



Parecer Técnico-Científico

Teste de detecção de anticorpos anti-aquaporina 4 em CBA no diagnóstico do distúrbio do espectro da neuromielite óptica.

Parecer Técnico-Científico

Teste de detecção de anticorpos anti-aquaporina 4 em CBA no diagnóstico do distúrbio do espectro da neuromielite óptica neuromielite óptica

Elaborado por Origin Health em suporte ao formulário de pedido de incorporação de teste de detecção de anticorpos anti-aquaporina 4 por CBA, conforme solicitação da Associação de Pacientes Crônicos do Dia a Dia, submetido à Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias (CONITEC) no Sistema Único de Saúde (SUS) – Fevereiro de 2024

Parecer Técnico-Científico

TÍTULO: Teste de detecção de anticorpos anti-aquaporina 4 em CBA no diagnóstico do distúrbio do espectro da neuromielite óptica.

ÓRGÃO FINANCIADOR: Associação de Pacientes Crônicos do Dia a Dia.

AUTORES: Letícia Dias¹, Laura Murta², Gabriel Marasco³ e Roberta Arinelli⁴

REVISORES: RAQUEL VASSÃO ARAUJO⁵

¹ Farmacêutica, gerente de Health Economics na ORIGIN Health.

² Biomédica, head de Health Economics na ORIGIN Health.

³ Biomédico, gerente de Health Economics na ORIGIN Health.

⁴ Médica, diretora médica na ORIGIN Health.

⁵ Médica Neurologista, representante Médica da Associação de pacientes Crônicos do Dia a Dia

Resumo

Contexto: O distúrbio do espectro da neuromielite óptica (DENMO) é uma condição rara, debilitante, potencialmente fatal e autoimune que ataca predominantemente a medula espinhal e o nervo óptico. A lesão promovida pela doença é associada com a presença do AQP4-IgG na maioria dos casos. Atualmente, o principal critério diagnóstico para o DENMO tem como base a publicação de 2015 do IPND. Em pacientes com DENMO, um diagnóstico rápido e preciso é crucial devido à fisiopatologia e ao curso da doença e devido ao alto risco de incapacidade acumulada após cada surto. Os critérios diagnósticos de 2015 consideram o AQP4-IgG como biomarcador, e apresentam uma melhor compreensão das características clínicas e radiológicas do DENMO, permitem um diagnóstico preciso e a diferenciação de outras doenças. Diante da relevância do AQP4-IgG recomenda-se que a pesquisa do anticorpo deva ser realizada no soro dos pacientes com apresentação clínica-radiológica do DENMO por método de alta sensibilidade e especificidade. Segundo o 2015 IPND e o consenso latino-americano publicado em 2020, a imunofluorescência indireta em *cell-based assay* (CBA) em soro é o teste preferencialmente recomendado devido a otimização da detecção dos autoanticorpos, com melhores resultados de sensibilidade e especificidade. No Brasil, dentro do contexto do Sistema Único de Saúde, não existe um Protocolo Clínico e Diretriz Terapêutica específico para DENMO, não sendo utilizado nenhum teste específico para identificação desses pacientes.

Título/pergunta: O uso do teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em CBA é acurado para diagnóstico do DENMO?

Recomendação quanto ao uso da tecnologia: (x) Favor () Incerta () Contra

População-alvo: Pacientes com suspeita de DENMO.

Tecnologia: Teste de detecção em soro de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta CBA.

Comparadores: Sem restrição de comparadores.

Local de utilização da tecnologia: ambulatorial especializado e hospitalar

Recomendação de agências internacionais de Avaliação de Tecnologias em Saúde (ATS): devido à baixa prevalência da doença em países europeus, e nos países de predomínio de população branca, o NHS do Reino Unido recomenda a testagem em casos suspeitos e centraliza em um único centro de referência a testagem. Não encontramos recomendações e pareceres específicos sobre a testagem de anti-AQP4 nas agências de avaliação de tecnologias em saúde de referência

Processo de busca e análise de evidências científicas: Revisão sistemática foi conduzida até novembro de 2023 nas bases *The Cochrane Library*, EMBASE, MEDLINE via Pubmed e LILACS. Buscas complementares foram conduzidas em listas de referências dos artigos identificados e artigos de revisão relevantes. Também foi realizada busca adicional pela literatura nacional e cinza. Na construção de estratégias de buscas, descritores, palavras-chave e termos MeSH foram utilizados para cada base de dado especificamente. Não foram utilizados limites de idioma ou temporais.

Resumo dos resultados dos estudos selecionados: Foi incluída uma meta-análise e 12 estudos individuais na revisão. A meta-análise indicou que a sensibilidade e a especificidade estimadas foram de 0,76 (IC95%: 0,67–0,82) e 0,99 (IC 95%: 0,97–0,99) para o CBA, 0,59 (IC 95%: 0,50–0,67) e 0,98 (IC 95%: 0,97–0,99) para TBA e 0,65 (IC 95%: 0,53–0,75) e 0,97 (IC 95%: 0,96–0,99) para ELISA. Assim, o imunoensaio que apresentou melhor desempenho foi o CBA. Já os estudos individuais selecionados continham pelo menos um braço com CBA e diferentes comparadores e, de modo geral, o ensaio CBA apresentou informações mais sensíveis e altos valores de especificidade para pacientes com DENMO (incluindo análise específica de NMO). Ainda, um estudo recente e que considera os critérios diagnósticos do 2015 IPND indicou que o ensaio CBA apresentou sensibilidade de 94%, enquanto ELISA apresentou 60% e

executivo

imunofluorescência indireta baseada em tecido 78%, e especificidade geral de 99,5% (versus 97% e 99,7%, respectivamente).

Qualidade da evidência (todas as comparações):

Sensibilidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Especificidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Acurácia	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Concordância (vs ELISA e T-IFF)	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa

Síntese de informações econômicas: Um modelo de árvore de decisão foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a custo-efetividade do teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em CBA para o diagnóstico do distúrbio do espectro da neuromielite óptica. O comparador selecionado foram os critérios diagnósticos de 2015 para DENMO. Foram considerados somente custos diretos. A avaliação foi conduzida sob a perspectiva do SUS em um horizonte temporal de 1 ano. Foram desenvolvidas tanto a análise de sensibilidade univariada como a análise de sensibilidade probabilística. Os resultados da análise econômica indicam que a incorporação do teste anti-AQP4 resultaria em um aumento de custos de R\$ 122,33 por paciente diagnosticado quando comparado à conduta atual. Considerando os resultados de diagnósticos corretos, o uso do teste proporcionou um incremento de 22% na capacidade de diagnosticar um paciente corretamente, resultando em uma RCEI calculada de R\$ 561,22. Uma análise de impacto orçamentário foi desenvolvida para estimar a incorporação do teste de anti-AQP4. O impacto foi desenvolvido em um horizonte de tempo de 5 anos, sob a perspectiva do SUS, considerando apenas os custos relacionados ao diagnóstico dos pacientes. A população elegível foi estimada por funil epidemiológico e foi considerado um market-share de 100% para todos os anos, uma vez que não existe teste específico aprovado atualmente no SUS. Os resultados do impacto orçamentário sugerem que a incorporação do teste trará um impacto incremental de aproximadamente R\$ 1,1 milhões no primeiro ano após incorporação, e um total acumulado em 5 anos de aproximadamente R\$ 1,4 milhões. Os resultados das análises de cenário conduzidas demonstram que o impacto incremental total em 5 anos pode variar de R\$ 544 mil a R\$ 2,5 milhões.

