

Caixa de ferramentas para a vigilância sorológica integrada de doenças transmissíveis nas Américas



OPAS



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS
AMÉRICAS

Caixa de ferramentas para a vigilância sorológica integrada de doenças transmissíveis nas Américas

Washington, D.C., 2023

Caixa de ferramentas para a vigilância sorológica integrada de doenças transmissíveis nas Américas

ISBN: 978-92-75-72565-8 (PDF)

ISBN: 978-92-75-72566-5 (versão impressa)

© Organização Pan-Americana da Saúde, 2023

Alguns direitos reservados. Esta obra está disponível nos termos da licença Atribuição-NãoComercial-Compartilhual 3.0 Organizações Intergovernamentais da Creative Commons (CC BY-NC-SA 3.0 IGO).



De acordo com os termos da licença, é permitido copiar, redistribuir e adaptar a obra para fins não comerciais, desde que se utilize a mesma licença ou uma licença equivalente da Creative Commons e que ela seja citada corretamente, conforme indicado abaixo. Nenhuma utilização desta obra deve dar a entender que a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) endossa uma determinada organização, produto ou serviço. Não é permitido utilizar o logotipo da OPAS.

Adaptações: em caso de adaptação da obra, deve-se acrescentar, juntamente com a forma de citação sugerida, o seguinte aviso legal: “Esta publicação é uma adaptação de uma obra original da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). As opiniões expressas nesta adaptação são de responsabilidade exclusiva dos autores e não representam necessariamente a posição da OPAS”.

Traduções: em caso de tradução da obra, deve-se acrescentar, juntamente com a forma de citação sugerida, o seguinte aviso legal: “Esta publicação não é uma obra original da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). A OPAS não assume nenhuma responsabilidade pelo conteúdo nem pela exatidão da tradução”.

Citação sugerida: Organização Pan-Americana da Saúde. Caixa de ferramentas para a vigilância sorológica integrada de doenças transmissíveis nas Américas. Washington, DC: OPAS; 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.37774/9789275725658>.

Dados de catalogação: podem ser consultados em: <http://iris.paho.org>.

Vendas, direitos e licenças: para adquirir publicações da OPAS, entrar em contato com sales@paho.org. Para solicitações de uso comercial e consultas sobre direitos e licenças, ver www.paho.org/es/publicaciones/permisos-licencias.

Materiais de terceiros: caso um usuário deseje reutilizar material contido nesta obra que seja de propriedade de terceiros, como tabelas, figuras ou imagens, cabe a ele determinar se necessita de autorização para tal reutilização e obter a autorização do detentor dos direitos autorais. O risco de ações de indenização decorrentes da violação de direitos autorais pelo uso de material pertencente a terceiros recai exclusivamente sobre o usuário.

Avisos legais gerais: as denominações utilizadas nesta publicação e a forma como os dados são apresentados não implicam nenhum juízo, por parte da OPAS, com respeito à condição jurídica de países, territórios, cidades ou zonas ou de suas autoridades nem com relação ao traçado de suas fronteiras ou limites. As linhas tracejadas nos mapas representam fronteiras aproximadas sobre as quais pode não haver total concordância.

A menção a determinadas empresas comerciais ou aos nomes comerciais de certos produtos não implica que sejam endossados ou recomendados pela OPAS em detrimento de outros de natureza semelhante. Salvo erro ou omissão, nomes de produtos patenteados são grafados com inicial maiúscula.

A OPAS adotou todas as precauções razoáveis para confirmar as informações constantes desta publicação. Contudo, o material publicado é distribuído sem nenhum tipo de garantia, expressa ou implícita. O leitor é responsável pela interpretação do material e seu uso; a OPAS não poderá ser responsabilizada, de forma alguma, por qualquer prejuízo causado por sua utilização.

CDE/VT/2023

Design da capa: © Prographics/Emilia Palomeque

Ilustração da capa: © Emilia Palomeque

Design: © Prographics

Sumário

Agradecimentos	vii
Abreviaturas	ix
Introdução	1
Antecedentes	1
Propósito e público-alvo.....	3
Estrutura e conteúdo.....	4
Módulo 1. Conceitos, justificativa e abordagem	7
1.1 Vigilância sorológica integrada	7
Módulo 2. Elaboração do inquérito sorológico integrado	15
2.1 Avaliação da necessidade de realização de um inquérito sorológico	16
2.2 Criação do grupo diretor.....	16
2.3 Identificação das principais perguntas a serem respondidas por meio do inquérito sorológico.....	17
2.4 Definição dos objetivos	19
2.5 Estabelecimento de metas inferenciais	19
2.6 Definição da população-alvo	20
2.7 Seleção da área do inquérito.....	22
2.8 Seleção do delineamento do inquérito.....	23
2.9 Cálculo do tamanho da amostra	24
Módulo 3. Planejamento do inquérito sorológico	26
3.1 Desenvolvimento da proposta	27
3.2 Elaboração dos instrumentos de coleta de dados.....	27
3.3 Estabelecimento dos procedimentos laboratoriais.....	30

3.4 Definição dos papéis e seleção da equipe	30
3.5 Cálculo do orçamento	31
3.6 Definição do cronograma	32
3.7 Obtenção da autorização ética.....	32
Módulo 4. Realização do inquérito sorológico	34
4.1 Realização dos testes do projeto piloto	34
4.2 Treinamento das equipes de campo e dos supervisores.....	35
4.3 Coordenação antes do início do trabalho de campo	37
4.4 Coleta de dados e amostras	37
4.5 Análise das amostras	39
Módulo 5. Métodos laboratoriais	41
5.1 O que significa rastrear a IgG?.....	41
5.2 Ensaio sorológico	42
5.3 Uso de ensaios multiplex com microesferas para a vigilância sorológica integrada.....	44
5.4 Sensibilidade, especificidade e reatividade cruzada	47
5.5 Definição do valor de corte e da soropositividade para o ensaio multiplex com microesferas	48
5.6 Garantia da qualidade	49
5.7 Controle de qualidade.....	52
5.8 Interpretação dos resultados sorológicos.....	53
Módulo 6. Análise de dados e tomada de decisões	55
6.1 Limpeza e gerenciamento dos dados.....	56
6.2 Cálculo do peso das amostras	57
6.3 Determinação dos valores de corte	57
6.4 Estimativa da soroprevalência	58
6.5 Realização da análise descritiva.....	58
6.6 Análises adicionais e modelagem dos dados	59
6.7 Interpretação e visualização dos resultados	59
6.8 Elaboração e divulgação do relatório	67
6.9 Tomada de decisões.....	68
Referências	70
Glossário	76

Anexo 2.1 Exemplo de pesquisas às quais é possível incorporar amostragens sorológicas ..	81
Anexo 3.1 Exemplo de modelo de protocolo	83
Anexo 3.2 Exemplo de questionário	88
Anexo 3.3 Papéis e responsabilidades do pessoal	96
Anexo 3.4 Papéis e responsabilidades das equipes de campo	98
Anexo 3.5 Lista de suprimentos de laboratório para coleta de amostras de sangue seco	99
Anexo 3.6 Modelo de orçamento para um inquérito	100
Anexo 3.7 Exemplo de cronograma para um inquérito.....	101
Anexo 3.8 Exemplo de termo de consentimento livre e esclarecido.....	102
Anexo 3.9 Exemplo de formulário de assentimento para crianças	104
Anexo 4.1 Exemplo de pauta de treinamento.....	105
Anexo 4.2 Diagrama de fluxo dos procedimentos operacionais padrão para coleta de amostras.....	107
Anexo 5.1 Antígenos disponíveis para a vigilância sorológica integrada na plataforma do ensaio multiplex com microesferas (MBA), sua utilidade em diferentes cenários e possíveis intervenções.....	108
Anexo 5.2 Sensibilidade e especificidade de antígenos validados para vigilância sorológica integrada em ensaios multiplex com microesferas (MBA)	118
Anexo 6.1 Recomendações para análise descritiva de inquéritos sorológicos que utilizaram MBA	126
Anexo 6.2 Estrutura básica e conteúdo do relatório.....	129

Lista de quadros

1.1 Exemplos de possibilidades de uso da vigilância sorológica	9
1.2 Elementos fundamentais para o êxito de inquéritos sorológicos integrados.	13
2.1 Exemplo de critérios para definir a população de interesse em um inquérito sorológico	21
2.2 Definição das áreas a incluir no inquérito.	23
4.1 Elementos essenciais do treinamento das equipes de campo	36
4.2 Aspectos para garantir a qualidade dos dados e das amostras coletadas durante um inquérito.	39
5.1 Processos laboratoriais: 23 etapas para realizar testes sorológicos	50
6.1 Definir as limitações metodológicas do estudo	61

Lista de figuras

1.1	Etapas para a implementação de um inquérito sorológico integrado	5
2.1	Primeiros passos na elaboração de um inquérito sorológico	18
5.1	Anticorpos IgG indicam exposição presente e passada a patógenos infecciosos ou imunidade induzida por vacina.	42
5.2	Execução e leitura do ensaio multiplex com microesferas	45
6.1	Níveis de imunidade contra o tétano em diferentes faixas etárias da população, Países Baixos, 2006.	62
6.2	Diferenças nos níveis de transmissão de patógenos entéricos em crianças, separados por idade, em Léogâne, Haiti, e nos Estados Unidos da América	63
6.3	Mapeamento da intensidade de transmissão da malária com base na prevalência de anticorpos antimaláricos	64
6.4	Efeito da administração maciça de medicamentos (AMM) na transmissão de <i>Wuchereria bancrofti</i>	65
6.5	Modelagem das curvas de soroprevalência por idade para a vigilância do tracoma na fase de pós-eliminação	67

Lista de tabelas

1.1	Caixa de ferramentas para a implementação de inquéritos sorológicos integrados: conteúdo	5
1.2	Cenários epidemiológicos para vigilância sorológica integrada	10
2.1	Parâmetros necessários para o cálculo do tamanho da amostra.	24
5.1	Vantagens e limitações dos ensaios multiplex	46
A4.1	Exemplo de pauta de treinamento para um inquérito sorológico integrado	106

Agradecimentos

A Unidade de Doenças Negligenciadas, Tropicais e Transmitidas por Vetores da Organização Pan- Americana da Saúde (OPAS) expressa sua sincera gratidão e apreço a Diana L. Martin, chefe da equipe, e a Gretchen Cooley, microbióloga da Equipe de Vigilância Sorológica Integrada (centro colaborador da OMS sobre tracoma), Subdivisão de Doenças Parasitárias, Divisão de Doenças Parasitárias e Malária do Centro para a Saúde Global dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças, Estados Unidos da América. Elas atuaram como editoras técnicas e principais autoras da publicação.

Gostaríamos de agradecer também a Ana Morice, pediatra, mestre em Epidemiologia e Saúde Pública e consultora em vigilância sorológica integrada, pela atuação como editora técnica da publicação.

Além disso, gostaríamos de agradecer aos profissionais abaixo, que revisaram um ou mais módulos deste instrumento. Esta publicação não teria sido viabilizada sem seus valiosos conhecimentos: Heather Scobie, Divisão de Vírus, Centro Nacional de Doenças Respiratórias Infecciosas, Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos da América; Belem Torres Longoria, coordenadora de projetos, Diretoria de Diagnóstico e Referência, Instituto de Diagnóstico e Referência Epidemiológicos (InDRE) do México; Malvina de León Méndez, coordenadora da unidade de pesquisa, Departamento de Regulação de Programas de Atenção à População, Ministério de Saúde Pública e Assistência Social da Guatemala; Claudia Huber, bioquímica clínica, vigilância laboratorial da malária, Laboratório Central de Saúde Pública do Paraguai; Patricia Galeano Ferreira, coordenação técnica, Diretoria de Vigilância de Doenças Transmissíveis, Ministério de Saúde Pública e Assistência Social do Paraguai; Gloria Rey, assessora, Unidade de Imunização Integral da Família, Departamento de Família, Promoção da Saúde e Curso de Vida, Organização Pan-Americana da Saúde, Estados Unidos da América; Maria Paz Ade, assessora, Programa Regional de Malária, Organização Pan-Americana da Saúde, Estados Unidos da América; Martha Saboyá, assessora, e Ronaldo Carvalho Scholte e Ana Luciañez, especialistas, Programa Regional de Doenças Infecciosas Negligenciadas, Organização Pan-Americana da Saúde, Estados Unidos da América; Fabiana Michel, assessora, Unidade de Imunização Integral da Família, Organização Pan-Americana da Saúde, Paraguai; Sheila Rodvalho, consultora nacional, Prevenção e Controle de Doenças e Saúde Ambiental, Organização Pan-Americana da Saúde, Brasil; Claudia Romo, consultora, Vigilância Integrada, Organização Pan-Americana da Saúde, México.

Esta publicação foi apoiada pelo Acordo Cooperativo Número 6 NU66GH002171, custeado pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças. Seu conteúdo é de responsabilidade exclusiva dos autores e não representa, necessariamente, a visão oficial dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças ou do Departamento de Saúde e Serviços Humanos.

Abreviaturas

AMM	administração maciça de medicamentos
CAPI	entrevistas individuais assistidas por computador (sigla em inglês)
CDC	Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (sigla em inglês)
CQ	controle de qualidade
CQE	sistema externo de garantia de qualidade
DIN	doenças infecciosas negligenciadas
DIP	doenças imunopreveníveis
DTP	vacina tríplice bacteriana (contra difteria, tétano e coqueluche)
DTN	doenças tropicais negligenciadas
ED	efeito do delineamento
ELISA	ensaio de imunoabsorção enzimática (sigla em inglês)
FE	ficoeritrina
GVAP	Plano de Ação Global de Vacinas (sigla em inglês)
Ig	Imunoglobulina
MBA	ensaio multiplex com microesferas (sigla em inglês)
MFI	mediana da intensidade de fluorescência (sigla em inglês)
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PAPI	entrevista usando papel e lápis (sigla em inglês)
PCR	reação em cadeia da polimerase (sigla em inglês)
PDS	Pesquisas de Demografia e Saúde
ROC	característica de operação do receptor (sigla em inglês)
SCR	vacina tríplice viral (contra sarampo, caxumba e rubéola)
WASH	água, saneamento e higiene (sigla em inglês)

Introdução

Antecedentes

A Região das Américas tem uma longa história de eliminação de doenças, inclusive a erradicação da varíola, a eliminação da poliomielite e do tétano neonatal, bem como a eliminação da transmissão endêmica do sarampo, rubéola e síndrome da rubéola congênita (5, 6). Até o primeiro semestre de 2020, os países da Região haviam se aproximado da eliminação da malária. Sete países da Região foram certificados de 1962 a 1973, e nos últimos anos Argentina, El Salvador e Paraguai alcançaram o status de países livres de malária. Várias doenças infecciosas negligenciadas foram alvo de eliminação no nível regional, inclusive a hanseníase, o tracoma, a filariose linfática, a oncocercose e a raiva humana transmitida por cães.

Os esforços contínuos de eliminação na Região também conseguiram uma redução substancial do impacto da doença de Chagas, das helmintíases transmitidas pelo solo, da esquistossomose e da fasciolíase em crianças e outras populações de risco. Da mesma forma, a eliminação da transmissão materno-infantil da hepatite B, HIV, sífilis e doença de Chagas também está ao nosso alcance, apoiada por uma estrutura conceitual integrada para a eliminação quádrupla (7).

Apesar do progresso, os indicadores nacionais mascaram as desigualdades dentro dos países, e os sistemas de saúde enfrentam múltiplos desafios sociais, demográficos e epidemiológicos que ameaçam a sustentabilidade das conquistas alcançadas e do progresso na consecução dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) até 2030. Os Estados Membros da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) aprovaram em 2019 a Iniciativa da OPAS de eliminação de doenças: política para um enfoque integrado e sustentável visando as doenças transmissíveis nas Américas, voltada para a eliminação de mais de 30 doenças transmissíveis e afecções relacionadas até 2030 (Resolução CD57.R7) (8), por meio da adoção de instrumentos e abordagens inovadores (7, 9). Essa iniciativa articula quatro linhas de ação, inclusive para fortalecer a vigilância estratégica da saúde e os sistemas de informação, e exige uma abordagem multidisciplinar para o mapeamento, controle, eliminação, prevenção e monitoramento pós-eliminação no nível nacional.

A publicação Fim do negligenciamento para atingir os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável: Roteiro das doenças tropicais negligenciadas 2021-2030 (na tradução livre) é um documento de

alto nível e um instrumento fundamental – apoiado por evidências e com metas atingíveis – que estabelece as estratégias, políticas e objetivos para orientar a resposta global às DTN na próxima década (10), exigindo abordagens transversais, coordenação intersetorial e abordagens integradas. Inquéritos integrados são instrumentos lógicos para monitorar e avaliar o progresso na implementação das metas do Roteiro, usando métodos para determinar sobreposições e identificar oportunidades interprogramáticas transversais (11, 12).

O Plano de ação global de vacinas 2011-2020 (GVAP) estabeleceu a primeira estrutura mundial de monitoramento e avaliação para imunização (13) e melhorou a conscientização sobre a importância de acelerar a inovação e ampliar o acesso a dados confiáveis para aperfeiçoar o desempenho do programa. Como importantes desafios permanecem ao longo desta década, a Agenda de imunização 2030: uma estratégia global para não deixar ninguém para trás (IA2030) foi elaborada com base nas lições do GVAP (14) para orientar uma fase operacional dinâmica de sustentação de altos níveis de cobertura vacinal e melhoria da vigilância epidemiológica para eliminar e erradicar doenças imunopreveníveis (DIP) (15).

A vigilância sorológica, ou sorovigilância, é uma ferramenta que complementa os métodos tradicionais de saúde pública usados na vigilância de doenças transmissíveis (16) e fornece informações valiosas sobre a transmissão de doenças nas populações para, entre outros exemplos, identificar lacunas na imunidade contra DIP (17, 18). Da mesma forma, esses perfis são úteis para monitorar a exposição da população a doenças como malária (19-21), doenças infecciosas negligenciadas (DIN), doenças transmitidas por alimentos, doenças transmitidas pela água, doenças transmitidas por vetores (22-27) e doenças infecciosas emergentes (28-30). Como muitas doenças infecciosas estão ou estiveram presentes em populações que habitam ambientes onde vários fatores de risco se sobrepõem, a vigilância sorológica integrada facilita sinergias e otimiza a utilização dos recursos da saúde pública.

Inquéritos sorológicos integrados realizados em toda a população são usados para caracterizar padrões de transmissão de doenças infecciosas e para monitorar o impacto das intervenções de saúde pública. Essas informações podem levar os países a conquistarem maiores avanços no controle e na eliminação de doenças transmissíveis, além de fortalecerem a vigilância pós-eliminação de afecções já eliminadas. Os anticorpos são excelentes biomarcadores e estão entre as moléculas mais amplamente empregadas para esse fim (31, 32), pois permitem o reconhecimento da imunidade protetora às DIP, a medição da exposição passada a vários patógenos (inclusive bactérias, parasitas, protozoários e nematoides) e têm potencial de gerar informações que podem ser usadas para detectar o aumento da transmissão de DIN.

Programas nacionais de vigilância sorológica estão bem estabelecidos em muitos países do mundo. Países como Austrália, Canadá, Reino Unido e Estados Unidos da América, entre outros, implementaram programas nacionais de vigilância sorológica utilizando vários modelos, desde a implementação de inquéritos periódicos de base populacional para a coleta de amostras até a vigilância com base em bancos de soro que utilizam amostras enviadas por laboratórios de saúde pública (33, 34).

Em 2016, a OPAS, em parceria com os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos EUA, lançou uma iniciativa conjunta para transferir aos países da Região das Américas a capacidade de uso da vigilância sorológica integrada para complementar a vigilância epidemiológica e os dados de cobertura de intervenções nas populações por meio do ensaio multiplex com microesferas (MBA). Esse ensaio utiliza a tecnologia Luminex® (desenvolvida em 1995), que permite a identificação de anticorpos IgG contra múltiplos antígenos em uma única amostra (soro, sangue – inclusive amostras de sangue seco – e outros fluidos corporais). O ensaio oferece boas vantagens comparado com outros métodos sorológicos (por exemplo, ELISA), pois requer um pequeno volume de amostra; tem menor custo, dado que vários antígenos podem ser analisados em um único teste para uma única pessoa; e apresenta sensibilidade e especificidade comparáveis, entre outros benefícios (35-40).

A iniciativa da OPAS e dos CDC tem sido um processo de aprendizado, não só em relação ao uso da plataforma MBA, mas em função do trabalho transversal necessário para desenvolver a vigilância sorológica integrada de doenças transmissíveis, que geralmente são mantidas separadas do ponto de vista programático, mas que na realidade se sobrepõem nos mesmos grupos populacionais e áreas geográficas. Os esforços para a integração não são simples, pois os programas devem encontrar interesses comuns para alinhar estratégias e compartilhar recursos – com base nas lições aprendidas nos países participantes da iniciativa – e entender que a vigilância sorológica integrada exige que as equipes interprogramáticas trabalhem em conjunto e de maneira sustentada nos níveis nacional e local.

Esta caixa de ferramentas foi desenvolvida para facilitar a concepção, implementação, análise, interpretação e utilização dos resultados de vigilância sorológica integrada para reforçar as capacidades dos países para a eliminação de doenças transmissíveis. A primeira parte descreve os conceitos básicos de inquéritos sorológicos e sorovigilância, seus usos, benefícios e desafios, formas de melhorar a eficiência destes e a possibilidade de contribuir para a tomada de decisões em saúde pública. Mais adiante, o documento apresenta um processo gradual para a implementação da vigilância sorológica com base em inquéritos sorológicos integrados. Inclui recomendações sobre como identificar a necessidade e a finalidade da coleta de informações sorológicas; o delineamento e a metodologia do inquérito; métodos laboratoriais; considerações práticas para a implementação do inquérito; análise e interpretação de dados e uso dos resultados para apoiar a tomada de decisões.

Propósito e público-alvo

Este instrumento visa a elaboração e implementação de inquéritos sorológicos como um meio para complementar a vigilância epidemiológica e os dados de cobertura de intervenção no nível populacional. Seu objetivo principal é apoiar os gerentes de programas e as equipes envolvidas no controle e na eliminação de doenças transmissíveis. O público-alvo inclui, entre outros, coordenadores de programas voltados para doenças transmissíveis, DIN e programas de imunização; gestores de vigilância epidemiológica; funcionários de laboratórios de saúde pública e outros funcionários de secretarias ou autoridades de saúde nos níveis nacional e subnacional que possam estar interessados em incorporar

a vigilância sorológica integrada aos recursos de seus sistemas de vigilância, como meio de obter uma perspectiva adicional em relação à transmissão de doenças infecciosas na população.

A expectativa é de que, ao utilizar este instrumento, o leitor seja capaz de:

- identificar os usos e limitações da vigilância sorológica integrada e suas possíveis aplicações na prevenção, controle e eliminação de doenças transmissíveis e no monitoramento do impacto das intervenções de saúde pública.
- descrever os diversos cenários epidemiológicos nos quais a vigilância sorológica integrada proporcionaria um melhor entendimento sobre a transmissão de doenças no nível populacional, que poderia ser usado para projetar, implementar e avaliar o impacto das intervenções, bem como para detectar e antecipar possíveis doenças emergentes ou a reintrodução de doenças.
- promover o trabalho conjunto entre os gerentes de programas de doenças transmissíveis, grupos de vigilância epidemiológica, laboratórios de saúde pública, institutos nacionais de saúde, centros colaboradores da OPAS/OMS, grupos de pesquisa (entre outros envolvidos no controle e na eliminação de doenças transmissíveis) para o desenvolvimento de inquéritos sorológicos visando a vigilância integrada de doenças transmissíveis.
- Realizar cada uma das etapas e atividades necessárias para o planejamento, implementação, análise, interpretação e utilização dos resultados obtidos por meio de inquéritos sorológicos integrados e sorovigilância.

Estrutura e conteúdo

As etapas para implementar inquéritos sorológicos integrados constam da Figura 1.1. Essas etapas são descritas em detalhes em seis módulos na Tabela 1.1. Para fins de treinamento, também será desenvolvido material didático com estudos de casos e exercícios tanto para o facilitador quanto para o participante, complementados por apresentações em PowerPoint® para apoiar o delineamento do protocolo, a coleta de dados e amostras, análise, interpretação e elaboração dos relatórios.

FIGURA 1.1 Etapas para a implementação de um inquérito sorológico integrado

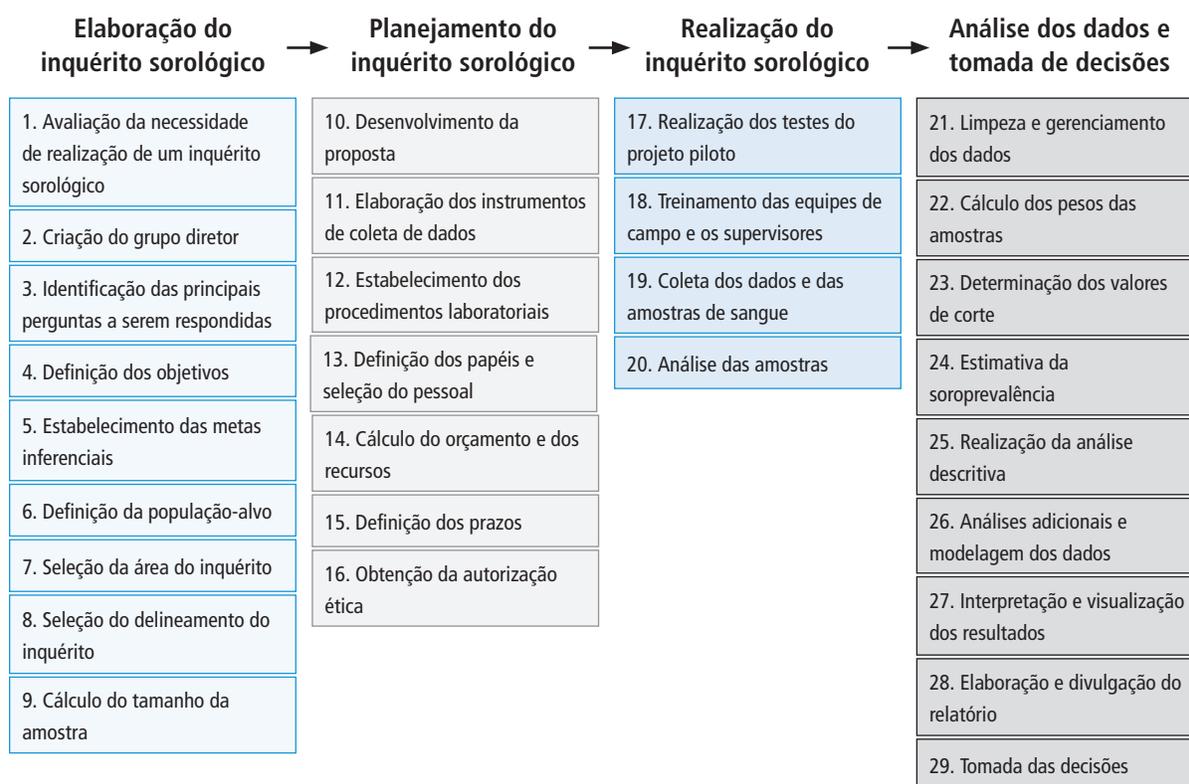


TABELA 1.1 Caixa de ferramentas para a implementação de inquéritos sorológicos integrados: conteúdo

MÓDULOS	CONTEÚDO	RECURSOS
Módulo 1 <i>Conceitos, justificativa e abordagem</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Fornece informações básicas sobre a iniciativa multiplex nas Américas e descreve os conceitos básicos de inquéritos sorológicos integrados e vigilância sorológica, possíveis usos em diferentes cenários epidemiológicos, indicando como melhorar a eficiência dos inquéritos sorológicos, benefícios, desafios e perspectivas futuras. 	
Módulo 2 <i>Elaboração do inquérito sorológico</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Inclui as etapas de 1 a 9, começando com a avaliação da necessidade do inquérito sorológico, criação do grupo diretor, identificação das principais questões, definição dos objetivos, estabelecimento das metas inferenciais, seleção da população-alvo e da área a ser pesquisada, seleção do delineamento do inquérito e cálculo do tamanho da amostra. 	<ul style="list-style-type: none"> • Exemplo de inquéritos aos quais a amostragem sorológica pode ser incorporada

MÓDULOS	CONTEÚDO	RECURSOS
Módulo 3 <i>Planejamento do inquérito sorológico</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Descreve as etapas de 10 a 16 para o desenvolvimento da proposta, elaboração dos meios de coleta de dados, definição das funções e seleção da equipe, estimativa do orçamento e recursos, definição do cronograma do inquérito sorológico e obtenção da aprovação do protocolo do ponto de vista ético. <p><i>Observação:</i> Este módulo descreve brevemente como estabelecer procedimentos laboratoriais; porém, consulte o Módulo 5: Métodos laboratoriais para obter informações mais detalhadas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Exemplo de modelo de protocolo • Papéis e responsabilidades da equipe • Exemplo de questionários • Lista de suprimentos para a coleta de amostras de sangue seco • Exemplo de modelo de orçamento e cronograma • Exemplo de termo de consentimento livre e esclarecido e de assentimento
Módulo 4 <i>Realização do inquérito sorológico</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Descreve as etapas de 17 a 20 sobre como realizar os testes piloto, treinar as equipes, coletar dados, coletar amostras e realizar análises. 	<ul style="list-style-type: none"> • Exemplo de pauta de treinamento • Fluxograma dos procedimentos operacionais padrão para a coleta de amostras de sangue
Módulo 5 <i>Métodos laboratoriais</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Descreve os tipos de testes laboratoriais utilizados para os inquéritos sorológicos, suas vantagens, limitações e os critérios para selecionar testes sorológicos quantitativos e qualitativos. • Esquematiza o processo laboratorial para executar e ler os resultados do MBA e os métodos usados para definir o valor de corte e a soropositividade. • Define sensibilidade, especificidade e reatividade cruzada. • Desenvolve conceitos fundamentais e considerações relacionadas com a garantia de qualidade e o controle de qualidade. • Descreve os principais passos recomendados para realizar análises descritivas básicas ao utilizar o MBA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Descrição dos antígenos disponíveis para a vigilância sorológica integrada na plataforma MBA, sua utilidade em diferentes cenários e possíveis intervenções • Sensibilidade e especificidade dos antígenos validados para a vigilância sorológica integrada mediante MBA
Módulo 6 <i>Análise dos dados e tomada de decisões</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Desenvolve as etapas 21 a 29, inclusive os procedimentos para limpeza e gerenciamento de dados, cálculo do peso amostral, estimativa de soroprevalência, análise descritiva, modelagem de dados, interpretação e visualização dos resultados, elaboração e divulgação do relatório e tomada de decisões com base nos resultados. 	<ul style="list-style-type: none"> • Recomendações para análise descritiva dos resultados de um inquérito sorológico quando do uso do MBA • Estrutura básica e conteúdo do relatório

Conceitos, justificativa e abordagem

1.1 Vigilância sorológica integrada

1.1.1 Conceitos

A dinâmica da transmissão das doenças infecciosas depende:

- do tipo de patógeno (vírus, bactéria, protozoário, helminto, fungo etc.), da rota de transmissão, virulência, genótipo, sorotipo, entre outras características;
- das características individuais, inclusive o status imunitário, suscetibilidade genética, bem como exposições e infecções anteriores; e
- das características da população, inclusive das interseções entre os perfis de imunidade individual e populacional.

Os anticorpos são biomarcadores sensíveis para informar se uma pessoa já foi infectada por um patógeno, se teve múltiplas infecções, se teve uma infecção recente ou se está atualmente infectada, se foi vacinada, entre outros aspectos. Quando os anticorpos são medidos no nível populacional, eles podem informar se uma população tem cobertura vacinal suficiente, ou se uma infecção é prevalente em uma população. Se essas medições forem feitas periodicamente, é possível identificar mudanças com o passar do tempo.

Um **inquérito sorológico** é a coleta e análise de amostras de uma determinada população durante um determinado tempo para estimar a prevalência de anticorpos (soroprevalência) contra um patógeno infeccioso específico, para melhor compreender os dados de transmissão da doença e de cobertura de intervenções. Os inquéritos sorológicos fornecem uma medida quantitativa direta da imunidade da população, derivada tanto da exposição natural a doenças quanto de intervenções de saúde pública (por exemplo, vacinação). Também são capazes de caracterizar diferenças por grupos (idade, etnia, situação migratória etc.) e demonstrar mudanças ao longo do tempo (41).

Vigilância sorológica ou sorovigilância é a realização periódica de inquéritos sorológicos (ou coleta e testagem contínua de amostras) como meio de avaliar mudanças na soroprevalência com o passar do tempo.

A **vigilância sorológica integrada** ou **sorovigilância integrada** de doenças transmissíveis é a implementação de vigilância sorológica de base populacional para coletar e analisar amostras e dados de uma população específica, que vive em determinada área geográfica, em um determinado momento, para estimar simultaneamente a prevalência de anticorpos contra patógenos múltiplos.

1.1.2 Usos da vigilância sorológica

Quando usados para complementar a vigilância epidemiológica e os dados de cobertura de uma intervenção, os inquéritos sorológicos fornecem informações que podem ajudar a estimar o tamanho da população suscetível a doenças, caracterizar padrões de transmissão de patógenos, monitorar mudanças na imunidade ao longo do tempo devido à exposição, infecção ou intervenções e identificar grupos de alto risco, entre outros. Portanto, a realização de pesquisas para a quantificação objetiva de marcadores biológicos proporciona uma forte fundamentação e gera informações úteis que podem ser usadas para estabelecer prioridades e orientar políticas e estratégias para o controle e eliminação de doenças (42).

A incorporação da vigilância sorológica aos sistemas de vigilância epidemiológica pode contribuir para a detecção precoce de surtos antes que o primeiro caso clinicamente aparente seja observado, detectar reintrodução ou reemergência de doenças na fase pós-eliminação e fornecer informações úteis para modelos de previsão, esclarecendo padrões de transmissão (29, 43-46).

A vigilância sorológica integrada apoia o monitoramento e a avaliação do impacto das intervenções de saúde pública sobre a transmissão de doenças. Ela promove esforços transversais, reforçando os sistemas de vigilância e gerando melhores informações para apoiar a tomada de decisões em saúde pública. Além disso, pode contribuir para a inovação e desenvolvimento de opções de vigilância mais eficientes para melhorar a cobertura universal de saúde e o acesso da população à atenção em saúde, especialmente para grupos que vivem em condições vulneráveis. Os possíveis usos da vigilância sorológica para apoiar a análise da situação de saúde, melhorar a vigilância epidemiológica e fornecer informações para a tomada de decisões estão listados no Quadro 1.1 (47, 48).

QUADRO 1.1 Exemplos de possibilidades de uso da vigilância sorológica

- Estimar a carga de doença;
- Identificar populações de alto risco;
- Avaliar o risco de surtos;
- Determinar a duração da imunidade após a vacinação e a necessidade de modificar o esquema vacinal ou introduzir doses de reforço;
- Monitorar mudanças na transmissão de patógenos para visar e avaliar programas de controle;
- Monitorar o progresso na implementação das metas de eliminação e identificar lacunas na imunidade;
- Detectar a reintrodução ou reemergência de doenças;
- Estabelecer limites teóricos de imunidade coletiva;
- Investigar as causas do ressurgimento de doenças; e
- Avaliar o impacto das intervenções.

1.1.3 Cenários epidemiológicos para inquéritos sorológicos integrados

No âmbito da iniciativa conjunta OPAS/OMS-CDC para incorporar a vigilância sorológica integrada como uma ferramenta complementar à vigilância epidemiológica e aos dados de cobertura de intervenções na Região das Américas, foram identificados pelo menos três cenários epidemiológicos nos quais esse instrumento pode ser usado para produzir informações para apoiar a tomada de decisões em saúde pública (Tabela 1.2).

TABELA 1.2 Cenários epidemiológicos para vigilância sorológica integrada

CENÁRIOS EPIDEMIOLÓGICOS	OBJETIVOS	EXEMPLOS
1. Áreas onde os sistemas de vigilância epidemiológica sejam frágeis ou que estejam em silêncio epidemiológico	Fornecer informações de base complementares sobre a transmissão de doenças e dados de cobertura de intervenções quando as informações forem inexistentes ou inacessíveis, com o objetivo de apoiar a elaboração e a implementação de intervenções.	Nas áreas de difícil acesso e nas populações que habitam áreas com acesso limitado aos serviços básicos (saúde, água, saneamento, educação, moradia segura etc.), onde não haja disponibilidade de informações e a realização de estudos para diferentes doenças ou cobertura de intervenção seja logisticamente complexa e cara, a vigilância sorológica pode ajudar a identificar grupos sob alto risco de contrair doenças transmissíveis.

CENÁRIOS EPIDEMIOLÓGICOS	OBJETIVOS	EXEMPLOS
2. Áreas onde as intervenções tenham sido implementadas e devam ser monitoradas para avaliar o progresso na consecução metas programáticas	Para monitorar mudanças na exposição (a vacinas ou agentes infecciosos) ao longo do tempo e verificar se a frequência ou a qualidade das intervenções precisa ser modificada ou reforçada.	Em grupos populacionais e áreas nas quais tenham sido implementadas intervenções de controle e eliminação de doenças (vacinação, administração de medicamentos em massa, detecção intensificada e tratamento de casos, acesso a água e saneamento, manejo integrado de vetores, intervenções de melhoria ambiental, melhoria da higiene pessoal, melhoria da habitação, intervenções de controle de zoonoses etc.), a vigilância sorológica pode fornecer informações sobre o efeito dessas intervenções para orientar a tomada de decisões.
3. Áreas nas quais as doenças estejam próximas da eliminação ou já tenham sido eliminadas e onde seja necessário efetuar uma vigilância pós-eliminação	Detectar a reintrodução de doenças ou o risco de reemergência para monitorar a realização e a sustentação da eliminação de doenças.	Na fase pós-eliminação de doenças (por exemplo, malária, tracoma ou sarampo), a vigilância sorológica pode fornecer informações sobre a exposição de coortes nascidas após a eliminação e alertar precocemente sobre o risco de reemergência de doenças, podendo ajudar a antecipar riscos, apoiar investigações mais aprofundadas e ajudar a iniciar ações para evitar a reintrodução ou reemergência de uma ou mais doenças (por exemplo, aquelas que já tenham sido eliminadas).

Esses cenários podem se sobrepor dentro de um país ou em um grupo populacional de uma determinada localidade geográfica, dependendo do status epidemiológico ou da cobertura de intervenção para cada doença ou programa. Por exemplo, é possível que em uma determinada população a eliminação de uma doença (por exemplo, malária) esteja no caminho certo, mas não haja dados sobre a transmissão de uma doença infecciosa negligenciada (por exemplo, estrogiloidíase), embora os fatores de risco para sua ocorrência estejam presentes, e a eliminação de DIP (por exemplo, sarampo e rubéola) tenha sido atingida, estando, agora, na fase de pós-eliminação. Nesse caso, os três cenários epidemiológicos se sobrepõem na mesma população. Nesse exemplo, caso seja implementada uma vigilância sorológica integrada, será possível fornecer dados sorológicos para complementar o processo de eliminação da malária, o que é importante, visto que em áreas de incidência muito baixa ou sem casos relatados a sensibilidade do sistema de vigilância pode diminuir.

Além disso, a vigilância sorológica pode fornecer dados sorológicos de base para identificar áreas sob risco de transmissão de doenças (como a estrogiloidíase); esses dados podem orientar programas de saúde pública para que sejam implementadas ações adicionais para melhor entender a magnitude e a distribuição da doença, com o objetivo de implementar intervenções conforme o caso. A vigilância sorológica também pode fornecer dados para identificar populações possivelmente suscetíveis ao sarampo e à rubéola na fase de pós-eliminação, a fim de implementar intervenções de vacinação com o objetivo de evitar o ressurgimento dessas doenças.

Esses três cenários podem ajudar os países a identificar doenças e intervenções a serem estudadas por meio de um inquérito sorológico integrado em um determinado grupo da população, e em uma área geográfica específica, e podem ser usados para determinar quais perguntas do inquérito sorológico seriam fundamentais para a elaboração do protocolo e para a análise e a interpretação dos resultados, conforme descrito nos módulos a seguir.

