foi ineficaz para diagnosticar três casos em cada

1.000 pacientes febril, mostrando ter alta sensibilidade e especificidade neste contexto epidemiológico. Sendo assim, a microscopia possui maior custo-efetividade que o teste rápido nessas áreas remotas da Amazônia, porém a decisão sobre uso de testes de diagnóstico rápido de malária nestas áreas depende da precisão da microscopia atual em campo.

3.4. Desempenho do OptiMAL-IT® em diferentes regiões do mundo

Uma análise do desempenho do teste relatada em estudos realizados em diversas regiões geográficas demonstra que, assim como observado nos estudos realizados na Amazônia, há uma grande discrepância entre os resultados encontrados, cuja maioria destes enquadra o OptiMAL-IT® como inadequado se as especificações da OMS forem seguidas (Tabela 1).

Na grande maioria dos estudos revisados (QUATTARA et. al., 2011; VALÉA et. al., 2009; QUINTANA et. al., 1998; CHAYANI et. al., 2004; MASON et. al., 2002; IQBAL et. al., 2000) foram colocados em discussão questões sobre a não uniformidade dos dados encontrados em relação aos seguintes pontos: baixa parasitemia, reatividade cruzada com outras infecções e com fatores da Artrite Reumatoide, custo por teste, resistência térmica e erros no manuseio pelo usuário, apesar da semelhança entre as análises realizadas por gota espessa e os resultados obtidos pelo OptiMAL-IT®.

Com exceção de alguns estudos na Indonésia, Tailândia e Mianmar (Fryauff et. al., 2000; Pattanasin et. al., 2003; Ashley et. al., (2009), tais relatos mostram como ainda é contraditória e de difícil definição uma forma de utilização segura deste teste rápido como diagnóstico definitivo para malária. Um exemplo disto está em Madagascar, onde o governo decidiu implementar os testes rápidos para permitir um diagnóstico onde microscopia convencional não é possível, podendo ser um coadjuvante útil para a avaliação clínica do paciente e para a microscopia (RATSIMBASOA et. al., 2007). Contrariamente, um estudo posterior neste país (RAKOTONIRINA et. al., 2008) revelou que o teste rápido em questão quando comparado com a PCR e microscopia, mostrou sensibilidade e especificidade inferiores, deixando de detectar 19

amostras positivas quando comparado com a PCR e 15 amostras positivas quando comparado com a microscopia. Segundo o autor, isso se deve,

provavelmente, a baixas densidades parasitárias e ou a influência de altas temperaturas prevalentes em áreas onde a malária ocorre.

Tabela 1. Desempenho do OptiMAL-IT® em vários contextos epidemiológicos.

AUTOR	ANO	LOCALIDADE	N	S G	E G	VPP	VPN
Iqbal	2000	Kuwait	550	97%			
Fryauff	2000	Indonésia	505	92%			
Ricci	2000	Itália	139	83%			
Iqbal	2000	Kuwait	200	96			
Arcanjo	2007	Brasil	217	72%			
Kim	2008	Coréia	182	94%			
Valeá	2009	África	464	98%			
Oliveira	2010	Brasil	33491	90%			
Metzger	2011	Venezuela	550	77%			
Palmer	1998	Honduras	202	91%	100%		
Quintana	1998	Honduras	84	100%	95%		
Mason	2002	Myanmar	229	44%	97%		
Ferro	2002	Colômbia	192	93%	100%		
Craig	2002	África	109	91%	90%		
Coleman	2002	Tailândia	1137	50%	74%		
Ávila	2002	Brasil	65	97%	88,50%		
Pattanasin	2003	Tailândia	271	76%	99%		
Chayani	2004	Índia	232	98%	96,80%		
Penhabel	2005	Brasil	151	98%	99,50%		
Rakotonirina	2008	África	313	85%	97,60%		
Ashley	2009	Ásia	1002	92%	94,70%		
Kim	2011	Coréia	200	94%	100%		
Iqbal	2002	Kuwait	750	83%	99%	94%	99%
Palmer	2003	EUA	216	98%	100%	100%	99%
Tarazona	2004	Peru	72	92%	100%	100%	91,60%
Cerón	2005	México	893	93%	99%	96,50%	98,90%
Ratsimbaoa	2007	África	192	89%	100%	100%	95,30%
Mendoza	2007	Colômbia	214	95%	99,30%	98,40%	98%
Hendriksen	2011	África	1898	88%	88,30%	93,2	80,3
Quattara	2011	África	725	97%	94,40%	96,7	96,1