Considerações finais: De modo geral, o ensaio CBA apresentou informações mais sensíveis e altos valores de especificidade para pacientes com DENMO sendo uma importante ferramenta diagnóstica, reforçando a necessidade de incorporação no contexto do SUS.

Sumário

Parecer Técnico-Científico	3
Resumo executivo	4
Sumário	6
Lista de siglas e abreviações	9
Lista de tabelas	11
Lista de figuras	13
1. Contexto	14
1.1 Objetivo do parecer	14
2. Descrição da doença relacionada à utilização da tecnologia	15
2.1 Neuromielite óptica – visão geral	15
2.2 Diagnóstico	17
2.3 Necessidades médicas não atendidas	19
3. Descrição da tecnologia proposta	21
3.1 Preço proposto para incorporação	22
4. Evidências científicas	23
4.1 Questão do estudo	23
4.1.1 Intervenção	23
4.1.2 População	23
4.1.3 Comparação	23
4.2 Estratégia de busca	24
4.2.1 Fontes de dados	24
4.2.2 Vocabulário controlado	24
4.3 Critérios de seleção e exclusão dos artigos	27
4.4 Critérios de qualidade	27
4.4.1 Avaliação do risco de viés	28
4.4.2 Qualidade da evidência	28
4.5 Resultados da busca realizada	28
4.5.1 Descrição dos estudos selecionados	30
4.5.2 Análise da qualidade da evidência	85
4.5.3 Resumo das principais características, relevância e limitações dos estudos incluídos	87
5. Avaliação Econômica	97

5.1	Introdução	97
5.2	População alvo	98
5.3	Intervenção	98
5.4	Comparadores	98
5.5	Perspectiva	98
5.6	Horizonte de tempo	98
5.7	Taxa de desconto	98
5.8	Estrutura do modelo	99
5.9	Estrutura do modelo	100
5.9.1	Parâmetros de eficácia do teste CBA Anti-AQP4	100
5.9.2	Parâmetros de eficácia do diagnóstico convencional	100
5.10	Uso de recursos de custo	101
5.11	Resultados	103
5.12	Análise de sensibilidade	104
5.12.1	Análise de sensibilidade univariada	105
5.12.1	Análise de sensibilidade probabilística	106
6.	Impacto orçamentário	107
6.1	Perspectiva	107
6.2	Intervenção e comparador	107
6.3	Horizonte temporal	107
6.4	Definição da população de interesse	108
6.5	Participação de mercado	108
6.6	Utilização de recursos e custos	109
6.7	Resultados	109
6.8	Análise de cenários	110
7.	Considerações finais	111
8.	Referências bibliográficas	114
ANEXO 1.	DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO - PUBLICAÇÃO REGISTRO – TESTE ANTI-AQP4	120
ANEXO 2.	PREÇO – TESTE ANTI-AQP4	121
ANEXO 3.	BASES DE DADOS PARA BUSCA DE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS	122
ANEXO 4.	FICHAS DE AVALIAÇÃO DOS ESTUDOS ANALISADOS	123
ANEXO 5.	ESTUDOS EXCLUÍDOS	130
ANEXO 6.	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA EVIDÊNCIA – GRADE	132
ANEXO 7.	DECLARAÇÃO DE POTENCIAIS CONFLITOS DE INTERESSE	136

Lista de siglas e abreviações

- ADEM: encefalomielite aguda disseminada
- ANA: anticorpos antinucleares
- AQP4: aquaporina-4
- AQP4-Ac: anticorpo anti-aquaporina-4
- AV: acuidade visual;
- bNO: neurite óptica bilateral simultânea
- CBA: ensaio baseado em células, do inglês, *cell-based assay*
- CBA-c: ensaio baseado em células comercial
- CBA-ih: ensaio baseado em células desenvolvido internamente, do inglês, *in-house cell-based assay*
- CIIFA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em células
- CS: controles saudáveis
- DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica;
- DNAI: doenças neurológicas autoimunes
- DP: desvio padrão
- EDSS: Escala Expandida do Estado de Incapacidade, do inglês, *Expanded Disability Status Scale*
- ELISA: ensaio imunoenzimático
- EM: esclerose múltipla
- FACS: separador celular ativado por fluorescência
- FCMA: ensaio de citometria de fluxo
- FIPA: ensaio de imunoprecipitação com fluorescência
- HSROC: curva ROC sumária hierárquica
- IC: intervalo de confiança
- IFA: ensaio de imunofluorescência
- IHC: imuno-histoquímica
- IHC-c: imuno-histoquímica convencional
- IHC-o: imuno-histoquímica otimizada
- IIF: imunofluorescência indireta
- LMLE: lesões medulares longitudinalmente extensas
- LS: *leaky scanning*
- MFI: intensidade média da fluorescência
- MT: mielite transversa
- MTA: mielite transversa aguda
- MTLE: mielite transversa longitudinalmente extensa
- MTNE: mielite transversa não-extensa
- NMO: neuromielite óptica
- NO: neurite óptica