1.1.4 Melhoramento da eficiência dos inquéritos sorológicos

Os inquéritos sorológicos podem ser planejados, elaborados e executados para uma ou várias doenças. Entretanto, é possível que levantamentos de doenças transmissíveis ou avaliações de cobertura já tenham sido planejados. Nesses casos, por meio de coordenação adequada e oportuna, é possível incluir estudos sorológicos nesse planejamento. Isso pode ajudar a utilizar os recursos disponíveis de maneira eficiente. Veja alguns exemplos:

- Coleta de amostras para realizar o levantamento de uma única doença utilizando um delineamento específico para essa enfermidade. Por exemplo, em um levantamento de cobertura vacinal no qual seja necessário coletar amostras, é possível produzir dados sorológicos para outras doenças. Nesse caso, o levantamento foi elaborado para avaliar a cobertura vacinal, mas, dependendo da estratégia de amostragem, essa amostra poderia ser usada para estudar outras enfermidades sem que seja necessário fazer qualquer alteração no levantamento.
- Coleta de amostras para o levantamento de uma única doença, usando um delineamento ligeiramente ampliado. Por exemplo, se for realizado um levantamento de geo-helmintíases, pode-se ampliar ligeiramente o estudo para incluir a coleta de amostras para realização de estudos sorológicos sobre outras doenças de interesse.
- Coleta de amostras para o levantamento de uma única doença, usando um delineamento ligeiramente ampliado. Por exemplo, se for realizada uma pesquisa para uma doença infecciosa negligenciada, o delineamento do estudo pode ser ampliado e passar a incluir outras enfermidades de interesse para a vigilância sorológica. Nesse caso, é essencial incluir planejamento e tempo para coordenar o ajuste na elaboração do estudo.
- Outro exemplo é o uso de amostras coletadas em estudos anteriores que ficaram armazenadas em biobancos para a realização de estudos sorológicos.

Nos exemplos acima, os inquéritos sorológicos podem ser integrados a levantamentos já planejados, porém algumas limitações devem ser levadas em consideração:

- A estrutura de amostragem da pesquisa já planejada pode não ser apropriada para a vigilância sorológica de outras doenças.
- É necessário considerar os custos adicionais.
- No caso de serem usadas amostras armazenadas, o prazo de armazenamento pode ser de importância fundamental, e aspectos como sazonalidade da coleta das amostras e geração de dados sorológicos em tempo hábil para uso epidemiológico devem ser levados em consideração.

A integração de vários componentes – inclusive a prestação de serviços de saúde – a levantamentos já planejados é importante e ideal. Entretanto, um planejamento cuidadoso e oportuno e uma coordenação e elaboração adequadas são importantes não apenas para obter dados de qualidade, mas também para utilizar os recursos de forma eficaz.

1.1.5 Desafios da vigilância sorológica integrada

Alguns desafios e limitações devem ser considerados ao se implementar a vigilância integrada, entre os quais podemos citar os seguintes:

- **Custos e logística.** Considerando os cenários epidemiológicos delineados neste documento, os desafios incluem dificuldades de acesso geográfico e os custos operacionais de realizar este tipo de vigilância. Entretanto, visto que a vigilância é implementada para múltiplas doenças ou eventos de interesse de saúde pública, serão geradas eficiências em termos dos custos de investimento e retorno do investimento (na forma de informação), na medida em que vários programas ou estratégias se beneficiarão de um único esforço. Além disso, estudar múltiplas doenças em um único inquérito na população de interesse reduz o número de vezes que os indivíduos são obrigados a participar das atividades, poupando-lhes tempo e custos.
- **Colaboração e alinhamento das necessidades.** Há vários aspectos a serem considerados ao se planejar e implementar a vigilância sorológica integrada. É crucial integrar capacidades em todos os programas, envolvendo não apenas os gerentes das diversas estratégias de controle e eliminação de doenças, mas também estatísticos, epidemiologistas e especialistas em doenças e tópicos específicos, entre outros, para transformar os dados da vigilância sorológica integrada em informações úteis para a tomada de decisões em saúde pública. A utilização inadequada, incorreta ou incompleta dos resultados pode criar confusão entre o pessoal técnico e os decisores e resultar em ações de saúde pública incorretas. O Quadro 1.2 lista os elementos fundamentais para a realização de inquéritos integrados exitosos (49).
- **Uso de dados de soroprevalência para a tomada de decisões programáticas.** A interpretação de dados sorológicos requer valores limiares para monitorar mudanças nos padrões de transmissão da soroproteção (por exemplo, diminuição da imunidade proporcionada pela vacinação) e na cinética da resposta dos anticorpos para cada doença de interesse. Isto é muito importante, especialmente para doenças em fase de eliminação. O limiar de imunidade coletiva é um valor útil para definir que porcentual de imunidade de uma população a uma infecção, seja através de vacinação ou infecções anteriores, é suficiente para reduzir a probabilidade de infecção em indivíduos sem imunidade. Os limiares críticos de imunidade coletiva já foram estabelecidos para a maioria das DIP (por exemplo, sarampo, rubéola, caxumba, pólio, coqueluche), mas para muitas doenças (por exemplo, malária e as DIN) não há um limiar de soroprevalência atualmente conhecido para ser usado explicitamente com o intuito de definir ações de saúde pública. No entanto, os dados sorológicos são uma ferramenta complementar ao sistema epidemiológico e aos dados de cobertura da intervenção.

QUADRO 1.2 Elementos fundamentais para o êxito de inquéritos sorológicos integrados

Planejamento

- Identificar todas as principais partes interessadas, prioridades concorrentes e estratégias de mitigação;
- Providenciar a adesão do governo nacional e líderes em todos os níveis e para cada etapa do processo do inquérito;
- Apoiar os especialistas nacionais e internacionais;
- Desenvolver protocolos para todas as doenças incluídas no inquérito com a contribuição de especialistas;
- Estabelecer objetivos claros para o inquérito;
- Desenvolver e/ou aumentar a capacidade local e o compartilhamento de conhecimentos;
- Planejar e comprar todos os equipamentos corretos;
- Planejar bem a logística de todas as atividades de campo;
- Alocar tempo e orçamento suficientes para o inquérito;
- Obter todas as aprovações necessárias.

Treinamento

- Providenciar planejamento, coordenação e financiamento suficientes para o treinamento;
- Envolver gerentes de programas nacionais e locais na seleção, treinamento e supervisão dos membros da equipe de campo;
- Padronizar os materiais de treinamento;
- Combinar, no programa de treinamento, teoria com prática de campo;
- Providenciar meios para avaliar a competência nas tarefas do levantamento;
- Atribuir funções e responsabilidades específicas a cada indivíduo;
- Revisar detalhadamente o deslocamento e o manuseio das amostras junto à equipe de campo;
- Realizar um teste piloto do trabalho de campo.

Implementação

- Promover uma boa conscientização e mobilização da comunidade;
- Realizar uma forte supervisão;
- Colocar chefes de equipe que sejam especialistas técnicos nas diferentes doenças;
- Organizar e garantir a logística de armazenagem e transporte de amostras de acordo com o contexto local, a capacidade e as necessidades do inquérito;
- Selecionar adequadamente os testes diagnósticos point-of-care (POC), procedimentos bem estabelecidos para lidar com múltiplos testes diagnósticos POC e aproveitar plataformas de diagnóstico de múltiplas doenças;
- Limitar os questionários aos dados mínimos necessários para a tomada de decisões programáticas;
- Capturar e gerenciar dados eletronicamente;
- Automatizar a análise de dados.

Fonte: Harding-Esch EM, Brady MA, Angeles CAC, Fleming FM, Martine DL, McPherson S, et al. Integrated survey methodologies for neglected tropical diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020;115(2):124–6.

1.1.6 Perspectivas futuras

Considerando que a iniciativa de vigilância sorológica integrada é um trabalho ainda em andamento, o ideal seria que os países colaborassem para ampliar a capacidade de usar a vigilância sorológica integrada, garantindo não apenas o uso de plataformas de laboratório padronizadas, mas também a melhoria da capacidade de analisar, interpretar e usar os resultados da vigilância sorológica integrada para apoiar a tomada de decisões em saúde pública. A ampliação do uso da vigilância sorológica integrada em diferentes cenários epidemiológicos contribuirá para a melhor compreensão e uso dessa ferramenta na vigilância suplementar de doenças transmissíveis e dados de cobertura de intervenção.

Da mesma forma, o apoio e a participação dos países da Região das Américas são essenciais para contribuir para a caracterização e validação de antígenos para doenças de interesse, como doença de Chagas, leishmaniose e hanseníase, entre outras, para as quais atualmente não existem testes sorológicos confiáveis. Isto permitirá o fortalecimento contínuo das plataformas laboratoriais como o MBA e aumentará a possibilidade de monitoramento de mais patógenos de interesse, tornando a vigilância mais custo-efetiva.

Elaboração do inquérito sorológico integrado

Este módulo descreve os seguintes passos para a elaboração de um inquérito sorológico integrado.

Elaboração do inquérito sorológico

1. Avaliação da necessidade de realização de um inquérito sorológico
2. Criação do grupo diretor
3. Identificação das principais perguntas a serem respondidas
4. Definição dos objetivos
5. Estabelecimento das metas inferenciais
6. Definição da população-alvo
7. Seleção da área do inquérito
8. Seleção do delineamento do inquérito
9. Cálculo do tamanho da amostra

2.1 Avaliação da necessidade de realização de um inquérito sorológico

O desenvolvimento de um inquérito sorológico integrado requer discussões técnicas e coordenação, pois os resultados desejados para cada doença de interesse podem exigir diferentes abordagens de amostragem e tamanhos de amostra. A necessidade de realizar um levantamento populacional para a vigilância sorológica integrada pode ser orientada pela necessidade de obtenção de informações em um ou mais dos três cenários epidemiológicos descritos no Módulo 1.

Aspectos-chave devem ser levados em consideração para avaliar a necessidade de realização de um inquérito sorológico integrado:

- As perguntas a serem respondidas e a viabilidade da realização de pesquisas para várias doenças transmissíveis devem ser claramente definidas. Alinhar os interesses e as necessidades de diferentes programas pode ser uma atividade complexa.
- Para definir se são necessárias informações sorológicas para duas ou mais doenças de interesse que ocorrem em uma determinada população e em um determinado local e momento, é importante ter em mente as aplicações e o escopo da vigilância sorológica integrada baseada em inquéritos, considerando que os níveis de anticorpos IgG indicam exposição passada (meses a anos).
- É necessário definir a fonte mais apropriada e o processo mais custo-efetivo para a coleta das amostras para o levantamento – seja para incorporar a coleta de amostras para vigilância sorológica a um levantamento já planejado, como uma grande pesquisa nacional de saúde, uma pesquisa envolvendo DIN ou uma DIP, ou usar amostras de soro encontradas em bancos de soro. O Anexo 2.1 inclui exemplos de levantamentos aos quais a amostragem sorológica poderia ser incorporada.
- Amostras armazenadas em um banco de soro têm grande possibilidade de serem usadas para analisar os perfis de imunidade da população contra doenças transmissíveis, embora possam ter algumas limitações, tais como representarem apenas determinadas faixas etárias ou áreas geográficas, apresentarem dados limitados sobre as características demográficas, sociais e econômicas dos sujeitos dos quais as amostras foram obtidas ou volumes de amostra insuficientes para realizar estudos adicionais (50).
- Caso a utilização de um banco de soro represente uma possibilidade de reduzir os recursos necessários e economizar tempo, serão necessárias informações fundamentais sobre a estratégia de amostragem, os questionários utilizados, as amostras armazenadas disponíveis, formulários de consentimento e as considerações éticas, entre outras.

2.2 Criação do grupo diretor

O grupo diretor desempenha um papel essencial durante as etapas iniciais, apoiando e participando para que outros possam fornecer informações estratégicas, endossar a implementação da estratégia de vigilância sorológica integrada e a mobilização dos recursos necessários, bem como fazer a ligação com outros setores ou parceiros estratégicos a serem envolvidos (por exemplo, organizações de base, líderes comunitários, o setor educacional, outros setores).

A composição desse grupo dependerá das características e da complexidade do inquérito sorológico integrado, mas, de modo geral, recomenda-se que sejam representados os seguintes conjuntos de habilidades profissionais:

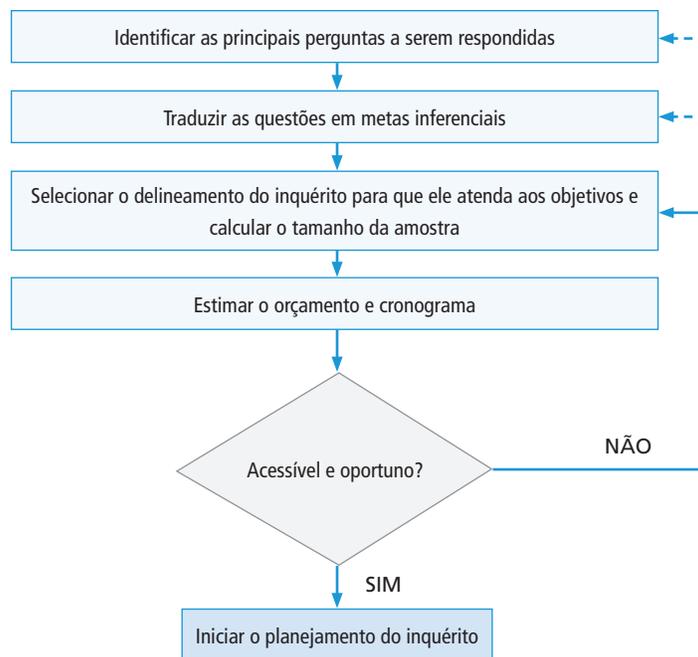
- Gerentes de programas que tenham conhecimento adequado da ocorrência de doenças e suas tendências em diferentes cenários epidemiológicos, e informações de base sobre os programas e intervenções que já estão em vigor para tratar dessas enfermidades na população estudada. Gerentes que possam contribuir com informações e tomar decisões sobre os objetivos da pesquisa, e que participem ativamente da elaboração, implementação, análise dos resultados e tomada de decisões;
- Especialistas em doenças e epidemiologistas que apoiem a determinação dos objetivos e ajudem a compreender as características específicas da ocorrência da doença, o ciclo de transmissão, a resposta imune etc. Caso sejam usadas amostras de soro de um banco de soros, as pessoas que têm os dados e informações dos soros residuais existentes devem ser envolvidas no grupo diretor;
- Estatísticos ou especialistas em amostragem, para apoiar o delineamento da amostragem, calcular o número mínimo de amostras de acordo com o grau de representatividade exigido, definir parâmetros de acordo com os objetivos estabelecidos e apoiar o gerenciamento de dados e a análise dos resultados. É útil incluir delegados do instituto nacional de estatística do país, pois eles podem fornecer dados demográficos, mapas e apoiar cálculos de estruturas de amostragem e tamanho amostral;
- Biólogos, bioquímicos ou especialistas em métodos laboratoriais que estejam familiarizados com métodos analíticos, coleta de amostras, logística de transporte, custódia e processamento de amostras, garantia de qualidade, interpretação dos resultados de testes laboratoriais e procedimentos de biossegurança, entre outros aspectos;
- Provavelmente será necessária ajuda adicional para gestão e análise no sentido de assessorar na coleta de dados, criar o banco de dados, gerenciar a entrada de dados, bem como analisar os dados.

O grupo diretor não participa apenas da etapa inicial do projeto do inquérito; deve estar envolvido na implementação, análise dos dados, interpretação dos resultados e tomada de decisão.

2.3 Identificação das principais perguntas a serem respondidas por meio do inquérito sorológico

Uma série de perguntas que afetam o delineamento do levantamento e a estratégia de amostragem devem ser discutidas e acordadas antes que o protocolo seja definido (Figura 2.1). É necessário converter essas perguntas em metas inferenciais.

FIGURA 2.1 Primeiros passos na elaboração de um inquérito sorológico



Adaptado de: Organização Mundial da Saúde. Vaccination Coverage Cluster Surveys: Reference Manual [Internet]. Genebra: OMS; 2018 (WHO/IVB/18.09). Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272820>.

Algumas das questões básicas são:

- Quais são os objetivos da pesquisa ou as perguntas que o inquérito pretende responder? Caso haja várias doenças de interesse, há alguma que seja mais relevante? Por quê?
- Em qual população e área geográfica é relevante realizar o inquérito? Por quê?
- Quais são as perguntas do teste de hipóteses que serão avaliadas: trata-se de um limiar programático ou de uma comparação entre populações e áreas geográficas ou entre características demográficas e socioeconômicas?
- Quais são os resultados desejados com o inquérito e os níveis (ou estratos), e quais estimativas desses resultados são desejadas (por exemplo, nacional, estadual, municipal; idade de 0-14 anos, faixa etária de 5 anos)? Existem populações especiais de interesse para as quais as estimativas seriam úteis? Dependendo da robustez dos resultados necessários, uma amostra não probabilística poderia ser útil para responder à pergunta principal?
- Qual é a melhor estimativa do resultado esperado (por exemplo, 80% de soroprevalência) e da precisão (por exemplo, $\pm 5\%$) necessária?

2.4 Definição dos objetivos

Os objetivos dependerão diretamente das necessidades do contexto epidemiológico, do nível necessário de representatividade do inquérito – ou seja, da necessidade de obter informações desagregadas com poder estatístico suficiente para fazer inferências em diferentes estratos; por exemplo, por nível geográfico (nacional, subnacional, regional, distrital, municipal etc.), faixa etária, sexo –, do teste de sorologia disponível e da capacidade técnica e financeira disponível (pessoal e laboratório).

Os **principais objetivos** do inquérito sorológico devem ser definidos com base nos resultados principais ou de maior interesse que determinam o delineamento do levantamento e o tamanho da amostra.

Há três tipos de perguntas principais (41):

- **Questões de estimativa** que resultarão em uma estimativa quantitativa da soroprevalência.
- **Questões de classificação** que produzem rótulos qualitativos de soroprevalência (por exemplo, “alta”, “intermediária” ou “baixa”, em vez de estimativas quantitativas precisas).
- **Questões comparativas ou de teste de hipóteses** que comparam a soroprevalência com um limiar de importância programática (por exemplo, níveis de imunidade-alvo para o sarampo ou nível de transmissão de patógenos entéricos), ou antes e depois da intervenção, ou entre categorias, tais como estratos geográficos, idade, sexo, escolaridade ou riqueza.

A ampliação da área geográfica ou faixa etária além do mínimo definido pode ser necessária para acomodar os objetivos de outras doenças. No entanto, os países devem reconhecer que isso aumentará o custo e a complexidade da logística do inquérito.

Uma alternativa pode ser aceitar que o inquérito não tenha sido elaborado ou não tenha dimensão suficiente para abordar os objetivos das outras doenças e considerá-las como **objetivos secundários**, por meio dos quais algumas informações são obtidas, mas geralmente menos do que seria o caso se o inquérito tivesse sido delineado com este único propósito.

2.5 Estabelecimento de metas inferenciais

Uma meta inferencial determina o grau de incerteza aceitável no desfecho principal. Em geral, quanto maior o grau de exatidão exigido do resultado do inquérito, maior deverá ser o tamanho da amostra. A incerteza e as metas inferenciais dependem da principal pergunta do inquérito sorológico e de seu objetivo.

- Ao calcular uma estimativa quantitativa da soroprevalência, o objetivo inferencial é expresso como um intervalo de confiança (IC). Selecione um tamanho de amostra que equilibre a precisão (normalmente representada pelo IC de 95%) com o orçamento e o tempo necessários para sondar um grande número de participantes;
- Ao classificar faixas qualitativas de soroprevalência, o objetivo inferencial é expresso usando a probabilidade de erro de classificação (muitas vezes chamada de classificação errada);

- Ao comparar duas estimativas de soroprevalência usando um teste de hipóteses formal, o objetivo inferencial é expresso como poder estatístico.

Visto que o processo de concepção de um inquérito é dinâmico e iterativo, caso sejam definidos objetivos muito ambiciosos ou inviáveis, pode ser necessário revisar a proposta e adaptá-la durante a fase de delineamento. Por outro lado, se logo de início ficarem claros não apenas os objetivos desejáveis, mas também os relevantes e possíveis, serão economizados tempo e recursos valiosos.

2.6 Definição da população-alvo

Um desafio ao selecionar a população-alvo da vigilância sorológica integrada com base em inquéritos é que cada doença pode afetar as populações de interesse de maneira diferente. Por exemplo, a vigilância da soroprevalência de anticorpos na população pediátrica tem sido usada para monitorar doenças imunopreveníveis (DIP), porque crianças pequenas refletem o desempenho de programas mais recentes (28) e identificam populações de risco.

Entretanto, faixas etárias mais amplas consideram o efeito aditivo de qualquer imunização suplementar além da imunização de rotina, bem como a imunidade em declínio (por exemplo, ao tétano e difteria), o que poderia ser relevante para alterar os cronogramas de imunização ou adicionar doses de reforço. A imunidade em declínio em adultos (por exemplo, ao tétano e difteria) poderia ser relevante para avaliar o risco específico para cada sexo em relação ao diferente recebimento de doses de reforço (por exemplo, mulheres para a eliminação da transmissão materno-neonatal, ou homens nas forças armadas).

Para a maioria das DIN, a vigilância sorológica das crianças pode refletir a intensidade da transmissão e – mais precisamente – demonstrar exposições recentes, o que é útil para monitorar interrupções na transmissão ou recrudescimentos. Por exemplo, em alguns estudos de soroprevalência de anticorpos para DIN, as crianças têm sido a população ideal para avaliar o impacto da desparasitação. As intervenções voltadas para água e saneamento têm sido ideais para o controle das geo-helmintíases. No caso da filariose linfática, oncocercose e esquistossomose, foram estudadas crianças de 6 a 15 anos de idade, ao passo que para a vigilância do tracoma, as populações-alvo têm sido crianças de 1 a 9 anos – preferencialmente com menos de 3 anos (35).

Outro exemplo é a malária, ao se estimar a persistência da transmissão do *P. falciparum*. Se for mantida, não importa quão baixo seja o nível da transmissão, o parasito ainda estará presente na área de interesse, e os residentes terão um maior risco cumulativo de exposição ao longo da vida, na medida em que envelhecem. Por outro lado, se a transmissão estiver ocorrendo em um nível moderado ou alto, as crianças de 0 a 11 meses na área de interesse apresentarão um rápido aumento no número de anticorpos contra o parasito (40).

Ao elaborar inquéritos sorológicos para monitorar várias doenças ao mesmo tempo, é essencial determinar a faixa etária ideal para garantir que os objetivos do inquérito sejam atingidos.

Pode haver diferentes grupos etários de interesse para cada objetivo da vigilância. Por exemplo, na fase pós-eliminação de qualquer DIN ou malária, crianças menores de 15 anos (ou mesmo menores de 5) são grupos ideais, pois os níveis de anticorpos em crianças pequenas são uma medida sensível de exposição recente a patógenos e já demonstraram flutuar com as mudanças sazonais na transmissão da malária (21). Entretanto, também é importante que os inquéritos sorológicos sobre a malária sondem populações que não sejam crianças, tais como adultos jovens (20 a 29 anos) e idosos (acima de 60 anos), devido ao risco de complicações nesses grupos etários. Outras doenças para as quais levantamentos em populações adultas podem ser úteis incluem HIV, rubéola e tétano, entre outros patógenos (29).

Se forem necessários dados representativos de vários grupos etários de interesse para o inquérito sorológico, é importante considerar a viabilidade de coletar uma amostragem grande em cada uma das diferentes faixas etárias. Além disso, as estimativas de soroprevalência para diversas faixas etárias terão um impacto exponencial no tamanho do inquérito sorológico caso este vise fornecer estimativas representativas para estratos adicionais, como, por exemplo, estados ou províncias, grupos étnicos específicos, ou comparação de áreas rurais com áreas urbanas.

O Quadro 2.1 resume alguns aspectos que devem ser considerados ao se definir a população a ser monitorada por meio da vigilância sorológica integrada com base em levantamentos.

QUADRO 2.1 Exemplo de critérios para definir a população de interesse em um inquérito sorológico

A seleção da população de interesse para um inquérito sorológico depende diretamente dos objetivos de vigilância propostos, assim como das características de transmissão do patógeno, da resposta imunitária à doença e da estratégia de intervenção, prevenção, controle ou eliminação em vigor no país.

Ao definir os objetivos, outras características além da idade – como o risco de contrair a doença ou de pertencer a certos grupos populacionais de interesse (minorias étnicas, populações migrantes etc.) – também devem ser consideradas. Para populações de interesse especial, uma consideração de natureza prática é determinar se existe uma estrutura que permita a amostragem de indivíduos nesse grupo, ou se eles vivem em uma determinada área que poderia ser submetida a uma superamostragem para atender ao objetivo.

Também é importante definir se duas ou mais populações (como duas faixas etárias diferentes) são necessárias, dependendo dos objetivos do inquérito.

2.7 Seleção da área do inquérito

A área geográfica de interesse para o inquérito é(são) a(s) área(s) habitada(s) por populações expostas a fatores de risco para transmissão ou a lacunas de imunidade, ou seja, áreas onde se concentram determinantes sociais, dificuldades no acesso aos serviços de saúde e condições ambientais ou ecológicas propícias à transmissão do patógeno de interesse. Levantamentos em escalas espaciais pequenas também têm permitido aos países de alta renda obter informações precisas sobre as DIN.

A obtenção de achados robustos em um inquérito sorológico integrado está associada à delimitação da área geográfica de interesse. Deve-se determinar se a representatividade nacional ou subnacional é necessária, tendo em mente como os resultados da pesquisa serão utilizados para apoiar as decisões (realizando pesquisas adicionais ou implementando intervenções).

Quando disponíveis, dados de inquéritos anteriores podem ser usados para informar quais áreas geográficas precisam ser monitoradas. Nesses estão incluídos dados de base existentes, dados de vigilância, estudos de morbidade e mortalidade, informações ambientais e dados de estudos de modelagem geoespacial que mostrem a probabilidade preditiva de que a prevalência da doença de interesse esteja excedendo um determinado limiar, entre outros (2, 51, 52).

Em inquéritos que cobrem várias doenças, a área de interesse para cada doença pode ser diferente. Portanto, a delimitação da área do inquérito deve começar pela obtenção de um consenso entre os responsáveis pelos programas ou estratégias envolvidas. Por exemplo, se um inquérito estiver sendo realizado para verificar a soroprevalência de anticorpos contra a malária em focos residuais de transmissão, a área de interesse será definida pela identificação desses focos (áreas de alta transmissão), e o levantamento deve incluir uma análise de *receptividade*¹ e *vulnerabilidade*² na área selecionada (4, 53).

É necessário compreender as características sociodemográficas, epidemiológicas e ambientais das populações que vivem em cada área geográfica. As áreas rurais podem ter acesso limitado aos serviços básicos de saúde, educação, água e saneamento. No entanto, as áreas urbanas também são de interesse devido à maior concentração populacional ou mobilidade da população, e pelo fato de as cidades frequentemente crescerem por meio da expansão de assentamentos informais.

É importante levar em consideração que, devido ao fato de as doenças apresentarem diferentes dinâmicas de transmissão, a utilidade de realizar o levantamento de diversas doenças será diferente. Por exemplo, a dengue pode ser urbana ou rural, mas a probabilidade de encontrar DIN em ambientes rurais é muito maior; em outro exemplo, incluir a esquistossomose em levantamentos onde ninguém more perto de água doce seria de pouca utilidade, porque a transmissão depende de caramujos de água doce.

1 Receptividade: até que ponto um ecossistema em uma determinada área em um determinado momento permite a transmissão de *Plasmodium* spp. de um humano para outro por meio de um mosquito vetor.

2 Vulnerabilidade: probabilidade de infecção por malária com base nas condições de vida ou em fatores de risco comportamentais, ou probabilidade de aumento do risco de morbidade grave e mortalidade por infecção por malária.

QUADRO 2.2 Definição das áreas a incluir no inquérito

Países que decidem realizar uma vigilância sorológica integrada de (determinadas) doenças transmissíveis com base em inquéritos devem embasar sua decisão no contexto epidemiológico, que pode ser caracterizado como um de três cenários epidemiológicos.

É importante que a decisão seja tomada de forma consensuada, envolvendo os responsáveis pelos programas nacionais de controle da vigilância das doenças a serem incluídas na pesquisa, os quais, além disso, podem ser chamados a fornecer informações sobre o contexto epidemiológico e a participar da definição dos objetivos do levantamento de acordo com cada um dos cenários descritos no Módulo 1:

- Fornecer informações confiáveis sobre a transmissão de doenças e dados de cobertura de intervenção para apoiar a elaboração e implementação de intervenções para as quais as informações sejam inexistentes ou desconhecidas;
- Monitorar e avaliar o impacto das intervenções e identificar mudanças na exposição a patógenos ou na cobertura das intervenções (por exemplo, vacinação);
- Detectar a reintrodução de doenças ou o risco de reemergência para monitorar a eliminação de doenças e a manutenção dessa eliminação.

2.8 Seleção do delineamento do inquérito

As estratégias de amostragem probabilística são: amostragem aleatória simples, amostragem sistemática, amostragem aleatória estratificada e amostragem por conglomerados (clusters). Em inquéritos de base domiciliar ou escolar, a amostragem por conglomerados é muito comum por ser mais econômica e eficiente em comparação com a amostragem aleatória simples.

A estratégia de amostragem dependerá dos objetivos do estudo, da área geográfica de interesse, da viabilidade econômica e logística, entre outros aspectos. Se a equipe decidir utilizar dados e amostras de soro existentes, a estratégia de amostragem dependerá do protocolo utilizado para implementar o inquérito já disponível.

A representatividade da amostra de um inquérito permite extrapolar – e, portanto, generalizar – os resultados observados da pesquisa para a população-alvo. Uma amostra é considerada representativa da população-alvo quando a distribuição e o valor das variáveis de interesse na amostra puderem ser reproduzidos dentro de margens de erro calculáveis (54). Por outro lado, no que diz respeito à distribuição da variável de interesse na população geral, os sujeitos selecionados também devem

ser representativos da população da qual a amostra foi retirada (55). Erros sistemáticos podem surgir durante qualquer fase da pesquisa e criar enviesamentos ou desvios sistemáticos que podem superestimar ou subestimar o parâmetro da população.

2.9 Cálculo do tamanho da amostra

Em geral, para calcular o tamanho da amostra, parâmetros como a prevalência esperada do evento de interesse, o nível desejado de confiança, precisão, poder estatístico, efeito do delineamento e taxa de não-resposta devem ser considerados, entre outros (Tabela 2.1). O cálculo do tamanho da amostra em inquéritos sorológicos integrados deve levar em conta os principais objetivos do estudo, o desfecho esperado para a população de interesse do estudo (por exemplo, faixa etária, geografia específica) e o nível de precisão desejado. Os critérios para o cálculo do tamanho da amostra devem ser aplicados a cada um deles, de acordo com os parâmetros estatísticos necessários.

TABELA 2.1 Parâmetros necessários para o cálculo do tamanho da amostra

PARÂMETRO	DEFINIÇÃO
Taxa de soroprevalência esperada (p)	Para inquéritos deste tipo, p é a soroprevalência esperada para cada um dos patógenos de interesse ou, no caso de DIP, a taxa de soroproteção esperada. Se a taxa real for desconhecida, é aconselhável usar 50%.
Nível de confiança $100(1-\alpha)\%$	O erro tipo I, ou erro alfa (α), também conhecido como o nível de significância de um teste, é a probabilidade de rejeição da hipótese nula quando verdadeira. Ela está associada ao IC, que geralmente será de 95% para fins de cálculo do tamanho da amostra.
Precisão (d)	Também conhecido como erro relativo de amostragem, a precisão determina a exatidão dos resultados. Quanto maior a exatidão necessária, maior deve ser a amostra e mais precisos os resultados do estudo. Para o cálculo do tamanho da amostra, geralmente é estabelecido um nível de 5% ou 10%, mas isto depende da prevalência esperada da doença de interesse.
Poder estatístico	É a probabilidade de um teste de hipótese encontrar um efeito se houver um efeito a ser encontrado. Varia de 0 a 1. A probabilidade de se cometer um erro de tipo II (deixar erroneamente de rejeitar a hipótese nula) diminui na medida em que aumenta o poder estatístico.
Taxa de não-resposta	É a impossibilidade de obter a medida de uma ou mais variáveis de interesse para um ou mais elementos (k) selecionados para o levantamento. Para estudos gerais, o tamanho calculado da amostra é normalmente acrescido de 10% para levar em consideração a taxa de não-resposta. Entretanto, isso deve ser considerado dentro do contexto do levantamento e da qualidade da estrutura de amostragem.
ED	O efeito do delineamento (ED) é a variabilidade decorrente da seleção do sujeito quando se utiliza qualquer método de amostragem que não seja o de amostragem aleatória simples. A variabilidade depende da estratificação da amostra, do número de respondentes por grupo e da heterogeneidade do número.

Ao fazer estes cálculos e outros mais complexos, é aconselhável contar com epidemiologistas, estatísticos ou especialistas treinados em amostragem (por exemplo, para calcular tamanhos de amostras para doenças cuja expectativa é de que a prevalência seja zero ou próxima de zero), para garantir que as estimativas sejam apropriadas para os objetivos definidos e para a população de interesse e que a representatividade seja a desejada.

Em inquéritos nos quais sejam utilizados bancos de soro para realizar análises retrospectivas de soroprevalência ou soroproteção, o grupo de trabalho deve incluir um estatístico que possa calcular o tamanho da amostra com base em uma avaliação detalhada e na compreensão do estudo original para o qual as amostras foram coletadas (estrutura de amostragem, representatividade etc.). Novamente, isto ajudará a garantir que os parâmetros usados para calcular o tamanho da amostra atendam aos objetivos do inquérito e sejam apropriados para os grupos populacionais estabelecidos e para a área geográfica de interesse.

Há diretrizes disponíveis sobre o uso de inquéritos sorológicos para algumas DIP (sarampo e rubéola, hepatite B, dengue, tétano). Os documentos a seguir fornecem procedimentos mais detalhados sobre o delineamento e a realização de inquéritos sorológicos (41, 56, 57).

- Escritório Regional da Organização Mundial da Saúde para a Europa. Guidance on conducting serosurveys in support of measles and rubella elimination in the WHO European Region. Copenhagen: OMS; 2013. Disponível em: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0011/236648/Guidance-on-conducting-serosurveys-in-support-of-measles-and-rubella-elimination-in-the-WHO-European-Region.pdf
- Organização Mundial da Saúde. Documenting the Impact of Hepatitis B Immunization: best practices for conducting a serosurvey. Genebra: OMS; 2011. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70808/WHO_IVB_11.08_eng.pdf
- Organização Mundial da Saúde. Informing vaccination programs: a guide to the design and conduct of dengue serosurveys. Genebra: OMS; 2017. Disponível em: <https://www.who.int/publications/item/9789241512589>
- Organização Mundial da Saúde. Tetanus serosurveys. Annex 2 in: Surveillance standards for vaccine-preventable diseases, second edition. Genebra: OMS; 2018. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/vpd_surveillance/vpd-surveillance-standards-publication/who-surveillancevaccinepreventable-25-annex2-r2.pdf?sfvrsn=2d467c06_8&download=true

Planejamento do inquérito sorológico

Este módulo descreve os seguintes passos para planejar o inquérito sorológico.

Planejamento do inquérito sorológico

10. Desenvolvimento da proposta

11. Elaboração dos instrumentos de coleta de dados

12. Estabelecimento dos procedimentos laboratoriais

13. Definição dos papéis e seleção do pessoal

14. Cálculo do orçamento e dos recursos

15. Definição dos prazos

16. Obtenção da autorização ética

3.1 Desenvolvimento da proposta

Todo inquérito sorológico precisa de um protocolo por escrito, que deve incluir todos os aspectos técnicos, éticos e logísticos, bem como o orçamento e cronograma. O inquérito deve ser redigido de maneira clara e simples para que possa ser compreendido por todos os envolvidos na elaboração e implementação da vigilância sorológica integrada.

O protocolo serve de base para a organização de todas as operações de campo. Ele define o problema de interesse para a vigilância e estabelece todas as informações necessárias para a realização do inquérito sorológico. Isto é particularmente útil quando se solicita financiamento e para as revisões por pares ou por comitês de ética (58, 59). O protocolo deve incluir título, sumário, resumo, introdução, estrutura teórica ou conceitual, declaração do problema, fundamentação, objetivos, metodologia, considerações éticas, plano de análise, limitações, orçamento, cronograma ou linha do tempo de atividades e referências. Formulários como questionários, modelos de termo de consentimento livre e esclarecido e outros podem ser fornecidos nos apêndices. Uma vez concluído, o protocolo deve ser submetido aos comitês de ética relevantes para aprovação. O Anexo 3.1 inclui um exemplo de modelo de protocolo.

3.2 Elaboração dos instrumentos de coleta de dados

3.2.1 Definição das variáveis

Em inquéritos sorológicos, as variáveis de interesse devem responder às perguntas do inquérito e ser úteis para os objetivos do estudo. Isto é particularmente relevante nos inquéritos que abrangem múltiplas doenças, pois existe o desafio de coletar informações para cada doença de interesse, o que cria maior complexidade, aumenta o tempo necessário para completar a pesquisa e pode aumentar os custos. Além disso, apresenta barreiras adicionais para a análise dos resultados.

Dependendo das questões do levantamento e dos objetivos do estudo, as categorias variáveis podem incluir:

- Variáveis demográficas: idade, sexo, local de residência, grupo étnico etc.;
- Socioeconômicas: ocupação, nível educacional, nível de renda etc.;
- Condições domésticas relacionadas com água e saneamento, superlotação etc.;
- Histórico de vacinação: administração de doses de acordo com o calendário de rotina e com as campanhas;
- Conhecimentos, percepções e práticas como lavagem das mãos e higiene, histórico de viagens etc.;
- Histórico de doenças ou de sintomas relacionados com essas doenças (por exemplo, linfedema e hidrocele, no caso de suspeita de filariose linfática; febre, no caso de doenças transmitidas por vetores específicos).

Ao analisar a imunidade a doenças imunopreveníveis (DIP), um aspecto crucial é coletar dados do histórico de vacinação. Isso permitirá estimar a eficácia da vacinação ou o declínio da imunidade em

função do tempo decorrido entre a administração da vacina e a coleta de amostras. Isso requer dados confiáveis sobre a data da vacinação e a idade no momento da vacinação, de preferência coletados dos registros de vacinação do indivíduo e, se possível, dos registros nominais gerados pelos estabelecimentos de saúde. Esses dados devem ser registrados corretamente. Do contrário, os registros de vacinação podem ser fotografados para garantir a entrada de dados precisos em uma etapa posterior.

No caso de levantamentos já planejados serem aproveitados para estudos sorológicos, se possível a equipe deve avaliar o conjunto de variáveis que serão coletadas e defender a inclusão das variáveis de interesse no inquérito sorológico. Caso isso não ocorra, deve-se chegar a um consenso com os pesquisadores responsáveis pelo levantamento principal em relação às variáveis necessárias para o inquérito sorológico, aspectos operacionais como a estrutura dos arquivos, um dicionário de dados, prazos de entrega e quaisquer aspectos éticos relacionados à confidencialidade dos dados. Caso se esteja cogitando o uso de amostras de um banco de soro ou de sangue, deve-se consultar o gerente do banco para determinar se há um banco de dados disponível e quais dados e variáveis ele contém. Caso afirmativo, o próximo passo é verificar se essas variáveis contribuem para os objetivos, grupos populacionais e a área geográfica do estudo sorológico.

3.2.2 Elaboração do questionário

As perguntas a serem incluídas no questionário devem estar diretamente relacionadas com as variáveis do inquérito sorológico que servirão de insumo para respondê-las. Ao elaborar um questionário de coleta de dados, é importante dedicar tempo para definir a ordem das seções e perguntas, estabelecendo uma lógica de pular as questões, definindo perguntas-filtro e incluindo instruções detalhadas, entre outros. Os enunciados das perguntas devem ser claros e precisos. Deve-se evitar juntar duas ou mais questões em uma, assim como o uso de termos tendenciosos ou emocionalmente carregados, palavras negativas como “não”, “nenhuma” ou “ninguém”, bem como respostas ou escolhas excessivamente longas.

A possibilidade de traduzir o questionário para o idioma local deve ser avaliada. As perguntas devem usar linguagem coloquial, familiar ou vernácula, de acordo com o contexto cultural da população estudada, mas deve-se tomar cuidado para que as instruções e perguntas-filtro sejam redigidas conforme o estabelecido pela equipe.

O Anexo 3.2 inclui exemplos de perguntas que visam avaliar a condição de vacinação e de DIN, tais como geo-helmintias, esquistossomoses, filariose linfática e fatores de risco associados à água, saneamento e higiene (ASHI). O questionário deve ser validado e submetido a testes dentro do projeto piloto antes ou durante o treinamento das equipes de campo. Além disso, pode ser necessário fazer mudanças durante o treinamento: caso seja utilizada a metodologia de entrevista usando papel e lápis (PAPI), não deve haver pressa em imprimir o questionário. Caso se utilize a metodologia de entrevista individual assistida por computador (CAPI), é essencial que o desenvolvedor encarregado de criar o aplicativo esteja em contato constante com o coordenador do estudo e a equipe de gerenciamento de dados.