N: Número amostral; S G: Sensibilidade Global; E G: Especificidade Global; V P P: Valor Preditivo Positivo; V P N: Valor Preditivo Negativo

De maneira geral, há um consenso que em locais onde a microscopia é falha ou de difícil execução (como em áreas remotas ou em países não endêmicos), o OptiMAL-IT® torna-se uma boa alternativa. Palmer e colaboradores (2003) observaram ao realizar um estudo multicêntrico em seis hospitais norte-americanos altos níveis tanto de sensibilidade quanto de especificidade na detecção de *Plasmodium*. Os médicos que faziam parte da equipe do hospital e os diretores de laboratórios informaram, independentemente, que o teste rápido OptiMAL-IT® foi preciso, fácil de usar, e bem aceito pelos trabalhadores do laboratórios de diagnóstico. Porém, o bom desempenho observado neste estudo pode estar relacionado com fatores como a pouca experiência dos microscopistas locais na identificação do

parasita ou com o nível de parasitemia encontrado nos paciente (dado não relatado no estudo). Na Itália, por exemplo, Ricci e colaboradores (2000) observaram uma boa sensibilidade do teste (96-100%) apenas em níveis de parasitemia entre 0.1% a 20%, com redução (0-44%) em parasitemias em níveis inferiores a 0.004-0.01%.

A grande redução da sensibilidade em baixas parasitemias, além de levantar dúvidas sobre os resultados negativos, inviabiliza sua utilização no acompanhamento do tratamento do paciente como observado por Craig e colaboradores (2002). Neste estudo, uma análise comparativa do desempenho do OptiMAL-IT® em condições laboratoriais em Durban, África do Sul, foi realizada com amostras de pacientes com infecção ativa e em tratamento. A capacidade



global de detecção de *Plasmodium* foi de 91.16% e especificidade de 90%. A sensibilidade do teste começou a diminuir, a partir de < 300 parasitas/ μ L de sangue, tornando-se menos sensível que a microscopia convencional para diagnóstico de malária. O teste começou a apresentar resultados negativos para pacientes após sete dias de tratamento, mas como foi observada a diminuição da sensibilidade do teste conforme a diminuição da parasitemia realizou-se o exame microscópico e PCR destes pacientes e dois terços destes indivíduos mostraram-se positivos. Com isso, os autores concluíram que este teste rápido não é confiável em níveis baixos de parasitemia e nem para o controle da infecção de pacientes em tratamento.

Resultados falso-positivos foram relatados em alguns estudos como o de Iqbal e colaboradores (2003), no Kuwait. Este demonstrou um pequeno grau de inespecificidade do teste diagnóstico rápido OptiMAL-IT[®] em uma população negativa para Malária segundo o teste microscópico. Foram avaliados pacientes com Artrite Reumatoide, pacientes com infecções virais e pacientes com infecções parasitárias crônicas. Destes, 75 pacientes apresentaram Artrite Reumatoide, 25 pacientes com hepatite C crônica, 50 pacientes portadores de esquistossomose, 25 pacientes com *Toxoplasma gondii* e 25 pacientes com infecção por *Echinococcus granulosus*. Apenas quatro amostras reagiram positivamente no OptiMAL-IT[®], das quais três foram positivas para *P. falciparum* e uma positiva para infecção mista. Três das quatro amostras positivas eram de pacientes com Artrite Reumatoide e a quarta amostra era de um paciente com hepatite C crônica.

Nesse contexto, é notável que o OptiMAL-IT[®] precisa ser devidamente avaliado quanto a sua sensibilidade e especificidade em vários contextos epidemiológicos, antes de ser posto em prática como diagnóstico definitivo para o início de um tratamento para Malária.