ODN: outras doenças neurológicas

rIFA: ensaio de imunofluorescência recombinante

RCEI: razão de custo-efetividade incremental

RNM: ressonância nuclear magnética

rNO: neurite óptica recorrente

RV-: razão de verossimilhança negativa

RV+: razão de verossimilhança positiva

SCI: síndrome clínica isolada

SPN: síndromes paraneoplásicas

SROC: curva ROC sumária

SSA: anticorpos anti-Ro

SSB: anticorpos anti-La

SUS: Sistema Único de Saúde

T-IIF ou IIF-TBA: imunofluorescência indireta baseada em tecido

VPN: valor preditivo negativo

VPP: valor preditivo positivo

Lista de tabelas

Tabela 1. Critérios diagnósticos da DENMO.	15
Tabela 2. Características do produto.	19
Tabela 3. Conteúdo de um dispositivo de teste para 50 resultados (ex. FA 1128-1005-50).	19
Tabela 4. Avaliação qualitativa.	20
Tabela 5. Questão estruturada no formato PICO.	21
Tabela 6. Termos utilizados nas estratégias de busca.	23
Tabela 7. Estratégias de busca.	24
Tabela 8. Estudos incluídos para análise.	27
Tabela 9. Achados epidemiológicos, clínicos e sorológicos de 151 pacientes e controles estudados.	34
Tabela 10. Comparação de características clínicas e de imagem entre os grupos.	37
Tabela 11. Taxas de soropositividade para anticorpos NMO-IgG e AQP4 dos três métodos para pacientes com diferentes grupos de doenças.	41
Tabela 12. Taxas de concordância para a detecção de NMO-IgG em 124 soros entre IIF-tecidual, IIF-AQP4 e ELISA-AQP4.	42
Tabela 13. Diagnóstico clínico de acordo com os resultados dos três métodos de detecção de NMO-IgG.	42
Tabela 14. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes soronegativos e soropositivos para anticorpos AQP4 com base no ELISA-AQP4.	43
Tabela 15. Resultados dos ensaios de AQP4 em 46 amostras de soro.	46
Tabela 16. Sensibilidade e especificidade de ClIFA e FIPA para o diagnóstico de NMO e NMO de alto risco.	46
Tabela 17. Características dos pacientes e soroprevalência para anticorpos anti-AQP4.	49
Tabela 18. Soropositividade para anticorpos anti-AQP4 entre casos com doenças neurológicas e controles saudáveis.	53
Tabela 19. Sensibilidade e especificidade dos ensaios de anticorpos NMO-IgG/AQP4.	56
Tabela 20. Pacientes soropositivos de acordo com o ensaio baseado em células entre 87 pacientes com NMO e 54 controles ^a .	59
Tabela 21. Comparação de características demográficas e relacionadas à doença entre pacientes NMO soronegativos e soropositivos, de acordo com o método de detecção utilizado.	64
Tabela 22. Frequência e distribuição de resultados positivos produzidos por diferentes ensaios AQP4-IgG em pacientes com diagnóstico clínico de DENMO.	67

Tabela 23. Frequência e distribuição de resultados positivos produzidos por diferentes ensaios AQP4-IgG entre pacientes sem evidência clínica de diagnóstico de DENMO.	68
Tabela 24. Dados de sensibilidade e especificidade para pacientes do grupo 1 com NMO clinicamente definida e 338 controles.	69
Tabela 25. Comparação entre testes para diagnóstico de NMO.*	72
Tabela 26. Taxas de concordância para a detecção de anticorpo AQP4 em 122 soros entre IIF-TBA, CBA-kit e CBA-Sendai.	72
Tabela 27. Detalhes demográficos dos casos e controles.	81
Tabela 28. Sensibilidade e especificidade dos ensaios de autoanticorpos.	82
Tabela 29. Concordância para ensaios de anticorpos AQP4.	84
Tabela 30. Classificação da qualidade das evidências (versus ELISA)	85
Tabela 31. Classificação da qualidade das evidências (versus FIPA)	85
Tabela 32. Classificação da qualidade das evidências (versus IHC)	85
Tabela 33. Classificação da qualidade das evidências (versus T-IIF)	86
Tabela 34. Estudos clínicos incluídos para análise.	87
Tabela 35. Estudos clínicos incluídos para análise (continuação).	90
Tabela 36. Estudos clínicos incluídos para análise (continuação).	92
Tabela 37. Estudos clínicos incluídos para análise (continuação).	95
Tabela 38. Características do estudo desenvolvido.	97
Tabela 39. Parâmetros de eficácia do teste anti-AQP4.	100
Tabela 40. Parâmetros de eficácia do diagnóstico convencional.	101
Tabela 41. Uso de recursos para diagnóstico de DENMO.	102
Tabela 42. Resultados da análise de custo-efetividade.	103
Tabela 43. Resultado do impacto orçamentário.	109
Tabela 44. Análise de Cenários – Impacto incremental acumulado em 5 anos.	110

Lista de figuras

Figura 1. Fluxograma de seleção de estudos de eficácia e segurança.	27
Figura 2. Forest plot para sensibilidade e especificidade agrupadas do imunoensaio baseado em células para o diagnóstico de NMO.	29
Figura 3. Gráficos resumidos da curva SROC de sensibilidade e especificidade de CBA para o diagnóstico de NMO.	30
Figura 4. Distribuição dos valores de anticorpos AQP4 em 46 amostras. (A) Correlação entre resultados do título semiquantitativo CIIFA e o valor quantitativo derivado do FIPA. (B) Títulos de anticorpo AQP4 medidos por CIIFA em soros de pacientes com diversas doenças.	47
Figura 5. Intensidade de fluorescência dos anticorpos AQP4 medida por CIIFA em soros de 101 pacientes com diversas doenças.	50
Figura 6. Correlações entre os títulos de anticorpos anti-AQP4 determinados por ensaio de imunofluorescência celular (IFA), ensaio por citometria de fluxo (FCMA) e ensaio imunoenzimático (ELISA).	52
Figura 7. Métricas gerais dos ensaios AQP4.	76
Figura 8. Análise da curva ROC para o corte mais apropriado (seta) para ensaio ELISA AQP4.	82
Figura 9. Modelo econômico desenvolvido.	99
Figura 10. Resultados da análise de sensibilidade univariada.	105
Figura 11. Resultado da análise de sensibilidade probabilística.	106
Figura 12. Análise do risco de viés pela ferramenta QUADAS-2 dos estudos incluídos.	129

1. Contexto

1.1 Objetivo do parecer

Teste de detecção de anticorpos anti-aquaporina 4 (AQP4) por imunofluorescência indireta em *cell-based assay* (CBA) está sendo proposto para a seguinte indicação:

Distúrbio do espectro da neuromielite óptica

Diagnóstico do distúrbio do espectro da neuromielite óptica.

Este parecer tem como objetivo avaliar a acurácia e custo-efetividade do teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 em CBA para o diagnóstico do distúrbio do espectro da neuromielite óptica (DENMO).

2. Descrição da doença relacionada à utilização da tecnologia

2.1 Neuromielite óptica – visão geral

O Distúrbio do Espectro da Neuromielite Óptica (DENMO) anteriormente conhecido como síndrome ou doença de Devic ou apenas neuromielite óptica (NMO) é uma doença inflamatória autoimune desmielinizante do sistema nervoso central (SNC), caracterizada por graves ataques predominantes de neurite óptica (NO) e/ou mielite transversa longitudinalmente extensa (MTLE) e, em menor frequência, outras síndromes clínicas que afetam o cérebro e o tronco encefálico. (1,2)

O DENMO afeta indivíduos em todo o mundo, no entanto, é possível observar diferenças significativas em populações, sendo as maiores taxas de prevalência e incidência em pacientes não-brancos, principalmente negros e asiáticos. (3) O DENMO é uma doença rara, com dados globais indicando que a prevalência seja inferior a cinco casos por 100.000 habitantes. Para a América Latina, a prevalência dessa condição varia de 0,37 casos por 100.000 habitantes (dados de Volta Redonda- RJ, Brasil) até 10 casos por 100.000 habitantes (dados de ilhas caribenhas- Martinica). (4) Em estudo recente que coletou dados de um centro em Belo Horizonte entre janeiro de 2000 a fevereiro de 2019, a prevalência de DENMO foi estimada em 4,52 casos por 100.000 habitantes. (5) Já em estudo conduzido em Volta Redonda/Rio de Janeiro a prevalência foi de 0,39 casos por 100.000 habitantes em um estudo que coletou dados entre os anos de 2009 e 2017. (6)