Como as amostras coletadas no campo geralmente são analisadas apenas várias semanas após o estudo, os dados de laboratório devem ser vinculados às variáveis sociodemográficas coletadas durante a entrevista por meio de um identificador único e individual para cada participante. O uso de códigos de identificação é recomendado para vincular os dados do questionário aos dados laboratoriais e a variáveis de outros formulários (por exemplo, termos de consentimento livre e esclarecido). Isto não só facilita a ligação dos dados, mas também ajuda a manter o anonimato.

Ao definir as variáveis, identificar as perguntas e elaborar o questionário, é essencial especificar as análises, as tabelas e os números desejados em uma fase inicial do inquérito, para garantir que seu delineamento seja adequado para atender os objetivos do estudo. Os responsáveis, o tempo e o orçamento (se necessário) para a análise dos dados produzidos pelo inquérito sorológico devem ser incluídos no protocolo e no cronograma.

É essencial garantir que os resultados fiquem disponíveis em um prazo oportuno para os decisores, as comunidades e os indivíduos participantes, bem como para os programas de saúde pública envolvidos na sorovigilância. Atrasos na apresentação dos resultados ou falta de resultados podem levar à perda de oportunidades de implementação de intervenções e à falta de confiança e de engajamento da população, de parceiros e de equipes interprogramáticas e interdisciplinares, colocando em risco a integração do trabalho em iniciativas futuras.

3.2.3 Metodologias de coleta de dados

Tradicionalmente, a coleta de dados tem usado a metodologia da entrevista com papel e lápis (PAPI). Para minimizar erros de medição, as equipes de campo devem ser aprendizes de pessoal com habilidades comprovadas em entrevistas e coleta de dados, que ficarão encarregado do treinamento adequado e supervisionarão o trabalho de campo para garantir um bom desempenho. Essa metodologia exige que os dados coletados em papel sejam transferidos manualmente para um software. Nessa configuração, o uso de dupla entrada de dados é obrigatório para minimizar os erros de processamento.

As CAPI podem envolver o uso de laptops, smartphones ou tablets para a coleta de dados em vez de papel e caneta, o que é uma excelente alternativa que permite até mesmo o monitoramento em tempo real (online ou offline) da coleta e qualidade dos dados. Visto que os sistemas que utilizam CAPI dependem de sinal de Internet para enviar dados para um servidor para armazenamento, são necessários Internet e eletricidade para manter os dispositivos de coleta de dados operacionais.

Apesar de as CAPI poderem ser um desafio em áreas rurais remotas e sem acesso a esses serviços, elas podem melhorar a qualidade da informação, reduzindo os erros na entrada de dados durante o inquérito, permitindo fornecer feedback aos compiladores de dados enquanto coletam as informações no campo e possibilitando rastrear o progresso do trabalho realizado usando o sistema de posicionamento global (GPS), entre outras vantagens. Há vários sistemas para coletar dados usando dispositivos móveis que permitem armazenar questionários offline e enviá-los para serviços em nuvem

uma vez que o dispositivo esteja conectado à Internet. Além disso, baterias portáteis alimentadas por energia solar podem ser usadas para manter os dispositivos funcionando.

Embora essa metodologia possa parecer complexa ou cara, se for assegurado um bom planejamento, inclusive com a realização de várias rodadas de preenchimento dos formulários dentro do projeto piloto, treinamento eficaz, suporte técnico e supervisão durante o trabalho de campo, ela pode permitir a coleta de dados de maior qualidade em um tempo mais curto, evitando a necessidade de dupla entrada de dados. Dessa maneira, o custo inicial mais alto é compensado pela economia durante e após a fase de trabalho de campo.

3.3 Estabelecimento dos procedimentos laboratoriais

Todos os aspectos dos testes e relatórios laboratoriais devem ser cuidadosamente planejados bem antes do início do estudo. O módulo 5, sobre métodos laboratoriais, descreve em detalhes os aspectos de planejamento relacionados ao laboratório e deve ser consultado para desenvolver o protocolo.

3.4 Definição dos papéis e seleção da equipe

Para implementar o inquérito sorológico, as funções e responsabilidades da equipe envolvida nas etapas de planejamento, coleta de dados e análise devem ser claramente definidas e cuidadosamente selecionadas antes do início do trabalho de campo. Dependendo da complexidade do levantamento e da disponibilidade de pessoal capacitado nas instituições nacionais participantes do inquérito sorológico, algumas dessas pessoas podem ser contratadas.

O coordenador do inquérito tem um papel fundamental por ser responsável por supervisionar a implementação do estudo ao assegurar a conformidade com o delineamento do inquérito. O coordenador deve adquirir os suprimentos e recursos necessários, definir a melhor logística para coletar dados, conduzir treinamento e supervisão adequados e oportunos, acompanhar o progresso do trabalho de campo para garantir a alta qualidade da coleta, entrada e gerenciamento dos dados e garantir o respeito à confidencialidade dos participantes, entre outros aspectos. O coordenador é apoiado por especialistas de laboratório, gerentes de dados e supervisores regionais. Uma pessoa que atue na área administrativa deve ser designada para auxiliar também na gestão do orçamento, nas aquisições e na logística do inquérito.

A supervisão é fundamental para garantir dados de alta qualidade. Dependendo do tamanho da amostra e das características das áreas a serem levantadas, o coordenador nacional deve ser apoiado por supervisores regionais encarregados por um ou mais níveis do inquérito. Eles devem ajudar na preparação dos materiais e suprimentos a serem usados, assegurar que as equipes de campo sejam treinadas e desempenhem suas funções corretamente, rever a lista de unidades de amostra e organizar as rotas de trabalho de campo de acordo com o delineamento do inquérito. Todo e qualquer problema ou contingência que possa surgir durante a operação deve ser trazido ao conhecimento deles. Os supervisores de campo também são cruciais para garantir que o trabalho de campo seja realizado de

acordo com o projeto e com os procedimentos do inquérito. Eles são frequentemente selecionados durante o treinamento, com base em sua liderança e bom desempenho.

O número e a composição das equipes de campo dependerão do delineamento do inquérito e dos procedimentos operacionais para a coleta de dados e amostras, mas, em geral, cada equipe deve incluir um entrevistador, técnico(s) de laboratório e um líder de equipe, que será responsável por coordenar o trabalho de campo, contatando os líderes comunitários, centros de saúde e escolas – dependendo do delineamento do inquérito – e manter contato próximo com o supervisor designado. Os motoristas também desempenham um papel importante, na medida em que garantem o tempo adequado e a segurança do transporte de e para as instalações, bem como a segurança das equipes. Os anexos 3.3 e 3.4 descrevem as principais responsabilidades das principais funções da equipe da pesquisa no nível nacional e em campo.

3.5 Cálculo do orçamento

O orçamento para um inquérito de vigilância sorológica integrada depende dos objetivos definidos, do delineamento da pesquisa e do tamanho da amostra. Deve ser realista e, ao mesmo tempo, atender os aspectos de maior prioridade. Algumas das informações necessárias para o orçamento são o custo da coleta, do transporte e do processamento das amostras, treinamento, testes piloto, suprimentos de laboratório e de pesquisa; do trabalho de campo (inclusive das diárias, do transporte e do combustível, conforme o caso); de supervisão das equipes de campo; da análise de dados; e aqueles inerentes ao formato selecionado para o questionário (PAPI ou CAPI, sendo que o primeiro exige impressão, enquanto o segundo exige software específico de coleta de dados e suporte na forma de gestão de dados, para que sejam coletados dados de boa qualidade). O grupo de trabalho deve identificar os custos e as lacunas de financiamento e, com essas informações em mãos, estabelecer estratégias para buscar opções de financiamento para fechar essas lacunas.

É importante determinar se o orçamento está sujeito a restrições (prazos, tipos de despesas etc.). Também é necessário verificar se existem processos para autorizar, expandir ou reduzir o orçamento e identificar possíveis fontes de financiamento adicional (por exemplo, doadores ou outras fontes de cooperação). É igualmente importante monitorar os gastos e identificar as lacunas de financiamento que possam afetar a implementação do levantamento. O Anexo 3.5 enumera os suprimentos e materiais necessários para coletar amostras de sangue seco, e o Anexo 3.6 inclui um modelo de cálculo do orçamento.

A vigilância sorológica integrada de doenças transmissíveis baseada em inquéritos é proposta como uma ferramenta para que os sistemas nacionais de vigilância produzam informações suplementares para apoiar a tomada de decisões em saúde pública. Portanto, para garantir a sustentabilidade, recomenda-se que os governos nacionais e subnacionais incluam fundos para essa atividade de vigilância em seus orçamentos anuais.

3.6 Definição do cronograma

Uma maneira de organizar e monitorar atividades relacionadas aos levantamentos é consolidar um cronograma, que pode ser ajustado na medida em que a operacionalização do levantamento avança. O cronograma dependerá do tipo de pesquisa sorológica a ser realizada. Por exemplo, inquéritos que exijam coleta de amostras geralmente podem ser realizados ao longo de 2 meses (somente trabalho de campo), mas todas as atividades de campo devem ser planejadas muito antes e durante o trabalho de campo, o que pode somar até 12 a 18 meses. Esse cronograma será diferente se o inquérito for realizado dentro da estrutura de outro estudo já planejado. Por sua vez, os inquéritos elaborados de modo a utilizar amostras pré-existentes de um banco de soro podem ser realizados em um período relativamente mais curto, embora a análise criteriosa dos dados disponíveis e das características das amostras armazenadas deva ser concluída com antecedência para que depois sejam definidas as perguntas do inquérito que podem ser respondidas com essas amostras.

Os países devem reconhecer que o processo de aprovação ética dos protocolos de tais inquéritos leva tempo, devido a revisões, possíveis ajustes e à probabilidade de que serão necessárias análises por diferentes comitês (como um comitê nacional de ética em pesquisa ou uma das organizações ou instituições participantes do levantamento).

Deve-se considerar o processo de aquisição de suprimentos (por exemplo, pode ser necessário importar alguns suprimentos do exterior), enquanto durante a fase de implementação, o cronograma deve ser ajustado em torno de quaisquer eventos específicos de cada país que possam causar atrasos no cumprimento dos prazos (feriados, férias, calendário escolar, distâncias operacionais, estação chuvosa ou úmida, movimentos populacionais etc.). As variações sazonais (por exemplo, estação chuvosa ou seca local) também devem ser consideradas ao planejar o trabalho de campo, pois as condições climáticas podem determinar a viabilidade de se alcançar as áreas geográficas de interesse. Um modelo de cronograma de levantamento consta do Anexo 3.7.

3.7 Obtenção da autorização ética

As seções anteriores deste documento mencionaram as possíveis fontes de amostras para estudos sorológicos (coleta primária de amostras, amostras coletadas para estudos já planejados e amostras de bancos de soro). Diferentes aspectos éticos se aplicam a cada uma dessas fontes e devem ser levados em consideração. O Anexo 3.8 descreve os principais elementos a serem considerados com finalidade ética.

3.7.1 Aspectos éticos nos inquéritos que incluem coleta de amostras

Em qualquer processo de vigilância epidemiológica, inclusive nos que realizam pesquisas de base populacional, os participantes devem estar devidamente informados e compreender os objetivos, procedimentos, escopo, benefícios e riscos associados à sua participação. Somente então poderão tomar uma decisão voluntária e esclarecida. É essencial garantir a proteção da privacidade e confidencialidade dos dados pessoais vinculados às amostras, aos questionários e aos resultados do inquérito. Isto pode

ser feito, por exemplo, por meio da atribuição de um identificador ou código único, garantindo assim o anonimato das amostras.

As equipes de campo e os supervisores devem ser treinados quanto aos aspectos éticos do levantamento, bem como no processo de obtenção do consentimento informado junto aos participantes, em técnicas de entrevista e no processo para explicar os objetivos e procedimentos do inquérito no idioma local apropriado, falado pela população-alvo, incentivando-os a participar do inquérito. Se um inquérito sorológico exigir que sejam coletadas amostras de menores de idade (“menores de idade” são definidos de acordo com as leis de cada país, mas geralmente serão considerados os menores de 18 anos), o consentimento livre e esclarecido deve ser obtido junto aos pais ou responsáveis de cada menor. No caso de crianças com mais de 9 anos, que podem entender e concordar em participar do levantamento, também é recomendada a obtenção do assentimento informado (Anexo 3.9). Nenhuma criança deve ser forçada a participar de uma pesquisa, mesmo que seus pais ou tutores tenham consentido.

Recomenda-se que seja solicitado dos participantes amplo consentimento informado para que as amostras possam ser usadas no futuro. Isso reduz o número de vezes que a mesma população tem que participar de estudos que coletam amostras biológicas, permite o uso de amostras coletadas para estudos futuros com base em novos protocolos a serem aprovados por comitês de ética etc. (60).

3.7.2 Aspectos éticos relacionados ao uso de amostras provenientes de bancos de soro

Os protocolos integrados de inquéritos sorológicos elaborados para utilizar amostras de bancos de sangue ou de soro devem ser aprovados pelos respectivos comitês de ética. Um aspecto importante a ser considerado é a realização de uma revisão completa dos procedimentos éticos do estudo para o qual as amostras armazenadas nos bancos de soro e de sangue tenham sido originalmente obtidas. A compreensão dos aspectos éticos, do escopo e das limitações para novos estudos é um componente essencial na elaboração de protocolos para o uso dessas amostras em inquéritos sorológicos integrados.

Cada inquérito sorológico deve incluir procedimentos para proteger sujeitos humanos de acordo com a Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial e deve cumprir todas as regulamentações éticas locais e nacionais relevantes, bem como com todas as exigências das agências e instituições envolvidas no inquérito.

Uma vez concluído, o protocolo deve ser analisado e aprovado por um comitê de ética nacional e pelo(s) comitê(s) correspondente(s) de quaisquer instituições colaboradoras que o(s) exija(m). No caso de estudos que recebam custeio ou apoio técnico de organizações ou doadores internacionais, os regulamentos e procedimentos institucionais destes devem ser avaliados quanto ao cumprimento das exigências de aprovação ética (41, 61, 62).

Realização do inquérito sorológico

Este módulo descreve as etapas para a realização do inquérito sorológico da seguinte forma:

Realização do inquérito sorológico

17. Realização dos testes do projeto piloto

18. Treinamento das equipes de campo e os supervisores

19. Coleta dos dados e das amostras de sangue

20. Análise das amostras

4.1 Realização dos testes do projeto piloto

Antes de realizar qualquer inquérito sorológico, os instrumentos e procedimentos devem ser submetidos a testes por meio de um projeto piloto (ou simplesmente piloto), para que quaisquer problemas possam ser identificados antes da execução do inquérito propriamente dito. O piloto é um pequeno estudo que pode ser usado para determinar a viabilidade do protocolo e identificar seus pontos fracos, para que esses possam ser resolvidos antes de a operação em grande escala ser implementada.

Alguns aspectos relevantes da fase-piloto incluem a avaliação do questionário (para fins de coerência e compreensão dos itens pelos entrevistadores e entrevistados, verificar se o questionário flui bem, determinar o tempo necessário para preenchê-lo etc.); a avaliação da plataforma de coleta de dados (eletrônica ou com papel e lápis); a revisão do procedimento de amostragem, o tempo gasto em cada processo e a taxa de resposta; a avaliação da necessidade de revisitar (efetuar segundas visitas) em campo etc., para que quaisquer problemas possam ser identificados e que medidas corretivas sejam tomadas com antecedência.

No caso de ser utilizada a coleta eletrônica de dados, a programação deve ser feita com antecedência para dar tempo de rever e corrigir possíveis erros, avaliar padrões de pulo, verificar a qualidade dos dados e lidar com quaisquer dúvidas levantadas durante o treinamento e os testes piloto (41, 63).

Os testes piloto devem ser feitos por membros da equipe de coordenação, juntamente com os coordenadores e supervisores. A realização de teste piloto como parte do treinamento da equipe de campo é, além disso, um método de treinamento eficaz que também permite avaliar o desempenho do papel de cada membro da equipe e avançar a implementação do fluxo de trabalho em campo.

4.2 Treinamento das equipes de campo e dos supervisores

O treinamento dos membros da equipe de campo é essencial para garantir a qualidade dos dados e das amostras que serão coletados, bem como para que sejam obtidos dados que respondam às questões do inquérito que o programa integrado de vigilância sorológica foi projetado para abordar. Numa situação ideal, o treinamento deve ocorrer imediatamente antes do início das operações de campo e deve ser conduzido por instrutores e facilitadores que estejam familiarizados com todos os detalhes dos procedimentos do protocolo de pesquisa (epidemiologistas, técnicos de laboratório, profissionais de saúde, técnicos de sistemas, tradutores/intérpretes para os idiomas locais, parceiros comunitários etc.). O treinamento deve permitir tempo suficiente para rever e ajustar procedimentos, questionários e formulários de consentimento e termo de assentimento. O Quadro 4.1 descreve alguns dos elementos necessários que devem ser considerados quando do treinamento das equipes de campo.

Antes do treinamento, deve-se definir o número de equipes de campo (e seu tamanho), assim como a estrutura, os papéis e as funções de cada integrante da equipe. Em consequência do treinamento, pode ser necessário reatribuir papéis e funções entre os integrantes para otimizar o fluxo, o desempenho e a qualidade do trabalho de campo.

Os supervisores das equipes de campo também devem participar do treinamento, pois desempenham um papel essencial no apoio à implementação adequada dos procedimentos protocolares e na adoção de medidas corretivas apropriadas quando necessário. Os responsáveis pela entrada e gestão de dados também devem ser treinados, inclusive os especialistas em entrada de dados (caso o levantamento utilize entrevistas com PAPI) e os analistas que serão responsáveis pelas bases de dados e pela interpretação dos resultados.

Da mesma forma, o pessoal de laboratório deve ter concluído o treinamento adequado para efetuar a análise das amostras pelo método de ensaio escolhido (caso a análise das amostras seja efetuada no país) e deve participar do treinamento da equipe de campo para garantir que os procedimentos de coleta, conservação, armazenamento e transporte das amostras sejam padronizados.

No caso de estudos previamente planejados nos quais sejam coletadas amostras adicionais para análise sorológica, é essencial garantir que as equipes de campo sejam devidamente treinadas na coleta, preservação, armazenamento e transporte das amostras. Para levantamentos que utilizem amostras de banco de soro, o treinamento deve incluir a seleção das amostras e a conservação e o transporte das alíquotas coletadas. Em ambos os casos, os responsáveis pela compilação dos bancos de dados e pela análise e interpretação dos resultados necessitarão de treinamento.

QUADRO 4.1 Elementos essenciais do treinamento das equipes de campo

O objetivo é padronizar a maneira como os procedimentos do inquérito são aplicados por todo o pessoal. Várias metodologias de ensino podem ser usadas, desde que sejam adequadas para o treinamento de adultos. A metodologia de treinamento escolhida deve ser interativa e dinâmica, incluindo exercícios práticos e encenações com exemplos claros que permitam aos participantes compreender e praticar suas funções dentro da equipe de campo. O ideal seria que a prática do treinamento ocorra sob as mesmas condições encontradas durante o trabalho em campo (ou semelhantes). Por exemplo, se o inquérito for realizado em escolas rurais, o processo deve incluir treinamento prático em uma escola com nas mesmas condições.

Se o levantamento for realizado em comunidades rurais remotas, as informações sobre as características dessas populações e como a comunicação deve ocorrer (considerações linguísticas, étnicas, culturais etc.) devem ser incluídas no treinamento. Embora a prática sob essas condições especiais possa ser percebida como uma despesa adicional, na verdade é um investimento para garantir a qualidade dos procedimentos de amostragem, o que deve resultar em dados de qualidade que satisfaçam aos objetivos da pesquisa.

Entre os tópicos a serem abordados estão a estrutura teórica do inquérito; os métodos para coleta, armazenamento e transporte das amostras; processos de coleta de dados e logística para a entrevista; aspectos éticos e de biossegurança; e o gerenciamento adequado de suprimentos e materiais, entre outros. O Anexo 4.1 contém um exemplo de pauta de treinamento para a equipe que participará de um inquérito que envolve amostragem e coleta de dados.

4.3 Coordenação antes do início do trabalho de campo

No caso dos inquéritos realizados em escolas, devem-se contatar de antemão os coordenadores regionais, diretores e professores da escola. Essa medida deve ser tomada pelo líder do inquérito e pela equipe operacional, devendo ser agendada bem antes do início das operações de campo, pois pode ser necessária mais de uma visita. É necessário haver estreita coordenação entre os responsáveis pelo setor educacional nos níveis nacional e local, bem como com os diretores e professores das escolas envolvidas.

Se o inquérito for de base domiciliar, o líder do inquérito deve se certificar de que a comunicação e coordenação adequadas sejam estabelecidas junto às autoridades sanitárias locais e aos líderes das comunidades selecionadas bem antes das operações de campo. Esse processo envolve o fornecimento de informações claras sobre o objetivo e os procedimentos do inquérito, as datas previstas para a chegada das equipes de campo e os pedidos de autorização para visitar cada comunidade. As datas do trabalho de campo devem ser coordenadas e confirmadas com os líderes locais e o pessoal da saúde. É necessário levar em consideração feriados especiais, eventos sazonais e outras datas especiais nas comunidades selecionadas, para garantir que a maioria dos habitantes esteja presente no momento da visita pela equipe de campo.

Essa coordenação inclui o fornecimento de informações claras e detalhadas sobre os objetivos e procedimentos do inquérito, a população a ser estudada, os riscos e benefícios para a população participante, a importância da participação das escolas e dos municípios quando os inquéritos são domiciliares e o contato com pais e filhos. Esta coordenação prévia é essencial para garantir a participação e adesão da população de interesse. Os participantes devem receber antecipadamente formulários de consentimento por meio dos coordenadores regionais e locais do inquérito para explicar o propósito da pesquisa, os procedimentos, os riscos e os benefícios, e para dar aos participantes a oportunidade de fazerem perguntas e esclarecerem quaisquer dúvidas ou preocupações.

Antes de se aventurar no campo, cada equipe deve verificar se possui todos os suprimentos e materiais necessários para coletar os dados e amostras. A próxima seção fornece um exemplo dos processos de campo a serem seguidos durante inquéritos de base escolar; esses mesmos processos podem ser adaptados para inquéritos realizados em residências. O Anexo 4.2 mostra o fluxo de atividades, dividido de acordo com os papéis dos participantes na concepção e implementação de um estudo integrado de vigilância sorológica.

4.4 Coleta de dados e amostras

Para realizar a coleta de dados e amostras, são realizadas várias atividades fundamentais:

- **Apresentação feita a certos participantes no dia do inquérito** (determinadas crianças e seus pais): Essa atividade deve ser realizada pelo líder da equipe. Os objetivos do inquérito, os métodos de seleção e os procedimentos em geral devem ser explicados em detalhes. Essas informações devem ser adaptadas à idade e ao contexto cultural e social dos possíveis participantes.

- **Coleta do consentimento livre e esclarecido e do termo de assentimento, se for o caso, de cada participante do inquérito:** Com a ajuda dos formulários de consentimento, cada participante deve ser informado dos objetivos do inquérito, dos procedimentos (e quanto tempo cada um deles levará), de que forma será garantido o sigilo dos dados, dos riscos e benefícios de sua participação etc. Todas as perguntas devem ser respondidas de imediato. Como parte do processo de consentimento, todos os participantes devem ser informados de que têm o direito de se abster do estudo, de se recusar em participar da entrevista ou de interromper seu andamento a qualquer momento e de se recusar a responder quaisquer perguntas se assim desejar. Se possível, dependendo da área selecionada (por exemplo, comunidades de difícil acesso), recomenda-se visitar a comunidade antes de iniciar a pesquisa para garantir que os níveis locais sejam informados e que os formulários de consentimento sejam devidamente compreendidos.
- **Entrevista de todos os participantes selecionados:** Neste momento, todos os participantes que consentiram devem ser entrevistados. O entrevistador deve se certificar de que todos os itens do questionário sejam respondidos e de que o próprio questionário (se o método PAPI estiver sendo usado) seja mantido em segurança e protegido de toda e qualquer intempérie que possa causar danos ou perdas. Se a entrevista estiver sendo coletada em um meio eletrônico, como um computador ou dispositivo móvel, o entrevistador deve seguir todos os procedimentos estabelecidos e garantir que o dispositivo tenha bateria suficiente ou alimentação elétrica adequada, e que seja protegido contra perdas e danos.
- **Coleta de amostras de sangue:** Esse procedimento deve ser realizado por pessoal treinado, utilizando todos os suprimentos e materiais estéreis necessários para garantir a segurança biológica durante a coleta, a embalagem e o transporte das amostras. As amostras só serão coletadas de participantes que tenham dado seu consentimento e/ou assentimento. É essencial garantir que todos os resíduos biológicos gerados durante a coleta de amostras sejam manejados de acordo com as normas e recomendações de cada país.
- **Ao final do dia,** todas as equipes devem entregar as embalagens contendo os formulários e amostras ao supervisor, que por sua vez as entregará ao coordenador do laboratório para processamento e armazenagem.

O Quadro 4.2 resume os aspectos relevantes para garantir a qualidade das amostras coletadas e dos formulários preenchidos.

QUADRO 4.2 Aspectos para garantir a qualidade dos dados e das amostras coletadas durante um inquérito

1. Supervisão. Durante a vigilância sorológica integrada baseada em levantamentos, a equipe coordenadora deve definir o número de supervisores necessários para garantir que todas as equipes de campo tenham apoio e sejam monitoradas. As equipes de campo devem ser supervisionadas desde o início da etapa de coleta de dados e amostras para garantir que as devidas correções ocorram de maneira oportuna, se necessárias. Os supervisores devem verificar se a operação está progredindo corretamente, resolver quaisquer problemas que surjam e garantir que tanto os dados como as amostras estejam sendo coletados e armazenados corretamente. Caso a equipe de campo enfrente algum problema relativo à estratégia de amostragem (por exemplo, procedimentos de inscrição dos participantes, conforme descrito no protocolo), o supervisor deve perguntar à equipe nacional como deve proceder, e não deixar a decisão a critério das equipes.

2. Controle de qualidade. O controle de qualidade deve ser realizado tanto em amostras de sangue quanto nos formulários preenchidos (cartas e questionários, conforme o caso). Deve-se certificar de que esses últimos estejam completamente preenchidos e legíveis. As amostras de sangue devem passar por duas verificações em relação aos critérios de qualidade estabelecidos, tais como volume da amostra, rotulagem, secagem completa (no caso de serem usadas amostras de sangue seco) e armazenamento com dessecante para controle de umidade, embalagem, controle de temperatura e ligação adequada das amostras aos formulários para garantir que não haja erros. É importante monitorar e verificar se o número de participantes que concordaram em participar do levantamento corresponde ao número de questionários, ao número de formulários de consentimento e/ou assentimento, bem como ao número de amostras coletadas.

O manual de referência para inquéritos de cobertura vacinal por conglomerados da OMS (64) é recomendado para rever aspectos de como o trabalho de campo deve ser conduzido, e recomenda-se, em particular, revisar a Seção 4, relacionada aos levantamentos domiciliares. Ele fornece informações úteis sobre como reduzir o viés de informação e de seleção quando da entrevista e coleta de dados de carteiras de vacinação e registros de saúde.

4.5 Análise das amostras

Uma vez que as amostras cheguem ao laboratório onde serão analisadas, o pessoal do laboratório deve verificar a condição física das amostras, a etiqueta, o volume, a documentação associada (formulários e cartas corretos e completos) e conferir o código de identificação de cada amostra em um banco de dados ou lista. Se as amostras forem etiquetadas com um código de barras e houver um leitor de código de barras no laboratório, o pessoal poderá criar esse banco de dados em tempo real, na medida em que as amostras chegam ao laboratório. Deve-se assegurar que seja feita a vinculação correta dos

formulários com as amostras no banco de dados. No caso de as amostras terem sido coletadas, o banco de dados do laboratório deve incluir um registro dos participantes que recusaram que suas amostras fossem armazenadas para estudos futuros. Isso facilita identificar as amostras que devem ser descartadas após o processamento.

É importante documentar todas as atividades realizadas no laboratório e identificar os códigos de todas as amostras rejeitadas (amostras não identificadas, aquelas com volume insuficiente, mal armazenadas ou embaladas etc.). Essas informações devem ser levadas em conta durante a análise dos resultados do inquérito. Os materiais, reagentes e equipamentos necessários para a análise dependerão diretamente do ensaio escolhido. O Módulo 5, sobre métodos de laboratório, fornece informações mais detalhadas sobre a coleta e a análise de amostras.

Métodos laboratoriais

5.1 O que significa rastrear a IgG?

Os anticorpos são biomarcadores úteis para caracterizar a imunidade das pessoas, e são derivados tanto da vacinação quanto da exposição natural a vários patógenos (28). Os patógenos deixam para trás pegadas imunológicas na forma de anticorpos, que duram meses ou anos. Esses podem ser detectados no sangue e, em alguns casos, em tecidos como saliva e urina. Isso torna os anticorpos biomarcadores úteis para caracterizar a exposição em uma população. Além disso, os anticorpos induzidos por vacinação podem ser usados para estimar a soroproteção nas comunidades.

O monitoramento dos níveis de imunoglobulina (Ig) G é útil para os inquéritos sorológicos devido a sua alta abundância e longevidade no plasma comparado com outros isótipos de anticorpos (principalmente IgM, IgA e IgE). A Figura 5.1 mostra um exemplo de curvas de anticorpos IgM e IgG e uma linha de tempo aproximada desde a infecção ou a imunidade induzida por vacina. Ela mostra, graficamente, como a resposta dos anticorpos varia ao longo do tempo a contar da infecção. Os anticorpos IgM aumentam após uma exposição inicial a uma nova infecção e diminuem após dias ou semanas enquanto a produção de IgG começa. Os níveis de anticorpos IgG aumentam e se estabilizam com o tempo, persistindo durante meses ou anos dependendo do patógeno ou da dinâmica dos anticorpos específicos da vacina. Os níveis de IgG aumentam rapidamente se a pessoa for exposta repetidamente ao mesmo antígeno e, em alguns casos, podem gerar proteção no longo prazo.

FIGURA 5.1 Anticorpos IgG indicam exposição presente e passada a patógenos infecciosos ou imunidade induzida por vacina



Fonte: Organização Pan-Americana da Saúde. Figura adaptada para este documento.

Isso destaca os diferentes usos dos anticorpos como biomarcadores sanguíneos para a vigilância. O IgG pode ser usado como um marcador de infecções passadas e de proteção contra infecções futuras, enquanto o IgM pode ser usado como um marcador de infecções recentes. Dos outros isótipos de anticorpos, que são menos comumente usados na vigilância, o IgA reflete infecção da mucosa e o IgE reflete ou infecção por certos tipos de vermes, ou hipersensibilidade.

Apesar de os anticorpos representarem uma resposta possivelmente longa do hospedeiro à infecção, os testes sorológicos também podem identificar antígenos derivados de patógenos diretamente no soro como um marcador de infecção atual ou muito recente, como, por exemplo, no caso do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (65). Há uma demanda crescente por ensaios rápidos, precisos e econômicos para a medir esses analitos em ambientes clínicos e de pesquisa (37, 66). Este módulo se dedica aos aspectos laboratoriais para a detecção de anticorpos IgG no sangue, pois esses são os anticorpos mais comumente detectados em inquéritos sorológicos.

5.2 Ensaios sorológicos

Vários métodos laboratoriais estão disponíveis para detectar anticorpos. Tais métodos podem ser amplamente categorizados como ensaios de ligação ou ensaios funcionais.

Os ensaios de ligação demonstram a ligação de anticorpos ao antígeno, como os testes de diagnóstico rápido (RDT) baseados em sistemas de fluxo lateral, que retornam resultados dicotômicos (positivos ou negativos) em um curto período de tempo (normalmente menos de 30 minutos), e testes quantitativos, como os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) ou imunoenaios baseados em microesferas. Os ensaios de ligação podem ser elaborados para detectar isótipos específicos de anticorpos envolvidos na ligação (por exemplo, IgG) e são geralmente realizados em laboratório. A maioria dos inquéritos sorológicos utiliza ensaios de ligação.

Os ensaios funcionais, como os ensaios de neutralização, fornecem informações quantitativas sobre a capacidade dos anticorpos de neutralizar um patógeno, como, por exemplo, impedir a entrada de um vírus em uma célula. Os ensaios de neutralização são os mais demorados e complicados dos testes mencionados (67).

Os ensaios múltiplos são uma tecnologia poderosa que permite que diversos analitos (por exemplo, anticorpos de diferentes patógenos) sejam medidos simultaneamente em uma única amostra. Esse tipo de ensaio é útil para fins de vigilância sorológica integrada de doenças transmissíveis, pois pode representar um meio eficiente para monitorar a exposição a múltiplos patógenos utilizando uma única amostra de sangue (68).

Os testes sorológicos, como outros testes clínicos, envolvem algum grau de erro. Compreender o grau de erro que ocorre e o efeito sobre os resultados de indivíduos e populações é fundamental para usar os resultados dos testes sorológicos para subsidiar políticas de saúde pública e a tomada de decisões operacionais. A exatidão de um teste sorológico pode estar diretamente relacionada com o mecanismo do próprio teste ou pode ser influenciada por condições epidemiológicas, como a prevalência esperada ou conhecida da doença na população.

Alguns aspectos a serem considerados para selecionar o teste mais adequado para inquéritos sorológicos são:

- Sensibilidade e especificidade;
- Repetibilidade e reprodutibilidade;
- Rendimento (*throughput*) do processamento de amostras (ou seja, o uso de equipamento para automatizar a detecção de anticorpos e processar um grande número de amostras);
- Custo (uma estimativa realista dos recursos necessários para apresentar os resultados de acordo com o cronograma do levantamento);
- Prazo para a entrega dos resultados.

Além disso, também é importante determinar a complexidade do processo de coleta de amostras, inclusive o volume de amostras a serem coletadas e as condições de armazenamento e transporte, tais como temperatura e umidade. Todos esses fatores terão implicações para o treinamento e a padronização das práticas aplicadas pelos trabalhadores de campo.

Para cada tipo de ensaio, devem ser estabelecidos procedimentos claros para a coleta, armazenamento e transporte das amostras até o laboratório onde serão analisadas. Ao utilizar amostras coletadas em pesquisas planejadas anteriormente para a vigilância de outras doenças ou armazenadas em bancos de soro, é importante considerar se as amostras serão de soro, sangue ou de sangue seco, uma vez que isso é importante para o processamento laboratorial.

Para facilitar, neste módulo sobre vigilância sorológica integrada foi escolhido um ensaio multiplex com microesferas (MBA) para a detecção de IgG.

5.3 Uso de ensaios multiplex com microesferas para a vigilância sorológica integrada

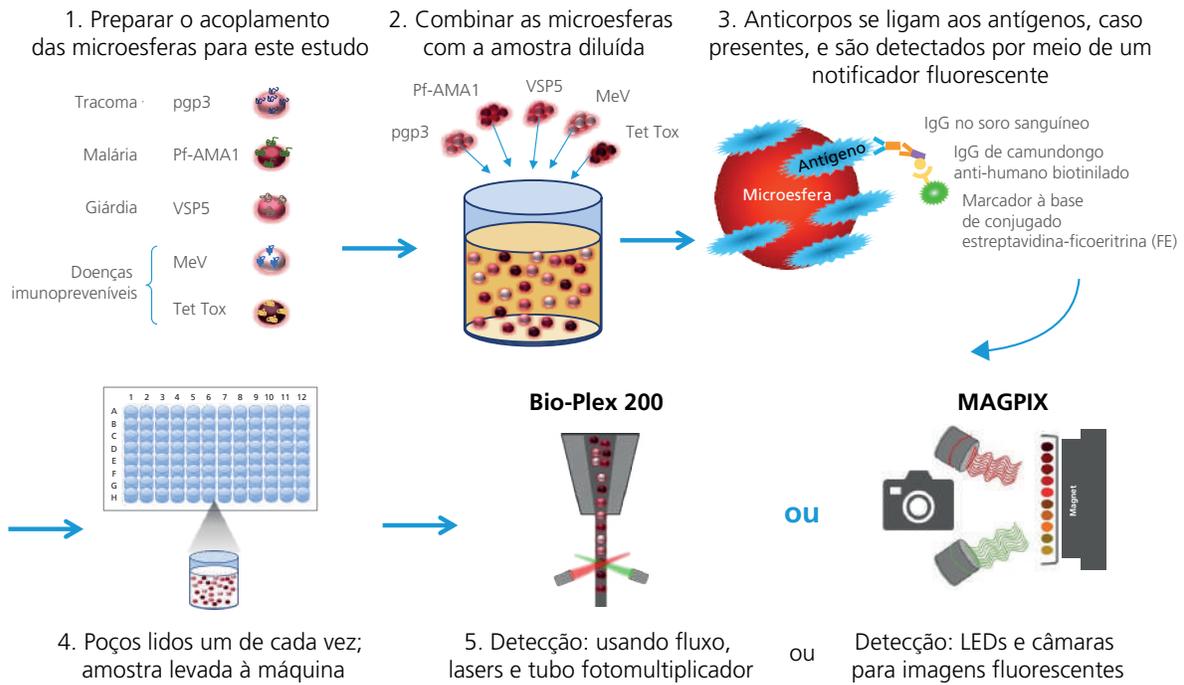
Os MBA que utilizam tecnologia Luminex (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA) correlacionam-se bem com os métodos tradicionais de sorologia. Eles têm sido amplamente utilizados para medir níveis de anticorpos em amostras de soro coletadas em estudos populacionais, transversais e longitudinais para monitorar perfis de imunidade e ajudar a caracterizar a transmissão de diferentes doenças transmissíveis (20, 21, 24, 30, 38-40, 53, 69-75).

Os MBA utilizam uma combinação de microesferas fluorescentes e leitores personalizados com software desenvolvido para esses ensaios (Figura 5.2). Um MBA pode detectar simultaneamente até 50/100/500 antígenos, dependendo do instrumento utilizado, e usa uma alíquota muito pequena de amostra (<1 µL). Esse sistema permite a criação de ensaios personalizados com base nas necessidades de saúde pública dos programas, com um custo incremental muito pequeno em função da adição de antígenos.

A Figura 5.2 esquematiza o processo de MBA para executar as análises e ler os resultados:

- Microesferas tingidas com corante fluorescente e ligadas a determinados antígenos são misturadas em um poço com uma amostra.
- Qualquer anticorpo na amostra que reconheça qualquer um dos antígenos selecionados se ligará a esse antígeno.
- As microesferas são incubadas com anticorpos anti-humanos biotinilados – estes se ligarão aos anticorpos da amostra que estão ligados aos antígenos das microesferas.
- Em seguida, as microesferas são incubadas com estreptavidina conjugada com R-ficoeritrina (SA-PE). A estreptavidina se liga à biotina com alta afinidade.
- A amostra é analisada por um instrumento (por exemplo, BioPlex200 ou MAGPIX) que reconhece as microesferas com base na fluorescência interna e mede a ficoeritrina (FE) em cada microesfera. Múltiplas leituras de cada uma das microesferas do mesmo antígeno são realizadas pela máquina e são usadas para calcular uma intensidade mediana de fluorescência (MFI) por antígeno por amostra, com base no nível mediano de FE lido em cada microesfera. A MFI é equivalente ao nível de anticorpos em uma amostra.

FIGURA 5.2 Execução e leitura do ensaio multiplex com microesferas



Fonte: Centros de Controle e Prevenção de Doenças, Equipe de Sorovigilância Integrada. Figura adaptada para este documento.

Os ensaios múltiplos oferecem vantagens significativas em relação ao custo, logística, tempo de laboratório, exigências em termos de amostras e a quantidade de dados que podem ser gerados (76), mas também apresentam limitações, como descrito na Tabela 5.1.

Vários grupos nos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos EUA e outros parceiros têm trabalhado há mais de uma década na caracterização e validação de muitos antígenos a serem utilizados na plataforma MBA para apoiar a vigilância sorológica integrada de DIN, DIP, doenças transmitidas por vetores, doenças transmitidas por alimentos e pela água, entre outras doenças infecciosas. Essa plataforma é usada para detectar e medir anticorpos IgG, pois esses são os anticorpos mais comumente detectados em inquéritos sorológicos.

O Anexo 5.1 fornece uma lista de exemplos de antígenos disponíveis no CDC para uso na plataforma de MBA (atualizada em agosto de 2021), inclusive detalhes sobre as informações que cada antígeno pode fornecer quando incluído em pesquisas de base populacional, a utilidade deles em diferentes cenários epidemiológicos, a faixa etária na qual as informações sorológicas são mais úteis, possíveis intervenções a serem implementadas em resposta aos resultados da soroprevalência e algumas considerações de interesse (por exemplo, reatividade cruzada).