4. Considerações finais

A capacidade de diagnosticar com precisão as infecções causadas por malária, particularmente em locais onde as instalações de laboratório não estão bem desenvolvidas ou não estabelecidas, é de fundamental importância no

controle desta doença. Logo, os testes de diagnóstico rápido (TDR) oferecem grande potencial para atender a essa necessidade (MASON et. al., 2002). Sendo assim, a análise do desempenho de testes de diagnóstico rápido para malária é crucial na tentativa de se estabelecer parâmetros e hipóteses em vários contextos epidemiológicos (METZGER et. al., 2011).

Como dito anteriormente segundo a Organização Mundial de Saúde (2011), os testes devem ter sensibilidade maior ou igual a 95% em níveis de parasitemia de > 100 parasitas/ μ L de sangue, e isto não foi verificado na maioria dos estudos revisados. Várias são as hipóteses para a variação do desempenho do teste rápido OptiMAL-IT[®], quanto a sensibilidade e especificidade, nos contextos epidemiológicos exibidos nesta revisão. Uma delas é que as variações regionais dos determinantes antigênicos de *pLDH* possa influenciar no reconhecimento dos anticorpos monoclonais em questão, devido à natureza bioquímica da reação entre *pLDH* e anticorpos monoclonais em si (PIPPER et al., 2011). Outra possibilidade seria a questão de que a atividade da *pLDH* diminui com a terapia. Assim, parasitas podem ser vistos em sangue, mas não são viáveis, logo não produzem *pLDH* em larga escala, diminuindo, assim, a sensibilidade dos testes rápidos baseados na detecção deste antígeno alvo.

Outra hipótese é que a automedicação com antimaláricos pudesse influenciar no desempenho de testes de diagnóstico rápido. Entretanto, em alguns estudos, o fraco desempenho destes testes não tenha sido atribuído à automedicação (MOODY, 2002; COLEMAN et. al., 2002). Sendo assim, faz-se extremamente necessário coletar dados sobre os padrões de terapias recomendadas e automedicação para uma explicação provável para o fraco desempenho de testes rápidos em algumas situações, mas esta hipótese não pode ser fundamentada até que mais informações sejam reunidas.

A exacerbação de anticorpos contra antígenos alvos, presentes em amostras sanguíneas, também são citadas na literatura como possível explicação para a redução da qualidade dos testes. Estes podem bloquear o reconhecimento do sistema imunocromatográfico, reduzindo a detecção do antígeno em questão, como mencionado por Arcanjo e colaboradores (2007). Porém, não foi encontrado na literatura



trabalho algum provando a ocorrência deste fenômeno.

Embora a maioria dos estudos citados tenham exibido sensibilidade do teste rápido OptiMAL-IT® abaixo do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (2011), este parece constituir uma excelente ferramenta de diagnóstico de malária em áreas remotas, além de oferecer informações adicionais importantes a microscopia na detecção precisa e eficaz de infecções maláricas para o tratamento correto e oportuno da doença. Contudo, medidas definitivas para garantir a reprodutibilidade dos lotes no mercado devem ser tomadas, assim como uma avaliação concreta de resistência as temperaturas tropicais, visto que o teste ainda é considerado de elevado custo operacional em muitos países epidêmicos (OLIVEIRA et. al, 2010).

Fica claro que há uma demanda pertinente para a obtenção de melhorias técnicas do sistema imunocromatográfico como comercializado atualmente, principalmente visando o aumento da sensibilidade. Mudanças da nano partícula utilizada, assim como a convergência para sistemas eletrônicos simples poderiam levar a esta melhora técnica (SHARMA et. al., 2008; MUDANYALI et. al, 2012), porém os custos acarretados ainda estão por serem calculados. Novas abordagens para desenvolvimento de anticorpos monoclonais direcionados a epitopos estratégicos para diferenciação entre as espécies de *Plasmodium* também vem sendo apresentadas (HURDAYAL et. al., 2010; KIM et al., 2012) assim como melhorias técnicas nos sistemas imunocromatográficos visando a detecção de amostras falso-positivas e melhoras no diagnóstico espécie-específico (PIPER et. al., 2011).