Devido à sobreposição de síndromes clínicas, o DENMO pode ser confundido com esclerose múltipla (EM), e por muitos anos foi considerada uma variante da EM. Dados da literatura apontam que aproximadamente 40% dos pacientes acabam sendo diagnosticados, de forma errada, com EM. (7,8) Contudo, a descoberta de um biomarcador de autoanticorpo patogênico direcionado à aquaporina 4 (anticorpo imunoglobulina G anti-aquaporina-4 [AQP4-IgG]), no início dos anos 2000, modificou o entendimento da fisiopatogenia da doença o que permitiu sua diferenciação definitiva da EM. (1,2,9) O AQP4-IgG está presente em até 80% dos pacientes com DENMO. (10)

A aquaporina 4 é expressa em grande quantidade no cérebro, medula espinhal e nervo óptico, mas também em células epiteliais fora do SNC, como estômago e rim, e atua facilitando o fluxo bidirecional de água entre as membranas celulares em resposta a gradientes osmóticos.

(11,12) Especificamente no cérebro, a aquaporina 4 localiza-se em regiões em que há contato com o líquido cerebrorraquidiano, nos pés dos astrócitos em regiões de barreira hematoencefálica. (13)

A AQP4-IgG patogênico é produzida por células da linhagem B, especificamente uma subpopulação de células B CD19 positivas (CD19+) e CD20 negativas (CD20-) apresentando propriedades morfológicas e fenotípicas de plasmablastos. (14) Quando o autoanticorpo AQP4-IgG se liga ao receptor aquaporina 4, danifica o astrócitos. Tal dano é mediado por mecanismos dependentes e independentes de complemento. Com a perda da função dos astrócitos, há ausência de suporte para as células vizinhas, como neurônios e oligodendrócitos. Assim, de forma combinada se dá a infiltração de granulócitos, os danos aos oligodendrócitos, a desmielinização e o dano neuronal. (15)

A manifestação clínica clássica da NMO é caracterizada por surtos agudos recorrentes de mielite transversa longitudinalmente extensa (MTLE) e/ou Neurites ópticas O uni ou bilateral, com recuperação incompleta entre os surtos e alto risco de acúmulo de sequelas e incapacidade a cada surto, de tal forma que o quadro geral do paciente piora significativamente após cada episódio. (16) Assim, a cada surto há acúmulo do déficit neurológico, o que leva a incapacidade funcional por sequela motora, dor neuropática, insuficiência respiratória, alteração de consciência, disfunção dos esfíncteres anal e vesical e/ou perda visual. (17,18) Quando não tratados, estima-se que cerca de 50% dos pacientes estarão dependentes de cadeira de rodas e/ou cegos dentro de cinco anos. (13) Considerando a gravidade das manifestações clínicas e a epidemiologia da condição, o DENMO costuma incapacitar indivíduos jovens adultos, em momentos de alta capacidade produtiva em todos os aspectos da sua vida, levando a grave incapacidade, principalmente quando o diagnóstico não é realizado precocemente(16,21).

Com relação ao tratamento da DENMO, o objetivo principal é prevenir os surtos e reduzir a gravidade de forma a diminuir os graves prejuízos neurológicos que resultam dos surtos sucessivos. (19,20) Até o momento não existe cura. (21)

De acordo com o consenso latino-americano de manejo e tratamento de DENMO, publicado em 2020, recomenda-se o uso de corticosteroide metilprednisolona intravenoso nos surtos agudos com o objetivo de reduzir a inflamação do sistema nervoso, seguido do curso de corticosteroide oral por duas a oito semanas, de acordo com a gravidade do surto. Frequentemente há necessidade de plasmaférese, quando há resposta parcial ao tratamento

com metilprednisolona intravenosa. (22) Para a prevenção de surtos em longo prazo, recomenda-se o início precoce de terapia imunossupressora com o objetivo de reduzir a atividade da doença. (22) O mesmo consenso recomenda, na falha ou resposta subótima aos imunossupressores utilizados na prática clínica, o uso de inebilizumabe, eculizumabe, ravulizumabe, satralizumabe. (22)

2.2 Diagnóstico

Os primeiros critérios diagnósticos para a NMO foram descritos em 1999 nos Estados Unidos, a partir da observação de pacientes acompanhados na Clínica Mayo. (23) Em 2004, a presença de um anticorpo específico da classe IgG no soro de pacientes com NMO e EM óptico-espinhal asiática foi reportada, e sua alta especificidade permitiu a diferenciação definitiva da EM. (23) Nos anos subsequentes, descobriu-se que o anticorpo se ligava seletivamente ao canal de aquaporina 4. Observou-se ainda que um maior número de pacientes positivos para anti-AQP4 não se encaixavam nos critérios vigentes o que levou à revisão dos critérios diagnósticos de 2006. (24) Assim, em 2007, o termo DENMO foi introduzido para incluir pacientes soropositivos para AQP4-IgG com formas limitadas ou inaugurais de NMO (por exemplo, primeiro surto de MTLE ou NO bilateral ou recorrente) que apresentavam alto risco de surtos futuros. (25)

Novas descobertas relacionadas à doença levaram novamente a necessidade de atualizar os critérios diagnósticos. Assim, em 2015, o *International Panel for NMO diagnosis* (2015 IPND) publicou os critérios que são vigentes ainda hoje e que permitiram unificar os termos NMO e DENMO. (9,20) Dado o grau de incerteza do diagnóstico e potencial heterogeneidade para pacientes com DENMO negativo, os critérios foram desenvolvidos considerando tanto pacientes com e sem o AQP4-IgG. Ainda, uma categoria adicional do DENMO com status desconhecido de AQP4-IgG pode ser utilizada para pacientes cujo teste sorológico não está disponível. (20)

Destaca-se que o 2015 IPND é o principal critério diagnóstico para DENMO (Tabela 1), sendo recomendado para diagnóstico em pessoas com quadros suspeitos também pelo consenso latino-americano publicado em 2020. (20,22) Os critérios permitem que a DENMO seja diagnosticada na ocorrência de, pelo menos, uma das seis características clínicas maiores e detecção do AQP4-IgG. Para pacientes sem detecção de AQP4-IgG ou sem teste disponível, os critérios para diagnósticos são mais rigorosos, incluindo a ocorrência de duas ou mais características clínicas maiores e outros critérios adicionais de ressonância magnética. (20)

Tabela 1. Critérios diagnósticos da DENMO.