TABELA 5.1 Vantagens e limitações dos ensaios multiplex

ASPECTOS	VANTAGENS	LIMITAÇÕES
Exigências em termos de amostra	<ul style="list-style-type: none"> • Utiliza um volume de amostra relativamente pequeno (<1 µL de sangue capilar), que é facilmente coletado por uma lanceta e permite que o restante da amostra seja preservado para análises adicionais ou futuras. • Funciona igualmente bem com amostra de soro ou de sangue seco. 	
Desempenho do ensaio	<ul style="list-style-type: none"> • Detecta múltiplos analitos a partir de uma única amostra, eliminando a necessidade de utilizar diversos métodos de coleta de um único dado, como no caso do ELISA convencional. • É relativamente fácil fazer painéis personalizados de antígenos por meio da ligação covalente de antígenos a microesferas, que podem ser classificadas espectralmente conforme sua marcação fluorescente interna. • Em termos comparativos, é melhor que os resultados de outros ensaios. Tem alta sensibilidade e especificidade, sendo considerado o “padrão ouro” para doenças imunopreveníveis. • Tem uma melhor relação sinal/ruído e é mais reprodutível do que o ELISA. • A detecção por fluorescência permite uma faixa dinâmica ampla, de modo que uma única diluição pode quantificar uma grande variedade de respostas. 	<ul style="list-style-type: none"> • No multiplex, não é possível separar os isotipos de anticorpos específicos: <ul style="list-style-type: none"> - As respostas específicas de IgM precisam ser medidas separadamente; - Não diferencia subclasses específicas (por exemplo, IgG total em relação a IgG4). • A concentração de anticorpos específicos no soro pode precisar de diferentes diluições: <ul style="list-style-type: none"> - A Divisão de Doenças Parasitárias e Malária do CDC utiliza diluições de soro 1:400 em seu ensaio multiplex; - O grupo de HIV do CDC usa 1:100 para o teste de saúde materno-infantil. • O controle de qualidade é complicado devido ao grande número de antígenos incluídos em cada ensaio.
Custos e logística	<ul style="list-style-type: none"> • Minimiza os custos de mão de obra por amostra: custa menos por amostra que o ELISA de duplo antígeno para tétano ou um ELISA para sarampo e rubéola, que é semelhante ao custo total de um MBA de 20 antígenos (28). • A saída de dados varia de 50 alvos lidos em 45 minutos em 96 poços (4.800 pontos de dados) no instrumento mais simples até 500 alvos lidos de uma placa com 384 poços em 30 minutos (192.000 pontos de dados) no instrumento mais sofisticado. • Requer quantidades relativamente pequenas de insumos (como antígeno e reagentes de detecção). Os equipamentos auxiliares são essencialmente padronizados. 	<ul style="list-style-type: none"> • Leva tempo padronizar e validar todo antígeno novo: <ul style="list-style-type: none"> - Validar se forma ligação com uma microesfera: semanas; - Validar se apresenta um bom desempenho no ensaio: meses; - Validar o modo de funcionamento em diferentes ambientes de estudo e o que significam os dados: anos. • A cadeia de abastecimento é complexa: <ul style="list-style-type: none"> - Muitos antígenos são produzidos internamente no CDC; - É necessária uma cadeia de frio para transferir os reagentes. • Requer reagentes e instrumentos de detecção extremamente especializados. • Os instrumentos são caros e de difícil manutenção.

Essas informações são particularmente úteis quando um grupo de trabalho decide que a plataforma de MBA pode ser utilizada para atingir os objetivos e antígenos de interesse de uma pesquisa de vigilância sorológica. Uma lista de exemplos de antígenos que foram incluídos nos MBA para testar a presença de vários patógenos ou doenças também pode ser consultada no apêndice técnico do artigo de Arnold et al. (28).

5.4 Sensibilidade, especificidade e reatividade cruzada

A **sensibilidade** mede a frequência com que um teste gera corretamente um resultado positivo em pessoas que têm a condição testada.

A **especificidade** mede a frequência com que um teste gera corretamente um resultado negativo nas pessoas que não têm a condição testada.

A maioria dos dados de sensibilidade dos ensaios sorológicos baseia-se em infecções ativas, mas é importante levar em consideração que uma pessoa pode ter IgG por exposição, infecção atual ou infecção passada.

A especificidade indica a probabilidade de cada antígeno produzir um resultado falso positivo; ela reflete o desempenho de um ensaio em um grupo de indivíduos negativos. Dentre os fatores que afetam a especificidade de um teste estão a taxa de falsos positivos ou a reatividade cruzada com antígenos de outros patógenos. Esse é frequentemente o caso quando dois antígenos possuem regiões estruturais similares, que o anticorpo reconhece.

A reatividade cruzada pode ser consequência de:

- Patógenos relacionados
 - Vírus da mesma família filogênica (por exemplo, dengue e Zika);
 - Vermes filariais (oncocercose e filariose linfática);
 - Ácaros (sarna e ácaros encontrados em poeira doméstica).
- Antígenos não relacionados
 - Autoimunidade associada a um patógeno.

Respostas positivas inespecíficas também podem impactar a especificidade. Essas respostas resultam principalmente das técnicas de laboratório utilizadas para purificar os antígenos utilizados no ensaio. Muitos antígenos precisam ser produzidos de forma recombinante em sistemas de expressão bacteriana ou de mamíferos. Durante a purificação, algumas das moléculas da célula hospedeira podem contaminar o antígeno, e, por sua vez, também podem ser ligadas às microesferas usadas no MBA, e um indivíduo pode ter anticorpos que reconhecem esses contaminantes. O ensaio contém um tampão e controles para ajudar a reduzir e identificar respostas inespecíficas, conforme descrito nas Seções 5.6 e 5.7.

O Anexo 5.2 mostra valores de sensibilidade e especificidade (intervalos de confiança de 95%) de alguns dos antígenos de MBA validados, inclusive painéis de classificação negativos e positivos usados para implementar as etapas de validação e o teste sorológico de referência aceito para cada antígeno, quando disponível.

5.5 Definição do valor de corte e da soropositividade para o ensaio multiplex com microesferas

Para o MBA, o valor de corte é o valor de MFI acima do qual as amostras são classificadas como soropositivas. Um resultado soropositivo pode ser interpretado como positivo para a exposição ou infecção por um patógeno, ou como um certo nível de soroproteção gerado pela vacinação.

Diferentes métodos são usados para estabelecer os valores de corte para um determinado antígeno (68). É crucial compreender as diferentes abordagens para assegurar a interpretação apropriada dos dados para apoiar a tomada de decisões. As metodologias mais comuns usadas para determinar os valores de corte para os diferentes antígenos do MBA são:

- **Curvas padrão usando normas internacionais ou materiais internacionais de referência.** A Organização Mundial da Saúde (OMS) (77) fornece amostras de referência com concentrações conhecidas de anticorpos em unidades internacionais para determinadas doenças, principalmente DIP (por exemplo, tétano, difteria, sarampo e rubéola). Esses padrões podem ser usados para validar valores de corte previamente estabelecidos usados em ensaios que obedecem ao ideal de qualidade para serem usados em um novo ensaio (78-80). Além disso, séries de diluição (isto é, curvas padrão) feitas com padrões internacionais podem ser usadas para converter os resultados brutos de um ensaio de MFI em unidades internacionais para análise.
- **Amostras negativas ou de áreas não endêmicas.** Os valores de MFI de amostras provenientes de pessoas que se supõe nunca terem sido expostas a uma doença podem ser usados para calcular uma média mais 3 a 5 desvios padrão (dependendo do nível de confiança desejado) para determinar o valor de corte. Essa abordagem é utilizada, predominantemente, para doenças infecciosas utilizando amostras de pessoas que vivem em áreas não endêmicas, uma vez que é possível presumir que nunca tenham sido expostas. As amostras coletadas antes da introdução de uma doença também são adequadas (por exemplo, residentes dos Estados Unidos antes de 2020 para o SARS-CoV-2).

- **As curvas de características operacionais do receptor (ROC)** usam grupos de amostras positivas definidas por ensaios ou sinais clínicos separados, bem como amostras negativas de indivíduos que presumivelmente nunca tenham sido expostos (81). As respostas de MFI dessas amostras são combinadas, e a sensibilidade e especificidade são calculadas com vários valores de corte possíveis para identificar o melhor, proporcionando a melhor diferenciação entre as populações soronegativas e soropositivas verdadeiras – por exemplo, um corte que atribua igual peso à sensibilidade e à especificidade (82). O valor de corte também pode ser ajustado para otimizar a sensibilidade ou especificidade para melhor atender aos objetivos do estudo. A disponibilidade de amostras positivas e às vezes negativas é altamente variável e geralmente é um fator limitante para o uso deste método.
- **Métodos estatísticos de modelagem dos dados do estudo** são usados para identificar um ponto de ruptura entre a distribuição de respostas altas e baixas dentro dos dados da população do estudo para determinar as positivas e negativas. Exemplos disso são modelos de mistura finita e de maximização da expectativa (83).

Normas internacionais e medidas bem validadas de valores de corte de IgG estão disponíveis principalmente para as DIP e alguns outros patógenos específicos. Mas para outras doenças transmissíveis, determinar os cortes é complicado por faltarem padrões internacionais e controles clinicamente definidos, bem como por possíveis diferenças em relação ao aspecto do “sinal de fundo” na população estudada em comparação com outra população.

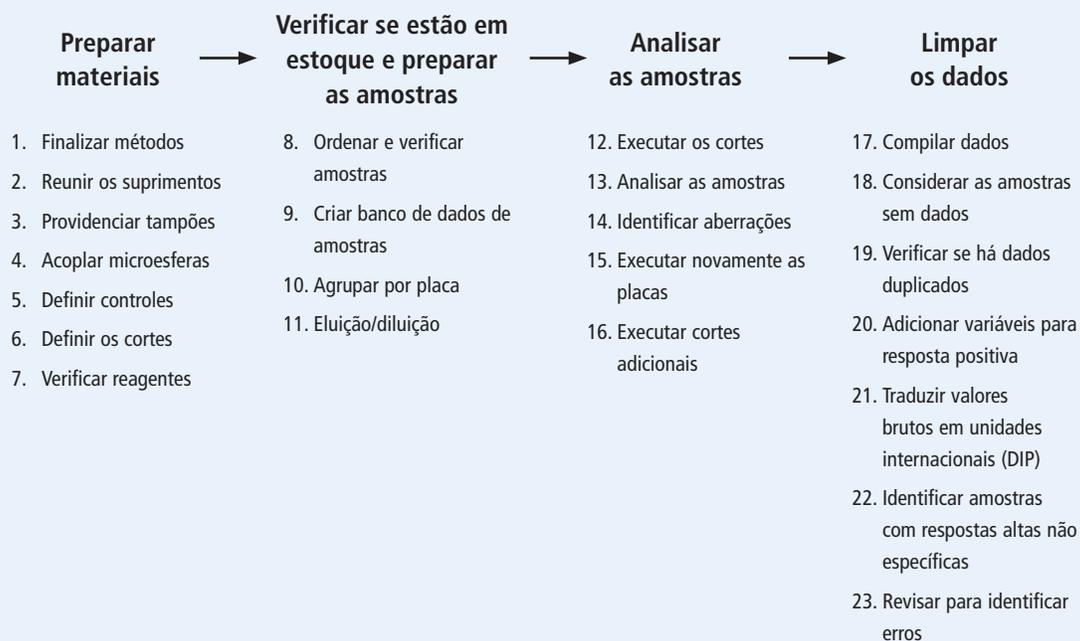
5.6 Garantia da qualidade

A garantia da qualidade é a arte de prevenir ou minimizar os erros antes que eles aconteçam. O laboratório deve garantir que seus testes sejam precisos e consistentes. As medidas de garantia de qualidade devem cobrir todos os aspectos dos testes, inclusive:

- Reagentes e suprimentos;
- Manutenção de equipamentos;
- Treinamento e competência do pessoal;
- Coleta e armazenamento de amostras.

O planejamento do processo laboratorial é essencial para garantir a qualidade. O Quadro 5.1 descreve 23 etapas para a realização de testes sorológicos. Um fluxo de trabalho deve ser desenvolvido para reduzir os erros (especialmente se mais de uma pessoa estiver trabalhando em um estudo).

QUADRO 5.1 Processos laboratoriais: 23 etapas para realizar testes sorológicos



Fonte: Centros de Controle e Prevenção de Doenças, Equipe de Sorovigilância Integrada. Figura adaptada para este documento.

Reagentes e suprimentos

Todos os reagentes e consumíveis devem ser adquiridos antes do início para evitar trocas de lotes e que venham a faltar, e seu desempenho deve ser verificado. Trocar lotes de reagentes essenciais pode impactar a especificidade e sensibilidade dos testes e complicar ou confundir a capacidade de fazer análises. Os reagentes e consumíveis são agrupados em três categorias com base na probabilidade de mudança de lote (lote de produção) ou de o fabricante poder alterar os sinais do ensaio: não essenciais (materiais de consumo), semiessenciais (tampões e diluições) e essenciais (reagentes de detecção, antígenos, acoplamentos).

Os reagentes críticos para MBA incluem:

- Reagentes de detecção. IgG e IgG4 anti-humanos e conjugado estreptavidina–R-ficoeritrina (SA-PE), produtos comerciais que passam por controle de qualidade durante a fabricação para atender a determinadas especificações.

- Lisado de *E. coli* (uma cepa de *Escherichia coli* usada para expressar proteínas recombinantes). É produzido internamente no CDC. Alguns antígenos tendem a apresentar falso positivo quando o lisado de *E. coli* não é incluído no tampão de diluição da amostra.
- Microesferas acopladas a antígeno. O lote de acoplamento de antígenos pode ser uma fonte de variação, e alguns antígenos são mais propensos à variação que outros. Deve-se determinar o valor de corte de cada lote. Quando houver troca de lotes de reagentes essenciais, o mesmo lote de acoplamento deve ter um novo valor de corte determinado.
- Antígeno. Mudar muitos antígenos pode introduzir variações significativas tanto em termos do número de antígenos afetados quanto do grau de variação. Novos lotes de antígenos precisam ser submetidos a uma verificação mais rigorosa para reavaliar a sensibilidade e a especificidade com um painel de validação.
- Consumíveis. Esses são muitas vezes intercambiáveis, mas deve-se considerar as principais qualidades ao se escolher substitutos, e uma boa prática é verificar a mudança de itens mais significativos. Isso inclui folhas de alumínio para selagem e tubos e placas de ensaio onde ocorrem interações proteicas, sendo preferíveis plásticos de baixa ligação.

Equipamento e manutenção

As máquinas precisam de manutenção contínua para permanecerem em boas condições. Elas requerem rotinas diárias de limpeza com água sanitária e hidróxido de sódio, importantes para minimizar a contaminação, sendo que as rotinas semanais de limpeza, inclusive com o uso de sondas de limpeza, ajudam a evitar entupimentos. Além disso, deve-se assegurar a manutenção preventiva anual.

Treinamento e competência da equipe

É necessário garantir a competência técnica dos novos integrantes da equipe e de indivíduos previamente treinados. Recomenda-se ter um painel de amostras com reatividade definida a um antígeno de referência para servir de base para o pós-treinamento e para a avaliação anual da técnica laboratorial. Recomenda-se a realização de testes de proficiência ou avaliação de qualidade externa (AQE) para medir o desempenho do laboratório dentro de uma rede de laboratórios de controle de qualidade.

Um fluxo de trabalho de ritmo razoável deve ser planejado de acordo com os ensaios selecionados. Por exemplo, para a equipe dedicada aos MBA, o ponto de partida mínimo são oito placas de trabalho por semana de cinco dias. Em um laboratório em bom funcionamento, a equipe mais experiente pode trabalhar com um número maior. O ritmo dos testes deve permitir que haja tempo para realizar procedimentos de validação e manutenção das máquinas, gestão adequada dos dados e revisão dos controles.

Coleta e armazenamento de amostras

É essencial aplicar boas práticas na coleta, armazenamento e processamento de amostras porque não é fácil definir indicadores de qualidade objetivos. Problemas comuns de manuseio de amostras que podem

levar a erros incluem a degradação de amostras de soro devido à falta de cadeia fria ou ciclos repetidos de congelamento e descongelamento, medição imprecisa de amostras de soro devido à viscosidade, degradação de amostras de sangue seco devido a contaminação e/ou armazenamento em condições úmidas e sub ou superenchimento da amostra.

As amostras de sangue seco coletadas dos participantes devem ser armazenadas em sacos pequenos, bem fechados e transparentes, com identificação da amostra por código de barras visível. Grupos de amostras são armazenados em um saco maior, grosso, contendo dessecante e indicadores de umidade e com vedação larga. As amostras de sangue seco devem ser mantidas secas, o mais frias possível e protegidas da luz até que possam ser armazenadas em freezer, pois a proteção contra umidade é essencial para a estabilidade das amostras. As necessidades de armazenamento no longo prazo devem ser consideradas desde o planejamento; as amostras de sangue seco devem ser armazenadas de -20 °C a -80 °C.

Uma vez que as amostras cheguem ao laboratório onde serão analisadas, a equipe de laboratório deve verificar a condição física das amostras, a etiqueta, o volume e a documentação associada (formulários e cartas corretos e completos), e conferir o código de identificação de cada amostra em um banco de dados ou lista. Recomenda-se que todas as amostras sejam identificadas por código de barras e digitalizadas para a criação de um banco de dados de amostras de laboratório. Deve-se confirmar que as amostras sejam somente de indivíduos que tenham dado consentimento para a realização dos testes. Os resultados dos testes devem ser rastreáveis e vinculados ao número de identificação do participante. Esse código exclusivo será usado durante todo o processo e para vincular os resultados finais do laboratório aos dados demográficos e epidemiológicos coletados em campo.

Uma vez que todas as amostras tenham sido testadas e os resultados laboratoriais tenham sido disponibilizados, os dados laboratoriais devem ser compilados em um banco de dados e combinados aos do banco de dados demográficos. O banco de dados final deve ser cuidadosamente revisado para garantir que não haja amostras com o mesmo identificador e que as amostras sem dados laboratoriais ou com dados excluídos tenham sido documentadas, de modo que todas as amostras sejam contabilizadas. O controle de qualidade dos dados e verificações cruzadas devem ser implementados para garantir a completude e precisão do banco de dados.

Deve-se criar um dicionário de dados que defina todas as variáveis de análise (por exemplo, se as amostras forem sinalizadas por terem reações altas com controles negativos). Se for o caso, o banco de dados deve incluir um registro dos participantes que recusaram ter suas amostras usadas em estudos futuros. Isso facilita identificar as amostras que devem ser descartadas após o processamento.

5.7 Controle de qualidade

O controle de qualidade (CQ) é o guardião de dados confiáveis. Para garantir que todos os procedimentos de laboratório sejam realizados com alto nível de qualidade e, portanto, produzam

resultados confiáveis, exatos e reprodutíveis, procedimentos eficientes de CQ devem ser adotados durante as fases:

- Pré-analítica: coleta, etiquetagem, embalagem e transporte; recebimento e registro de amostras por pessoal treinado.
- Analítica: preparação adequada, atenção rigorosa aos parâmetros físico-químicos, manutenção e calibração de equipamentos, testes de CQ etc.
- Pós-analítica: manutenção adequada de arquivos e amostras, descarte de amostras etc. (84).

O CQ exige procedimentos operacionais padronizados e limiares para prevenir, identificar e corrigir erros técnicos no laboratório (por exemplo, diluição de reagentes de detecção, fotobranqueamento de sinais fluorescentes, erros de pipetagem, amostras com respostas inespecíficas, baixa contagem de microesferas, entre outros). Os instrumentos de CQ usados em laboratório são:

- Controles
 - Amostras ou padrões com respostas conhecidas incluídas em cada placa;
 - Microesferas acopladas à proteína glutationa-S-transferase (GST) e lisado de células vero incluídas em cada poço para controlar a ligação não específica a essas proteínas envolvidas na purificação de antígenos.
- Contagem de esferas
 - Definir o número mínimo necessário de esferas por poço para garantir que o ensaio dê resultados de qualidade.
- Análises estatísticas
 - Critérios estatísticos para a definição de faixas e valores de corte.
- Retestagem de um subconjunto de amostras
 - Em um segundo laboratório independente (de preferência);
 - Por um segundo operador no mesmo laboratório (caso não haja a disponibilidade de um segundo laboratório).

5.8 Interpretação dos resultados sorológicos

Esta seção se refere a aspectos gerais da análise de dados laboratoriais, visto que as informações categóricas positivas e negativas de cada pessoa estão sendo usados para identificar níveis populacionais e tendências de transmissão para a compreensão dos resultados da sorologia. Para análise de dados e interpretação de inquéritos sorológicos integrados, consulte o Módulo 6 deste documento.

O plano de análise sorológica deve ser específico para cada doença. É importante entender a dinâmica dos anticorpos e a história natural de cada doença para interpretar o que significam as respostas a cada antígeno:

- Trata-se de uma infecção atual ou passada?
- A resposta resulta de vacinação ou de uma infecção natural?

- As respostas de anticorpos in vivo ocorrem rápido o bastante para detectar alterações na transmissão?
- A resposta contra um único antígeno implica positividade ou serão necessárias múltiplas exposições?

Para a análise descritiva básica dos dados sorológicos ao utilizar o MBA, recomendam-se os passos a seguir:

- Calcular a mediana e a amplitude da MFI para cada antígeno.
- Converter os resultados de DIP, passando de MFI para UI/mL:
 - Curva padrão do lote e ajuste com fórmula de regressão (por exemplo, ajuste a uma curva logística de 5 parâmetros, 5PL).
 - Os pontos da curva padrão que são platôs podem ser removidos para melhor ajuste da curva.
 - Use a fórmula para interpolar UI/mL a partir de valores brutos de MFI.
 - Os resultados das amostras fora do intervalo da curva devem ser truncados nos limites superior e inferior da curva, e isso deve ser anotado para análise.
- Criar variáveis binárias para soroprevalência de acordo com os valores de corte.
- Analisar níveis medianos de anticorpos e níveis de soroprevalência por faixa etária, subpopulação, estado de vacinação, entre outras variáveis identificadas no plano de análise.

Por fim, é importante levar em consideração que nenhum teste é perfeito, e que para medir níveis muito baixos de soropositividade (<1%, <5%, <10%), podem ser necessárias amostras grandes para obter estimativas precisas.

Análise de dados e tomada de decisões

Este módulo descreve as etapas para análise, visualização e interpretação dos dados, bem como para a preparação do relatório final de um inquérito sorológico integrado.

Análise dos dados e tomada de decisões

21. Limpeza e gerenciamento dos dados
22. Cálculo dos pesos das amostras
23. Determinação dos valores de corte
24. Estimativa da soroprevalência
25. Realização da análise descritiva
26. Análises adicionais e modelagem dos dados
27. Interpretação e visualização dos resultados
28. Preparação e divulgação do relatório
29. Tomada das decisões

6.1 Limpeza e gerenciamento dos dados

Um banco de dados “limpo”, no qual os dados para cada variável de interesse e os resultados laboratoriais correspondentes tenham sido vinculados para cada participante (ou seja, fusão de bancos de dados de laboratório e de pesquisa por número de identificação do participante), é essencial para análises adequadas. Quaisquer ajustes ou modificações feitas nos dados durante o processo de limpeza e depuração – por exemplo, correções ou exclusões – devem ficar registrados. Problemas com a fusão dos conjuntos de dados do laboratório e da pesquisa podem ocorrer se os processos adequados de CQ não forem seguidos durante as etapas de coleta de dados e processamento de amostras. Esses tipos de problemas devem ser resolvidos um a um, o que pode demandar muito tempo. Por isso, é melhor ser cauteloso desde o início.

A completude e consistência dos dados de cada variável de interesse registrada no banco de dados deve ser revista. Por exemplo, o banco de dados deve ser verificado quanto à ausência de respostas, especialmente para os principais itens do questionário relacionados aos resultados principais, e valores que requeiram revisão e correção. Da mesma forma, se a pesquisa foi corretamente implementada, o número de registros deve corresponder ao tamanho da amostra no protocolo; deve-se verificar se existem dados omitidos ou duplicados para minimizar o risco de erro e viés. Dependendo do tipo de inquérito realizado (escolar, domiciliar etc.), é importante calcular os seguintes indicadores de qualidade para o banco de dados: número de domicílios ou escolas visitadas em comparação com o número amostrado, número de indivíduos pesquisados em comparação com o tamanho da amostra calculado, número de questionários preenchidos (taxa de resposta) e de dados ausentes (ou respostas “não sei”), especialmente as variáveis principais do questionário.

Também é importante verificar os intervalos e a lógica dos dados para determinar a consistência. As verificações de faixa permitem detectar se os valores para uma determinada variável estão fora dos limites razoáveis ou possíveis (por exemplo, um homem grávido, um sujeito de 250 anos de idade). Uma vez detectado um erro, deve-se decidir se a informação pode ser verificada e corrigida, se o dado deve ser deixado como está ou, no caso de erros grosseiros, se deve ser excluído. É importante ter procedimentos padronizados para corrigir erros ou dados ausentes, como telefonar para a equipe, se ainda estiver em campo; tentar encontrar os registros na unidade de saúde, caso seja possível; comparar os dados com o formulário em papel ou fotografia, caso disponível (por exemplo, carteira de vacinação), entre outros.

Durante esta fase, também é útil rotular, recodificar ou criar novas variáveis necessárias para análise (por exemplo, grupos etários, status de soroproteção). Dependendo da estratégia de análise, pode ser útil analisar as variáveis como contínuas. Nesse caso, é essencial ter valores absolutos no banco de dados. Para variáveis contínuas (idade, quantidade de nível de anticorpos para cada antígeno etc.), testes devem ser realizados para obter o mínimo, máximo, mediana, média, desvio padrão e erro padrão, bem como testes de normalidade (Shapiro–Wilk, Kolmogorov–Smirnov). Em alguns casos, criar variáveis categóricas a partir de variáveis contínuas ou recodificá-las para reduzir o número de grupos, no caso de

muitas categorias com números pequenos, é mais útil para a análise da subpopulação ou dos resultados principais.

A análise exploratória geralmente ajuda a identificar pontos fora da curva. Após a conclusão dessa análise de dados e da análise exploratória, pode ser necessário executar uma depuração final dos dados para obter dados brutos antes de prosseguir para o cálculo de pesos e resultados ponderados.

6.2 Cálculo do peso das amostras

Para os dados da pesquisa, os pesos devem ser calculados com base no procedimento de amostragem e na probabilidade de um indivíduo ser selecionado para o inquérito em cada etapa da amostragem. A probabilidade de amostragem é a probabilidade de um determinado indivíduo ser selecionado ou incluído na amostra e representa uma combinação das probabilidades em cada etapa da seleção (por exemplo, conglomerado, família, indivíduo).

O cálculo do peso das amostras inclui:

- O cálculo do peso do delineamento;
- Ajuste para ausência de resposta;
- Pós-estratificação para igualar os totais da população.

Vários softwares podem ser usados para calcular pesos, tais como Stata, R, SAS e SPSS. Os Anexos J e K (páginas 186 a 189) do manual de referência para inquéritos de cobertura vacinal da OMS fornece orientações sobre dados, procedimentos e softwares usados para calcular os pesos para um inquérito (64).

6.3 Determinação dos valores de corte

Considerando o tipo de ensaio e os patógenos incluído no levantamento, é crucial determinar se em todas as amostras o nível de anticorpos está acima do valor de corte de soropositividade postulado. Para cada patógeno infeccioso específico, o valor de corte varia de acordo com a sensibilidade do ensaio e a finalidade da análise. Com base nesse valor, os indivíduos são classificados como soronegativos ou soropositivos.

Existem vários métodos estatísticos para determinar o valor de corte em testes sorológicos, tais como aqueles focados na otimização da sensibilidade ou especificidade, otimização da precisão do teste, otimização do valor preditivo (78), regressão logística, curvas ROC (85), entre outros. Todos esses métodos exigem controles positivos e negativos para calcular o ponto de corte mais apropriado. Usando uma análise de regressão logística e uma curva ROC, é possível determinar o melhor valor de corte de densidade óptica, onde se vê a relação linear entre a quantidade e a concentração do analito presente na amostra (86-88).

Se for utilizada a plataforma ensaio MBA, deve-se ter o cuidado de examinar os sinais mínimos e máximos para cada antígeno, para assegurar que os valores sejam relatados corretamente e que qualquer censura de um sinal acima ou abaixo de um determinado valor crítico seja anotada. Os cortes para DIP e outros antígenos relevantes precisam ser calculados com base na curva padrão com o respectivo soro de referência e cortes estabelecidos para proteção imunitária (89).

6.4 Estimativa da soroprevalência

A soroprevalência é a proporção estimada de pessoas com níveis de anticorpos acima de um ponto de corte predeterminado, e é um resultado fundamental dos estudos sorológicos. Para aproximar o valor real da soroprevalência, é importante calcular não apenas a prevalência pontual, mas também intervalos de confiança de 95% para aumentar a probabilidade de incluir o valor real dentro desse intervalo. As estimativas pontuais e os intervalos de confiança de 95% devem ser calculados usando software de estatística que permita considerar o delineamento do inquérito e o peso das amostras. Outros desfechos primários podem incluir a mediana e a amplitude (ou intervalo) interquartil dos valores de anticorpos.

Ao calcular a soroprevalência, os resultados finais nas tabelas analíticas devem ser análises ponderadas que levem em consideração o delineamento do inquérito. Da mesma forma, comparações estatísticas de valores de soroprevalência entre subpopulações devem ser calculadas usando esses métodos também, cruzados por variáveis de interesse (faixa etária, sexo, município/região, residência urbana em vez de rural, entre outros).

É importante ter em mente que, dependendo dos objetivos e do delineamento do inquérito, bem como do nível de estratificação (por exemplo, localidade, distrito, província, área rural ou urbana), o tamanho da amostra pode ser insuficiente para detectar diferenças estatísticas entre categorias com poucas observações em pelo menos um grupo. Nesse caso, reduzir o número de categorias das variáveis de classificação de uma tabela de contingência pode ser relevante se o tamanho da amostra for adequado (90, 91).

As respostas de anticorpos a patógenos específicos são descritas em relação à soroproteção, taxas e intervalos de tempo de infecção, entre outros. Entretanto, para DIN e malária, por exemplo, não há atualmente parâmetros de soroprevalência ou limiares de soroprevalência estabelecidos para apoiar a tomada de decisões em cenários de controle, eliminação ou pós-eliminação. Ainda assim, os dados de soroprevalência são úteis e fornecem informações suplementares, como explicado abaixo, para a análise dos padrões de transmissão em populações de interesse.

6.5 Realização da análise descritiva

A análise descritiva permite a caracterização da amostra por estratos geográficos (região, distrito, localização), variáveis demográficas (tais como residência rural comparada com urbana, sexo, idade) e outros fatores de interesse (tais como histórico de vacinação e fatores de risco de transmissão), dependendo da(s) doença(s) de interesse. Resumos de análises descritivas devem incluir:

- descrição da amostragem do inquérito: número de unidades administrativas, pessoas pesquisadas, número de recusas, idade, sexo, entre outros;
- no caso de variáveis categóricas, uma tabela de frequência que inclua números absolutos e porcentagem do conjunto de dados;
- no caso de variáveis contínuas, cálculo do mínimo, máximo, mediana, média, desvio padrão, erro padrão, entre outros.

O Anexo 6.1 fornece algumas recomendações para a análise descritiva dos dados de inquéritos de vigilância sorológica integrada.

6.6 Análises adicionais e modelagem dos dados

Dependendo das características do estudo, do tamanho da amostra e das variáveis de interesse, pode-se realizar análises complexas adicionais, tais como métodos de regressão e correlação, análises multivariadas para identificar o efeito de várias exposições ou fatores de risco e modelagem de dados para determinar preditores de soroprevalência de anticorpos que expliquem tendências e variabilidade entre zonas.

Usando algoritmos preditivos e mapeamento de alta resolução, a geoestatística permite a identificação de respostas sorológicas sobrepostas de populações que vivam em diferentes áreas, facilitando a vigilância epidemiológica integrada e criando a possibilidade de estabelecer sinergias entre programas e intervenções. Como essas metodologias são mais complexas, seu uso requer o envolvimento de especialistas em determinadas doenças, epidemiologistas e estatísticos profissionais – estes últimos são os especialistas em análise de modelos.

6.7 Interpretação e visualização dos resultados

A interpretação dependerá dos métodos de amostragem, do tipo de ensaio laboratorial e dos critérios para definir a imunidade, especialmente os valores de corte para a soropositividade. A análise e interpretação dos resultados dos estudos sorológicos também deve levar em conta o efeito esperado das estratégias e metas de intervenção relacionadas às metas de eliminação. Também dependerá da disponibilidade de valores críticos de limiar para as diversas doenças. Os resultados sorológicos devem ser expressos de forma a responder (ou pelo menos facilitar a busca de respostas a) perguntas como:

- O perfil de imunidade é o esperado?
- O perfil reflete alguma mudança nos padrões de imunidade ou transmissão da doença ao longo do tempo?
- Há alguma evidência – considerando as mudanças no desempenho do programa e o acúmulo de chances de exposição ao longo do tempo – de que as intervenções reduziram o nível de transmissão da doença?
- Existem lacunas de imunidade nos grupos visados pela equipe de vacinação?

- O nível de imunidade que foi alcançado é suficiente para manter a interrupção da transmissão do patógeno? Isso é útil para as DIP, pois existem valores limiares pré-determinados para avaliar as metas de eliminação e para a tomada de decisões.

Visto que os perfis de imunidade e os níveis de anticorpos são afetados por múltiplos fatores, a interpretação dos resultados dos inquéritos sorológicos nas populações de interesse deve incorporar outras fontes de informação fora do inquérito, como por exemplo:

- Condições demográficas, socioeconômicas e de vida;
- Dados epidemiológicos das doenças de interesse e características por variáveis tais como tempo, lugar e pessoa;
- Dados sobre as intervenções já realizadas, inclusive do tipo de intervenção, duração da implementação e sua cobertura (por exemplo, cronogramas históricos de campanhas de vacinação e dados de cobertura; cobertura de quimioterapia preventiva; cobertura de administração de medicamentos em massa; cobertura de água potável e saneamento, entre outros);
- Variáveis de vigilância e desempenho do programa (por exemplo, a qualidade dos dados de vigilância para as doenças de interesse e a regularidade das intervenções de interesse, entre outras).

A triangulação de dados é essencial na análise dos padrões de imunidade dentro das populações estudadas, pois permite que o mesmo objeto de estudo seja observado de diferentes ângulos ou pontos no tempo, servindo para comparar diferentes dados, teorias, contextos, instrumentos, agentes e métodos e obter os pontos de vista de vários pesquisadores. Na triangulação de dados, diferentes fontes de dados são comparadas para atingir uma compreensão mais profunda dos resultados, abordar as limitações de alguma fonte de dados e/ou metodologia de coleta de dados e incentivar uma visão mais profunda dos fenômenos de interesse ao se encontrar sentido em informações complementares e integrar conhecimentos do contexto mais amplo e dos processos subjacentes (92). Este método é muito útil para detectar discrepâncias ao analisar dados de diferentes fontes obtidos por diferentes métodos de coleta – por exemplo, detectar discrepâncias nas comparações entre os dados administrativos de vacinação, desagregados por faixa etária, e soroprevalência de anticorpos contra as DIP na mesma população.

A triangulação temporal também pode ser usada para verificar a consistência dos dados em diferentes pontos no tempo. Os dados podem constituir uma tendência longitudinal ao longo de vários anos ou uma análise transversal ao longo de um determinado período em uma população específica – por exemplo, ao se analisar a soroprevalência de uma doença infecciosa em uma população de interesse e compará-la com os casos da doença notificados por meio da vigilância epidemiológica de rotina, na mesma faixa etária, área geográfica e período de tempo.

A interpretação adequada dos resultados da vigilância sorológica integrada com base em inquéritos requer – desde o início do processo de elaboração do protocolo – a identificação das limitações

que terão impacto sobre a análise e a interpretação dos resultados. Essas limitações podem estar relacionadas ao tamanho e à representatividade da amostra, ao tipo de população do estudo, ao risco de viés dos dados coletados, à sensibilidade e especificidade dos métodos laboratoriais etc. O Quadro 6.1 descreve alguns aspectos importantes a serem levados em conta quanto às limitações.

QUADRO 6.1 Definir as limitações metodológicas do estudo

Os países que decidiram realizar um inquérito sorológico para vigilância integrada deveriam:

- considerar todas as limitações possíveis caso não inclua no levantamento um grupo populacional ou área geográfica específica (por exemplo, uso de registros vacinais de fonte imprecisa, não visitar casas ou escolas que não estavam disponíveis durante a primeira visita, baixos índices de resposta de alguns participantes).
- avaliar se alguma área, escola, comunidade etc., teve que ser removida do quadro de amostragem devido ao tamanho insuficiente da amostra, acessibilidade, segurança ou por outros fatores. Toda exclusão desse tipo deve ser reconhecida como uma limitação e uma fonte de possível viés.
- considerar a validade do ensaio. Por exemplo, uma limitação especificamente aplicável à vigilância do tracoma é a reatividade cruzada com anticorpos contra sorotipos urogenitais de clamídia, que pode ocorrer quando grupos etários mais velhos, possivelmente sexualmente ativos (>10 anos), são incluídos na pesquisa.
- confirmar que a representatividade da pesquisa responde adequadamente aos objetivos do estudo, e que os resultados podem ser aplicados ao universo do estudo.

6.7.1 Análises das lacunas de imunidade e eficácia da vacinação

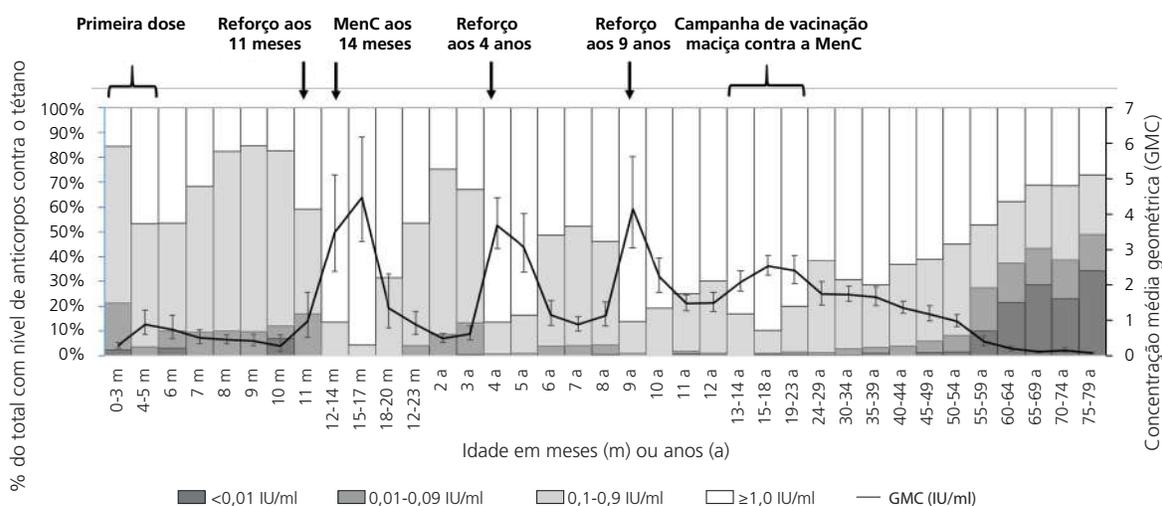
Algumas questões de interesse são:

- Há lacunas na imunidade em faixas etárias ou regiões específicas, ou diferenças de imunidade de acordo com o nível socioeconômico?
- Existe alguma discrepância entre os níveis de soroproteção observados e as coberturas de vacinação relatadas? Essa discrepância é consistente com as tendências observadas na faixa etária dos casos recentes de doença relatados à vigilância?
- Há evidências de redução na imunidade ou eficácia da vacina dentro das diferentes faixas etárias em relação ao tempo transcorrido desde a vacinação?

- Caso o levantamento tenha incluído várias DIP, as lacunas de imunidade estão relacionadas com alguma vacina em particular, ou os resultados indicam que o problema é sistêmico, estando relacionado ao desempenho geral do programa de vacinação?