Apesar da existência desta necessidade, maiores avaliações e melhorias técnicas comuns a todos os testes no mercado, alguns estudos (D'ACREMONT et. al., 2011) sugerem estratégias para o uso dos TDR na rotina clínica, por exemplo, o uso dos testes como primeiro método diagnóstico. Em caso positivo, há o tratamento imediato, seguido de microscopia do sangue após 3 horas. Em resultado negativo, a amostra sanguínea do paciente segue para microscopia. Uma reflexão e análise do risco a que o paciente é exposto perante um resultado falso positivo, por exemplo, em indivíduos com Artrite Reumatoide (IQBAL et. al., 2003), ou mesmo falso negativo (BORRMANN et. al.,

2010) deve ser analisados meticulosamente antes de uma completa difusão deste conceito

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, desta revisão, por meio eletrônico.

Referências

ARCANJO, L. R. A.; LACERDA, G.V.M; ALECRIM, D. W; ALECRIM, C. G. M. Avaliação dos testes rápidos Optimal-IT e ICT Pf/Pv para o diagnóstico da malária na Atenção Básica de Saúde, no município de Manaus, Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 1, p. 88-90, 2007.

ASHLEY, A. E.; TOUABI, M.; AHRER, M.; HUTAGALUNG, R.; HTUN, K.; Luchavez, J.; Dureza, C.; Proux, S.; Leimanis, M; Lwin, M. M.; Koscalova, A.; Comte, E.; Hamade, P.; Page, L. A.; François Nosten, F; Guerin, J. P. Evaluation of three parasite lactate dehydrogenase-based rapid diagnostic tests for the diagnosis of falciparum and vivax malaria. **Malaria Journal**, n.8, p 241, 2009. Doi [1475-2875-8-241](https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-241)

ÁVILA, S. L. M.; FERREIRA, A. W. The appraisal of laboratory method addressing rolls back malaria. **Ciência e Cultura**, v.52, n.4, p. 220-228, 2000.

BAKER, J; MCCARTHY, J; GATTON, M. Genetic diversity of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2 (PfHRP2) and its effect on the performance of PfHRP2-based rapid diagnostic tests. **The Journal of Infectious Diseases**, p. 192:870-7, 2005. Doi: [10.1086/432010](https://doi.org/10.1086/432010)

BORRMANN, S; SALLAS, W M; MACHEVO, S; GONZALEZ, R; BJORRMAN, A; MARTENSSON, A; HAMEL, M; JUMA, E; PESHU, J; OQUTU, B; DJIMDE, A; DALESSANDRO, U; MARRAST, A C; LEFEVRE, G; KEM, S E. The effect of food consumption on lumefantrine bioavailability in African children receiving artemether-lumefantrine crushed or dispersible tablets (Coartem) for acute uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. **Tropical Medicine & International Health**, v.



15, n. 4. p. 434-441, 2010. Doi: [10.1111/j.1365-3156.2010.02477.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2010.02477.x)

CERÓN, L G; RODRÍGUEZ, M H; BETANZOS, A F; ABADÍA, A. Eficacia de una prueba rápida para el diagnóstico de Plasmodium vivax en pacientes sintomáticos de Chiapas, México. **Salud Pública de México**, v. 47, n. 4, 2005.

CERTA, U; GHERSA, P; DOBELI, H; MATILE, H; KOCHER, H P; SHRIVASTAVA, I K; SHAW, A R; PERRIN, L H. Aldolase activity of a Plasmodium falciparum protein with protective properties. **Science**, v. 240, n. 4855, p. 1036-1038, 1988.

CHAYANI, N.; DAS, B.; SUR, M.; BAJORIA, S. Comparison of parasite lactate dehydrogenase based immunochromatographic antigen detection assay (OptiMal®) with microscopy for detection of malaria parasites. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 22, n. 2, p. 104-106, 2004.