Critérios diagnósticos para DENMO com AQP4-IgG positivo	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pelo menos uma característica clínica maior 2. Teste positivo para AQP4-IgG usando o melhor método de detecção disponível 3. Exclusão de diagnósticos alternativos
Critérios diagnósticos para DENMO sem AQP4-IgG positivo ou com status desconhecido	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pelo menos duas características clínicas maiores ocorrendo como resultado de um ou mais recidivas clínicas e de acordo com todos os seguintes requerimentos: <ol style="list-style-type: none"> a. Pelo menos uma característica clínica maior deve ser neurite óptica, lesões longitudinalmente extensas de mielite transversa ou síndrome de área postrema b. Disseminação no espaço (duas ou mais características clínicas principais diferentes) c. Preenchimento dos critérios adicionais da RNM, se aplicável 2. Teste negativo para AQP4-IgG usando o melhor método de detecção disponível ou teste não disponível 3. Exclusão de diagnósticos alternativos
Características clínicas maiores	<ol style="list-style-type: none"> 1. Neurite óptica 2. Mielite aguda 3. Síndrome de área postrema: episódio de soluços inexplicáveis ou náuseas e vômitos 4. Síndrome aguda do tronco cerebral 5. Narcolepsia sintomática ou síndrome clínica diencefálica aguda com lesões diencefálicas típicas de DENMO na RNM 6. Síndrome cerebral sintomática com lesões cerebrais típicas de DENMO
Requisitos adicionais de RNM para DENMO sem AQP4-IgG e DENMO com status AQP4-IgG desconhecido	<ol style="list-style-type: none"> 1. Neurite Óptica Aguda: requer RNM cerebral mostrando (a) achados normais e apenas lesões não-específicas de substância branca OU (b) RNM do nervo óptico com lesão hiperintensa T2 ou lesão em T1 com captação gadolíneo, que se estenda por mais de metade do comprimento do nervo óptico ou que envolva o quiasma óptico 2. Mielite Aguda: requer associação com lesão intramedular que se estenda por três segmentos contíguos (lesões longitudinalmente extensas de mielite transversa) ou pelo menos três segmentos contíguos de atrofia focal da medula espinhal em pacientes com história compatível com mielite aguda 3. Síndrome de área postrema: requer associação com lesões na área postrema e região dorsal do bulbo 4. Síndrome de tronco cerebral aguda: requer lesões periependimais no tronco cerebral

Fonte: Wingerchuk, 2015 (20) DENMO: distúrbio do espectro da neuromielite óptica; AQP4-IgG: imunoglobulina G anti-aquaporina-4; RNM: ressonância nuclear magnética.

O AQP4-IgG é considerado um biomarcador sérico da doença. Destaca-se que diferentes métodos podem ser utilizados para a sua detecção, como imunofluorescência indireta em

tecido, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e CBA, sendo o último preferencialmente recomendado pelas principais diretrizes clínicas para DENMO. (16,20,22)

2.3 Necessidades médicas não atendidas

O DENMO é uma condição rara, debilitante, potencialmente fatal e autoimune que ataca e compromete as funções predominantemente da medula espinhal e do nervo óptico. A lesão promovida pela doença é associada com a presença do AQP4-IgG. (7)

Atualmente, o principal critério diagnóstico para o DENMO tem como base a publicação de 2015 do IPND, que desenvolveu critérios diagnósticos revisados. (20,22) É importante lembrar que até 2006 (24,25) o comprometimento do nervo óptico e medula óssea eram mandatórios para o diagnóstico de NMO (de acordo com os critérios da época), na ausência de sintomas cerebrais. Contudo, a publicação do 2015 IPND (20) inclui síndrome de área postrema, síndrome aguda do tronco cerebral, síndrome clínica diencefálica aguda, síndrome cerebral sintomática, além de NO e mielite aguda, sugerindo uma nova nomenclatura a partir do termo unificado DENMO, que pode ser estratificado de acordo com o teste sorológico para AQP4-IgG. (20,22)

Em pacientes com DENMO, um diagnóstico rápido e preciso é crucial devido à fisiopatologia e ao curso da doença e devido ao alto risco de incapacidade acumulada após cada surto. (26) Ainda, como o número de surtos é correlacionado ao acúmulo de incapacidade, além de maior utilização de recursos em saúde, a importância de se estabelecer um diagnóstico preciso em tempo hábil torna-se ainda mais crítica. (7)

Como dito anteriormente, a literatura ainda aponta que aproximadamente 40% dos pacientes com DENMO são inicialmente diagnosticados com EM. (7) Contudo, a distinção entre as doenças é crítica uma vez que os tratamentos para a EM (como betainterferona, fingolimode, natalizumabe e alentuzumabe) não são eficazes na prevenção dos surtos e podem agravar a atividade da doença em pacientes com DENMO. (16)

Nesse cenário, os novos critérios diagnósticos que consideram o AQP4-IgG como biomarcador, bem como uma melhor compreensão das características clínicas e radiológicas do DENMO, permitem um diagnóstico preciso e a diferenciação de outras doenças. (2)

A descoberta do anticorpo anti-AQP4 revolucionou o diagnóstico e a abordagem terapêutica do DENMO. (1,2) E diante de sua relevância, recomenda-se que a pesquisa do anticorpo deva

ser realizada no soro dos pacientes com apresentação clínica-radiológica do DENMO por método de alta sensibilidade e especificidade. (27) Os métodos disponíveis incluem a pesquisa através da técnica tecidual de imunofluorescência, o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e técnicas baseadas em células (CBA). Segundo o 2015 IPND e o consenso latino-americano publicado em 2020 (20,22), o CBA em soro é o teste preferencialmente recomendado devido a otimização da detecção dos autoanticorpos, com melhores resultados de sensibilidade e especificidade. Ainda, segundo o painel, o teste de imunofluorescência indireto em tecido e ELISA apresentam baixa sensibilidade (78% e 60%, respectivamente), levando a resultados falso-positivos (0,5% a 1,3% para ELISA), muitas vezes em baixa titulação, sendo recomendada cuidado na interpretação dos resultados caso esses testes venham a ser utilizados. (20,22)

Embora a literatura aponte a maior sensibilidade da técnica CBA, seu acesso é limitado a poucos centros. (3) No Brasil, dentro do contexto do Sistema Único de Saúde (SUS), não existe um Protocolo Clínico e Diretriz Terapêutica específico para DENMO, não sendo utilizado, obrigatoriamente, nenhum teste específico para identificação desses pacientes. Na Saúde Suplementar, o teste de AQP4 (pesquisa e/ou dosagem) apresenta cobertura obrigatória para investigação diagnóstica de NMO quando for solicitado por neurologista e preenchido pelo menos um dos seguintes critérios: (28)

- a. Pacientes com neurite ótica, mielite aguda, síndrome da área postrema (solucos, náusea/vômitos com exclusão de outras causas) ou síndrome aguda de tronco cerebral;
- b. Pacientes com síndrome diencefálica aguda, narcolepsia ou síndrome cerebral sintomática com lesões compatíveis pela ressonância magnética.