A Figura 6.1 mostra os resultados das amostras quanto aos níveis de anticorpos contra o tétano segundo a faixa etária. Nesse estudo, foi realizada uma análise de anticorpos contra o toxoide tetânico em amostras de uma população holandesa, utilizando o MBA. O gráfico inclui informações de base sobre as estratégias de vacinação, tais como o cronograma de imunização contra o tétano e o tempo de implementação da campanha de vacinação em massa do conjugado meningocócico do sorogrupo C (MenC). O histograma mostra a proporção de indivíduos em cada faixa etária e os níveis de anticorpos de acordo com as categorias, bem como a concentração média de anticorpos (linha preta sólida), e inclui intervalos de confiança.

FIGURE 6.1 Níveis de imunidade contra o tétano em diferentes faixas etárias da população, Países Baixos, 2006



Fonte: Steens A, Mollera L, Berbers GA, van Gageldonk PG, van der Klis FR, de Melker HE. High tetanus antitoxin antibody concentrations in the Netherlands: a seroepidemiological study. *Vaccine*. 2010 Nov 16;28(49):7803-9. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.09.036.

6.7.2 Análise de doenças transmissíveis em diferentes cenários epidemiológicos

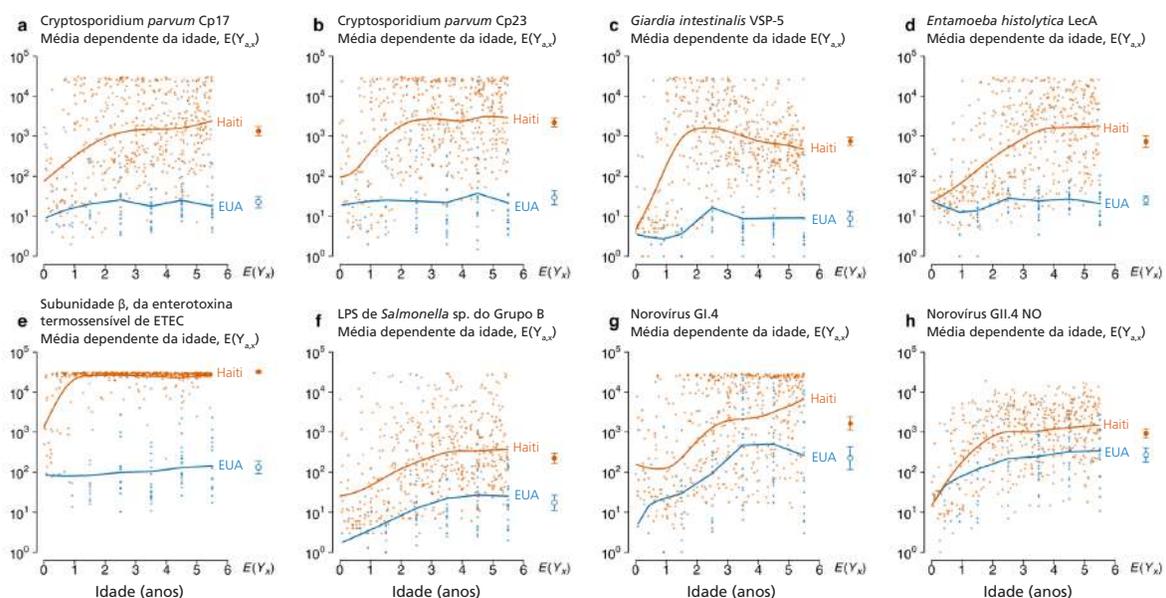
Existem questões fundamentais que podem orientar a análise de DIN e malária em diferentes cenários epidemiológicos e determinantes sociais, como por exemplo:

- Há diferenças na soroprevalência por variáveis sociodemográficas e epidemiológicas (nível educacional, ocupação, etnia, quintis de bem-estar, entre outros) e áreas geográficas?

- Há alguma evidência – considerando as mudanças no desempenho do programa e o acúmulo de chances de exposição ao longo do tempo – de que as intervenções reduziram o nível de transmissão da doença?
- O perfil sorológico da doença é consistente quando comparado com pesquisas de transmissão, dados relatados, intervenções (como quimioterapia preventiva, uso de mosquiteiros etc.), densidade de vetores e condições de água e saneamento?
- Os níveis de imunidade são coerentes com os objetivos programáticos estabelecidos para interromper a transmissão dos agentes associados a essas doenças?

A Figura 6.2 apresenta curvas de resposta imune que relacionam idade e anticorpos para crianças menores de 6 anos em dois países com diferentes níveis de renda e desenvolvimento socioeconômico: Haiti (linha laranja) e Estados Unidos da América (linha azul). A resposta de anticorpos foi medida pelo MBA como mediana da intensidade de fluorescência (MFI), e para cada anticorpo entérico os autores estimaram curvas separadas para idade (crianças com até 5,5 anos de idade) e produção de anticorpos em cada país. As médias geométricas e as diferenças entre as médias foram calculadas usando métodos estatísticos. Os resultados mostraram que em Léogâne, Haiti, os níveis de transmissão de todos os patógenos entéricos foram mais altos que nos Estados Unidos da América (21).

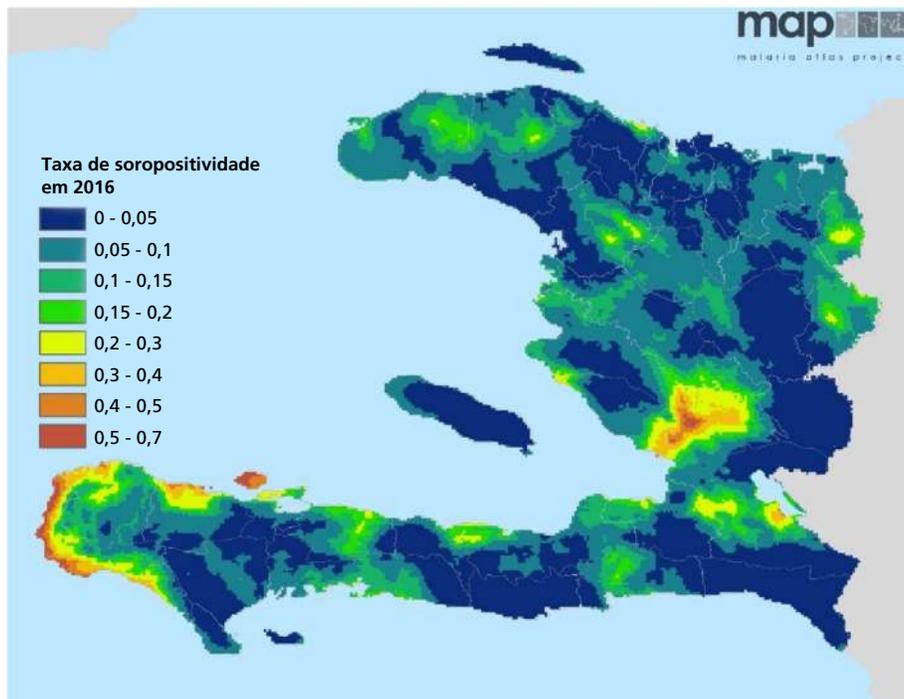
FIGURA 6.2 Diferenças nos níveis de transmissão de patógenos entéricos em crianças, separados por idade, em Léogâne, Haiti, e nos Estados Unidos da América



Fonte: Arnold BF, et al. Measuring changes in transmission of neglected tropical diseases, malaria, and enteric pathogens from quantitative antibody levels. PLOS Negl Trop Dis. 2017;11(5):e0005616. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005616>.

Mapas são muito úteis para visualizar os resultados de estudos de soroprevalência. A Figura 6.3, por exemplo, mostra as taxas de soropositividade de anticorpos contra a malária por regiões geográficas do Haiti. Devido à prevalência muito baixa de resultados positivos de testes diagnósticos de malária nesse país, os dados sorológicos são um indicador importante para medir a transmissão e o sucesso das intervenções.

FIGURA 6.3 Mapeamento da intensidade de transmissão da malária com base na prevalência de anticorpos antimaláricos



Rogier, E. Geospatial analysis of *Plasmodium falciparum* serological indicators: school versus community sampling in a low-transmission malaria setting. No prelo.

6.7.3 Avaliação do impacto das intervenções

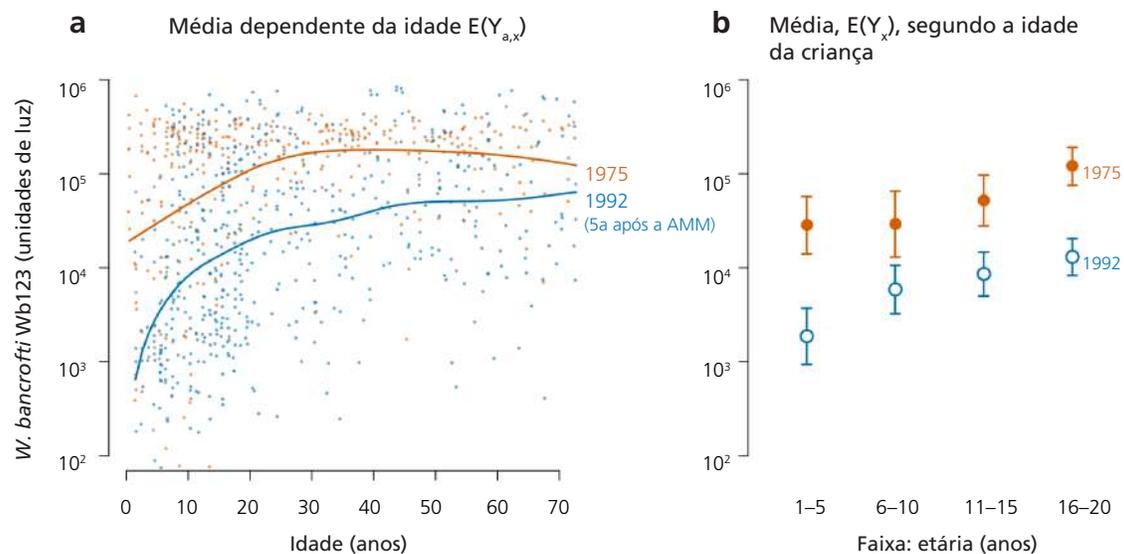
Algumas perguntas que visam avaliar o impacto das intervenções são:

- Quais foram as intervenções implementadas, as populações-alvo dos programas de intervenção e a cobertura relatada em cada uma das áreas geográficas de interesse?
- Quando a interrupção da transmissão foi documentada e quais foram as estratégias de vigilância pós-eliminação?

- O nível limiar de imunidade ou infecção foi suficiente para manter a eliminação, interrupção da transmissão ou eliminação das DIP como problema de saúde pública?
- Desde a certificação, verificação ou validação da eliminação da doença de interesse, houve alguma mudança nos fatores de risco relacionados à transmissão?

A Figura 6.4 mostra o efeito da AMM visando a eliminação da filariose linfática no nível de transmissão dessa doença na Ilha Mauke (93). A resposta do anticorpo IgG ao antígeno Wb123 de *Wuchereria bancrofti* foi medida em amostras de sangue de residentes em 1975, antes da AMM, e novamente em 1992, cinco anos após uma única intervenção por meio de AMM (dietilcarbamazina) em toda a ilha. A Figura 6.4a mostra as curvas dos níveis médios de anticorpos por idade antes (linha laranja) e após (linha azul) a AMM; as respostas individuais são apresentadas usando pontos (laranja e azul) ao lado de curvas resumidas de ambos os inquéritos. A Figura 6.4b mostra a resposta de anticorpos como a média geométrica ajustada para idade, $E(Y_x)$, e intervalos de confiança de 95% antes (1975) e cinco anos após (1992) a intervenção por AMM, estratificada por faixa etária (5 anos). Esses resultados mostram que a mudança da curva se deve à aquisição mais lenta de anticorpos combinada com a perda de anticorpos, presumivelmente em decorrência da menor possibilidade de transmissão pós-AMM.

FIGURA 6.4 Efeito da administração maciça de medicamentos (AMM) na transmissão de *Wuchereria bancrofti*



Fonte: Arnold BF, van de Laan MJ, Hubbard AE, Steel C, Kubofkic J, Hamlin KL, et al. Measuring changes in transmission of neglected tropical diseases, malaria, and enteric pathogens from quantitative antibody levels. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(5):e0005616. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005616>.

6.7.4 Vigilância pós-eliminação

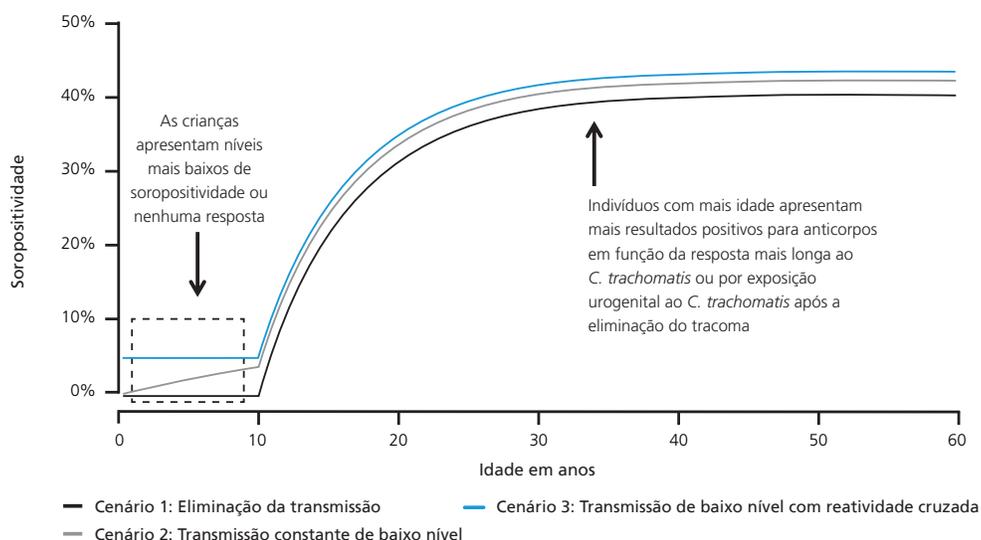
Infecções por alguns patógenos para os quais foram estabelecidos alvos de eliminação podem ser assintomáticas ou apresentar sintomas leves. Consequentemente, é possível que os casos clínicos representem apenas a “ponta do iceberg”. Portanto, evitar a reintrodução de patógenos eliminados requer que a vigilância seja robusta. Nesses casos, a sorologia pode fornecer informações adicionais para antecipar os riscos de reemergência ou reintrodução durante a fase pós-eliminação. Algumas perguntas que podem orientar esse tipo de análise são:

- Quando foi documentada a interrupção da transmissão, e quais estratégias de vigilância pós-eliminação estão em vigor?
- Desde que foi confirmada a certificação, verificação ou validação da eliminação da doença de interesse, houve alguma mudança nos fatores de risco relacionados à transmissão?
- Os resultados do inquérito sorológico são indicativos de exposição ao patógeno ou de mudanças na intensidade de transmissão nas diferentes coortes de idade?

A eliminação do tracoma enquanto problema de saúde pública é um exemplo interessante de como usar e interpretar a sorologia durante a fase pós-eliminação. Quando os níveis de prevalência do tracoma são baixos, são necessários métodos de vigilância robustos, e foram usados ensaios sorológicos que medem a resposta de anticorpos resultantes de uma única exposição ou da exposição cumulativa ao tracoma para avaliar as mudanças na intensidade de transmissão.

A Figura 6.5 mostra o uso da sorologia durante a vigilância pós-eliminação do tracoma em uma população de 1 a 60 anos, usando dados coletados 10 anos após o tracoma ter deixado de ser um problema de saúde pública. Os resultados mostram que os indivíduos mais velhos têm níveis mais altos de positividade de anticorpos, enquanto as crianças mostram níveis mais baixos de soropositividade ou nenhuma resposta de anticorpos (29). A interpretação da sorologia do tracoma é um desafio porque não foram definidos padrões internacionais para determinar os valores de corte para a soropositividade (46), e é importante considerar que a exposição aos antígenos *Chlamydia trachomatis* por meio de infecção urogenital depende da idade e pode afetar os resultados da sorologia, especialmente em áreas onde essa exposição pode ser um problema.

FIGURA 6.5 Modelagem das curvas de soroprevalência por idade para a vigilância do tracoma na fase de pós-eliminação



Fonte: Pinsent A, Solomon AW, Bailey RL, Bid R, Cama A, Dean D. The utility of serology for elimination surveillance of trachoma. Nat Commun. 2018;9(1):5444. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07852-0>.

6.8 Elaboração e divulgação do relatório

A minuta do relatório deve ser preparada o quanto antes uma vez concluída a pesquisa. Essa versão deve ser discutida com o grupo diretor e apresentada às autoridades nacionais. A discussão dos resultados facilitará a análise das constatações, a identificação de possíveis implicações para possíveis intervenções, a incorporação de novas contribuições às conclusões e a elaboração de recomendações para apoiar a tomada de decisões. O Anexo 6.2 descreve a estrutura e o conteúdo básico do relatório de resultados.

Esclareça o escopo e a relevância dos resultados para as populações participantes. A vigilância sorológica das doenças transmissíveis, conforme descrita neste documento, visa fornecer informações em nível populacional para complementar os dados gerados pelos sistemas de vigilância epidemiológica. A população deve entender que os resultados de tais pesquisas – especialmente os de inquéritos sorológicos nos quais são detectados anticorpos IgG – não produzem dados para o diagnóstico de doenças no nível individual, e sim informações sobre exposição passada a doenças e intervenções (por exemplo, vacinação) no nível populacional. Se houver a necessidade de compartilhar os resultados com as comunidades que participaram da pesquisa, esses devem ser apresentados em relação ao status imunológico da população, por exemplo, em relação à proteção contra DIP ou exposição passada dessas comunidades às doenças transmissíveis incluídas no inquérito. As comunidades também devem

ser informadas de toda e qualquer intervenção ou estudo adicional que seja realizado com base nos resultados da pesquisa.

Com base na interpretação e discussão, deve-se definir o plano de ação, isso é, de que forma os resultados serão incorporados aos planos de programas existentes envolvidos na vigilância sorológica integrada.

6.9 Tomada de decisões

Um fator chave para alcançar os objetivos da vigilância sorológica integrada é traduzir os resultados em intervenções integradas e incorporar essas intervenções nos programas ou planos voltados para cada doença. Essa incorporação deve ser baseada em sinergias com ações existentes, nas quais se concebam ou reconfigurem as atividades que podem ser melhoradas, ou sejam geradas ideias para criar novas intervenções. Ao incluir diferentes programas, o plano deve incorporar oportunidades de implementar melhorias na organização, treinamento e processos de comunicação. Além disso, deve gerar uma conscientização compartilhada e aproveitar facilitadores em comum que possam contribuir para tornar os processos mais eficazes.

Para formular e implementar o plano, é necessário priorizar ações, definir um cronograma ou linha de tempo, listar os recursos necessários e selecionar a equipe responsável por implementar o plano e relatar o progresso e os resultados.

O plano de ação dependerá dos objetivos ou cenários escolhidos para a vigilância sorológica integrada. Por exemplo, se o objetivo era obter informações básicas sobre os perfis de imunidade contra determinadas doenças ou determinar a imunidade de um determinado grupo populacional contra as DIP em áreas epidemiologicamente silenciosas, o plano de ação provavelmente deveria ser direcionado para aprofundar estudos que possam explicar os resultados do inquérito e preparar toda intervenção subsequente que seja necessária, conforme apropriado. Deve-se ter em mente que os testes sorológicos detectam anticorpos IgG, que revelam a história passada ou recente de infecção, mas não são testes diagnósticos. Portanto, para detectar infecção ativa de algumas doenças transmissíveis, os inquéritos geralmente incluem métodos adicionais (por exemplo, fitas reagentes para detectar *W. bancrofti*) para completar a caracterização da transmissão das doenças de interesse.

Se, por outro lado, o objetivo da vigilância sorológica era monitorar o impacto das intervenções para o controle e a eliminação de doenças transmissíveis em áreas com sistemas de vigilância que funcionam bem e onde as intervenções para controle e eliminação tenham sido implementadas de forma robusta e com cobertura adequada (por exemplo vacinação, ações para melhorar o acesso à água e saneamento), o plano de ação provavelmente se concentrará em fechar as lacunas possivelmente encontradas (por exemplo, populações suscetíveis que precisem pôr a vacinação em dia, ou populações que precisem de melhor acesso a saneamento), ou – se os resultados mostrarem que os perfis de imunidade da

população estão condizentes com os objetivos das intervenções implementadas – em reforçar e sustentar as ações atuais.

Qualquer que seja o objetivo ou cenário epidemiológico da vigilância sorológica integrada, ela sempre gerará informações que permitam a realização de estudos adicionais aprofundados para a posterior caracterização de aspectos específicos de uma ou várias doenças de interesse. Além disso, o plano deve definir quais outros setores ou atores (turismo, educação, água/saneamento, habitação, agricultura, setor privado, meio acadêmico, sociedade civil etc.) devem ser envolvidos; onde será mais fácil alcançar a população, caso seja necessário implementar intervenções; qual a melhor metodologia para implementar essa intervenção; possíveis barreiras; e qual será a melhor estratégia de comunicação.

Quando representantes de programas nacionais e decisores são envolvidos desde o início na vigilância sorológica integrada (ou seja, desde a definição dos objetivos), isso aumenta a probabilidade de que os resultados da pesquisa sejam utilizados de forma apropriada e justificada. Para apoiar a autodeterminação e manter o interesse de todos os envolvidos na implementação do plano, os países não devem perder tempo para proceder à análise dos resultados do inquérito assim que forem obtidos, pois os resultados se tornam rapidamente desatualizados. Ações devem ser implementadas, e os resultados devem ser publicados. O sucesso do plano de ação dependerá da prontidão técnica e da vontade política de cada país, bem como do compromisso das autoridades dos diferentes programas e setores de aceitar responsabilidades e trabalhar juntos.

Referências

1. Organização Pan-Americana da Saúde. Fortalecimento dos programas de imunização. 50o Conselho Diretor da OPAS, 62a sessão do Comitê Regional da OMS para as Américas; 27 de setembro a 1o de outubro de 2010; Washington, D.C., EUA [Internet]. Washington, DC: OPAS; 2010 (Resolução CD50.R5). Disponível em: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2010/CD50.R5-p.pdf> [consultado em janeiro de 2021].
2. Organização Pan-Americana da Saúde. Plano de ação para imunização. 54o Conselho Diretor, 67ª sessão do Comitê Regional da OMS para as Américas; 28 de setembro a 2 de outubro de 2015; Washington, D.C., EUA [Internet]. Washington, DC: OPAS; 2015 (Resolução CD54/R8). Disponível em: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/CD54-R8-p.pdf> [consultado em janeiro de 2021].
3. Organização Pan-Americana da Saúde. Iniciativa da OPAS de eliminação de doenças: Política para um enfoque integrado e sustentável visando as doenças transmissíveis nas Américas. 57o Conselho Diretor, 71a sessão do Comitê Regional da OMS para as Américas; Washington, D.C., EUA, 30 de setembro a 4 de outubro de 2019 [Internet]. Washington, DC: OPAS; 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/sites/default/files/2020-01/2019-cde-dc57-elimin-init-framework-pt.pdf> [consultado em fevereiro de 2021].
4. Organização Pan-Americana da Saúde. An Integrated, Sustainable Framework for the Elimination of Communicable Diseases in the Americas. Concept Note [Internet]. Washington, DC: OPAS; 2019. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51106/PAHOCDE19008_eng.pdf [consultado em janeiro de 2021].
5. Organização Mundial da Saúde; Banco Internacional para a Reconstrução e Desenvolvimento/Banco Mundial. Tracking universal health coverage: 2017 global monitoring report [Internet]. Genebra: OMS; 2017. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259817/1/9789241513555-eng.pdf> [consultado em junho de 2021].
6. Organização Mundial da Saúde. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. Genebra: OMS; 2020.
7. Metcalf CJE, Farrar J, Cutts FT, Basta NE, Graham AL, Lessler J, et al. Use of serological surveys to generate key insights into the changing global landscape of infectious disease. *Lancet*. 2016;388(10045):728–30.
8. Baker MC, Mathieu E, Fleming FM, Deming M, King JD, Garba A, et al. Mapping, monitoring, and surveillance of neglected tropical diseases: towards a policy framework. *Lancet*. 2010;375(9710):231–8.
9. Organização Mundial da Saúde. Plan de Acción Mundial sobre Vacunas 2011-2020. Genebra: OMS; 2013. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/global-vaccine-action-plan-2011-2020> [Consultado em dezembro de 2021].
10. Organização Mundial da Saúde. 2018 Assessment report of the Global Vaccine Action Plan. Strategic Advisory Group of Experts on Immunization. Genebra: OMS; 2018 (WHO/IVB/18.11).
11. Organização Mundial da Saúde. Agenda de imunización 2030. Genebra: OMS; 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/immunization-agenda-2030-a-global-strategy-to-leave-no-one-behind> [consultado em dezembro de 2021].
12. Evans AS. Surveillance and Seroepidemiology. In: Evans AS, editor. *Viral Infections of Humans* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1989. p. 51-73. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4613-0705-1_2
13. Cutts FT, Izurieta HS, Rhoda DA. Measuring coverage in MNCH: design, implementation, and interpretation challenges associated with tracking vaccination coverage using household surveys. *PLoS Med* [Internet]. 2013;10(5):e1001404. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23667334>

14. MacNeil A, Lee C-W, Dietz V. Issues and considerations in the use of serologic biomarkers for classifying vaccination history in household surveys. *Vaccine* [Internet]. 2014;32(39):4893–900. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25045821>
15. Wu L, Hall T, Ssewanyana I, Oulton T, Patterson C, Vasileva H, et al. Optimisation and standardisation of a multiplex immunoassay of diverse *Plasmodium falciparum* antigens to assess changes in malaria transmission using sero-epidemiology. *Wellcome Open Res.* 2019;4:26.
16. Poirier MJP, Moss DM, Feeser KR, Streit TG, Chang GJJ, Whitney M, et al. Measuring Haitian children's exposure to chikungunya, dengue and malaria. *Bull World Health Organ.* 2016;94(11):817–825A.
17. Arnold BF, van der Laan MJ, Hubbard AE, Steel C, Kubofcik J, Hamlin KL, et al. Measuring changes in transmission of neglected tropical diseases, malaria, and enteric pathogens from quantitative antibody levels. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(5):e0005616.
18. Teunis PFM, Falkenhörst G, Ang CW, Strid MA, De Valk H, Sadkowska-Todys M, et al. *Campylobacter* seroconversion rates in selected countries in the European Union. *Epidemiol Infect.* 2013;141(10):2051–7.
19. Exum NG, Pisanic N, Granger DA, Schwab KJ, Detrick B, Kosek M, et al. Use of Pathogen-Specific Antibody Biomarkers to Estimate Waterborne Infections in Population-Based Settings. *Curr Environ Health Rep.* 2016;3:322–34.
20. Moss DM, Priest JW, Hamlin K, Derado G, Herbein J, Petri WA, et al. Longitudinal evaluation of enteric protozoa in Haitian children by stool exam and multiplex serologic assay. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;90(4):653–60.
21. Arnold BF, Martin DL, Juma J, Mkocha H, Ochieng JB, Cooley GM, et al. Enteropathogen antibody dynamics and force of infection among children in low-resource settings. *eLife* [Internet]. 2019;8:e45594. Disponível em: <https://elifesciences.org/articles/45594>
22. Simonsen J, Strid MA, Mølbak K, Krogfelt KA, Linneberg A, Teunis P. Sero-epidemiology as a tool to study the incidence of *Salmonella* infections in humans. *Epidemiol Infect.* 2008;136(7):895–902.
23. Herikstad H, Motarjemi Y, Tauxe RV. *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping. *Epidemiol Infect.* 2002;129(1):1–8.
24. Arnold BF, Scobie HM, Priest JW, Lammie PJ. Integrated Serologic Surveillance of Population Immunity and Disease Transmission. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(7):1188–94. <https://doi.org/10.3201/eid2407.171928>
25. Pinsent A, Solomon AW, Bailey RL, Bid R, Cama A, Dean D, et al. The utility of serology for elimination surveillance of trachoma. *Nat Commun.* 2018;9(1):5444. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07852-0>
26. Lammie PJ, Moss DM, Goodhew EB, Hamlin K, Krolewiecki A, West SK, et al. Development of a new platform for neglected tropical disease surveillance. *Int J Parasitol.* 2012;42(9):797–800.
27. Goodhew EB, Priest JW, Moss DM, Zhong G, Munoz B, Mkocha H, et al. CT694 and *pgp3* as Serological Tools for Monitoring Trachoma Programs. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(11):e1873.
28. Osborne K, Gay N, Hesketh L, Morgan-Capner P, Miller E. Ten years of serological surveillance in England and Wales: methods, results, implications and action. *Int J Epidemiol.* 2000;29(2):362–8. Disponível em: <https://academic.oup.com/ije/article/29/2/362/758146>
29. Osborne K, Weinberg J, Miller E. The European Sero-Epidemiology Network. *Euro Surveill.* 1997;2(4):29–31. <https://doi.org/10.2807/esm.02.04.00167-en>
30. Andrews N, Tischer A, Siedler A, Pebody RG, Barbara C, Cotter S, et al. Towards elimination: Measles susceptibility in Australia and 17 European countries. *Bull World Health Organ.* 2008;86(3):197–204.
31. Solomon AW, Engels D, Bailey RL, Blake IM, Brooker S, Chen J-X, et al. A diagnostics platform for the integrated mapping, monitoring, and surveillance of neglected tropical diseases: rationale and target product profiles. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(7):e1746.

32. Baker HN, Murphy R, Lopez E, Garcia C. Conversion of a Capture ELISA to a Luminex xMAP Assay using a Multiplex Antibody Screening Method. *J Vis Exp*. 2012;65:4084.
33. Houser B. Bio-rad's Bio-Plex® suspension array system, xMAP technology overview. *Arch Physiol Biochem*. 2012;118(4):192–6.
34. Graham H, Chandler DJ, Dunbar SA. The genesis and evolution of bead-based multiplexing. *Methods*. 2019;158:2–11.
35. Wiegand RE, Cooley G, Goodhew B, Bannietts N, Kohlhoff S, Gwyn S, et al. Latent class modeling to compare testing platforms for detection of antibodies against the Chlamydia trachomatis antigen Pgp3. *Sci Rep*. 2018;8(1):4232.
36. Rogier E, Wiegand R, Moss D, Priest J, Angov E, Dutta S, et al. Multiple comparisons analysis of serological data from an area of low Plasmodium falciparum transmission. *Malar J*. 2015;14:436.
37. Escritório Regional da Organização Mundial da Saúde para a Europa. Guidance on conducting serosurveys in support of measles and rubella elimination in the WHO European Region [Internet]. Copenhagen: OMS/EURO; 2013 Disponível em: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0011/236648/Guidance-on-conducting-serosurveys-in-support-of-measles-and-rubella-elimination-in-the-WHO-European-Region.pdf [consultado em setembro de 2020].
38. Wilson SE, Deeks SL, Hatchette TF, Crowcroft NS. The role of seroepidemiology in the comprehensive surveillance of vaccine-preventable diseases. *CMAJ*. 2012;184(1):E70–6.
39. Guevara A, Salazar E, Vicuña Y, Hassan HK, Muro A, Guderian R, et al. Use of Ov16-Based Serology for Post-Elimination Surveillance of Onchocerciasis in Ecuador. *Am J Trop Med Health*. 2020;103(4):1569–71. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.20-0082>
40. Klepac P, Funk S, Hollingsworth TD, Metcalf CJE, Hampson K. Seis desafios na erradicação de doenças infecciosas. *Epidemics* [Internet]. 2015;10:97–101. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175543651400070X>
41. Surendra H, Supargiyono, Ahmad RA, Kusumasari RA, Rahayujati TB, Damayanti SY, et al. Using health facility-based serological surveillance to predict receptive areas at risk of malaria outbreaks in elimination areas. *BMC Med* [Internet]. 2020;18(1):9. Disponível em: <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-019-1482-7>
42. Martin DL, Saboyà-Díaz MI, Abashawl A, Alemayeh W, Gwyn S, Hooper PJ, et al. The use of serology for trachoma surveillance: Current status and priorities for future investigation. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(9):e0008316. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008316>
43. Cutts FT, Hanson M. Seroepidemiology: an underused tool for designing and monitoring vaccination programmes in low- and middle-income countries. *Trop Med Int Health*. 2016;21(9):1086–98.
44. Collyer BS, Irvine MA, Hollingsworth TD, Bradley M, Anderson RM. Defining a prevalence level to describe the elimination of Lymphatic Filariasis (LF) transmission and designing monitoring & evaluating (M&E) programmes post the cessation of mass drug administration (MDA). *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(10):e0008644. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008644>
45. Harding-Esch EM, Brady MA, Angeles CAC, Fleming FM, Martine DL, McPherson S, et al. Integrated survey methodologies for neglected tropical diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2020;115(2):124–6. <https://doi.org/10.1093/trstmh/traa132>
46. De Lusignan S, Correa A. Opportunities and challenges of a World Serum Bank. *Lancet*. 2017;389(10066):250–1.
47. World Health Organization. Generic Framework for Control, Elimination and Eradication of Neglected Tropical Diseases [Internet]. Geneva: WHO; 2016. (WHO/HTM/NTD/2016.6) Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/205080/WHO-HTM-NTD_2016.6_eng.pdf [accessed January 2021].
48. Organização Mundial da Saúde. Guideline: Alternative mass drug administration regimens to eliminate lymphatic filariasis [Internet]. Geneva: OMS; 2017. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259381/9789241550161-eng.pdf> [consultado em janeiro de 2021].

49. Organização Mundial da Saúde; London School of Hygiene & Tropical Medicine; International Trachoma Initiative. Trachoma control: a guide for programme managers [Internet]. Genebra: OMS; 2006. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43405> [consultado em maio de 2020].
50. World Health Organization. Malaria Terminology [Internet]. Geneva: WHO; 2017. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240038400> [accessed October 2020].
51. Jones LP, Zheng HQ, Karron RA, Peret TCT, Tsou C, Anderson LJ. Multiplex assay for detection of strain-specific antibodies against the two variable regions of the G protein of respiratory syncytial virus. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002;9(3):633–8.
52. Sampieri H, Fernández Collado R, Baptista Lucio C. Metodología de la Investigación [Internet]. 4th ed. Mexico City: McGraw-Hill; 2006 [cited 2020 January 10]. Disponível em: https://www.uv.mx/personal/cbustamante/files/2011/06/Metodologia-de-la-Investigaci%C3%83%C2%B3n_Sampieri.pdf
53. Otzen T, Manterola C. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *Int J Morphol*. 2017;35(1):227–32.
54. Organização Mundial da Saúde. Informing vaccination programs: a guide to the design and conduct of dengue serosurveys [Internet]. Genebra: OMS; 2017. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241512589> [consultado em setembro de 2020].
55. Organização Mundial da Saúde. Documenting the Impact of Hepatitis B Immunization: best practices for conducting a serosurvey [Internet]. Genebra: OMS; 2011 (WHO/IVB/11.08). Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70808/WHO_IVB_11.08_eng.pdf [consultado em setembro de 2020].
56. Organização Mundial da Saúde [Internet]. Genebra: OMS; 2020. Research Ethics Review Committee (ERC): Recommended format for a 'research protocol'. Disponível em: <https://www.who.int/groups/research-ethics-review-committee/recommended-format-for-a-research-protocol/> [consultado em fevereiro de 2022].
57. Al-Jundi A, Sakka S. Protocol writing in clinical research. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(11):ZE10–13.
58. Council for International Organizations of Medical Sciences; Organização Mundial da Saúde. International Ethical Guidelines for Health-related Research Involving Humans [Internet]. Fourth Edition. Genebra: CIOMS; 2016. Disponível em: <https://cioms.ch/wp-content/uploads/2017/01/WEB-CIOMS-EthicalGuidelines.pdf> [consultado em junho de 2020].
59. Organização Mundial da Saúde. WHO guidelines on ethical issues in public health surveillance [Internet]. Genebra: OMS; 2017. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1085882/retrieve> [consultado em setembro de 2020].
60. Organização Pan-Americana da Saúde. Comité de Revisión Ética de la Organización Panamericana de la Salud: Procedimiento normalizado de trabajo [Internet]. Washington, DC: OMS; 2019. Disponível em: <https://www.paho.org/en/node/68991> [consultado em maio de 2020].
61. Hassan ZA, Schattner P, Mazza D. Doing A Pilot Study: Why Is It Essential? *Malays Fam Physician*. 2006;1(2–3):70–73. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4453116/> [consultado em fevereiro de 2020].
62. Organização Mundial da Saúde. Vaccination Coverage Cluster Surveys: Reference Manual [Internet]. Genebra: OMS; 2018 (WHO/IVB/18.09). Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272820> [consultado em maio de 2020].
63. Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, International Vaccine Access Center [Internet]. Baltimore, MD: Johns Hopkins University; 2020 [citado em 27 de agosto de 2021]. Serosurvey tools. Disponível em: <https://serosurveytools.org/serosurveys-objectives/>
64. Elshal MF, McCoy JP. Multiplex bead array assays: Performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. *Methods*. 2006;38(4):317–23.
65. Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Center for Health Security. Developing a National Strategy for Serology (Antibody Testing) in the United States [Internet]. Baltimore, MD: Johns Hopkins University; 2020. Disponível em: https://www.centerforhealthsecurity.org/our-work/pubs_archive/pubs-pdfs/2020/200422-national-strategy-serology.pdf [consultado em agosto de 2021].