CRAIG, M H; BREDEKAMP, B L; VAUGHAN, C H; WILLIAMS, E J; ROSSOUW, V. J.; KELLY, I; KLEINSCHMIDT, A; MARTINEAU; HENRY, G F J. Field and laboratory comparative evaluation of ten rapid malaria diagnostic tests. **Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene**, v. 96, p. 258-265, 2002.

COLEMAN, R E; MANEECHAI, N; PONLAWAT, A; KUMPITAK, C; RACHAPAEW, N; MILLER, R S; SATTABONGKOT, J. Short Report: Failure of the optimal rapid malaria test as a tool for the detection of asymptomatic malaria in an area of thailand endemic for *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*. **The American journal of Tropical Medicine and Hygiene.**, v. 67, n. 6, p. 563-565, 2002. Doi: [10.1186/1475-2875-7-89](https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-89)

D'ACREMONT, V; GREUB, G; GENTON, B. Rapid diagnostic tests (RDT): the cure-all for the practitioner?. **Rev Med Suisse**, v. 7, n. 294, p. 984-986, 2011.

FERRO, B E; GONZÁLEZ, I J; CARVAJAL, F; PALMA G I; SARAVIA, N G. Performance of OptiMAL in the Diagnosis of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum Infections in a Malaria Referral Center in Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n 5, p. 731-735, 2002.

FOGG, C; TWESIGYE, R; BATWALA, V; PIOLA, P; NABASUMBA, C; KIGULI, J; MUTEBI, F; HOOK, C; GUILLERM, M; MOODY, A; GUTHMANN, J P.

Assessment of three new parasite lactate dehydrogenase (pan-pLDH) tests for diagnosis of uncomplicated malaria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, p. 25-31, 2008. Doi: [10.1016/j.trstmh.2007.09.014](https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.09.014)

FRYAUFF, D J; PURNOMO; SUTAMIHARDJA, M A; IQBAL R. S. E; SUSANTI, I; KRISIN; SUBIANTO, B; MARWOTO, H. Performance of the Optimal assay for detection and identification of malaria infections in asymptomatic residents of irian jaya, Indonesia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 63, n. 4, p. 139-145, 2000.

FUHRMANN, G; PELTZER, F. Measurement of enzyme activity in a case of cerebral tropical malaria. **Z Tropenmed. Parasitol.** v. 10, p. 375-378, 1959.

GILLET, P; MORI, M; ESBROECK M V; ENDE, J V; JACOBS J. Assessment of the prozone effect in malaria rapid diagnostic tests. **Malaria Journal**, v. 8, p. 271, 2009. Doi: [10.1186/1475-2875-8-271](https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-271)

GBOTOSHOG, G O; CHRISTIAN T. HAPPI, C T; FOLARIN O; KEYAMO, O; SOWUNMI, A; ODUOLA A M J. Rapid Detection of Lactate Dehydrogenase and Genotyping of *Plasmodium falciparum* in Saliva of Children with Acute Uncomplicated Malaria. **The American journal of Tropical Medicine and Hygiene.** 2010, 83(3):496-501. Doi: [10.4269/ajtmh.2010.10-0166](https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0166)

HURDAYAL, R; ACHILONU, I; CHOVEAUX, D; COETZER, T H T; GOLDRING, J P D. Anti-peptide antibodies differentiate between plasmodial lactate dehydrogenases. **Peptides**, v. 31, p. 525-532, 2010. Doi: [10.1016/j.peptides.2010.01.002](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.01.002)

IQBAL, J; SHER, A; RAB, A. *Plasmodium falciparum* Histidine-Rich Protein 2-Based Immunocapture Diagnostic Assay for Malaria: Cross-Reactivity with Rheumatoid Factors. **Journal of Clinical Microbiology**, p. 1184-1186, 2000. Doi: [0095-1137/00/\\$04.00+0](https://doi.org/10.1128/JCM.38.4.1184-1186.2000)

IQBAL, J; MUNEER, A; KHALID, N; AHMED, M A. Performance of the Optimal test for malaria diagnosis among suspected malaria patients at the rural health centers. **The American journal of Tropical Medicine and Hygiene.**, v. 68, n. 5, p. 624-628, 2003.