Com base no exposto e em linha com as principais recomendações específicas para a doença, destaca-se a necessidade de incorporação do teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 em CBA para a confirmação do diagnóstico do DENMO, dentro do contexto clínico apropriado.

3. Descrição da tecnologia proposta

No cenário atual, o teste anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em células transfectadas da EUROIMMUN é o único teste para detecção de AQP4-IgG registrado no Brasil (Tabela 2).

Tabela 2. Características do produto.

Referência Nº	Anticorpos anti	Substrato	Espécies	Formato Lâminas x Campos
FA 1128-1005-50	Aquaporina-4	células transfectadas controle de transfeção	EU 90	10 x 03 (030)
FA 1128-1010-50				10 x 05 (050) 10 x 10 (100)

Fonte: Instruções para o teste de imunofluorescência indireta. (29)

O dispositivo de teste fornece uma determinação qualitativa ou semiquantitativa, *in vitro* de anticorpos humanos da AQP4-IgG em amostras de pacientes para apoiar o diagnóstico do DENNMO. (29) O conteúdo para o teste encontra-se descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Conteúdo de um dispositivo de teste para 50 resultados (ex. FA 1128-1005-50).

Descrição	Formato
Lâminas, cada uma contém 5 x 2 BIOCHIPS revestidos com AQP-4-transfetada e controle de células transfectadas	10 lâminas
IgG anti-humana marcada com FITC, pronta para usar	1x 1,5 ml
Controle positivo: anti aquaporina-4, humano, pronto para usar	1 x 0,1 ml
Controle negativo: autoanticorpos-negativo, humano, pronto para usar	1 x 0,1 ml
Sal para PBS pH 7,2	2 pacotes
Tween 20	2 x 2,0 ml
Meio de montagem, pronto para usar	1 x 3,0 ml
Lamelas (62 mm x 23 mm)	12 unidades

Fonte: Instruções para o teste de imunofluorescência indireta. (29)

Células que expressam canais de AQP4 são incubadas com uma amostra de soro diluído do paciente. Se a reação for positiva, os anticorpos específicos das classes IgA, IgG e IgM ligam-se aos抗ígenos. Em uma segunda etapa, os anticorpos ligantes são corados com anticorpos anti-humanos marcados com fluoresceína (FITC) e tornam-se visíveis com um microscópio de fluorescência. (29)

Em caso de reação positiva os anticorpos anti-AQP4 reagem com as células transfectadas do substrato, induzindo uma fluorescência granular plana, lisa e fina da célula com alguma acentuação da membrana celular. A área do núcleo celular é apenas ligeiramente corada. Se todas as células ficam coradas, ou seja, também as células transfectadas de controle, estão presentes anticorpos contra outros抗ígenos das células. Por outro lado, se o controle positivo não apresentar nenhum padrão de fluorescência específico ou o controle negativo apresentar uma fluorescência específica evidente, os resultados não podem ser utilizados e o teste precisa ser repetido. (29)

A avaliação qualitativa recomendada pode ser observada na Tabela 4.

Tabela 4. Avaliação qualitativa.

Reatividade anti-AQP4 (IgG) (soro/plasma)	Avaliação
Nenhuma reação a 1:10	Negativo. Não foram detectados anticorpos anti AQP-4 nas amostras dos pacientes.
Reação positiva a 1:10	Positivo. Indicação de NMO ou DENMO

Fonte: Instruções para o teste de imunofluorescência indireta. (29) NMO: neuromielite óptica; DENMO: distúrbio do espectro da neuromielite óptica.

3.1 Preço proposto para incorporação

O preço proposto para incorporação do teste anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em células transfectadas da EUROIMMUN é de R\$ 122,33 por teste.

4. Evidências científicas

4.1 Questão do estudo

Para a revisão da literatura, a questão de pesquisa foi estruturada no formato PICO (Tabela 5).

Tabela 5. Questão estruturada no formato PICO.

P - População	Pacientes com distúrbio do espectro da neuromielite óptica
I - Intervenção	Teste de detecção de anticorpos anti-aquaporina 4 por imunofluorescência indireta em CBA
C - Comparação	Sem restrição de comparador
O - Desfechos	Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, acurácia, razão de verossimilhança positiva e razão de verossimilhança negativa
Desenho de Estudo	Revisões sistemáticas com ou sem meta-análise, ensaios clínicos randomizados e estudos observacionais

CBA: *cell-based assay*.

Pergunta: O uso do teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em CBA é acurado para diagnóstico do DENMO?

4.1.1 Intervenção

Teste de detecção em soro de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em células transfetadas (CBA).

4.1.2 População

Pacientes com suspeita de DENMO.

4.1.3 Comparações

Sem restrição de comparadores.

Atualmente não há um teste específico para diagnóstico do DENMO no SUS. Dado que, segundo *guidelines* o diagnóstico da doença é realizado pela presença de pelo menos uma de seis características clínicas maiores (neuromielite óptica, mielite aguda, síndrome da área postrema, síndrome do tronco cerebral aguda, síndrome diencefálica aguda e síndrome cortical sintomática) associado à detecção de anticorpos anti-AQP4 para uma detecção precisa e que não há alternativa para tal teste no SUS, optou-se pela não restrição de comparadores.

4.2 Estratégia de busca

4.2.1 Fontes de dados

Buscaram-se revisões sistemáticas com ou sem meta-análise, ensaios clínicos randomizados (ECRs) e estudos observacionais que avaliaram o uso do teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em CBA no diagnóstico do DENMO. As buscas eletrônicas foram realizadas até novembro de 2023 nas bases de dados: *The Cochrane Library*, MEDLINE via Pubmed, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Embase (Anexo 3).

Buscas complementares foram conduzidas em *websites* de agências de Avaliação de Tecnologias em Saúde (ATS) e instituições correlatas e suas bases de dados. Mecanismos de busca incluíram adicionalmente Google® e outras ferramentas *online*. Buscas eletrônicas foram complementadas por buscas manuais de referências bibliográficas e *abstracts* de publicações selecionadas.

4.2.2 Vocabulário controlado

Na construção de estratégias de buscas, descritores, palavras-chave e termos MeSH foram utilizados para cada base de dado especificamente (Tabela 6). Não foram utilizados limites de idioma ou temporais. As estratégias de buscas encontram-se descritas na Tabela 7.

Tabela 6. Termos utilizados nas estratégias de busca.