66. Chan Y, Fornace K, Wu L, Arnold BF, Priest JW, Martin DL, et al. Determining seropositivity—A review of approaches to define population seroprevalence when using multiplex bead assays to assess burden of tropical diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15(6):e0009457. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009457>
67. Scobie HM, Patel M, Martin D, Mkocho H, Njenga SM, Odiere MR, et al. Tetanus immunity gaps in children 5–14 years and men \geq 15 years of age revealed by integrated disease serosurveillance in Kenya, Tanzania, and Mozambique. *Am J Trop Med Hyg*. 2017;96(2):415–20.
68. Priest JW, Moss DM, Arnold BF, Hamlin K, Jones CC, Lammie PJ. Seroepidemiology of *Toxoplasma* in a coastal region of Haiti: multiplex bead assay detection of immunoglobulin G antibodies that recognize the SAG2A antigen. *Epidemiol Infect*. 2015;143(3):618–30.
69. Priest JW, Jenks MH, Moss DM, Mao B, Buth S, Wannemuehler K, et al. Integration of Multiplex Bead Assays for Parasitic Diseases into a National, Population-Based Serosurvey of Women 15–39 Years of Age in Cambodia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(5):e0004699.
70. Smits GP, van Gageldonk PG, Schouls LM, van der Klis FRM, Berbers GAM. Development of a bead-based multiplex immunoassay for simultaneous quantitative detection of IgG serum antibodies against measles, mumps, rubella, and varicella-zoster virus. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19(3):396–400.
71. Dunbar SA. Applications of Luminex® xMAP™ technology for rapid, high-throughput multiplexed nucleic acid detection. *Clin Chim Acta*. 2006;363(1–2):71–82.
72. Moss DM, Priest JW, Boyd A, Weinkopff T, Kucerova Z, Beach MJ, et al. Multiplex bead assay for serum samples from children in Haiti enrolled in a drug study for the treatment of lymphatic filariasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;85(2):229–37.
73. de Jager W, te Velthuis H, Prakken BJ, Kuis W, Rijkers GT. Simultaneous detection of 15 human cytokines in a single sample of stimulated peripheral blood mononuclear cells. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10(1):133–9.
74. Fu Q, Schoenhoff FS, Savage WJ, Zhang P, Van Eyk JE. Multiplex assays for biomarker research and clinical application: translational science coming of age. *Proteomics Clin Appl*. 2010;4(3):271–84. <https://doi.org/10.1002/prca.200900217>
75. Organização Mundial da Saúde [Internet]. Genebra: OMS; 2018. International Reference Materials 2018. Disponível em: <https://www.who.int/activities/providing-international-biological-reference-preparations>
76. Scobie HM, Mao B, Buth S, Wannemuehler KA, Sorensen C, Kannarath C, et al. Tetanus Immunity among Women Aged 15 to 39 Years in Cambodia: a National Population-Based Serosurvey. 2012. *Clin Vaccine Immunol*. 2016;23(7):546–54. <https://doi.org/10.1128/CI.00052-16>
77. Scobie HM, Khetsuriani N, Efstratiou A, Priest JW. Validation of a diphtheria toxoid multiplex bead assay for serosurveys. *Diagnóstico de Microbiol Infect Dis*. 2021;100(3):115371.
78. Coughlin MM, Matson Z, Sowers SB, Priest JW, Smits GP, van der Klis FRM, et al. Development of a Measles and Rubella Multiplex Bead Serological Assay for Assessing Population Immunity. *J Clin Microbiol*. 2021;59(6):e02716–20.
79. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem*. 1993;39(4):561–77. PMID: 8472349.
80. Perkins NJ, Schisterman EF. The inconsistency of “optimal” cutpoints obtained using two criteria based on the receiver operating characteristic curve. *Am J Epidemiol*. 2006;163(7):670–5. <https://doi.org/10.1093/aje/kwj063>
81. Migchelsen SJ, Martin DL, Southisombath K, Turyaguma P, Heggen A, et al. Defining Seropositivity Thresholds for Use in Trachoma Elimination Studies. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(1):e0005230. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005230>
82. Organização Mundial da Saúde. Laboratory quality management system: handbook, version 1.1 [Internet]. Genebra: OMS; 2011 Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44665> [consultado em novembro de 2019].
83. Marrero-Santos KM, Beltrán M, Carrión-Lebrón J, Sanchez-Vegas C, Hamer DH, Barnett ED, et al. Optimization of the cutoff value for a commercial anti-dengue virus IgG immunoassay. *Clin Vaccine Immunol*. 2013;20(3):358–62. <https://doi.org/10.1128/CI.00429-12>

84. Habibzadeh F, Habibzadeh P, Yadollahie M. On determining the most appropriate test cut-off value: The case of tests with continuous results. *Biochem Medica*. 2016;26(3):297–307.
85. Ridge SE, Vizard AL. Determination of the optimal cutoff value for a serological assay: An example using the John's Absorbed EIA. *J Clin Microbiol*. 1993;31(5):1256–61.
86. Moosavi SM, Ghassabian S. Linearity of Calibration Curves for Analytical Methods: A Review of Criteria for Assessment of Method Reliability. In: Stauffer MT, editor. *Calibration and Validation of Analytical Methods – A Sampling of Current Approaches*. London: IntechOpen; 2018.
87. Organização Mundial da Saúde. The Immunological Basis for Immunization Series [Internet]. Disponível em: [https://www.technet-21.org/fr/library/main/5106-the-immunological-basis-for-immunization-series#:~:text=The%20Series%20%2E2%80%9CThe%20Immunological%20Basis,Programme%20on%20immunization%20\(EPI\)](https://www.technet-21.org/fr/library/main/5106-the-immunological-basis-for-immunization-series#:~:text=The%20Series%20%2E2%80%9CThe%20Immunological%20Basis,Programme%20on%20immunization%20(EPI))
88. Rutkowski L, Svetina D, Liaw Y-L. Collapsing Categorical Variables and Measurement Invariance. *Struct Equ Model*. 2019;26(5):790–802. <https://doi.org/10.1080/10705511.2018.1547640>
89. Kateri M, Iliopoulos G. On collapsing categories in two-way contingency tables. *Statistics*. 2003;37(5):443–55. <https://doi.org/10.1080/0233188031000123780>
90. Organização Mundial da Saúde; UNICEF; Centros para o Controle e Prevenção de Doenças dos EUA. Public Health Data Triangulation for Immunization and Vaccine-preventable Disease Surveillance Programs: Draft Framework Document. Disponível em: <https://www.technet-21.org/en/library/main/6632-public-health-data-triangulation-for-immunization-&-vpd-surveillance-programs:-draft-framework> [consultado em fevereiro de 2021].
91. Steel C, Kubofcik J, Ottesen EA, Nutman TB. Antibody to the filarial antigen Wb123 reflects reduced transmission and decreased exposure in children born following single mass drug administration (MDA). *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(12):e1940. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001940>

Glossário

Amostra não probabilística

Método de amostragem no qual nem todos os indivíduos selecionados têm a mesma probabilidade de serem incluídos na amostra, o que significa que os resultados não podem ser generalizados para a população estudada, no sentido mais amplo, por não serem totalmente representativos.

Amostra probabilística

Método de amostragem no qual todos os indivíduos têm a mesma probabilidade de serem escolhidos, possibilitando determinar a probabilidade de seleção de cada indivíduo na amostra selecionada.

Anticorpo

Uma molécula de imunoglobulina com uma sequência específica de aminoácidos que, em virtude dessa sequência, interage apenas com o antígeno (ou com um formato muito semelhante) que induziu sua síntese em células da série linfóide (especialmente em plasmócitos)¹.

Antígeno

Uma estrutura molecular que provoca uma resposta imunológica específica.

Censo

O registro de absolutamente todas as unidades em uma determinada população.

Doenças imunopreveníveis (DIP)

Doenças infecciosas para as quais existe vacina preventiva eficaz.

Doenças infecciosas negligenciadas (na Região das Américas, esse é o nome dado às doenças tropicais negligenciadas)

Conjunto de doenças infecciosas, muitas delas parasitárias, que afetam principalmente os mais pobres dentre os pobres e as pessoas com menos acesso aos serviços de saúde, especialmente as pessoas empobrecidas que vivem em áreas rurais remotas e em aglomerados urbanos².

1 National Center for Biotechnology Information [Internet]. Bethesda, MD: NCBI. MeSH - Antibodies. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000906>.

2 Organização Pan-Americana da Saúde [Internet]. Washington, DC: OPAS; 2022. Enfermedades desatendidas, tropicales y transmitidas por vectores. Disponível em: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-desatendidas-tropicales-transmitidas-por-vectores>.

Doenças transmissíveis (também conhecidas como doenças infecciosas)

Doenças que resultam da infecção, presença e crescimento de agentes biológicos patogênicos (capazes de causar doenças) em um indivíduo humano que atua como hospedeiro ou em outro animal.

Doenças transmitidas pela água

Conjunto de doenças causadas pela ingestão de água contaminada por patógenos vivos ou agentes químicos.

Doenças transmitidas por alimentos

Conjunto de doenças transmitidas pela ingestão de alimentos contaminados por patógenos vivos.

Doenças transmitidas por vetores

Doenças humanas causadas por parasitas, vírus e bactérias, transmitidas por vetores, tais como mosquitos, carrapatos e pulgas, que podem transmitir patógenos infecciosos entre humanos ou de animais para humanos.

Efeito do delineamento (ED)

A variância associada à seleção de sujeitos para uma pesquisa usando qualquer método que não seja o de amostra aleatória simples. É a razão entre a variância em outros tipos de amostragem e a variância em uma amostra aleatória simples.

Eliminação (ou interrupção da transmissão) (se aplica a doenças infecciosas negligenciadas)

Redução a zero da incidência de infecção causada por um patógeno específico em uma determinada área geográfica, com risco mínimo de reintrodução, resultante de esforços deliberados. Para evitar o restabelecimento da transmissão, medidas contínuas podem ser necessárias. O processo de documentação da eliminação da transmissão é chamado de *verificação*³.

Eliminação como problema de saúde pública (se aplica a doenças infecciosas negligenciadas)

Termo relacionado tanto com a infecção quanto com a doença. É definido pelo alcance de metas globais mensuráveis definidas pela OMS em relação a uma determinada doença. Quando alcançadas, são necessárias ações contínuas para manter as metas e/ou para levar à interrupção da transmissão. O processo de documentação da eliminação de um problema de saúde pública é chamado de *validação*.

Erradicação de doenças infecciosas negligenciadas

Redução a zero, permanente, de um determinado patógeno, resultante de esforços deliberados, eliminando o risco de reintrodução. O processo de documentação da erradicação é chamado de *certificação*.

³ Organização Mundial da Saúde. Generic Framework for Control, Elimination and Eradication of Neglected Tropical Diseases [Internet]. Genebra: OMS; 2016. (WHO/HTM/NTD/2016.6) Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/205080/WHO-HTM-NTD_2016.6_eng.pdf [consultado em janeiro de 2021].

Erro aleatório

Desvio dos resultados ou inferências sobre a verdade devido apenas ao acaso, sem obedecer a nenhum padrão em particular. Intervalos de confiança e valores p são expressões da probabilidade de ocorrerem erros aleatórios, em vez de erros sistemáticos (viés).

Erro de amostragem

O grau de erro que o pesquisador está disposto a aceitar para calcular estimativas ou tomar decisões com base nos resultados produzidos pela amostra. Também é conhecido como a *precisão do erro* ou *margin de erro*.

Especificidade

Proporção de indivíduos sem uma infecção ou doença que, ao serem submetidos a um determinado teste, apresentam resultado negativo (taxa de verdadeiros negativos).

Imunidade coletiva

Ocorre quando uma grande parte de uma comunidade (uma coletividade) se torna imune a uma doença, tornando improvável a disseminação da doença de uma pessoa para outra. Consequentemente, toda a comunidade se torna protegida – não apenas os que estão imunes.

Imunoensaio

Procedimento para detectar ou medir macromoléculas por meio de suas propriedades como antígenos ou anticorpos.

Intervalo de confiança

A amplitude de uma faixa dentro da qual se espera encontrar o valor real da amostra com um determinado grau de certeza (por exemplo, 95% ou 99%). O intervalo de confiança representa a probabilidade de erro aleatório, mas não a probabilidade de erro sistemático ou viés.

Linha de base

Uma medida inicial utilizada como referência para comparações futuras. No contexto deste documento, a linha base de imunidade da população é usada como uma ferramenta complementar de vigilância para monitorar a transmissão de doenças transmissíveis e o impacto das intervenções.

Nível limiar de imunidade coletiva

Proporção da população protegida acima de um valor crítico que melhor prevê a probabilidade de interrupção de doença ou a partir do qual a propagação cessa.

Nível limiar de infecção

Proporção de prevalência de infecção abaixo da qual a transmissão provavelmente não mais é sustentável, mesmo na ausência de intervenções de controle.

Receptividade (à malária)⁴

Grau no qual um ecossistema, em uma determinada área em um determinado momento, permite a transmissão vetorial de *Plasmodium* spp. de um humano para outro.

Sensibilidade

Proporção de indivíduos com uma infecção ou doença corretamente identificada como tal por um determinado teste (taxa de verdadeiros positivos).

Soropositivo

É quando, em uma amostra, se detecta que o nível de um determinado anticorpo contra um determinado patógeno infeccioso está acima de um determinado valor de corte (que varia de acordo com a sensibilidade do ensaio e a finalidade da análise).

Soroprevalência

Porcentagem da população que apresenta resultado positivo para um determinado antígeno ou anticorpo.

Soroproteção

Deteccção de anticorpos acima de um valor de corte postulado para proteção imunológica.

Sorotipo

Cepa sorologicamente distinguível de um determinado microrganismo.

Sorovar

Grupo de microrganismos caracterizado por um conjunto específico de antígenos dentro de uma única espécie de microrganismo.

Teste sorológico

Teste realizado em sangue ou outros fluidos corporais para detectar a presença de anticorpos.

Valor de corte

Em um teste sorológico, o nível de anticorpos acima do qual os indivíduos são classificados como soropositivos e abaixo do qual são considerados soronegativos.

⁴ Organização Mundial da Saúde. Terminología del paludismo de la OMS [Internet]. Ginebra: OMS; 2017. Disponível em: <https://www.who.int/es/publications/item/9789240038400> [consultado em outubro de 2020].

Viés

Discrepância entre o valor real da variável em estudo na população e o valor obtido com a amostra. A discrepância não é resultado do acaso, mas de erros na seleção das unidades de estudo, na coleta de informações ou relacionados com outros fatores.

Vulnerabilidade (à malária)⁵

Probabilidade de infecção por malária em função das condições de vida ou de fatores de risco comportamentais, ou probabilidade de aumento do risco de morbidade grave e mortalidade por infecção por malária.

5 Organização Mundial da Saúde. Terminología del paludismo de la OMS [Internet]. Ginebra: OMS; 2017. Disponível em: <https://www.who.int/es/publications/item/9789240038400> [consultado em outubro de 2020].

Anexos

Anexo 2.1

Exemplo de pesquisas às quais é possível incorporar amostragens sorológicas

ENCUESTA	POBLACIÓN DE ESTUDIO	MÉTODO	CONTEXTO
Malária	<ul style="list-style-type: none">Populações em risco, considerando a análise de vulnerabilidade e receptividade da área a ser amostrada	Representatividade nacional ou subnacional Coleta de amostras de sangue	Domiciliar
DIN (<i>geo-helmintíases, filariose linfática, tracoma, oncocercose, doença de Chagas etc.</i>)	<ul style="list-style-type: none">Populações em risco (crianças de 1 a 14 anos, crianças de 1 a 9 anos etc.)	Representatividade nacional ou subnacional Amostras de sangue e outros tipos de amostras (fezes, esfregaço ocular etc.)	Escolar, comunitária
Pesquisas de Demografia e Saúde (PDS)	<ul style="list-style-type: none">Amostras de grandes populações, que incluam crianças, adolescentes e adultos, para avaliar indicadores nas áreas de população, saúde e nutrição	Normalmente realizadas a cada 5 anos, para permitir comparações ao longo do tempo Representatividade nacional ou subnacional Coleta de amostras de sangue	Domiciliar
Levantamento nacional de saúde nutricional/ micronutrientes	<ul style="list-style-type: none">Mulheres em idade fértil, crianças em idade pré-escolar e escolar, ou crianças de todas as idades, e homens adultos	Representatividade nacional ou subnacional. Recolección de muestras de sangre	Domiciliar
Doenças não transmissíveis	<ul style="list-style-type: none">Todos os adultos de 18 a 69 anos	Representatividade nacional ou subnacional Coleta de amostras de sangue	Domiciliar
Levantamento com indicadores múltiplos por conglomerado (MICS)	<ul style="list-style-type: none">Mulheres e crianças menores de cinco anos (na pré-escola)	Representatividade nacional ou subnacional Coleta de amostras de sangue (para anemia, HIV e malária)	Domiciliar

ENCUESTA	POBLACIÓN DE ESTUDIO	MÉTODO	CONTEXTO
Levantamento de cobertura vacinal	<ul style="list-style-type: none"> • Crianças de 12 a 23 meses, caso a vacinação primária final ocorra aos 9 meses de idade • Crianças de 24 a 35 meses, caso a idade recomendada para a vacinação seja entre 12 e 23 meses de idade • Mulheres que tenham dado à luz nos últimos 12 meses • Meninas de 15 anos (e 16 anos incompletos), caso se esteja avaliando a vacina contra o papilomavírus humano (HPV) em um país 	Representatividade nacional ou subnacional	Domiciliar

Anexo 3.1

Exemplo de modelo de protocolo

A. Introdução¹

- A introdução deve conter as principais informações para estabelecer as bases para a pergunta do inquérito.
- Ela descreve o que se sabe sobre a situação relativa ao controle e eliminação de doenças a serem incluídas no inquérito sorológico no país ou região. Deve descrever quais informações não estão claras, ainda não foram publicadas ou que ainda não estão disponíveis.
- Este histórico deve levar a uma justificativa e explicar a pergunta do inquérito. As referências que fundamentam a pesquisa devem ser fornecidas nesta seção.

B. Métodos

1. Objetivos

- Informar o objetivo principal, declarando claramente que o inquérito visa estimar a soroprevalência e em quantos estratos, ou de classificar a soroprevalência acima ou abaixo de um determinado limiar.
- Determinar se será feita alguma comparação de soroprevalência (por exemplo, entre diferentes regiões ou províncias) e se esses são objetivos principais para os quais será calculado o tamanho da amostra.
- Especificar todos os outros objetivos que o inquérito possa ter, se for o caso.

2. População

- Descrever a população na qual o inquérito será realizado (país, estado, distrito, tamanho da população) e especificar os critérios de inclusão e exclusão.

3. Delineamento

- Descrever as metas inferenciais do inquérito que será realizado (estimar, classificar ou comparar).
- Descrever como as amostras serão coletadas e se serão utilizadas novas ou já existentes. Observar se os participantes serão recrutados de maneira prospectiva ou retrospectiva.

4. Definições operacionais

- Definir os critérios que serão usados para as principais exposições e resultados, e de que forma serão mensurados; por exemplo, cobertura vacinal por carteira de vacinação. Definir outros

¹ Adaptado do modelo incluído em: Organização Mundial da Saúde. Guidelines on the Use of Serosurveys in Support of Measles and Rubella Elimination. Anexos [Internet]. Genebra: OMS; 2019. Disponível em: https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/Serosurvey_Manual_annexes.pdf

aspectos operacionais críticos como, por exemplo, de que forma serão determinados os resultados soropositivos, indeterminados e soronegativos (ou seja, qual valor de corte será usado). Citar referências as diretrizes metodológicas utilizadas.

5. Procedimento de amostragem da população

- Descrever o tipo de amostragem que será utilizada (amostra aleatória simples, amostra sistemática, amostra por conglomerado, amostra estratificada por conglomerado).
- Descrever, passo a passo, o procedimento que será usado para selecionar essa amostra.

6. Tamanho da amostra

- Explicar como o tamanho da amostra foi decidido e esclarecer quaisquer pressupostos usados no cálculo e ajustes para o efeito de não-resposta e efeito do delineamento, se for o caso. Explicitar o software e/ou as fórmulas utilizadas no cálculo.

7. Coleta de dados

- Descrever as informações que serão coletadas por meio do questionário, fornecendo um resumo geral das categorias mais amplas de itens (características demográficas, status socioeconômico, histórico de vacinação e de viagens). Não há necessidade de fornecer uma lista detalhada de perguntas.
- Explicar quem irá coletar os dados e quais serão os métodos utilizados. Descrever os instrumentos que serão usados para coletar informações e fornecer detalhes desses instrumentos em um anexo.
- Descrever os métodos a serem utilizados na coleta, transporte e análise das amostras biológicas.
- Descrever quaisquer outros métodos que planeje utilizar para coletar dados e fornecer referências, conforme for o caso.

8. Análise de dados

Descrever os passos que serão seguidos para a análise dos dados, inclusive:

- Registro das principais variáveis de exposição ou de desfecho;
- Indicadores a serem calculados para a epidemiologia descritiva (soroprevalência);
- Indicadores a serem calculados para a epidemiologia analítica (teste de hipóteses para comparar a prevalência entre diferentes grupos demográficos ou geográficos);
- Principais estratificações previstas (por exemplo, estratificações por status de vacinação e por faixa etária);
- Software estatístico a ser utilizado;
- Principais tabelas e figuras adicionadas a um apêndice; e
- Toda modelagem prevista e as colaborações estabelecidas para efetuar essas modelagens.

9. Treinamento e teste piloto

Descrever os procedimentos que serão utilizados:

- Treinamento das equipes do inquérito e dos supervisores, inclusive itens como o conteúdo a ser discutido e os materiais de treinamento. Deve incluir não apenas apresentações, mas também exercícios práticos sobre condução das entrevistas, entrada de dados e coleta de sangue;
- Antes de iniciar o trabalho de campo, deve ser realizado um teste piloto para servir de treinamento para os trabalhadores e supervisores de campo.

10. Garantia de qualidade

Descrever os procedimentos de garantia de qualidade que serão utilizados:

- Procedimentos de campo;
- Métodos de coleta de dados (por exemplo, testes piloto, treinamento de trabalhadores de campo, traduções, supervisão de campo, cruzamento dos dados);
- Seleção de ensaios e métodos laboratoriais (por exemplo, validação do ensaio, procedimentos operacionais padrão [POP], treinamento, sistema externo de garantia de qualidade [CQE], uso de controles);
- Análise de dados;
- Métodos de supervisão, inclusive o número de supervisores por equipe de campo, número de monitores externos, coordenação geral e laboratorial;
- Uso de GPS para registrar a movimentação das equipes de campo e supervisores; e
- Automação da transferência de dados (por exemplo, usando códigos de barras nas amostras).

11. Viés e limitações

Enumerar as possíveis fontes de viés e limitações do delineamento do inquérito, bem como de sua implementação. Para cada um desses vieses e limitações, descrever:

- A natureza do viés e/ou da limitação;
- Possíveis consequências da limitação para os dados (por exemplo, superestimação/subestimação de um parâmetro); e
- Medidas tomadas para minimizar o impacto do viés e/ou da limitação no estudo.

12. Autorização ética

- *Populações que vivem em condições vulneráveis.* Incluir uma observação indicando se um grupo da população que vive em condições vulneráveis será estudado. Tais populações podem incluir comunidades de difícil acesso, mulheres grávidas, crianças ou prisioneiros. Fornecer justificativa adequada para a inclusão dessas populações.
- *Riscos.* Enumerar os possíveis riscos aos quais os participantes podem ficar expostos por participarem do inquérito. Não minimizar os riscos.
- *Benefícios.* Enumerar os possíveis benefícios que os participantes ou a comunidade poderiam incorrer em decorrência da participação no inquérito. Não exagerar os benefícios. Indicar se os participantes receberão compensação razoável (evitando incentivos indevidos ou inadequados), se os resultados serão dados a todos os participantes e se será oferecida a vacinação ou o tratamento aos indivíduos.

- *Confidencialidade*. Descrever as medidas práticas tomadas para proteger a confidencialidade dos sujeitos do inquérito, tais como o uso de códigos que não permitam a identificação ou que protejam as informações que os identificam.
- *Amostras biológicas*. Enumerar quais amostras biológicas podem ser coletadas e como serão utilizadas. Especificar a duração do armazenamento e como as amostras restantes serão manejadas e/ou descartadas. Certifique-se de que essas propostas estejam de acordo com a aprovação ética.
- *Consentimento informado*. Descrever os procedimentos utilizados para obter o consentimento dos sujeitos da pesquisa e os elementos-chave que garantam que o consentimento seja plenamente informado. Se consentimento informado não for necessário para esse inquérito, explicar o motivo.
- *Autorização do comitê de ética*. Determinar se o protocolo requer análise completa pelo comitê de ética, análise abreviada ou nenhuma análise porque o protocolo está isento (por exemplo, se for uma avaliação programática). Se for necessária análise pelo comitê de ética, especificar o comitê ao qual a aprovação será solicitada.
- O protocolo precisa especificar o que será feito com o conjunto de dados e com as amostras de laboratório após a conclusão. Quem será responsável pelo armazenamento e acesso a eles? Definir com que público o conjunto de dados será compartilhado (por exemplo, com a OMS).

13. Considerações práticas

- *Trabalho de campo*. Descrever arranjos práticos para o trabalho de campo (por exemplo, logística).
- *Prazo*. Fornecer uma linha do tempo dos principais eventos. O ideal é um gráfico de Gantt.

14. Comunicação dos resultados

- O protocolo deve descrever que medidas serão tomadas para comunicar os resultados às diferentes partes interessadas, inclusive a sensibilização das comunidades e a coordenação junto a elas antes do início e durante o inquérito.
- Descrever os diferentes tipos de relatórios: relatório executivo resumindo, brevemente, os principais resultados; relatórios técnicos para agências de fomento, implementadores e parceiros do inquérito; relatórios governamentais para ministérios da saúde e relatórios para leigos para trabalhadores da saúde periféricos e comunidades.

C. Orçamento

- Detalhar o resumo do orçamento, delineando as despesas propostas, apresentando os principais itens de despesas relativas às atividades (como custos de mão de obra), bens de capital (como equipamentos), custos com bens de consumo, testes de laboratório, logística, coordenação e planejamento de pesquisas, custos jurídicos e de especialistas, despesas gerais etc. O orçamento proposto deve incorporar todos os gastos esperados e conter contingências para imprevistos. Quaisquer pressupostos associados ao orçamento devem ser documentados para referência futura.

D. Anexos

- Um protocolo é considerado completo e pode ser submetido a um comitê de ética apenas se incluir anexos que contenham tabelas, instrumentos, formulários de consentimento e outras informações

necessárias que permitam entender como se espera que o levantamento e a análise sejam conduzidos.

- Instrumentos de coleta de dados.

E. Referências

- Listar todas as referências que apoiem as informações de base, métodos e os principais aspectos do protocolo.

Anexo 3.2

Exemplo de questionário

Este questionário inclui perguntas genéricas que podem ser adaptadas às populações de interesse e ao contexto do país para avaliar a soroprevalência e os fatores de risco relacionados às doenças imunopreveníveis.

Nome da localidade:		Número do quarteirão e da casa:	
Nome da criança (se a pesquisa incluir crianças):		Nome da mãe/responsável:	
Nome do entrevistador:		Data da entrevista: __/__/____	
<p> Ao chegar ao domicílio, cumprimente a pessoa que atende a porta e diga o objetivo da visita:</p> <p> BOM DIA. SOMOS DO MINISTÉRIO DA SAÚDE E ESTAMOS VERIFICANDO SE AS CRIANÇAS ENTRE ____ E ____ ANOS DE IDADE NESTA COMUNIDADE FORAM VACINADAS, E SE AS CRIANÇAS QUE PRECISAM DE TRATAMENTO CONTRA PARASITOS JÁ O RECEBERAM. HÁ ALGUMA CRIANÇA NESTA FAIXA ETÁRIA MORANDO AQUI?</p> <p> Se a resposta for "Sim", continue com a entrevista. Do contrário, agradeça à pessoa e saia.</p> <p> COMO HÁ CRIANÇAS NESTA FAIXA ETÁRIA MORANDO AQUI, GOSTARIA DE CONVERSAR COM VOCÊ E PEDIR-LHE QUE RESPONDA A ALGUMAS PERGUNTAS. A ENTREVISTA TERÁ A DURAÇÃO APROXIMADA DE 10 MINUTOS. TODAS AS INFORMAÇÕES FORNECIDAS SERÃO TRATADAS COM SIGILO.</p>			
<p> PODEMOS COMEÇAR AGORA?</p> <p> <input type="checkbox"/> Sim. Caso seja concedida permissão para iniciar a entrevista.</p> <p> <input type="checkbox"/> Não. Se a permissão não for concedida. Preencha o seguinte formulário e discuta o resultado com seu supervisor.</p>			
Resultado da entrevista	Domicílio aceitável	1	
	Domicílio fechado.	2	
	Não moram crianças nessa faixa etária.	3	
	Recusou-se a participar da entrevista.	4	
	Outro (especificar) _____	5	

DADOS DEMOGRÁFICOS E SOCIOECONÔMICOS		ESPAÇO PARA CÓDIGOS
HH1. Número de pessoas que vivem no domicílio	_____	
HH2. Idades dos membros da família:	1. Menores de 5 anos: _____	
	2. 5 a 14 anos de idade: _____	
	3. 15 a 64 anos de idade: _____	
	4. 65 anos ou mais: _____	

DADOS DEMOGRÁFICOS E SOCIOECONÔMICOS		ESPAÇO PARA CÓDIGOS
HH3. Ocupação do pai	_____	
HH4. Ocupação da mãe	_____	
HH5. Escolaridade do pai	1. Fundamental incompleto: _____ 2. Fundamental completo: _____ 3. Médio incompleto: _____ 4. Médio completo: _____ 5. Técnico: _____ 6. Superior: _____	
HH6. Escolaridade da mãe	1. Fundamental incompleto: _____ 2. Fundamental completo: _____ 3. Médio incompleto: _____ 4. Médio completo: _____ 5. Técnico: _____ 6. Superior: _____	
HH7. Quantos anos a criança fez em seu último aniversário?	Idade (em anos)	_____
HH8. Qual é a data de seu nascimento?	Dia/mês/ano	__/__/__
HH9. Sexo	M ___ F ___	_____
HH10. Ele/ela sempre morou nesta comunidade?	Sim: _____ Não: _____	_____
HH11. Se a resposta for "NÃO", anote o nome do local onde ele/ela morava antes:		
HH12. Se a resposta à pergunta HH10 for NÃO, indicar a data aproximada quando ele/ela se mudou para esta comunidade	Mês/ano	__/____

VACINAÇÃO		ESPAÇO PARA CÓDIGOS
<p>IM1. VOCÊ TEM UMA CARTEIRA OU CADERNETA MOSTRANDO AS VACINAS QUE A CRIANÇA RECEBEU?</p> <p>(Se a resposta for "Sim", pergunte: POSSO VER, POR FAVOR?)</p> <p>Se a carteira de vacinação estiver disponível, copie as datas de cada tipo de vacina na caixa abaixo.</p> <p>Selecione "9" se a carteira indicar que a vacina foi administrada, mas a data não tenha sido especificada.</p>	<p>Sim, visto 1</p> <p><i>Ir para a pergunta IM3</i></p> <p>Sim, não visto 2</p> <p><i>Ir para a pergunta IM5</i></p> <p>Não tem carteira 3</p>	

VACINAÇÃO		ESPAÇO PARA CÓDIGOS																		
IM2. (Nome) JÁ TEVE UMA CARTEIRA DE VACINAÇÃO?		Sim 1 <i>Ir para a pergunta IM5</i> Não 2 <i>Ir para a pergunta IM5</i>																		
IM3. Vacinas (adaptar ao cronograma nacional de imunização do país)		Data da vacina			ESPAÇO PARA CÓDIGOS															
		Dia	Mês	Ano																
BCG/TUBERCULOSE	BCG																			
POLIOMIELITE 1	VOP OU VIP 1																			
POLIOMIELITE 2	VOP OU VIP 2																			
POLIOMIELITE 3	VOP OU VIP 3																			
REFORÇO DA PÓLIO I	VOP 1R																			
DIFTERIA/COQUELUCHE/TÉTANO 1	DTP3 1																			
DIFTERIA/COQUELUCHE/TÉTANO 2	DTP3 2																			
DIFTERIA/COQUELUCHE/TÉTANO 3	DTP3 3																			
REFORÇO 1 DA DIFTERIA/COQUELUCHE/TÉTANO	DTP3 1R																			
REFORÇO 2 DA DIFTERIA/COQUELUCHE/TÉTANO	DTP3 2R																			
HEPATITE B	HBV 1																			
HEPATITE B	HBV 2																			
HEPATITE B	HBV 3																			
ROTAVÍRUS 1	RV 1																			
ROTAVÍRUS 2	RV 2																			
PNEUMOCÓCICA 1	PCV 1																			
PNEUMOCÓCICA 2	PCV 2																			
PNEUMOCÓCICA 3	PCV 3																			
SARAMPO/CAXUMBA/RUBÉOLA 1	SCR 1																			
SARAMPO/CAXUMBA/RUBÉOLA 2	SCR 2																			
HAEMOPHILUS INFLUENZAE TIPO b	Hib 1																			
HAEMOPHILUS INFLUENZAE TIPO b	Hib 2																			
HAEMOPHILUS INFLUENZAE TIPO b	Hib 3																			

VACINAÇÃO												ESPAÇO PARA CÓDIGOS
HAEMOPHILUS INFLUENZAE TIPO b	Hib 4											
TRIVALENTE CONTRA INFLUENZA	VTI											
IM4. ALÉM DAS VACINAS REGISTRADAS NESTA CARTEIRA, A CRIANÇA TOMOU ALGUMA OUTRA? POR EXEMPLO, DURANTE CAMPANHAS DE IMUNIZAÇÃO OU DIAS DE VACINAÇÃO?	Sim 1 Não2											
IM5. A CRIANÇA JÁ TOMOU A VACINA BCG CONTRA A TUBERCULOSE? É UMA INJEÇÃO NO BRAÇO OU NO OMBRO QUE GERALMENTE DEIXA UMA CICATRIZ.	Sim1 Não2 Não sabe 8											
IM6. A CRIANÇA JÁ TOMOU A VACINA ORAL CONTRA A POLIOMIELITE? ESTA É UMA VACINA ADMINISTRADA EM GOTAS PARA PROTEGER CONTRA A PARALISIA INFANTIL.	Sim1 Não2 Não sabe 8											
IM7. QUANTAS VEZES A CRIANÇA TOMOU A VACINA CONTRA A POLIOMIELITE?	Tome nota do número de vezes											
IM8. A CRIANÇA ALGUMA VEZ TOMOU INJEÇÕES NA COXA PARA PREVENIR O TÉTANO, COQUELUCHE E DIFTERIA (DTP)? <i>Ressalte que a vacina DTP às vezes é aplicada junto com a vacina contra a poliomielite.</i>	Sim1 Não2 Não sabe 8											
IM9. QUANTAS VEZES A VACINA DTP FOI APLICADA?	Tome nota do número de vezes											
IM10. A CRIANÇA ALGUMA VEZ TOMOU UMA INJEÇÃO CONTRA A HEPATITE B? ESSA INJEÇÃO NORMALMENTE É APLICADA NA COXA. <i>Ressalte que a vacina contra a hepatite B às vezes é aplicada junto com as vacinas contra a poliomielite e DTP.</i>	Sim1 Não2 Não sabe 8											
IM11. A PRIMEIRA VACINA CONTRA A HEPATITE B FOI APLICADA NAS PRIMEIRAS 24 HORAS APÓS O NASCIMENTO, OU DEPOIS?	Nas primeiras 24 horas.....1 Após as primeiras 24 horas 2											
IM12. QUANTAS VEZES A CRIANÇA TOMOU A VACINA CONTRA A HEPATITE B?	Tome nota do número de vezes											
IM13. A CRIANÇA ALGUMA VEZ TOMOU INJEÇÕES PARA PREVENIR SARAMPO OU RUBÉOLA (SCR)? <i>Ressalte que esta injeção é dada no braço, quase sempre a partir de 1 ano de idade para prevenir contra essas doenças.</i>	Sim1 Não2 Não sabe 8											
IM14. QUANTAS VEZES A CRIANÇA TOMOU A VACINA CONTRA O SARAMPO (OU A TRÍPLICE VIRAL)?	Tome nota do número de vezes											
IM15. VOCÊ JÁ TOMOU VACINA CONTRA MENINGITE?	Sim1 Não2 Não sabe 8											
IM16. QUANTAS VEZES VOCÊ TOMOU VACINA CONTRA MENINGITE?	Tome nota do número de vezes											

VACINAÇÃO	ESPAÇO PARA CÓDIGOS
<p>IM17. CASO A CRIANÇA NÃO TENHA TOMADO A SÉRIE COMPLETA DE VACINAÇÕES, QUAL O PRINCIPAL MOTIVO DO ATRASO?</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Não sabia que essas vacinas são necessárias 2. Não sabia aonde levar a criança para ser vacinada 3. Não teve tempo 4. Recusa-se a vacinar a criança 5. A criança estava doente 6. A criança tem contraindicações 7. Os trabalhadores de saúde se recusaram a vacinar a criança 8. A criança foi levada para a unidade de saúde, mas estava fechada 9. A criança foi levada à unidade de saúde, mas a vacina não estava disponível 10. Outro (especifique) _____

ÁGUA, SANEAMENTO E HIGIENE (ASHI)	ESPAÇO PARA CÓDIGOS
<p>WS1. Qual é a principal fonte de água potável disponível aos membros da família?</p> <p>Caso a resposta não seja clara, peça para que seja mostrado onde os membros da família geralmente obtêm sua água potável (ponto de coleta). Marque o usado com maior frequência</p>	<ol style="list-style-type: none"> a) Água encanada _____ b) Poço/mina protegido _____ c) Poço/mina não protegido _____ d) Água da chuva _____ e) Água envasada/em garrafa _____ f) Caminhão ou reboque-pipa _____ g) Águas superficiais (lago, rio, riacho) _____ h) Nenhuma fonte de água _____ i) Outros ____ Especifique _____
<p>WS2. Em algum momento durante o último mês, sua casa deixou de ter água potável suficiente?</p>	<ol style="list-style-type: none"> a) Sim, pelo menos uma vez: _____ b) Não, sempre houve o suficiente: _____ c) Não sei: _____
<p>WS3. Alguém em casa aplica na água algum tipo de tratamento para torná-la mais adequada para o consumo?</p>	<ol style="list-style-type: none"> a) Sim: _____ b) Não: _____ c) Caso tenha respondido sim, explique como é tratada: _____

ÁGUA, SANEAMENTO E HIGIENE (ASHI)	ESPAÇO PARA CÓDIGOS
<p>WS4. Qual é a principal fonte de água utilizada para o banho em seu domicílio? (<i>Caso a resposta não fique clara, peça que seja mostrado onde os membros da família normalmente se banham</i>). Selecione a usada com maior frequência</p>	<p>a) Água encanada _____ b) Água de rio _____ c) Água do poço/nascente _____ d) Outra ____ Especifique _____</p>
<p>WS5. Como são tratados os resíduos excretados em sua casa? <i>Se a resposta não for clara, peça permissão para ver as instalações. Marque o sistema usado com maior frequência</i></p>	<p>a) Lavatório com descarga/manual _____ b) Latrina com laje _____ c) Latrina de compostagem _____ d) Latrina sem laje _____ e) Latrina suspensa _____ f) Latrina de balde _____ g) Sem banheiros ou latrinas (defecação ao ar livre) _____ h) Outros ____ Especifique _____</p>
<p>WS6. Gostaríamos de saber onde os membros da família lavam suas mãos. Por favor, mostre-me onde eles lavam as mãos com mais frequência. <i>Registre as respostas e quaisquer observações.</i></p>	<p>Observado: a) Instalação observada dentro do domicílio: _____ b) Instalação observada fora do domicílio: _____ Não observado: a) Não há lugar para efetuar a lavagem das mãos: _____ b) Não foi identificada na propriedade nenhum lugar para lavar as mãos: _____ c) Não foi dada permissão para observar: _____ Outros (especificar): _____</p>
<p>WS7. Há sabonete, detergente ou cinzas/barro/areia no local onde as mãos são lavadas?</p>	<p>Sim: _____ Não: _____</p>

DESPARASITAÇÃO		ESPAÇO PARA CÓDIGOS
<p>DW1. A pessoa participou de alguma das seguintes campanhas de desparasitação?</p> <p><i>Ao se referir às campanhas, verificar a data e o tipo de campanha de saúde (vacinação, vitamina A, pílulas de desparasitação etc.) realizada.</i></p> <p>CAMPANHA A (DATA _____, TIPO _____)</p> <p>CAMPANHA B (DATA _____, TIPO _____)</p> <p>CAMPANHA C (DATA _____, TIPO _____)</p>	<p>Sim...1 Não...2 Não sabe...8</p> <p>Campanha A 1 2 8</p> <p>Campanha B 1 2 8</p> <p>Campanha C 1 2 8</p>	
<p>DW2. NO ÚLTIMO ANO, A CRIANÇA RECEBEU TRATAMENTO PARA ELIMINAR VERMES OU PARASITOS INTESTINAIS?</p> <p><i>Mostrar os tipos de comprimidos comumente utilizados para tratamento antiparasitário.</i></p>	<p>Sim 1</p> <p>Não 2 <i>Ir para a pergunta DW4</i></p> <p>Não sabe 8</p>	
<p>DW3. QUANDO FOI A ÚLTIMA VEZ QUE A CRIANÇA FOI DESPARASITADA?</p>	<p>Anote a data. Se o respondente não se lembrar exatamente, pergunte há quantos meses foi.</p>	<p>__/__/__</p> <p>_____ MESES</p>
<p>DW4. POR QUE A CRIANÇA NÃO FOI DESPARASITADA NO ANO PASSADO?</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Não sabia que era necessário 2. Não sabia onde obter tratamento 3. Não teve tempo 4. Se recusa a adotar o tratamento 5. A criança estava doente 6. A criança tem contraindicações 7. Os trabalhadores da saúde se recusaram a dar o tratamento 8. A criança foi levada para a unidade de saúde, mas estava fechada 9. A criança foi levada à unidade de saúde, mas o tratamento não estava disponível 10. Outro (especifique) _____ 	

MALÁRIA (CASO OS TRIADOS SEJAM ADULTOS, O FORMULÁRIO PRECISA SER ADAPTADO)		ESPAÇO PARA CÓDIGOS
<p>M1. A PESSOA ESTEVE DOENTE COM FEBRE E CALAFRIOS EM ALGUM MOMENTO NAS ÚLTIMAS DUAS SEMANAS?</p>	<p>Sim 1</p> <p>Não 2</p> <p>Não sabe 8</p>	

MALÁRIA (CASO OS TRIADOS SEJAM ADULTOS, O FORMULÁRIO PRECISA SER ADAPTADO)		ESPAÇO PARA CÓDIGOS
M2. EM ALGUM MOMENTO, FORAM RETIRADAS AMOSTRAS DE SANGUE DO DEDO OU DO CALCANHAR DA PESSOA DOENTE PARA REALIZAR O DIAGNÓSTICO DE MALÁRIA?	Sim 1 Não 2 Não sabe 8	
M3. A PESSOA RECEBEU UM MEDICAMENTO PARA FEBRE OU MALÁRIA NA UNIDADE DE SAÚDE? <i>Caso a resposta seja "Sim", vá para a pergunta M4. Do contrário, vá para a pergunta M5.</i>	Sim 1 Não 2 Não sabe 8	
M4. QUAL O NOME DO MEDICAMENTO DADO À CRIANÇA? Escreva o nome do medicamento, caso disponível. _____ (Nome do medicamento)	Antimaláricos <i>Cloroquina</i> 1 <i>Primaquina</i> 2 Antibióticos 3 Analgésicos e antitérmicos <i>Paracetamol</i> 4 <i>Aspirina/AAS</i> 5 <i>Ibuprofeno</i> 6 Outros (especificar) 7 Não sabe 8	
M5. VOCÊS USAM MOSQUITEIROS PARA DORMIR? <i>Concluir a entrevista e agradecer à pessoa pelo tempo dispensado.</i>	Sim 1 Não 2	

FATORES DE RISCO DE ESQUISTOSSOMOSE		ESPAÇO PARA CÓDIGOS
SC1. Existe algum um rio perto deste domicílio?	Sim: ____ Não: ____	
SC2. Você costuma nadar, pescar ou ir para o rio para se divertir?	Sim: ____ Não: ____	

Anexo 3.3

Papéis e responsabilidades do pessoal

PAPÉIS	RESPONSABILIDADES
Coordenador do inquérito	<ul style="list-style-type: none">• Apoiar a sensibilização e a comunicação com outros setores ou organizações que devam ser envolvidos (por exemplo, líderes comunitários, autoridades nacionais, subnacionais e locais) no processo de planeamento, antes e durante o trabalho de campo.• Assegurar a conformidade com o delineamento estabelecido no protocolo do inquérito.• Solicitar e verificar se todos os suprimentos, recursos e logística necessários para a operação de campo foram adquiridos e disponibilizados.• Assegurar que todo o pessoal seja treinado segundo o protocolo aprovado e os procedimentos operacionais padrão para a amostragem.• Certificar-se de que o delineamento de amostragem do inquérito seja seguido (lista de unidades de amostragem selecionadas, taxa de resposta etc.).• Coordenar as atividades de implementação nas áreas onde o inquérito será realizado, para assegurar que a população seja informada e se apresente de acordo com o plano de visitas e a rota de amostragem.• Monitorar a coleta de dados para garantir a alta qualidade, acompanhando o progresso do trabalho de campo, a segurança na gestão dos dados e o respeito para com a confidencialidade das pessoas selecionadas para serem incluídas na amostra.• Assegurar que a supervisão seja oportuna, que o orçamento seja cumprido e os recursos sejam utilizados eficientemente.• Preparar relatórios escritos sobre o progresso da implementação do inquérito.
Coordenador de laboratório	<ul style="list-style-type: none">• Apoiar a solicitação, compra e verificação de suprimentos para coleta de amostras, transporte e armazenamento, inclusive dos suprimentos necessários para o treinamento das equipes de trabalho de campo.• Assegurar a implementação com qualidade dos procedimentos de coleta, transporte e armazenamento de amostras, inclusive a biossegurança de acordo com as regulamentações nacionais.• Treinar o pessoal de campo na coleta, transporte e armazenamento de amostras.• Apoiar a supervisão e o monitoramento das equipes de campo.• Detectar e resolver problemas que surjam no laboratório.• Verificar o CQ das amostras.• Apoiar a preparação de relatórios, especificamente dos relatórios de progresso da implementação da parte laboratorial da pesquisa.• Rever e preparar toda a papelada necessária para o despacho, como licença de importação, fatura comercial, conteúdo da embalagem etc., para enviar as amostras ao laboratório internacional encarregado das análises multiplex. <p>Além disso, nos países onde um laboratório nacional ficará encarregado por testar amostras, o coordenador do laboratório de análises multiplex e seu pessoal também devem ser responsáveis por:</p> <ul style="list-style-type: none">• Avaliar as capacidades do laboratório antes de iniciar o inquérito;• Selecionar, validar e aprovar ensaios e tipos de amostras conforme necessário;• Assegurar a garantia de qualidade e o desempenho laboratorial adequados;• Apoiar o treinamento e garantir a competência da equipe de laboratório;• Assegurar que os testes e relatórios laboratoriais sejam realizados de acordo com o protocolo;• Rever os resultados de laboratório para detectar erros e verificar os valores em falta no banco de dados antes da análise;• Remeter amostras para testes adicionais de acordo com os procedimentos e para armazenamento para uso posterior;• Garantir a segurança e a proteção dos procedimentos e da equipe de laboratório.