IQBAL, J; SIDDIQUE, A.; JAMEEL, M.; HIRA, P. R. Persistent Histidine-Rich Protein 2, Parasite



Lactate Dehydrogenase and Pan-malarial Antigen Reactivity after Clearance of *Plasmodium falciparum* Mono-infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 9, p. 4237-4241, 2004. Doi: [10.1128/JCM.42.9.4237-4241.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.9.4237-4241.2004)

HENDRIKSEN, I C E; MTOVE, G; PEDRO, A J; GOMES, E; SILAMUT, K; LEE, S J; MWAMBULI, A; GESASE, S; REYBURN, H; DAY, N P J; WHITE, N J; SEIDLEIN, L V S; ARJEN M. DONDORP, A M. Evaluation of a PfHRP2 and a pLDH-based Rapid Diagnostic Test for the Diagnosis of Severe Malaria in 2 Populations of African Children. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 9, p. 1100- 1107, 2011. Doi: [10.1093/cid/cir143](https://doi.org/10.1093/cid/cir143)

KIM, J H; LEE, J; SOHN, H J; SONG, H O; KIM, J Y; LEE, W J; PARK, H; SHIN, H J. Production of monoclonal antibodies for Plasmodium vivax lactate dehydrogenase and patient sera screening using sandwich ELISA. **Parasitology Research**, v. 111, n. 4, p. 1645-50, 2012. Doi: [10.1007/s00436-012-3003-x](https://doi.org/10.1007/s00436-012-3003-x)

LEE, N; BAKER, J; ANDREWS, K T. Effect of sequence variation in Plasmodium falciparum histidine- rich protein 2 on binding of specific monoclonal antibodies: implications for rapid diagnostic tests for malaria. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, p. 2773-8, 2006. Doi: [10.1128/JCM.02557-05](https://doi.org/10.1128/JCM.02557-05)

MAKLER, M T; GIBBINS, B. Laboratory diagnosis of malaria. **Clinical in Laboratory Medicine**, v. 11, n. 4, p. 941-56, 1991.

MAKLER, M T; HINRICHS, D J. Measurement of the lactate dehydrogenase activity of Plasmodium falciparum as an assessment of parasitemia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 48, n. 2, p. 205-210, 1993.

MALTHA, J; GILLET, P; CNOPS, L; BOTTIEAU, E; ESBROECK, M V; BRUGGEMAN, C; JACOBS, J. Evaluation of the rapid diagnostic test SDFK40 (Pf-pLDH/pan-pLDH) for the diagnosis of malaria in a non-endemic setting. **Malaria Journal**, v. 10, p. 7, 2011.

MASON, D P; KAWAMOTO, F; LIN, K; LAOBOONCHAI, A; WONGSRICHANALAI, C. A comparison of two rapid field immunochromatographic tests to expert microscopy in the diagnosis of malaria. **Acta Tropica**, v. 82, p. 51-59, 2002. Doi: [10.1016/S0001-706X\(02\)00031-1](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(02)00031-1)

METZGER, W G; MARTINEZ, V S; GIRON, A; VACCARI, E; CAMPOS, E; RODRIGUEZ, I; MIRANDA, E; TERAN, E; OLIVO, L; MAGNIS, M. Assessment of routine malaria diagnosis in the Venezuela Amazon. **Tropical Medicine & Hygiene**, v. 105, n 5, p. 262-268, 2011.

MENDOZA, N M; GARCIA, M; CORTÉS, L J; VELA, C; ERAZO, R; PÉREZ, P; OSPINA, O L; BURGOS, J D. Evaluación de dos pruebas rápidas [NOW® ICT Malaria Pf/Pv y OptiMAL®] para el diagnóstico de paludismo en Tumaco, Colombia. **Biomédica**, v. 27, p. 571-580, 2007.