Base	Linha da Patologia	Linha da Intervenção
PUBMED	<p>("Neuromyelitis Optica"[Mesh] OR "Neuromyelitis Optica" OR "NMO Spectrum Disorder" OR "NMO Spectrum Disorders" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorder" OR "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders" OR "Devic Neuromyelitis Optica" OR "Devic Neuromyelitis Opticas" OR "Neuromyelitis Optica, Devic" OR "Neuromyelitis Opticas, Devic" OR "Devic's Disease" OR "Devic's Disease" OR "Disease, Devic's" OR "Devic Disease" OR "Disease, Devic" OR "Devic Syndrome" OR "Syndrome, Devic" OR "Devic's Syndrome" OR "Devic's Syndrome" OR "Syndrome, Devic's" OR "Devic's Neuromyelitis Optica" OR "Devic's Neuromyelitis Optica" OR "Neuromyelitis Optica, Devic's" OR "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorders")</p>	<p>("anti-aquaporin 4 autoantibody" [Supplementary Concept]) OR "anti-aquaporin 4 autoantibody" OR "aquaporin 4 autoantibody" OR "Anti-AQP4 autoantibodies" OR "anti-aquaporin 4 antibody" OR "Anti-AQP4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin4 autoantibodies" OR "AQP4-Ab" OR "aquaporin4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin 4 autoantibodies" OR "Anti-aquaporin4 autoantibody")</p>
LILACS	<p>("Neuromielite Óptica" OR "Neuromyelitis Optica" OR "Neuromielitis Óptica" OR "Doença de Devic" OR "Neuromielite Óptica de Devic")</p>	<p>("anticorpo anti-aquaporina 4" OR "anti-aquaporin 4 autoantibody" OR "AQP4-Ab")</p>
BIBLIOTECA COCHRANE	<p>#1 MeSH descriptor: [Neuromyelitis Optica] explode all trees</p> <p>#2 "Disease, Devic" OR "Neuromyelitis Opticas, Devic" OR "Devic Neuromyelitis Optica" OR "NMO Spectrum Disorders" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorders" OR "Devic Neuromyelitis Optica" OR "NMO Spectrum Disorder; Syndrome, Devic" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorder" OR "Devic Disease" OR "Neuromyelitis Optica, Devic's" OR "Devic Disease" OR "Devic's Syndrome" OR "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders" OR "Neuromyelitis Optica, Devic" OR "Devic Syndrome" OR "Disease, Devic's" or "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder" OR "Syndrome, Devic's" OR "Devic Neuromyelitis Opticas" OR "Devic's Disease" OR "Devic Syndrome" OR "Devic's Neuromyelitis Optica"</p> <p>#3 #1 OR #2</p>	<p>#4 "anti-aquaporin 4 autoantibody" OR "aquaporin 4 autoantibody" OR "Anti-AQP4 autoantibodies" OR "anti-aquaporin 4 antibody" OR "Anti-AQP4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin4 autoantibodies" OR "AQP4-Ab" OR "aquaporin4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin 4 autoantibodies" OR "Anti-aquaporin4 autoantibody"</p>
EMBASE	<p>('myeloptic neuropathy'/exp OR 'devic disease' OR 'devic syndrome' OR 'myeloptic neuropathy' OR 'myelopticoneuropathy' OR 'myeloptico neuropathy' OR 'myelopticoneuropathy' OR 'neuromyelitis optica' OR 'neuromyelitis optica spectrum disorder' OR 'neuropticomyelitis' OR 'optic neuromyelitis')</p>	<p>('aquaporin 4 antibody'/exp OR 'aqp4 ab' OR 'aqp4 antibody' OR 'anti aquaporin 4' OR 'anti aquaporin 4 antibodies' OR 'anti aquaporin 4 antibody' OR 'aquaporin 4 antibodies' OR 'aquaporin 4 antibody')</p>

LILACS: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde.

Tabela 7. Estratégias de busca.

PUBMED

▪ **BUSCA SIMPLES**

(("Neuromyelitis Optica"[Mesh] OR "Neuromyelitis Optica" OR "NMO Spectrum Disorder" OR "NMO Spectrum Disorders" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorder" OR "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders" OR "Devic Neuromyelitis Optica" OR "Devic Neuromyelitis Opticas" OR "Neuromyelitis Optica, Devic" OR "Neuromyelitis Opticas, Devic" OR "Devic's Disease" OR "Devics Disease" OR "Disease, Devic's" OR "Devic Disease" OR "Disease, Devic" OR "Devic Syndrome" OR "Syndrome, Devic" OR "Devic's Syndrome" OR "Devics Syndrome" OR "Syndrome, Devic's" OR "Devic's Neuromyelitis Optica" OR "Devics Neuromyelitis Optica" OR "Neuromyelitis Optica, Devic's" OR "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorders"))
AND (("anti-aquaporin 4 autoantibody" [Supplementary Concept]) OR "anti-aquaporin 4 autoantibody" OR "aquaporin 4 autoantibody" OR "Anti-AQP4 autoantibodies" OR "anti-aquaporin 4 antibody" OR "Anti-AQP4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin4 autoantibodies" OR "AQP4-Ab" OR "aquaporin4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin 4 autoantibodies" OR "Anti-aquaporin4 autoantibody"))

Resultados: 531 títulos.

LILACS

▪ **BUSCA SIMPLES**

(("Neuromielite Óptica" OR "Neuromyelitis Optica" OR "Neuromielitis Óptica" OR "Doença de Devic" OR "Neuromielite Óptica de Devic") AND ("anticorpo anti-aquaporina 4" OR "anti-aquaporin 4 autoantibody" OR "AQP4-Ab"))

Resultados: 3 títulos.

COCHRANE

▪ **BUSCA SIMPLES**

#1 MeSH descriptor: [Neuromyelitis Optica] explode all trees
#2 "Disease, Devic" OR "Neuromyelitis Opticas, Devic" OR "Devic Neuromyelitis Optica" OR "NMO Spectrum Disorders" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorders" OR "Devics Neuromyelitis Optica" OR "NMO Spectrum Disorder; Syndrome, Devic" OR "Neuromyelitis Optica (NMO) Spectrum Disorder" OR "Devic Disease" OR "Neuromyelitis Optica, Devic's" OR "Devics Disease" OR "Devic's Syndrome" OR "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders" OR "Neuromyelitis Optica, Devic" OR "Devics Syndrome" OR "Disease, Devic's" OR "Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder" OR "Syndrome, Devic's" OR "Devic Neuromyelitis Opticas" OR "Devic's Disease" OR "Devic Syndrome" OR "Devic's Neuromyelitis Optica"

#3 #1 OR #2

#4 "anti-aquaporin 4 autoantibody" OR "aquaporin 4 autoantibody" OR "Anti-AQP4 autoantibodies" OR "anti-aquaporin 4 antibody" OR "Anti-AQP4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin4 autoantibodies" OR "AQP4-Ab" OR "aquaporin4 autoantibody" OR "Anti-aquaporin 4 autoantibodies" OR "Anti-aquaporin4 autoantibody"

#5 #3 AND #4

Resultados: 0 títulos (revisão completa).