PAPÉIS	RESPONSABILIDADES
Gerente de dados	<ul style="list-style-type: none"> • Fornecer suporte técnico para desenvolver os meios de coleta de dados do levantamento; • Conduzir diariamente o monitoramento e a supervisão dos dados coletados, ajudando a garantir que as estratégias de amostragem sejam implementadas conforme o estabelecido no protocolo e nos procedimentos operacionais; • Garantir a qualidade dos dados, a integridade da análise, o acompanhamento do progresso do trabalho de campo e a gestão segura dos dados; • Tomar nota dos problemas e desafios enfrentados com a implementação que se desviem do protocolo do inquérito e alertar a equipe nacional o mais rapidamente possível; • Conduzir a análise dos dados dos resultados preliminares e apoiar a elaboração dos relatórios de base; • Redigir relatórios com comentários relativos ao progresso na implementação do inquérito.
Supervisores regionais	<ul style="list-style-type: none"> • Apoiar a preparação de materiais e suprimentos a serem utilizados em campo; • Verificar se as equipes de campo estão treinadas e desempenhando suas funções corretamente e, se necessário, fornecer feedback ou treinamento de atualização; • Rever a lista de unidades de amostragem selecionadas e atribuí-las a cada uma das equipes de campo correspondentes; • Organizar os roteiros de trabalho de campo de acordo com o delineamento do inquérito; • Monitorar o progresso e a qualidade dos dados e da coleta de amostras; • Enfrentar todo e qualquer problema ou intercorrência que possa surgir durante a operação; • Manter estreita comunicação com as equipes de campo e coordenadores nacionais.

Anexo 3.4

Papéis e responsabilidades das equipes de campo

MEMBROS DA EQUIPE	RESPONSABILIDADES
Supervisor de campo (o ideal é que seja uma pessoa familiarizada com a região de interesse e que fale o idioma local, se for o caso)	<ul style="list-style-type: none">• Coordenar a logística do trabalho de campo e supervisionar as atividades;• Contatar e coordenar com líderes comunitários e centros de saúde, dependendo das unidades de amostragem da pesquisa;• Implementar o plano local de trabalho de campo de acordo com o roteiro;• Monitorar o roteiro do trabalho de campo e o progresso na coleta de dados;• Assegurar que todos os participantes selecionados, independentemente da idade, tenham assinado um consentimento informado ou um formulário de assentimento, conforme o caso;• Verificar se todos os termos de consentimento estão completos e assinados;• Garantir que todos os participantes confiem nos procedimentos do levantamento e compreendam o significado do consentimento ampliado (armazenamento de amostras para estudos futuros);• Identificar e atribuir um espaço de trabalho (escrivadinha, cadeira, recipiente para a eliminação de resíduos, acesso à água);• Manter uma boa comunicação com o supervisor regional;• Detectar, advertir e resolver todo problema que possa surgir durante o trabalho de campo.
Técnicos de laboratório	<ul style="list-style-type: none">• Auxiliar na identificação do espaço de trabalho, garantindo que seja adequado para a coleta de amostras;• Verificar se o código de identificação do participante está correto (participante correto, formulários corretos, placa de amostragem ou tubo de ensaio correto);• Verificar se os termos de consentimento foram preenchidos por completo (assinados) e certificar-se de que todos os participantes estejam calmos antes da coleta das amostras;• Executar corretamente os procedimentos operacionais padrão para a coleta, armazenamento e transporte de amostras;• Garantir que as medidas de biossegurança sejam seguidas corretamente durante a operação (recipiente para a disposição de resíduos, limpeza do local de trabalho etc.).
Entrevistadores	<ul style="list-style-type: none">• Garantir que os códigos de identificação do indivíduo no formulário de consentimento e no questionário coincidam;• Coletar dados do indivíduo ou informante nos formulários correspondentes (PAPI ou CAPI);• Garantir que a entrevista seja realizada de maneira confidencial;• Verificar se as informações de todas as variáveis necessárias estão completas;• Apoiar vários processos (por exemplo, obtenção de consentimento informado, limpeza do local de trabalho).

Anexo 3.5

Lista de suprimentos de laboratório para coleta de amostras de sangue seco

Esta é uma lista de suprimentos e materiais para coletar amostras de sangue seco.

DESCRIÇÃO	UNIDADE	QUANTIDADE NECESSÁRIA
Lancetas automáticas ativadas por contato (calibre da agulha dependerá da idade da população-alvo do inquérito)	1 caixa / 200	
Cartões de papel-filtro para coleta de amostras de sangue seco	1 pacote / 400	
Cartões indicadores de umidade (1 para cada saco grande de suprimentos para coleta de amostras)	1 pacote / 125	
Pacotes de 1 g de sílica gel em Tyvek 1 g (3 por saco grande)	recipiente/1.000	
Recipientes para descarte de perfurocortantes	Cada	
Chapa de isopor ou poliestireno para secar o papel-filtro	Cada	
Etiquetas com código de barras	Uma etiqueta com código de barras para colar no cartão de papel filtro e outros tipos de amostras e formulários, dependendo do levantamento	
Sacos descartáveis para material biológico	Unidade	
Sacos plásticos pequenos com fecho de correr (8 x 12 cm)	1 unidade	
Sacos plásticos grandes com fecho de correr (10 litros ou 33 x 38,1 cm)	1 unidade	
Recipientes com isolamento térmico para o transporte de materiais	Cada	
Luvas descartáveis (tamanhos 7, 7½, 8)	1 caixa / 1.000	
Bolas de algodão	1 bola	
Álcool 90%	1 litro	
Sabão líquido	Garrafa de 1 litro	
Papel absorvente	Rolo	
Mantas absorventes (tipo forro para caixa de instrumental)	1 caixa / 100	
Pincéis atômicos	1 embalagem / 12	

Anexo 3.6

Modelo de orçamento para um inquérito

CATEGORIA	CUSTO UNITÁRIO (DÓLARES)	QUANTIDADE	TOTAL (DÓLARES)
Recursos humanos			
Coordenador nacional do inquérito	Para cada tipo de categoria de pessoal, defina:		
Supervisores			
Trabalhadores de campo	Nível salarial: x por x meses a x		
Responsável pela entrada de dados	Diária: por x dias		
Estatístico para analisar e relatar os dados			
Treinamento			
Local de treinamento			
Lanches/almoço			
Aluguel de equipamentos			
Diária			
Suprimentos e consumíveis			
Suprimentos de laboratório	Ver Anexo 3.5		
Materiais de campo (canetas, lápis, sacos plásticos para guardar formulários, pastas, envelopes para formulários etc.)			
Acesso à Internet			
Impressoras e fotocopiadoras			
Produção de mapas			
Cartões telefônicos			
Dispositivos móveis			
Transporte			
Viagens (tarifas aéreas)			
Transporte terrestre			
Relatório do inquérito			
Elaboração do relatório			
Impressão do relatório final			
Divulgação			
Local da reunião/apresentação			
Comunicado à imprensa			
Mobilização social			
Total			

Anexo 3.7

Exemplo de cronograma para um inquérito

ATIVIDADE OU TAREFA	ANO 1												ANO 2						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	
Protocolo do inquérito																			
Documentação de base	■	■	■																
Delineamento da pesquisa e estratégia de amostragem	■	■	■																
Definição das variáveis e dos questionários	■	■	■	■	■														
Elaboração do termo de consentimento livre e esclarecido	■	■	■	■	■														
Preparação do cronograma e orçamento	■	■	■	■	■														
Reuniões e discussões sobre o protocolo com especialistas		■	■	■	■														
Atualização do protocolo do levantamento		■	■	■	■														
Elaboração dos procedimentos operacionais padrão			■	■	■	■	■												
Obtenção da autorização ética				■	■	■	■	■											
Elaboração dos questionários, programa de entrada de dados (plataforma móvel?) para a gestão dos dados					■	■	■	■											
Reprodução dos termos de consentimento e demais materiais impressos						■	■	■											
Logística e coordenação																			
Aquisição de testes diagnósticos e consumíveis				■	■	■	■												
Contratação de pessoal, se necessário				■	■	■	■												
Definição da estrutura e organização das equipes de campo			■	■	■	■	■												
Coordenação com o setor de educação e outros parceiros			■	■	■	■	■	■											
Processo de conscientização, comunicação e mobilização social				■	■	■	■	■											
Treinamento																			
Organização do treinamento de campo								■	■										
Treinamento da equipe nacional e dos supervisores									■										
Treinamento das equipes de campo										■									
Teste piloto do protocolo											■								
Coleta e análise de dados																			
Realização do trabalho de campo para a coleta de dados											■	■	■	■					
Entrada/gestão de dados											■	■	■	■					
Análise de dados												■	■						
Tomada de decisões e divulgação																			
Elaboração do relatório do levantamento																	■	■	■
Discussão dos resultados e tomada de decisões																		■	■
Divulgação dos resultados																			■

Anexo 3.8

Exemplo de termo de consentimento livre e esclarecido

Indicações gerais: O termo de consentimento livre e esclarecido, a carta de assentimento e o termo de consentimento ampliado devem conter as mesmas informações. Esse modelo deve ser ajustado conforme necessário, de acordo com o delineamento do estudo e o nível de compreensão dos possíveis participantes (idioma, maturidade, nível de escolaridade etc.).

ESTRUTURA	EXEMPLO
Título	Inquérito sorológico integrado de [doenças a serem monitoradas] em [populações], [área geográfica de interesse].
Objetivo	Estimar a soroprevalência de anticorpos contra [patógenos a serem testados] em [população-alvo] em [área geográfica].
Descrição	<p>Bom dia (tarde), meu nome é (nome da pessoa obtendo consentimento), e eu trabalho para (nome da(s) organização(ões)).</p> <p>O objetivo deste inquérito é (mencionar o objetivo).</p> <p>Observação: Mencionar também o nome de todas as doenças de interesse. Use termos que sejam coerentes e compreensíveis para a população e o contexto local. Caso estudos futuros sejam incluídos, mencionar que outras doenças podem ser estudadas.</p> <p>Os resultados do inquérito nos permitirão (mencionar como essa pesquisa beneficiará a saúde da comunidade ou da população, por exemplo, verificar se a população foi exposta a várias doenças com uma única e pequena amostra de sangue, saber se os níveis de vacinação/proteção contra doenças infecciosas são adequados etc. Caso sejam incluídos estudos futuros, explicar porque é necessário armazenar a amostra.)</p> <p>O motivo de nossa visita é: (explicar o motivo, por exemplo, a casa ou a escola foi escolhida aleatoriamente, e o participante também foi selecionado para participar). Pedimos a gentileza de concordar em participar.</p> <p>É muito importante que você entenda de que este inquérito trata:</p> <ul style="list-style-type: none">• Explique os procedimentos (entrevista, amostragem).• Mencione quanto tempo levará e o volume de sangue a ser retirado.• Mencione em que consiste a pesquisa, indique se o inquérito envolve pais e filhos.• Explique como a confidencialidade dos dados será assegurada.• Mencione o processo de envio, armazenamento e análise das amostras (incluir informações sobre se a amostra será analisada em um laboratório no exterior).• Especificar se os participantes serão notificados dos resultados e se alguma intervenção será realizada (a pesquisa pode abranger uma doença que produza resultados individuais. No entanto, na maioria dos casos, os inquéritos sorológicos fornecem resultados apenas populacionais, portanto, quaisquer intervenções serão implementadas no nível da comunidade).• No caso de estudos futuros, explicar o tempo de armazenamento e como a amostra e os dados serão protegidos.• Explicar os riscos e benefícios da participação. <p>Caso o indivíduo concorde em participar, você deve (explicar que o participante deve assinar o formulário ou colocar a impressão digital do polegar).</p>

ESTRUTURA	EXEMPLO
	<p>O teste de laboratório será gratuito (descreva se há alguma compensação ou custo para participar), mas não podemos oferecer remuneração monetária pela participação.</p> <p>Os resultados deste teste nos ajudarão a obter dados sobre o histórico passado ou a situação presente das doenças incluídas neste estudo, mas não visam determinar se você está doente. Portanto, obteremos resultados sobre o nível de anticorpos contra doenças na comunidade, não no nível individual. Isso significa que não entregaremos um resultado de exame a você, mas obteremos informações que beneficiarão sua comunidade agora e no futuro. (Descreva os possíveis benefícios de participar e os riscos, e como esses riscos podem ser evitados).</p> <p>Durante o inquérito, não teremos meios de identificá-lo em momento algum. Todos os nomes serão substituídos por códigos numéricos. (Mencione como a confidencialidade dos dados será assegurada e explique que os possíveis participantes têm total liberdade de recusar ou de se retirar do inquérito a qualquer momento, se assim o desejarem).</p> <p>A participação neste estudo é voluntária. Sua participação ou não é uma decisão totalmente pessoal. Além disso, se desejar, você pode deixar de participar do inquérito quando quiser. O participante não perderá nenhum benefício, acesso ao seu centro de saúde ou qualquer coisa do tipo.</p> <p>Se houver algo que você não entenda, peça esclarecimentos antes de dar seu consentimento.</p>
Informações de contato	Se tiver alguma dúvida, entre em contato com (nome e informações de contato do pesquisador principal).
Declaração de consentimento	<p>A equipe do inquérito me explicou o objetivo deste estudo. Eu entendo do que se trata e sei que sou livre para deixar de participar do inquérito a qualquer momento se assim o quiser. Sei que não participar deste estudo não afetará de forma alguma a atenção que recebo em meu centro de saúde local.</p> <p>Me foi explicado e li o formulário de consentimento. Todas as dúvidas que tive foram respondidas até eu ficar satisfeito(a) e, portanto, consinto, voluntariamente, em participar.</p> <p>Assinaturas e/ou impressões digitais: _____</p> <p>Observação: no caso de consentimento ampliado, incluir uma opção para tornar a amostra anônima e dar a oportunidade de recusar determinados testes (como testes genéticos).</p>

Anexo 3.9

Exemplo de formulário de assentimento para crianças

ESTRUTURA	EXEMPLO
Título	Pesquisa sorológica integrada de [doenças a serem monitoradas] em [populações], [área geográfica de interesse].
Objetivo	Estimar a soroprevalência de anticorpos contra [patógenos a serem testados] em [população-alvo] em [área geográfica].
Descrição	<p>Bom dia (tarde), meu nome é (nome da pessoa que pede consentimento), e eu trabalho para (nome da(s) organização(ões)).</p> <p>O objetivo deste estudo é (mencionar o objetivo).</p> <p>Vou passar informações e convidá-lo(a) a participar desta pesquisa. Você pode optar por participar ou não. Conversamos com seus pais ou responsáveis sobre esta pesquisa, e eles sabem que estamos pedindo sua concordância também. Eles já concordaram com sua participação.</p> <p>Caso não queira participar da pesquisa, não precisa, mesmo que seus pais tenham concordado. A decisão é sua. Caso decida não participar, isso não terá consequência nenhuma. Mesmo que você diga “Sim” agora, você pode mudar de ideia mais tarde, e tudo bem.</p> <p>Você pode conversar sobre o conteúdo deste formulário com seus pais ou com qualquer outra pessoa com quem se sinta à vontade. Pode haver algumas palavras que você não entenda ou coisas que você queira que eu explique melhor, porque você está interessado ou preocupado. Por favor, peça-me para parar quando quiser, e eu explico sem pressa.</p> <p>Caso você concorde em participar, você precisa (explicar que o participante deve assinar o formulário ou colocar a impressão digital do polegar).</p> <p>Você sentirá uma picada em um dedo da mão que menos usa. Vamos tirar uma pequena quantidade de sangue e colocar ela em um papel de filtro para detectar se você foi infectado por (nome da(s) doença(s) a ser(em) testada(s)). Vamos guardar essa gota de sangue, porque ela pode ser usada para identificar outras doenças.</p> <p>Tirar uma amostra de sangue de um de seus dedos pode doer um pouco, mas essa dor passa rapidamente. Em seguida, vamos te dar um algodão com álcool para segurar no dedo. A coleta da amostra será feita por uma equipe treinada e não trará nenhum risco para a sua saúde.</p>
Declaração de assentimento	<p>Me foi explicado e li o formulário de assentimento. Todas as dúvidas que tive foram respondidas até eu ficar satisfeito(a) e, portanto, dou meu consentimento voluntário para participar.</p> <p>Assinaturas e/ou impressões digitais: _____</p>

Anexo 4.1

Exemplo de pauta de treinamento

Indicações gerais:

- Indicar o objetivo da oficina de treinamento e explicar o objetivo de cada tópico incluído na pauta de treinamento com base no protocolo.
- O treinamento deve seguir uma lógica sequencial. Todos os participantes devem ser treinados em procedimentos de coleta de dados e amostras por meio de exercícios e práticas.
- Recomenda-se um intervalo de 20 minutos no meio da manhã. Dependendo do contexto cultural de cada país, também é aconselhado um intervalo de 1 hora para o almoço.
- Ao final da sessão de treinamento, os participantes devem completar uma avaliação dos objetivos e procedimentos do levantamento.
- A pauta deve incluir aspectos da composição de cada equipe e os papéis de cada membro. A Tabela A4.1.1 contém um exemplo de pauta de treinamento de uma equipe de campo durante quatro dias. Ele pode ser adaptado às necessidades e aos procedimentos do levantamento proposto.

TABELA A4.1 Exemplo de pauta de treinamento para um inquérito sorológico integrado

DIA	TEMA
Dia 1	Inscrição dos participantes
	Sessão de boas-vindas
	Objetivos e conteúdo do treinamento
	Apresentação dos participantes
	Objetivos e impacto esperado da pesquisa
	Delineamento da amostragem (seleção de grupos e indivíduos)
	Aspectos éticos
	Elaboração do questionário
	Prática supervisionada: Entrevista e aplicação do questionário (no formato real)
	Dia 2
	Métodos de coleta, armazenamento e envio de amostras de sangue
	Procedimentos de biossegurança em campo

DIA	TEMA
	Prática supervisionada: Coleta de amostras de sangue
	Papéis, responsabilidades e fluxo das operações em campo
	Prática supervisionada: Formação e implementação das equipes de campo
	Instruções e logística para a implementação do teste piloto
Dia 3	Feedback
	Entrega dos materiais e transporte para a área da prática
	Prática supervisionada: Trabalho de campo
	Elaboração de relatórios de trabalho em campo pelas equipes responsáveis
Dia 4	Apresentação do relatório de trabalho de campo
	Resumo das lições aprendidas e dos aspectos que precisam ser melhorados
	Sessão de perguntas e respostas
	Avaliação dos participantes e da oficina
	Organização de equipes de campo: composição e atribuição a áreas geográficas
	Acordos e cronograma de atividades

Anexo 5.1

Antígenos disponíveis para a vigilância sorológica integrada na plataforma do ensaio multiplex com microesferas (MBA), sua utilidade em diferentes cenários e possíveis intervenções

DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES								
Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	Utilidade por faixa etária				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			<2	2-4	5-14	≥15		
<i>Plasmodium falciparum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Os anticorpos contra a malária são geralmente utilizados como marcadores de exposição. 	<ul style="list-style-type: none"> A vigilância sorológica da malária deve ser abordada com base no cenário epidemiológico e nas necessidades. 					<ul style="list-style-type: none"> Nos indivíduos que apresentam uma resposta imune intensa, testes adicionais como PCR ou de detecção de antígenos de parasitos podem ser realizados para determinar se o indivíduo está se recuperando de uma infecção recente no momento da amostragem ou se a resposta corresponde a uma infecção previamente resolvida, causada por uma exposição anterior. Dependendo do cenário epidemiológico, se ficar determinado que grupos de crianças ou adultos apresentam uma resposta imune particularmente intensa, os programas contra a malária devem definir as intervenções a serem implementadas. Definir as áreas geográficas com altos níveis de anticorpos em crianças ou com uma alta proporção de pessoas cujos testes de anticorpos de curta duração são positivos pode orientar melhor a priorização das intervenções. Isso também pode fornecer evidências sobre quais seriam as áreas ou as ações prioritárias que devem ser reforçadas ou implementadas. 	<ul style="list-style-type: none"> A sorologia da malária aumenta a janela de tempo para a detecção da exposição por testes de anticorpos, que é muito mais ampla que a de PCR, RDT e outros testes para o diagnóstico da malária. Os parâmetros sorológicos oferecem uma vantagem teórica sobre a prevalência de parasitos como medida de endemicidade, visto que anticorpos podem persistir por meses ou anos após a infecção, diminuindo assim os efeitos da transmissão sazonal ou instável da malária. Foi sugerido que os marcadores sorológicos funcionam como indicadores da dinâmica de transmissão da malária, e as taxas de aquisição de resposta imune ajustadas à idade têm sido usadas para estimar a força da infecção, sugerindo que os marcadores imunológicos podem ser uma ferramenta útil para uma rápida avaliação da intensidade da transmissão da malária. Estudos atuais sugerem que a soroprevalência reflete a exposição cumulativa ao longo do tempo e pode, juntamente com dados de prevalência de parasitos, ser usada para inferir mudanças na transmissão da malária ao longo do tempo e entre as estações do ano.
Pf MSP1-19	<ul style="list-style-type: none"> Os anticorpos específicos contra os antígenos MSP e AMA têm uma meia-vida mais longa que os anticorpos CSP ou LSA (anos em vez de meses, respectivamente). 	<ul style="list-style-type: none"> Em áreas de baixa transmissão, anticorpos com meia-vida longa (como MSP1 e AMA1) são importantes. 	++	++	++	++		
Pf CSP		<ul style="list-style-type: none"> Em ambientes multiendêmicos, a inclusão de MSP1 para cada um dos quatro tipos de malária (<i>P. falciparum</i>, <i>P. vivax</i>, <i>P. malariae</i> e <i>P. ovale</i>) é útil, mas isso é especialmente verdade nos ambientes de baixa transmissão. 	++	++	++	++		
Pf LSA1		<ul style="list-style-type: none"> Visto que as infecções por plasmódios que não o <i>P. falciparum</i> são frequentemente subclínicas, a inclusão de anticorpos MSP1 pode revelar que há transmissão residual no país. 	++	++	++	++		
Pf AMA1	<ul style="list-style-type: none"> O ensaio de IgG multiantigênico fornece informações sobre o perfil imunitário e a intensidade da resposta imunológica. 	<ul style="list-style-type: none"> Em áreas de transmissão ativa, é interessante obter informações sobre o perfil sorológico das respostas de anticorpos no longo e curto prazos. 	++	++	++	++		
<i>Plasmodium malariae</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dependendo da faixa etária pesquisada, a resposta imune pode ser interpretada de maneira diferente. 	<ul style="list-style-type: none"> Em áreas de transmissão ativa, é interessante obter informações sobre o perfil sorológico das respostas de anticorpos no longo e curto prazos. 						
Pm MSP1-19	<ul style="list-style-type: none"> Nas populações jovens, a ausência de anticorpos é indicativa da ausência de cadeias de transmissão a partir daquela faixa etária (naquela coorte). 	<ul style="list-style-type: none"> Painéis com antígenos diferentes podem ser construídos para fornecer informações para cada cenário epidemiológico e devem ser discutidos para cada localidade de um país. 	++	++	++	++		
<i>Plasmodium ovale</i>								
Po MSP1-19			++	++	++	++		
<i>Plasmodium vivax</i>								
Pv MSP1-19			++	++	++	++		

Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	DIN				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			Utilidade por faixa etária					
			<2	2-4	5-14	≥15		
Tracoma <i>Chlamydia trachomatis</i>								
Pgp3	<ul style="list-style-type: none"> Fornecer informações sobre infecção, exposição, infecção cumulativa etc. 	<ul style="list-style-type: none"> O estabelecimento da soroprevalência por idade não é 100% específico: as crianças são expostas a <i>C. trachomatis</i> genital transmitida durante o parto (pode haver reações cruzadas). Não foi estabelecido um limiar de soroprevalência de anticorpos para definir o ressurgimento do risco de tracoma durante a vigilância pós-eliminação visando detectar a recorrência. 	1-2 +++, <1 = 0	+++	+++	0	<ul style="list-style-type: none"> Não há recomendações sobre intervenções a serem implementadas no nível individual ou comunitário usando com base nos resultados da sorologia. A medição desses antígenos ajudará a caracterizar melhor o uso de dados do perfil sorológico em ambientes pós-eliminação. 	<ul style="list-style-type: none"> Aconselha-se o uso de ambos os antígenos em áreas não endêmicas para comparar os perfis sorológicos com os das áreas endêmicas e assim contribuir para caracterizar a utilidade dos perfis sorológicos do tracoma. O antígeno Ct694 está disponível apenas no ensaio de MBA, enquanto os testes ELISA e de fluxo lateral estão disponíveis para o Pgp3.
Ct694			1-2 +++, <1 = 0	+++	+++	0	<ul style="list-style-type: none"> O Ct694 está sendo avaliado, assim como o antígeno Pgp3, mas o último tem sido mais amplamente estudado e tem mais dados disponíveis. 	
Bouba <i>Treponema pallidum</i>								
r-p17	<ul style="list-style-type: none"> Infecção atual ou exposição anterior ao <i>T. pallidum</i> subesp. <i>pallidum</i> (sífilis) ou <i>T. pallidum</i> subespécie <i>pertenue</i> (bouba). Serve como um marcador de infecções anteriores. 	<ul style="list-style-type: none"> Marcador de exposição a antígenos de treponemas: o contexto epidemiológico e a idade determinarão se a exposição foi a bouba ou sífilis. 	0	0	+++	0	<ul style="list-style-type: none"> O atual programa da OMS para bouba sugere que soroprevalência <1%, juntamente com um histórico de ausência de notificação de casos e sem infecção atual, indicam uma inexistência de transmissão. 	
TmPA	<ul style="list-style-type: none"> Marcador de infecção atual por <i>T. pallidum</i> subesp. <i>pallidum</i> (sífilis) ou <i>T. pallidum</i> subesp. <i>pertenue</i> (bouba). A resposta imunológica diminui após o tratamento. 		0	0	+++	0	<ul style="list-style-type: none"> Quando somente o teste de r-p17 é positivo (sem TmPA), isso pode ser um indicativo de exposição passada. 	

Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	DIN				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			Utilidade por faixa etária					
			<2	2-4	5-14	≥15		
Esquistossomose <i>Schistosoma mansoni</i>								
Sm25	<ul style="list-style-type: none"> Mede anticorpos contra parasitos <i>S. mansoni</i> adultos. Não se espera que haja reatividade cruzada significativa com o <i>S. haematobium</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> Tanto Sm25 quanto SEA são bons marcadores de infecção anterior. Entretanto, não distinguem entre infecção ativa e passada, e os níveis de anticorpos não diminuem com o tempo após a cura. 	+	++	+++	+++	<ul style="list-style-type: none"> Não há recomendações sobre quais intervenções devem ser implementadas. A medição desses antígenos ajudará a caracterizar melhor o uso de dados do perfil sorológico. 	<ul style="list-style-type: none"> Para pessoas que vivem em áreas não endêmicas ou de baixa transmissão, os testes sorológicos podem ser úteis para demonstrar se houve exposição à infecção e a necessidade de efetuar um exame amplo, diagnóstico laboratorial, tratamento e acompanhamento.
SEA	<ul style="list-style-type: none"> Mede anticorpos contra ovos de esquistossomo. Trata-se de um lisado celular e, portanto, de uma mistura complexa de antígenos. É mais sensível que o Sm25, mas menos específico. Há evidências de que altos níveis de anticorpos em crianças estão relacionados com o aumento da carga de infecção medida pelos ovos encontrados nas fezes. 	<ul style="list-style-type: none"> Esse antígeno é útil para mapear a linha de base (em todas as idades) e para monitorar o progresso rumo à eliminação da transmissão. Os anticorpos anti-SEA podem ser úteis em faixas etárias mais jovens, uma vez que a soroconversão ocorre mais cedo por ser uma mistura bruta de antígenos. 	+	++	+++	+++		

Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	DIN				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			Utilidade por faixa etária					
			<2	2-4	5-14	≥15		
Filariose linfática (1) <i>Wuchereria bancrofti</i> e <i>Brugia malayi</i>								
Wb123	<ul style="list-style-type: none"> O Wb123 é específico para <i>W. bancrofti</i> e é altamente expresso pelo estágio larval (L3), que é o estágio de vida infeccioso transmitido pelos mosquitos. Portanto, pode ser um marcador específico de transmissão contínua. Os anticorpos podem levar anos para se desenvolverem mesmo em áreas de alta transmissão, e a duração da persistência dos anticorpos após a cura é desconhecida. Há evidências de que a carga comunitária de anticorpos diminui com o tempo após a administração maciça de medicamentos (AMM). 	<ul style="list-style-type: none"> O Wb123 está sendo usado em pesquisas operacionais para avaliar sua utilidade como marcador de transmissão contínua. Há evidências em alguns ambientes de que níveis elevados de anticorpos anti-Wb123 se correlacionam com o antígeno da filária circulante, e, portanto, podem ser úteis como marcadores para monitorar a eficácia da AMM (2). O Bm14 também é amplamente utilizado e está sendo investigado como um possível marcador sensível para avaliação da transmissão e vigilância no longo prazo após a interrupção da transmissão ter sido validada. O Bm33 é altamente imunodominante, mas é usado apenas juntamente com os outros dois antígenos. O Bm14 e Bm33 apresentam reação cruzada com <i>B. malayi</i>, <i>Onchocerca volvulus</i>, <i>Loa</i> spp. e <i>Mansonella</i> spp.; portanto, não são úteis em certas localidades da África e Ásia. 	0	+/++	++	+	<ul style="list-style-type: none"> Não há limiares formalmente definidos para o antígeno que poderiam ser usados para ensejar intervenções. Os limiares provisórios podem ser determinados por especialistas no assunto para determinadas localidades com base nas evidências cumulativas de pesquisas operacionais em andamento. Nas comunidades onde muitos indivíduos apresentem uma resposta imune intensa, podem ser necessários mais estudos de acompanhamento. 	<ul style="list-style-type: none"> O ensaio multiplex ainda não foi aceito para avaliações programáticas; entretanto, com análises adicionais e experiência crescente, pode vir a ser uma opção econômica.
Bm14	<ul style="list-style-type: none"> Mede anticorpos contra um antígeno de filária altamente conservado e imunogênico. Foi identificado em <i>B. malayi</i>, mas apresenta reação cruzada com outras espécies de filária, especialmente <i>W. bancrofti</i>. É um marcador relativamente sensível de infecção passada ou de exposição à <i>W. bancrofti</i>. A soroconversão pode levar anos, mesmo em áreas onde a transmissão é continuamente alta, e há evidências de que os anticorpos apresentam longa duração. No entanto, com o tempo, os títulos diminuem após a cura. 	<ul style="list-style-type: none"> Diferentes localidades epidemiológicas com diferentes faixas etárias podem produzir informações diferentes. A ausência de respostas positivas em crianças e adultos é uma boa evidência de que a transmissão é baixa ou ausente. Respostas positivas em crianças nascidas após a AMM são possíveis evidências de transmissão contínua, mas não há limites formais disponíveis que indiquem quais níveis representam uma exposição suficientemente alta para levar à recorrência. 	0	+/++	++	+		
Bm33	<ul style="list-style-type: none"> O mesmo que Bm14 Há algumas evidências de que, em localidades altamente endêmicas, a soroconversão para Bm33 ocorre mais cedo do que para Bm14 ou Wb123. 		0	+/++	++	+		

Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	DIN				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			Utilidade por faixa etária					
			<2	2-4	5-14	≥15		
Cegueira dos rios (oncocercose)								
<i>Onchocerca volvulus</i>								
OV-16	<ul style="list-style-type: none"> • Infecção atual ou passada por <i>O. volvulus</i>. • A resposta imune leva pelo menos 15 meses para ser desenvolvida; portanto, não é um marcador de infecção imediato. • Os anticorpos desenvolvidos serão detectáveis por vários anos após a eliminação das infecções. 	<ul style="list-style-type: none"> • Não para diagnóstico clínico, apenas para avaliações programáticas: mapeamento de áreas a serem tratadas com ivermectina, monitoramento e avaliações para cessar a AMM (ivermectina). • Também pode ser utilizado para verificar a eliminação da transmissão no final do período de vigilância pós-tratamento. • Possibilidade de uso na vigilância pós-eliminação. 	0	++/+++	++/+++	Mapeamento	<ul style="list-style-type: none"> • Para testes ELISA padrão, as avaliações de mapeamento positivo podem provocar o início da administração maciça de ivermectina; testes positivos em avaliações que visam verificar se a AMM pode ser descontinuada implicam que a área não passou na avaliação, e, portanto, que a AMM deve continuar. De acordo com os critérios da OMS, uma vez que a positividade das amostras seja <2% a cada 2 mil crianças, a AMM pode ser descontinuada. 	<ul style="list-style-type: none"> • O ensaio multiplex ainda não foi aceito para avaliações programáticas. Serão necessárias avaliações adicionais para incorporar os resultados do ensaio Luminex OV-16 em atividades de apoio a decisões importantes relativas a programas de eliminação da oncocercose.
Toxocaríase								
<i>Toxocara canis</i>								
CTL-1	<ul style="list-style-type: none"> • Os anticorpos são marcadores de exposição ou infecção incapazes de distinguir entre <i>T. canis</i> e <i>T. cati</i>. 	<ul style="list-style-type: none"> • Não há informações disponíveis sobre seu uso no campo. • Uso possível apenas para mapeamento e estudos de base. 	?	++?	++?	++?	<ul style="list-style-type: none"> • Não há recomendações de uso. 	
Estrongiloidíase								
<i>Strongyloides stercoralis</i>								
NIE	<ul style="list-style-type: none"> • Títulos altos podem ser indicativos de infecção crônica atual caso o indivíduo nunca tenha sido tratado. Os anticorpos IgG4 geralmente diminuem significativamente no período de 6 meses após o tratamento bem-sucedido. Entretanto, alguns pacientes podem permanecer soropositivos após o tratamento. • Este antígeno é bem caracterizado como ferramenta sorológica por muitos grupos em muitas localidades. O NIE se destaca entre os antígenos deste helminto transmitido pelo solo porque tem boa especificidade e não reage de forma cruzada com outras infecções parasitárias comuns. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mapeamento e avaliação do impacto das intervenções, tanto no nível comunitário como individual. 	?	++?	++?	++?	<ul style="list-style-type: none"> • Os indivíduos podem ser tratados se não houver contraindicações e nenhum histórico de tratamento. • Não há limiares definidos, mas para comunidades nas quais muitos indivíduos apresentam uma resposta imune intensa, são necessários estudos de acompanhamento mais detalhados. 	<ul style="list-style-type: none"> • A infecção está associada a um maior risco em indivíduos imunocomprometidos.

Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	DIN				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			Utilidade por faixa etária					
			<2	2-4	5-14	≥15		
Fasciolíase <i>Fasciola hepatica</i>								
FhSAP2	<ul style="list-style-type: none"> Anticorpos são marcadores de exposição. 	<ul style="list-style-type: none"> Não há informações disponíveis sobre seu uso no campo. Uso possível apenas para mapeamento e estudos de base. 	?	++?	+++?	++?	<ul style="list-style-type: none"> Não há limiares definidos, mas para comunidades nas quais muitos indivíduos apresentam uma resposta imune intensa, são necessários estudos de acompanhamento mais detalhados. 	
Cisticercose (neurocisticercose) <i>Taenia solium</i>								
T24H	<ul style="list-style-type: none"> Anticorpos são marcadores de exposição a cistos. A sensibilidade foi recentemente caracterizada em pacientes com evidência de cistos em estudos de imagem. 	<ul style="list-style-type: none"> Potencialmente útil apenas para mapeamento e estudos de base. 	0	+?	++?	+++?	<ul style="list-style-type: none"> A soropositividade ao T24H no MBA não deve exigir intervenção individual a menos que o indivíduo para o qual o resultado tenha sido positivo também tenha apresentado sintomas clínicos de neurocisticercose (por exemplo, convulsões, cefaleia intensa). A soropositividade transitória de baixo nível para este antígeno não é indicativa de doença clínica. Não há limiares definidos, mas para comunidades nas quais muitos indivíduos apresentam uma resposta imune intensa, são necessários estudos de acompanhamento mais detalhados. 	<ul style="list-style-type: none"> Recomendado para uso em conjunto com o rES33.
Teníase <i>Taenia solium</i>								
rES33	<ul style="list-style-type: none"> Anticorpos são marcadores de exposição a tênias adultas. 	<ul style="list-style-type: none"> Potencialmente útil apenas para mapeamento e estudos de base. 	0	+?	++?	+++?	<ul style="list-style-type: none"> Indivíduos positivos para rES33 (teníase) devem ser monitorados, confirmados por outro teste (como ELISA, antígeno fecal ou microscopia de fezes) e clinicamente tratados caso o resultado positivo seja confirmado. Tratar os casos positivos é importante, porque esses indivíduos provavelmente estão contribuindo para o ciclo de transmissão. Uma taxa de positividade <10% é esperada com base em estudos anteriores. Se a positividade exceder 10%, o método de corte pode precisar ser avaliado antes de prosseguir com a intervenção. Não há limiares definidos, mas para comunidades nas quais muitos indivíduos apresentam uma resposta imune intensa, são necessários estudos de acompanhamento mais detalhados. 	<ul style="list-style-type: none"> Recomendado para uso em conjunto com o T24H.

DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS E ÁGUA

Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	Utilidade por faixa etária				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			<2	2-4	5-14	≥15		
Criptosporidiose <i>Cryptosporidium parvum</i>								
Cp17	• Infecção anterior	<ul style="list-style-type: none"> A prevalência de anticorpos contra esses antígenos é muito alta em áreas sem acesso a água limpa e bom saneamento básico. Estes antígenos podem ser úteis em combinação com outros indicadores de qualidade da água quando comparamos comunidades com condições de saneamento desconhecidas. 	+++	++	+	0	• Intervenções na água, saneamento e higiene (ASHI)	
Cp23								
Giardiasis <i>Giardia lamblia</i>								
VSP3	• Infecção anterior	<ul style="list-style-type: none"> É esperado que a prevalência de infecções por giárdia seja alta em áreas sem acesso a água limpa e bom saneamento básico. As infecções por giárdia podem se tornar crônicas quando não tratadas. Há evidências de que a infecção crônica leva à imunotolerância e a uma diminuição dos níveis detectáveis de IgG, ou seja, a soroprevalência diminui em áreas altamente endêmicas após o período inicial de 1 a 5 anos (3, 4). Assim, é fundamental observar as faixas etárias jovens para obter as informações mais úteis sobre esses antígenos. Estes antígenos podem ser úteis em combinação com outros indicadores de qualidade da água quando comparamos comunidades com condições de saneamento desconhecidas. 	+++	++	+	0	• Intervenções na água, saneamento e higiene (ASHI)	• Os estudos podem ser realizados apenas com VSP5 sem que haja uma perda prejudicial de sensibilidade.
VSP5								
Toxoplasmose <i>Toxoplasma gondii</i>								
Sag2A	• Nível atual de infecção vitalícia	• Mapeamento e vigilância comunitária.	++	++	++	+++	• Avaliar o risco comunitário para populações de alto risco, tais como gestantes.	

DOENÇAS IMUNOPREVENÍVEIS

Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	Utilidade por faixa etária				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			<2	2-4	5-14	≥15		
Tétano <i>Clostridium tetani</i>								
Toxoide tetânico	<ul style="list-style-type: none"> Imunidade adquirida por vacinação (apenas) 	<ul style="list-style-type: none"> Fornecer evidências do impacto dos programas de vacinação (bom marcador do programa de imunização de rotina, porque a imunidade natural não é relevante). Avaliar as lacunas de imunidade em subpopulações (faixas etárias, regiões). Monitorar a realização e manutenção da eliminação do tétano materno e neonatal em mulheres em idade reprodutiva. 	+++	++	++	+++ (especialmente nas mulheres)	<ul style="list-style-type: none"> Correção específica das lacunas de imunidade (colocar a imunização em dia). Reforço direcionado do programa de imunização e/ou sistema de vigilância. Fechamento das lacunas de imunidade e melhora da saúde materna e infantil. Otimização dos programas de imunização e/ou introdução de doses de reforço. 	<ul style="list-style-type: none"> Bom marcador de programas de imunização de rotina, porque a imunidade natural devido à infecção não é de longa duração. O declínio da imunidade após a vacinação é importante no caso do tétano (são necessárias seis doses: três doses iniciais na infância e três doses de reforço para proporcionar imunidade vitalícia). Outras informações relevantes para interpretar a soroproteção observada incluem o histórico da cobertura de vacinação por coortes de nascimento; cronogramas de vacinação anteriores; campanhas de vacinação para mulheres em idade fértil; gestão da cadeia de frio (especialmente de congelamento); e capacidade de alcançar áreas rurais remotas.
Difteria <i>Corynebacterium diphtheriae</i>								
Toxoides de difteria	<ul style="list-style-type: none"> Imunidade na população-alvo. 	<ul style="list-style-type: none"> Fornecer evidências do impacto dos programas de vacinação. Avaliar as lacunas de imunidade em subpopulações (faixas etárias, regiões). Apoiar evidências para a consecução das metas de eliminação. 	++	++	++	++	<ul style="list-style-type: none"> Correção específica das lacunas de imunidade (colocar a imunização em dia). Reforço direcionado do programa de imunização e/ou sistema de vigilância. Otimização dos programas de imunização e/ou introdução de doses de reforço. 	<ul style="list-style-type: none"> O declínio da imunidade após a vacinação é comum na difteria. Outras informações importantes para interpretar a soroproteção observada incluem o histórico de cobertura de vacinação por coorte de nascimento; histórico dos cronogramas de vacinação; cobertura alcançada nas campanhas de vacinação; gerenciamento da cadeia de frio (especialmente de congelamento); capacidade de alcançar áreas rurais remotas; eficácia da vacina; casos ou surtos na população estudada.

DOENÇAS IMUNOPREVENÍVEIS								
Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	Utilidade por faixa etária				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			<2	2-4	5-14	≥15		
Sarampo Vírus do sarampo								
Vírus inteiro	<ul style="list-style-type: none"> Imunidade adquirida por vacinação ou infecção natural 	<ul style="list-style-type: none"> Fornecer evidências do impacto dos programas de vacinação. Avaliar as lacunas de imunidade em subpopulações (faixas etárias, regiões). Avaliar o impacto das campanhas nacionais. Evidências de apoio para o alcance e a manutenção da eliminação. 	+++	+++	++	++	<ul style="list-style-type: none"> Correção específica das lacunas de imunidade (colocar a imunização em dia). Fortalecimento do programa de imunização em específico. Otimização dos cronogramas de imunização. 	<ul style="list-style-type: none"> Para o sarampo, os estudos de vigilância sorológica podem fornecer boas estimativas de imunidade no nível comunitário. A interpretação correta dos resultados dos perfis de imunidade ao sarampo deve incluir análise de: cobertura histórica da vacinação por coorte de nascimento; cronogramas históricos de vacinação; cobertura alcançada nas campanhas de vacinação; gerenciamento da cadeia de frio; capacidade de alcançar áreas rurais remotas; eficácia da vacina; casos ou surtos da doença na população-alvo.
Rubéola Vírus da rubéola								
Vírus inteiro	<ul style="list-style-type: none"> Imunidade adquirida ou infecção natural 	<ul style="list-style-type: none"> Fornecer evidências do impacto dos programas de vacinação. Avaliar as lacunas de imunidade em subpopulações. Ajustar a dinâmica de transmissão da doença e fornecer evidências para a introdução da vacina (quando a vacina não for utilizada na imunização de rotina ou tenha sido introduzida recentemente). Avaliar o impacto das campanhas nacionais. Evidências de apoio para o alcance e a manutenção da eliminação. 	+++	+++	++	+++ (especialmente nas mulheres)	<ul style="list-style-type: none"> Correção específica das lacunas de imunidade (colocar a imunização em dia). Reforço específico do programa de imunização e/ou sistema de vigilância. Otimização dos cronogramas de imunização 	<ul style="list-style-type: none"> A interpretação correta dos resultados dos perfis de imunidade ao sarampo deve incluir análise das informações a seguir, relevantes para o nível de imunidade esperada: cobertura histórica da vacinação por coorte de nascimento; cronogramas históricos de vacinação; cobertura alcançada nas campanhas de vacinação; gerenciamento da cadeia de frio; capacidade de alcançar áreas rurais remotas; eficácia da vacina; casos ou surtos da doença na população-alvo.

DOENÇAS IMUNOPREVENÍVEIS								
Antígeno	O que o antígeno mede?	Utilidade em diferentes cenários epidemiológicos	Utilidade por faixa etária				Possíveis intervenções com base nos resultados do inquérito (nível individual ou comunitário)	Outras considerações
			<2	2–4	5–14	≥15		
COVID-19 SARS-CoV-2								
S	<ul style="list-style-type: none"> Anticorpos contra qualquer parte da proteína S trimerica. Anticorpos podem ser resultantes de vacinação ou infecção natural. 	<ul style="list-style-type: none"> Estimar a soroprevalência de anticorpos ao SARS-CoV-2 na população geral e verificar como isso pode mudar com o tempo. Estimar a fração de infecções assintomáticas, pré-sintomáticas ou subclínicas na população. 	0	A saber	A saber	***	<ul style="list-style-type: none"> Esses antígenos visam obter apenas informações no nível comunitário e não têm fins diagnósticos. 	<ul style="list-style-type: none"> A sensibilidade do ensaio aumenta muito 21 dias após o início dos sintomas. Uma proporção de infecções leves pode cair abaixo do limiar de detecção vários meses após a exposição. Recomenda-se avaliar a sensibilidade e especificidade usando amostras específicas para o estudo (por exemplo, 75 amostras pré-pandêmicas do país/faixa etária apropriados e 25 PCR positivos da mesma faixa etária após o surto). Especialmente importante para a proteína N, que pode apresentar maior risco de falsos positivos do que a S ou RBD devido aos coronavírus sazonais. Também foram observados diferentes níveis de falsos positivos em determinadas populações, porém, a raiz do problema permanece desconhecida. Os antígenos são da variante D614G, que circulou no início da pandemia. O efeito das variantes sobre a sensibilidade e especificidade é atualmente desconhecido.
RBD-541	<ul style="list-style-type: none"> Anticorpos contra uma porção do domínio receptor de ligação da proteína S. Anticorpos podem ser resultantes de vacinação ou infecção natural. Alguns anticorpos que se ligam a essa região são neutralizantes. 	<ul style="list-style-type: none"> Determinar os fatores de risco de infecção comparando as exposições e outras características (demográficas, condições médicas subjacentes etc.) de indivíduos infectados e não infectados. Estimar a taxa de letalidade. Responder perguntas sobre a cinética de anticorpos após a infecção pelo SARS-CoV-2 ou vacinação. 	0	A saber	A saber	***		
RBD-591	<ul style="list-style-type: none"> Anticorpos contra uma porção do domínio receptor de ligação da proteína S. Anticorpos podem ser resultantes de vacinação ou infecção natural. Alguns anticorpos que se ligam a essa região são neutralizantes. 		0	A saber	A saber	***		
N	<ul style="list-style-type: none"> Anticorpos contra a proteína do nucleocapsídeo adquirida de infecções naturais. 		0	A saber	A saber	***		

Observação: Tabela atualizada até junho de 2021.

Referências Anexo 5.1

1. Hamlin KL, Moss DM, Priest JW, Roberts J, Kubofcik J, Gass K, et al. Longitudinal monitoring of the development of antifilarial antibodies and acquisition of *Wuchereria bancrofti* in a highly endemic area of Haiti. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(12):e1941. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001941>
2. Lau CL, Sheridan S, Ryan S, Roineau M, Andreosso A, Fuimaono S, et al. Detecting and confirming residual hotspots of lymphatic filariasis transmission in American Samoa 8 years after stopping mass drug administration. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(9):e0005914. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005914>
3. Hjøllø T, Bratland E, Steinsland H, Radunovic M, Langeland N, Hanevik K. Longitudinal cohort study of serum antibody responses towards *Giardia lamblia* variant-specific surface proteins in a non-endemic area. *Exp Parasitol*. 2018;191:66–72. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.06.005>
4. Moss DM, Priest JW, Hamlin K, Derado G, Herbein J, Petri WA Jr, et al. Longitudinal evaluation of enteric protozoa in Haitian children by stool exam and multiplex serologic assay. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;90(4):653–60. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0545>

Anexo 5.2

Sensibilidade e especificidade de antígenos validados para vigilância sorológica integrada em ensaios multiplex com microesferas (MBA)

Doença e patógeno*	Antígeno	Validação da sensibilidade		Validação da especificidade		Testes sorológicos de referência/padrão ouro	Espécies que sabidamente provocam reação cruzada
		Classificação de painel positivo	Sensibilidade (95% IC)	Classificação de painel negativo	Especificidade (95% IC)		
DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES							
Malária (1–3)							
<i>Plasmodium falciparum</i>	Pf MSP1-19	Esfregaço de sangue + (infecção ativa)	75% (59–87)	População não endêmica	100% (96–100)	Nenhum	As isoformas MSP1 podem apresentar reações cruzadas
	Pf CSP	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Nenhum	
	Pf LSA1	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Nenhum	
	Pf AMA1	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Nenhum	
<i>Plasmodium malariae</i>	Pm MSP1-19	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Nenhum	As isoformas MSP1 podem apresentar reações cruzadas
<i>Plasmodium ovale</i>	Po MSP1-19	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Nenhum	As isoformas MSP1 podem apresentar reações cruzadas
<i>Plasmodium vivax</i>	Pv MSP1-19	Esfregaço de sangue + (infecção ativa)	94% (81–98)	População não endêmica	99% (94–100)	Nenhum	As isoformas MSP1 podem apresentar reações cruzadas

Doença e patógeno*	Antígeno	Validação da sensibilidade		Validação da especificidade		Testes sorológicos de referência/padrão ouro	Espécies que sabidamente provocam reação cruzada
		Classificação de painel positivo	Sensibilidade (95% IC)	Classificação de painel negativo	Especificidade (95% IC)		
DOENÇAS INFECCIOSAS NEGLIGENCIADAS							
Tracoma (4)							
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Pgp3	PCR Amplicor (infecção ativa)	91% (62–98)	População não endêmica	98% (93–99)	Chlamydia MIF IgG (Focus Diagnostics)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> ; clamídia genital
	Ct694	PCR Amplicor (infecção ativa)	91% (62–98)	População não endêmica	98% (93–99)	Chlamydia MIF IgG (Focus Diagnostics)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> ; clamídia genital
Bouba							
<i>Treponema pallidum</i> (5)	rp17	TPP(H) A+, RPR+ (infecção ativa)	100% (97–100)	População não endêmica	100% (98–100)	TPPA (Fujirebio Diagnostics) RPR (Alere Wampole)	<i>Borrelia burgdorferi</i> (doença de Lyme); <i>Leptospira</i> spp (leptospirose)
	TmPA	TPP(H) A+, RPR+ (infecção ativa)	97% (92–99)	População não endêmica	100% (98–100)	TPPA (Fujirebio Diagnostics) RPR (Alere Wampole)	<i>Borrelia burgdorferi</i> (doença de Lyme); <i>Leptospira</i> spp (leptospirose)
Esquistossomose							
<i>Schistosoma mansoni</i> (6)	Sm25	Fezes positivas (infecção ativa)	98% (87–100)	População não endêmica	100% (97–100)		
	SEA	Fezes positivas (infecção ativa)	94% (82–98)	População não endêmica	97% (92–99)		Outros <i>Schistosoma</i> spp

Doença e patógeno*	Antígeno	Validação da sensibilidade		Validação da especificidade		Testes sorológicos de referência/padrão ouro	Espécies que sabidamente provocam reação cruzada
		Classificação de painel positivo	Sensibilidade (95% IC)	Classificação de painel negativo	Especificidade (95% IC)		
DOENÇAS INFECCIOSAS NEGLIGENCIADAS							
Filariose linfática							
<i>Wuchereria bancrofti</i> (7)	Wb123	Microfilária em esfregaço de sangue + (infecção ativa)	82% (71–90)	População não endêmica	100% (96–100)	Lymphatic Filariasis Bm14 Antibody CELISA, Cellabs	
	Bm14	Microfilária em esfregaço de sangue + (infecção ativa)	95% (87–98)	População não endêmica	93% (86–98)	Filaria Detect™ IgG4 ELISA-RUO	<i>Onchocerca volvulus</i> , <i>Brugia malayi</i> , <i>Loa</i> , <i>Mansonella</i>
	Bm33	Microfilária em esfregaço de sangue + (infecção ativa)	94% (85–97)	População não endêmica	98% (92–99)	Nenhum	<i>Onchocerca volvulus</i> , <i>Brugia malayi</i> , <i>Loa</i> , <i>Mansonella</i>
Oncocercose (cegueira dos rios)							
<i>Onchocerca volvulus</i>	Ov16	Biópsia cutânea de microfilária + (infecção ativa)	95% (93–99) IgG 96% (93–99) IgG4	Não endêmico, não endêmico + para outros patógenos	99% (96–100) IgG 100% (99–100) IgG4	IgG4 anti-OV16 ELISA	<i>Wuchereria bancrofti</i>
	Ov33	Biópsia cutânea de microfilária + (infecção ativa)	91% (87–99) IgG 96% (94–100) IgG4	Não endêmico, não endêmico + para outros patógenos	97% (87–98) IgG 99% (96–100) IgG4		<i>Wuchereria bancrofti</i>
Toxocaríase							
<i>Toxocara canis</i> (8)	CTL-1	Larvas viscerais migrantes Larvas oculares migrantes	90% (85–94) 54% (39–68)	Painel de reatividade cruzada de soros humanos normais	99% (97–100)		Nenhuma relevante para a vigilância (não é possível distinguir entre <i>Toxocara canis</i> e <i>Toxocara cati</i>)

Doença e patógeno*	Antígeno	Validação da sensibilidade		Validação da especificidade		Testes sorológicos de referência/padrão ouro	Espécies que sabidamente provocam reação cruzada
		Classificação de painel positivo	Sensibilidade (95% IC)	Classificação de painel negativo	Especificidade (95% IC)		
DOENÇAS INFECCIOSAS NEGLIGENCIADAS							
Estrongiloidíase							
<i>Strongyloides stercoralis</i> (9)	NIE	Fezes com larvas ou expectoração (infecção ativa)	93% (88–96) IgG4 90% (77–96) IgG	População não endêmica Painel de reatividade cruzada	95% (93–97) IgG4 94% (89–97) IgG		Nenhuma
Fasciolíase							
<i>Fasciola hepatica</i>	FhSAP2	Fezes com ovos (infecção ativa)	94% (82–100) IgG 100% (80–100) IgG4	População não endêmica Painel de reatividade cruzada	97% (93–100) IgG 99% (96–100) IgG4	Eletrotransferência	Nenhuma
Cisticercose (neurocisticercose)							
<i>Taenia solium</i> (10)	T24H	2 ou mais cistos viáveis um único cisto viável nenhum cisto viável	96% (89–99) 58% (39–74) 37% (25–51)	Cisto negativo e população	97% (93–98)		Nenhuma
Teníase							
<i>Taenia solium</i>	rES33	rES33	Infecção ativa por tênia	91%	População não endêmica		Nenhuma

Doença e patógeno*	Antígeno	Validação da sensibilidade		Validação da especificidade		Testes sorológicos de referência/padrão ouro	Espécies que sabidamente provocam reação cruzada
		Classificação de painel positivo	Sensibilidade (95% IC)	Classificação de painel negativo	Especificidade (95% IC)		
DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS E ÁGUA							
Cryptosporidium							
<i>Cryptosporidium parvum</i> (11)	Cp17	Western blot positivo	91%	Western blot negativo	87%	Western blot com lisado de oocistos	<i>Cryptosporidium</i> spp
	Cp23	Western blot positivo	95%	Western blot negativo	100%	Western blot com lisado de oocistos	<i>Cryptosporidium</i> spp
Giardiase							
<i>Giardia lamblia</i> (11, 12)	VSP3	Fezes +, surto	65%	Não disponível	Desconhecido		<i>Assemblage</i> A e B
	VSP5	Fezes +, surto	65%	Não disponível	Desconhecido		<i>Assemblage</i> A e B
Toxoplasmose							
<i>Toxoplasma gondii</i> (12)	Sag2A	1998 Toxoplasma Human Serum Panel	100%	1998 Toxoplasma Human Serum Panel	100%	Teste do corante Sabin-Feldman/IgG IFA	Desconhecido

Doença e patógeno*	Antígeno	Validação da sensibilidade		Validação da especificidade		Testes sorológicos de referência/ padrão ouro	Espécies que sabidamente provocam reação cruzada
		Classificação de painel positivo	Sensibilidade (95% IC)	Classificação de painel negativo	Especificidade (95% IC)		
DOENÇAS IMUNOPREVENÍVEIS							
Tétano							
<i>Clostridium tetani</i> (13, 14)	Toxoide tetânico	1862 DAE positivo	99%	288 DAE negativo	92%	Duplo antígeno ELISA (SSI, Dinamarca)**	Nenhuma
Difteria							
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Toxoide diftérico	974 TNT positivo	95%	326 TNT negativo	83%	Ensaio de neutralização de toxinas de células Vero (DRL, UK)**	Nenhuma
Sarampo							
Vírus do sarampo (15)	Vírus inteiro	516 soros de fontes múltiplas a um corte de 153 mUI/mL	98%	516 soros de fontes múltiplas a um corte de 153 mUI/mL	83%	Teste de neutralização por redução de placas (PRNT)	Não significativo
Rubéola							
Vírus da rubéola	Vírus inteiro	160 vacinações pré e pós-sarampo-rubéola em uma coorte de Bangladesh, com um corte de 9,36 UI/mL	99%	160 vacinações pré e pós-sarampo-rubéola em uma coorte de Bangladesh, com um corte de 9,36 UI/mL	100%	Zeus ELISA positivo	Não significativo

Doença e patógeno*	Antígeno	Validação da sensibilidade		Validação da especificidade		Testes sorológicos de referência/padrão ouro	Espécies que sabidamente provocam reação cruzada
		Classificação de painel positivo	Sensibilidade (95% IC)	Classificação de painel negativo	Especificidade (95% IC)		
DOENÇAS IMUNOPREVENÍVEIS							
COVID-19							
SARS-CoV-2	S	87 plasmas coletados em março e junho de 2020, RT-PCR positivo	96,6% (90,3–99,3)	99 plasmas coletados antes de novembro de 2019; 19 RT-PCR negativos, de março a junho de 2020	99,2% (95,3–100)	SARS-CoV-2 RT-PCR	Não é amplamente conhecido; mínimo nos EUA, mas pode ser maior em outros países
	RBD-541	87 plasmas coletados em março e junho de 2020, RT-PCR positivo	95,4% (88,6–98,7)	99 plasmas coletados antes de novembro de 2019; 19 RT-PCR negativos, de março a junho de 2020	97,4% (92,7–99,5)	SARS-CoV-2 RT-PCR	Não é amplamente conhecido; mínimo nos EUA, mas pode ser maior em outros países
	RBD-591	87 plasmas coletados em março e junho de 2020, RT-PCR positivo	95,4% (88,6–98,7)	99 plasmas coletados antes de novembro de 2019; 19 RT-PCR negativos, de março a junho de 2020	100% (96,9–100)	SARS-CoV-2 RT-PCR	Não é amplamente conhecido; mínimo nos EUA, mas pode ser maior em outros países
	N	87 plasmas coletados em março e junho de 2020, RT-PCR positivo	96,5% (90,3–99,3)	99 plasmas coletados antes de novembro de 2019; 19 RT-PCR negativos, de março a junho de 2020	98,3% (94,0–99,8)	SARS-CoV-2 RT-PCR	Coronavírus sazonais

Observação:

* Tabela atualizada até outubro de 2021.

** Desempenho foi comparado com o padrão ELISA.

Referências Anexo 5.2

1. Rogier E, Wiegand R, Moss D, Priest J, Angov E, Dutta S, et al. Multiple comparisons analysis of serological data from an area of low Plasmodium falciparum transmission. Malar J. 2015;14:436. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0955-1>

2. Rogier E, Moss DM, Chard AN, Trinies V, Doumbia S, Freeman MC, et al. Evaluation of Immunoglobulin G Responses to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in Malian School Children Using Multiplex Bead Assay. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;96(2):312–18. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0476>
3. Kerkhof K, Canier L, Kim S, Heng S, Sochantha T, Sovannaroth S, et al. Implementation and application of a multiplex assay to detect malaria-specific antibodies: a promising tool for assessing malaria transmission in Southeast Asian pre-elimination areas. *Malar J.* 2015;14:338. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0868-z>
4. Goodhew EB, Priest JW, Moss DM, Zhong G, Munoz B, Mkocho H, et al. CT694 and pgp3 as Serological Tools for Monitoring Trachoma Programs. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(11):e1873. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001873>
5. Cooley GM, Mitj O, Goodhew B, Pillay A, Lammie PJ, Castro A, et al. Evaluation of Multiplex-Based Antibody Testing for Use in Large-Scale Surveillance for Yaws: a Comparative Study. *J Clin Microbiol.* 2016;54(5):1321–25.
6. Won KY, Kanyi HM, Mwendu FM, Wiegand RE, Goodhew EB, Priest JW, et al. Multiplex Serologic Assessment of Schistosomiasis in Western Kenya: Antibody Responses in Preschool Aged Children as a Measure of Reduced Transmission. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;96(6):1460–67.
7. Hamlin KL, Moss DM, Priest JW, Roberts J, Kubofcik J, Gass K, et al. Longitudinal monitoring of the development of antifilarial antibodies and acquisition of *Wuchereria bancrofti* in a highly endemic area of Haiti. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(12):e1941. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001941>
8. Anderson JP, Rascoe LN, Levert K, Chastain HM, Reed MS, Rivera HN, et al. Development of a Luminex bead based assay for diagnosis of toxocariasis using recombinant antigens Tc-CTL-1 and Tc-TES-26. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(10):e0004168.
9. Rascoe LN, Price C, Shin SH, McAuliffe I, Priest JW, Handali S. Development of Ss-NIE-1 recombinant antigen based assays for immunodiagnosis of strongyloidiasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(4):e0003694. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003694>
10. Hernández-González A, Noh J, Perteguer MJ, Gárate T, Handali S. Comparison of T24H-his, GST-T24H and GST-Ts8B2 recombinant antigens in western blot, ELISA and multiplex bead-based assay for diagnosis of neurocysticercosis. *Parasit Vectors.* 2017;10(1):237. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2160-2>
11. Priest JW, Moss DM, Visvesvara GS, Jones CC, Li A, Isaac-Renton JL. Multiplex assay detection of immunoglobulin G antibodies that recognize *Giardia intestinalis* and *Cryptosporidium parvum* antigens. *Clin Vaccine Immunol.* 2010;17(11):1695–1707. <https://doi.org/10.1128/CVI.00160-10>
12. Priest JW, Moss DM, Arnold BF, Hamlin K, Jones CC, Lammie PJ. Seroepidemiology of toxoplasma in a coastal region of Haiti: multiplex bead assay detection of immunoglobulin G antibodies that recognize the SAG2A antigen. *Epidemiol Infect.* 2015;143(3):618–30.
13. Scobie HM, Mao B, Buth S, Wannemuehler KA, Sørensen C, Kannarath C, et al. Tetanus Immunity among Women Aged 15 to 39 Years in Cambodia: a National Population-Based Serosurvey, 2012. *Clin Vaccine Immunol.* 2016;23(7):546–54. <https://doi.org/10.1128/CVI.00052-16>
14. Scobie HM, Khetsuriani N, Efstratiou A, Priest JW. Validation of a diphtheria toxoid multiplex bead assay for serosurveys. *Diagnóstico de Microbiol Infect Dis.* 2021;100(3):115371.
15. Coughlin MM, Matson Z, Sowers SB, Priest JW, Smits GP, van der Klis FRM, et al. Development of a Measles and Rubella Multiplex Bead Serological Assay for Assessing Population Immunity. *J Clin Microbiol.* 2021;59(6):e02716–20.

Anexo 6.1

Recomendações para análise descritiva de inquéritos sorológicos que utilizaram MBA

ASPECTOS RELEVANTES PARA ANÁLISE

Aspectos gerais a serem considerados ao analisar os resultados de sorologia

Em doenças transmissíveis, a soropositividade pode indicar quem foi exposto a patógenos ou vacinas (mas não ficou infectado), quem está atualmente infectado e quem foi infectado ou vacinado no passado, mas pode ter ficado curado.

Pontos de corte dos níveis de anticorpos para doenças imunopreveníveis permitem a estimativa dos níveis de proteção individual e comunitária.

Para antígenos de muitos protozoários e algumas doenças bacterianas, o grau de persistência de anticorpos após exposição ou cura é incerto ou desconhecido.

As leituras da mediana da intensidade de fluorescência (MFI) bruta são traduzidas para UI/mL usando padrões internacionais de referência.

As respostas de anticorpos podem ser expressas como porcentagem de soroprevalência, níveis medianos de anticorpos ou categorias de título de anticorpos (para tétano e difteria).

Embora atualmente não existam diretrizes ou recomendações sobre a interpretação dos resultados sorológicos para doenças negligenciadas, vetoriais e transmitidas pela água, essas podem ser extrapoladas a partir de abordagens estabelecidas para doenças imunopreveníveis. As análises também podem ser feitas utilizando estimativas para identificar áreas ou subpopulações de interesse.

Essas respostas são avaliadas em populações de interesse para estimar a imunidade e identificar populações com lacunas ou com imunidade decrescente em diferentes grupos demográficos.

A análise dos resultados de sorologia nesse grupo de doenças segue as diretrizes e recomendações publicadas pela OMS, tal como o guia para a vigilância sorológica do tétano. Em outros casos, outras experiências de vigilância sorológica podem ser utilizadas, tais como o guia para a vigilância do sarampo e da rubéola na Europa.

ANÁLISE EXPLORATÓRIA DO BANCO DE DADOS DO INQUÉRITO SOROLÓGICO

Rever os dados coletados na pesquisa, os denominadores para os diferentes níveis de análise e examinar as limitações

Tamanho da amostra e número de conglomerados (se foi utilizada uma estratégia de amostragem de conglomerados) por estrato ou subpopulação para a qual são esperadas inferências (municípios, localidades etc.).

O tamanho médio de cada conglomerado, inclusive do número de conglomerados sem respostas ou sem participantes, conforme o caso. Verificar, por exemplo, se a proporção desejada de participantes por unidade de amostragem foi alcançada.

A proporção de dados ausentes para cada variável.

Descrever como foi feita a amostragem

Descrever como as escolas foram selecionadas, exatamente como feito em campo. Observar se alguma escola inicialmente selecionada para amostragem foi substituída; caso afirmativo, quais, por quê, como etc.

Descrever como as crianças foram selecionadas dentro das escolas (por exemplo, por amostragem simples aleatória ou por conveniência). Observar se algum participante foi substituído; caso positivo, de que maneira as substituições foram feitas e se foram devidamente documentadas; descrever as rejeições e analisar a demografia dos participantes rejeitados.

Calcular o efeito do delineamento	Levando em conta que os entrevistados têm diferentes probabilidades de serem selecionados em cada etapa de seleção (escola e criança) devido ao delineamento do estudo, a análise deve ser ponderada para levar em conta essa probabilidade de seleção desigual.
Calcular os pesos pós-estratificação	<p>O uso da ponderação pós-estratificação consiste em verificar a distribuição da amostra ponderada (usando o efeito do delineamento descrito acima) de acordo com uma determinada característica e comparar com a distribuição de acordo com a mesma característica obtida por outra fonte de informação. A outra fonte podem ser os dados do censo ou uma projeção populacional. Antes de fazer esse tipo de ajuste, o estatístico deve avaliar se a expectativa é que a outra fonte de informações seja verdadeiramente superior ao levantamento realizado.</p> <p>Esse cálculo é importante se, por exemplo, houver interesse em descobrir se o sexo masculino estava subrepresentado ou super-representado na amostra.</p>

LIMPEZA DOS DADOS E PREPARAÇÃO DA PRÉ-ANÁLISE

Dados demográficos	<p>Rever as respostas às diferentes variáveis (tanto fatores demográficos e relacionados a doenças, como também itens do questionário).</p> <p>Criar variáveis por meio da recategorização ou agrupamento de variáveis de interesse. Por exemplo, caso seja necessária uma análise por faixa etária, uma nova variável pode ser criada a partir das faixas etárias originais (menores de 5, de 5 a 14 e mais de 14 anos).</p>
Dados de laboratório	<p>Calcular a mediana da intensidade de fluorescência (MFI) e suas faixas para cada antígeno.</p> <p>Em alguns antígenos – por exemplo, para doenças parasitárias que usam proteínas recombinantes feitas em bactérias – a reatividade de fundo da proteína de controle negativo (GST) deve ser levada em consideração, o que poderia eliminar os positivos não específicos.</p>
Converter os resultados da amostra, passando de MFI para unidades internacionais por mililitro (UI/mL)	<p>Para a maioria das doenças imunopreveníveis, os resultados das leituras das MFI devem ser convertidos em UI/mL. Isto pode ser feito da seguinte forma:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Traçar uma curva padrão utilizando padrões internacionais e ajustá-la a um modelo de regressão. • Os pontos muito distantes da curva podem ser excluídos para um melhor ajuste. • Aplicar o modelo utilizado para converter a MFI da amostra em UI/mL. • Os pontos muito distantes da curva devem ser censurados no último valor válido e esse valor é levado em conta na análise. <p><i>Observação:</i> Esse procedimento não se aplica a doenças que não possuam padrões definidos para unidades internacionais (por exemplo, tracoma).</p>
Criar variáveis dicotômicas de soroprevalência	Por exemplo: ≥ 10 UI/mL = protegido contra rubéola

ESTIMATIVA DA SOROPREVALÊNCIA

Estimativas de soroprevalência	<p>Calculadas com intervalos de confiança de 95% com base na aproximação de Wilson (ou logit), usando linearização por série de Taylor para contabilizar o delineamento por conglomerados (levantamento em escolas).</p> <p>A soroprevalência pontual pode ser calculada levando em conta (ou não) o efeito do delineamento para rever o impacto da ponderação variável.</p> <p>Esses cálculos podem ser realizados utilizando software estatístico especializado, como STATA ou SPSS.</p>
---------------------------------------	--

Comparações da soroprevalência	<ul style="list-style-type: none"> • A soroprevalência pode ser comparada pelo histórico epidemiológico (por exemplo, sintomas, ocorrência de surtos, histórico de endemicidade) ou pela exposição a intervenções. • Para doenças imunopreveníveis, a proporção de soroprevalência pode ser calculada por estado ou histórico de vacinação (número de doses recebidas). A fonte de informação (registro de vacinação, relatório verbal ou ambos) deve ser levada em consideração.
Cálculo da proporção de soroprevalência nas subpopulações	Por faixa etária, município, área (urbana comparado com rural) etc.
Comparações estatísticas das diferenças de soroprevalência nas subpopulações	Comparar as soroprevalências (por exemplo, entre municípios) e usar testes estatísticos apropriados para verificar se as diferenças são significativas. É importante observar que o tamanho da amostra deve ser suficientemente potente para detectar as verdadeiras diferenças entre as subpopulações.
Cálculo do nível mediano de anticorpos	<p>O nível mediano de anticorpos pode ser calculado pelo histórico epidemiológico, exposição a intervenções e subpopulação.</p> <p>Para doenças imunopreveníveis, pode ser calculado pelo status ou histórico de vacinação e subpopulação.</p>
Interpretação da soroprevalência	<p>Para o tétano e a difteria, calcular a proporção de níveis de anticorpos por categoria, levando em conta:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Níveis mais altos de anticorpos geralmente se correlacionam com a maior probabilidade e duração da proteção. <p>Nesta análise, não devem ser feitas avaliações qualitativas da duração da proteção, tais como “curta” ou “longa”. Em vez disso, as faixas de categorias de soroproteção numérica devem ser relatadas. Por exemplo: <0,01 UI/mL; 0,01 a 0,09 UI/mL; 0,1 a 0,9 UI/mL e ≥1,0 UI/mL.</p> <p>Os resultados para cada antígeno devem ser interpretados levando em conta:</p> <ul style="list-style-type: none"> • O contexto e o cenário epidemiológico da área e da população estudada; • O conhecimento, a utilidade e as limitações de cada antígeno nos levantamentos de soroprevalência.
Visualização dos dados	<p>As sugestões incluem:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gráfico de barras empilhadas para apresentar as proporções de categoria de nível de anticorpos por subpopulações; • Se forem incluídos estratos geográficos, podem-se usar mapas cromáticos para apresentar níveis de soroproteção ou soroprevalência por área (estado, município etc.).

Anexo 6.2

Estrutura básica e conteúdo do relatório

- **Título.** Definir um título que descreva claramente o local, propósito e duração do inquérito.
- **Resumo.** Resumir os métodos, os principais resultados e as implicações para a tomada de decisões. O resumo deve conter informações suficientes sobre os métodos utilizados no inquérito e sobre toda possível limitação que interfira na correta interpretação dos resultados, mesmo que o documento não seja lido na íntegra.
- **Introdução.** Fornecer um resumo sobre o país e um panorama sobre onde o inquérito foi realizado, as estratégias e objetivos dos programas existentes visando os eventos ou doenças de interesse, as intervenções implementadas para prevenir ou eliminar as doenças de interesse, a lógica do inquérito e seus objetivos.
- **Metodologia** Descrever a estratégia de amostragem e o delineamento, parâmetros e procedimentos usados para calcular o tamanho da amostra, pesos e métodos usados para analisar os dados e controlar erros e vieses. Descrever as variáveis e procedimentos para coleta de dados e amostras de sangue, as técnicas e características sorológicas dos antígenos empregados e os pontos de corte utilizados para estabelecer os níveis de imunidade e calcular a soroprevalência.
- **Resultados.** Usar tabelas, gráficos ilustrativos, gráficos numéricos e mapas, bem como texto, para explicar as principais conclusões.
- **Discussão.** Discutir os principais resultados do inquérito e as implicações para a adoção de medidas, bem como as limitações do inquérito e como elas podem afetar a interpretação dos resultados. Analisar possíveis fontes de incerteza, vies e erro, bem como a maneira como foram controlados para minimizar seus efeitos. Todo estudo tem limitações, que devem ser reconhecidas antes de se fazer qualquer recomendação.
- **Recomendações.** Apresentar recomendações exequíveis e que possam levar à implementação de medidas efetivas. Dependendo dos resultados do inquérito, pode-se recomendar a realização de pesquisas adicionais para preencher lacunas de conhecimento identificadas pelo estudo. Essas pesquisas adicionais podem incluir uma análise dos determinantes da transmissão de doenças, fatores associados à dificuldade de acesso e disponibilidade de serviços etc.
- **Agradecimentos.** Reconhecer, nesta seção, o apoio (técnico, financeiro e operacional) de todas as organizações que desempenharam um papel relevante na condução do inquérito.
- **Anexos.** Incluir aqui todos os documentos que possam ser úteis na compreensão da metodologia e dos procedimentos usados no inquérito, tais como os formulários de coleta de dados, termos de consentimento livre e esclarecido, descrições detalhadas da amostra e do quadro de amostragem, uma lista de grupos de amostragem e uma lista do pessoal envolvido. Incluir tabelas que enumerem os critérios e dados usados para calcular o efeito do delineamento observado e os pesos.

A vigilância sorológica é uma ferramenta que complementa os métodos tradicionais de saúde pública para vigilância de doenças transmissíveis e fornece informações valiosas sobre a transmissão de doenças nas populações – por exemplo, para identificar lacunas na imunidade contra doenças imunopreveníveis. Esta informação é útil para monitorar a exposição da população a doenças como malária, doenças infecciosas negligenciadas, doenças transmitidas por alimentos, doenças transmitidas pela água, doenças transmitidas por vetores e doenças infecciosas emergentes. Como muitas doenças infecciosas estão ou estiveram presentes em populações que vivem em ambientes onde vários fatores de risco se sobrepõem, conseqüentemente a vigilância sorológica integrada facilita sinergias e otimiza a utilização de recursos de saúde pública.

Este kit de ferramentas foi desenvolvido para facilitar a concepção, implementação, análise, interpretação e uso dos resultados de inquéritos sorológicos integrados para reforçar as capacidades dos países visando à eliminação de doenças transmissíveis. A primeira parte descreve os conceitos básicos de inquéritos sorológicos e vigilância sorológica; seus usos, benefícios e desafios; formas de melhorar sua eficiência e seu potencial de contribuir para a tomada de decisões na esfera da saúde pública. Em seguida, este kit de ferramentas apresenta um processo passo a passo para a implementação da vigilância sorológica integrada baseada em inquéritos. Inclui recomendações sobre como identificar a necessidade e a finalidade da coleta de informações sorológicas, a concepção e a metodologia do inquérito, métodos laboratoriais, considerações práticas para a implementação do inquérito, análise e interpretação dos dados, e o uso dos achados para subsidiar a tomada de decisões.

Destina-se principalmente a apoiar gestores de programas e equipes atuantes no controle e eliminação de doenças transmissíveis. O público-alvo inclui – mas não se restringe – a coordenadores de programas de doenças transmissíveis, doenças infecciosas negligenciadas e imunização; gestores de vigilância epidemiológica; funcionários de laboratórios de saúde pública e outros funcionários de ministérios, secretarias e departamentos de saúde que possam estar interessados em incorporar a vigilância sorológica integrada ao arsenal de seus sistemas de vigilância como meio de obter informações adicionais sobre a transmissão populacional de doenças infecciosas.

OPAS



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ORGANIZACIÓI REGIONAL PIAU AMÉRICAS

www.paho.org