MARIETTE, N; BARNADAS, C; BOUCHIER, C; TICHIT, M; MÉNARD, D. Country-wide assessment of the genetic polymorphism in *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* antigens detected with rapid diagnostic tests for malaria. **Malaria Journal**, v. 7, p. 219, 2008. Doi:[10.1186/1475-2875-7-219](https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-219)

MOODY, A. Rapid Diagnostic Tests for Malaria Parasites. **Clinical Microbiology Reviews**, v.15, n.1, p. 66. 2002. Doi: [10.1128/CMR.15.1.66-78.2002](https://doi.org/10.1128/CMR.15.1.66-78.2002)

MUDANYALI, O; DIMITROV, S; SIKORA, U; PADMANABHAN, S; NAVRUZ, I; AYDOGAN OZCAN, A. Integrated Rapid-Diagnostic-Test Reader Platform on a Cellphone. **Lab Chip**, v. 12, n. 15, p. 2678-2686, 2012. Doi: [10.1039/C2LC40235A](https://doi.org/10.1039/C2LC40235A)

OLIVEIRA, M R F; GOMES, A C; TOSCANO, C M. Cost effectiveness of OptiMal® rapid diagnostic test for malaria in remote areas of the Amazon Region, Brazil. **Malaria Journal**, v.9, p. 277, 2010.

PALMER, C J; LINDO, J F; KLOSKALA, W I; QUESADA, J A; KAMINSKY, R; BAUM, M K; AGER, A L. Evaluation of the Optimal Teste for rapid diagnosis of *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum* malaria. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, n.1, p.203-206, 1998.

PALMER, C J; BONILLA, J A; BRUCKNER, D A; BARNETT, E D; MILLER, N S; HASEEB, M A; MASCI, J R; STAUFFER, W M. Multicenter study to evaluate the OptiMal test for rapid diagnosis of malaria in u.s. hospitals. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 11, p. 5178-5182, 2003. Doi: [10.1128/JCM.41.11.5178-5182.2003](https://doi.org/10.1128/JCM.41.11.5178-5182.2003)



PARRA, M E; EVANS, C B; TAYLOR, D W. Identification of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2 in the plasma of humans with malaria. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p. 1629–1634, 1991.

PATTANASIN, S; PROUX, S; CHOMPASUK, D; LUWIRADAJ, K; JAQUIER, P; LOOAREESUWAN, S; NOSTEN, F. Evaluation of a new Plasmodium lactate dehydrogenase assay (OptiMAL-IT) for the detection of malaria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 6, p. 672-674, 2003. Doi: [10.1016/S0035-9203\(03\)80100-1](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(03)80100-1)

PENHALBEL, R S R; FUGIKAHA, E; LORENZETTI, A; ALVES, R T; CAVASINI, C E; ROSSIT, A R B; CALVOSA, V S P; COUTO, A A D; MACHADO, R L D. Evaluation of an immunochromatography test for malaria diagnosis under different storage conditions. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p. 194-195, 2005. Doi: [10.1590/S0037-86822005000200015](https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000200015)

PIPER, R; LEBRAS, J; WENTWORTH, L; COOKE, H A; HOUZE, S; CHIODINI, P; MAKLER, M. Immunocapture diagnostic assays for malaria using *plasmodium* lactate dehydrogenase (pLDH). **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 1, p. 109-118, 1999.

PIPER, R C; BUCHANAN, I; CHOI, Y H; MAKLER, M T. Opportunities for improving pLDH-based malaria diagnostic tests. **Malaria Journal**, v. 10, p. 213, 2011. Doi:[10.1186/1475-2875-10-213](https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-213)

QUATTARA, A; DOUMBO, S; SAYE, R; BEAVOGUI, A H; TRAORÉ, B; DJIMDE, A; NIANGALY, A; KAYENTAO, K; DIALLO, M; DOUMBO, O K; THERA, M A. Use of a pLDH-based dipstick in the diagnostic and therapeutic follow-up of malaria patients in Mali. **Malaria Journal**, v. 10, p. 345, 2011.

QUINTANA, M; PIPER, R; BOLING, H L ; MAKLER, M; SHERMAN, C; GILL, E; FERNANDEZ, E; MARTIN, S. Malaria diagnosis by dipstick assay in a honduran population with coendemic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, n. 6, p. 868–871, 1998.

RATSIMBASOAA; RANDRIAMANANTENA, A; RAHERINJAFY, R; RASOARILALAO, N; MÉNARD, D. Which malaria rapid test for madagascar? field

and laboratory evaluation of three tests and expert microscopy of samples from suspected malaria patients in madagascar. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 76, n. 3, p. 481–485, 2007.

RAKOTONIRINA, H; BARNADAS, C; RAHERIJAFY, R; ANDRIANANTENAINA, H; RATSIMBASOA, A; RANDRIANASOLO, L; JAHEVITRA, M; ANDRIANTSOANIRINA, V; MÉNARD, D. Accuracy and Reliability of Malaria Diagnostic Techniques for Guiding Febrile Outpatient Treatment in Malaria-Endemic Countries. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 2, p. 217–221, 2008.

RICCI, L; VIANE, I; PICCOIO, G; FABIO, A; CALDERARO, A; GALATI, L; PERANDI, F; VECCHIA, L; MANCA, N; DELTORI, G; TURANO, A; CHEZZI, C. Evaluation of Optimal Assay Test to detect imported malaria in Italy. **Journal Microbiologica**, v. 23, n. 4, p. 391-398, 2000.

SHARMA, S; PATHAK, S. Malaria vaccine: a current perspective. **Journal of vector borne diseases**, v. 45, p. 1-20, 2008.

SHIFF, C J; PREMJI, Z; MINJAS, J N. The rapid manual ParaSight-F test. A newdiagnostic tool for Plasmodium falciparum infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 6, p. 646-648, 1993. Doi: [10.1016/0035-9203\(93\)90273-S](https://doi.org/10.1016/0035-9203(93)90273-S)

SRIVASTAVA, I K; TAKACS, B; CASPERS, P; CERTA, U; MCGREGOR, IA; SCAIFE, J; PERRIN, L H. Recombinant polypeptides for serology of malaria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** v. 83, n. 3, p.317-21, 1989. Doi: [10.1016/0035-9203\(89\)90487-2](https://doi.org/10.1016/0035-9203(89)90487-2)

TALMAN, A M; DUVAL, L; LEGRAND, E; HUBERT, V; YEN1, S; BELL, D BRAS, J L; ARIEY, F; HOUZE, S. Evaluation of the intra- and inter-specific genetic variability of *Plasmodium* lactate dehydrogenase. **Malaria Journal**, v. 6, p. 140, 2007. Doi:[10.1186/1475-2875-6-140](https://doi.org/10.1186/1475-2875-6-140)

TARAZONA, A S; ZERPA, L S; REQUENA, D M; LLANOS-CUENTAS, A; MAGILL, A. Evaluation of the Rapid Diagnostic Test OptiMAL for Diagnosis of Malaria due to *Plasmodium vivax*. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 2, p. 151-155, 2004. Doi: [10.1590/S1413-86702004000200005](https://doi.org/10.1590/S1413-86702004000200005)



VALÉA, I; TINTO, H; NIKIEMA, M; YAMUAH, L; ROUAMBA, N; DRABO, M; GUIGUEMDE, R T; D'ALESSANDRO, U. Performance of OptiMAL-IT_ compared to microscopy, for malaria detection in Burkina Faso. *Tropical Medicine & International Health*, v. 14, n. 3, p. 338–340, 2009. Doi: [10.1111/j.1365-3156.2009.02228.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2009.02228.x)

WILSON, N; ADJEI, A; ANDERSON, W; BAIDOO, S; STILES, J. Short report: Detection of *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein II in saliva of malaria patients **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 5, p. 733-735, 2008.

WONGSRICHANALAI C. Rapid diagnostic techniques for malaria control. **Trends in Parasitology**, v. 17, p. 307-309, 2001. Doi: [10.1016/S1471-4922\(01\)01925-0](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(01)01925-0)

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of rapid diagnostic test: malaria. Nature Publishing Group, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Malaria Report, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Information note on recommended selection criteria for procurement of malaria rapid diagnostic tests (RDTs), 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Malaria Report, 2011.