EMBASE

▪ BUSCA SIMPLES

('myeloptic neuropathy'/exp OR 'devic disease' OR 'devic syndrome' OR 'myeloptic neuropathy' OR 'myelopticoneuropathy' OR 'myeloptico neuropathy' OR 'myelopticoneuropathy' OR 'neuromyelitis optica' OR 'neuromyelitis optica spectrum disorder' OR 'neuroopticomyelitis' OR 'optic neuromyelitis')
AND ('aquaporin 4 antibody'/exp OR 'aqp4 ab' OR 'aqp4 antibody' OR 'anti aquaporin 4' OR 'anti aquaporin 4 antibodies' OR 'anti aquaporin 4 antibody' OR 'aquaporin 4 antibodies' OR 'aquaporin 4 antibody')

Resultados: 4.101 títulos.

LILACS: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde.

4.3 Critérios de seleção e exclusão dos artigos

Foram incluídos artigos na íntegra que atenderam às seguintes características:

- Revisões sistemáticas com ou sem meta-análises, ECRs e estudos observacionais;
- Que avaliaram o teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em CBA (em soro) no diagnóstico do DENMO.

Alguns critérios de exclusão foram estabelecidos: estudos de delineamento de revisões narrativas, relatos ou séries de casos, ensaios pré-clínicos (com modelos animais) e estudos de farmacocinética ou farmacodinâmica.

4.4 Critérios de qualidade

Dois revisores realizaram a busca nas bases de dados utilizando a estratégia previamente definida e selecionaram os estudos para inclusão na revisão. Planejou-se, inicialmente, que, nos casos em que não houvesse consenso, um terceiro revisor seria consultado sobre a elegibilidade e ficaria responsável pela decisão final.

Ainda, a extração também foi realizada por dois revisores, sendo as divergências solucionadas após consulta a um terceiro revisor. Os dados coletados nessa etapa envolveram as seguintes variáveis: autor, ano, países em que o estudo foi conduzido (não aplicável para revisões sistemáticas), desenho do estudo, população, intervenção, comparações, desfechos principais, resultados e limitações. Esta tabela é apresentada também como um resumo dos resultados na seção 4.5.3.

A síntese dos dados extraídos foi realizada de forma narrativa.

4.4.1 Avaliação do risco de viés

De acordo com as Diretrizes Metodológicas para Elaboração de Pareceres Técnico-Científicos do Ministério da Saúde (30), os estudos incluídos na revisão foram analisados de acordo com o questionário recomendado para cada tipo de estudo, permitindo a avaliação sistemática na identificação de potenciais vieses e seus impactos na conclusão do estudo. Para avaliação do risco de viés de revisões sistemáticas utilizou-se o *Assessing the Methodological Quality of Systematic Reviews* (AMSTAR-2). (31) Já para avaliação do risco de viés de estudos de acurácia diagnóstica utilizou-se o *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (QUADAS-2). (32) A avaliação do risco de viés foi realizada por dois revisores, sendo as divergências solucionadas após consulta a um terceiro revisor.

As fichas de avaliação crítica encontram-se no Anexo 4 deste documento.

4.4.2 Qualidade da evidência

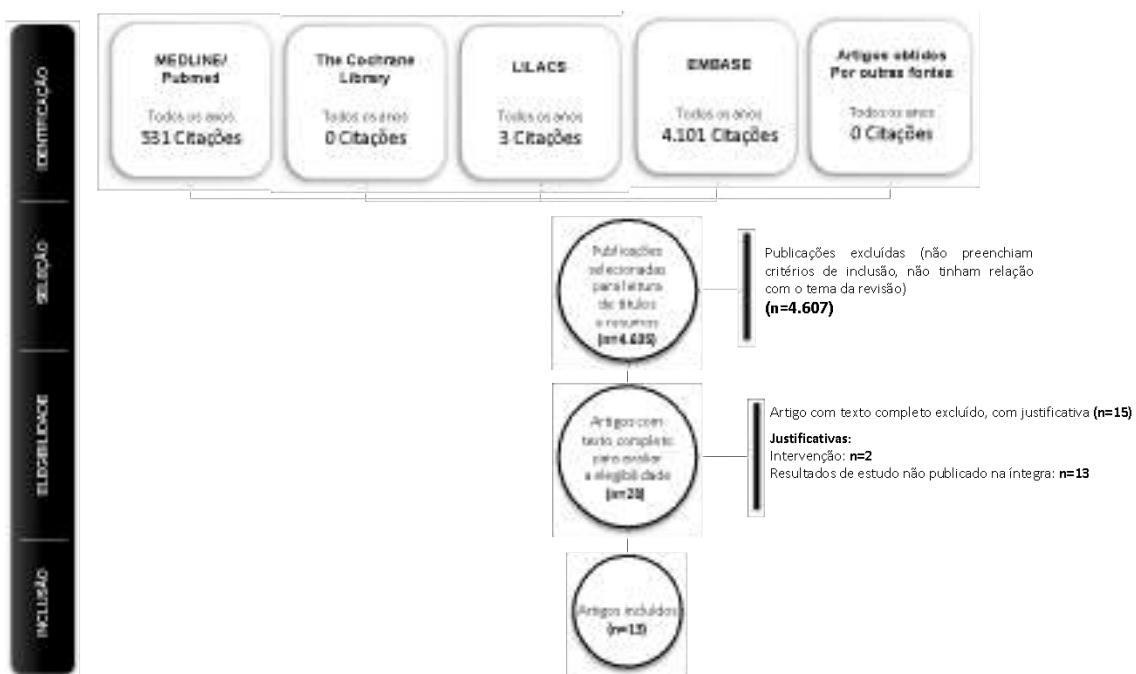
Ainda, segundo as Diretrizes Metodológicas para Elaboração de Pareceres Técnico-Científicos do Ministério da Saúde (30), sugere-se a ponderação de outros aspectos que podem aumentar ou diminuir a qualidade da evidência sobre o efeito de uma intervenção para um desfecho. Para tal foi utilizado o sistema *The Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation* (GRADE). A avaliação de qualidade de viés foi realizada por dois revisores, sendo as divergências solucionadas após consulta a um terceiro revisor.

4.5 Resultados da busca realizada

Após a realização da estratégia de busca nas bases de dados, 4.635 citações foram localizadas. Aplicados os critérios de elegibilidade, dois revisores selecionaram 28 citações para leitura na íntegra. Dessas, 13 citações foram selecionadas e incluídas nesta revisão (Figura 1; Tabela 8).

Os resultados encontram-se descritos ao longo do texto. Os resumos dos estudos estão apresentados no tópico 4.5.3.

Os estudos avaliados na íntegra e excluídos, assim como seus motivos para exclusão são apresentados no Anexo 5.



LILACS: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde.

Figura 1. Fluxograma de seleção de estudos de eficácia e segurança.

Tabela 8. Estudos incluídos para análise.

Autor	Publicação	Ano	Referência
1. Ruiz-Gaviria <i>et al.</i>	<i>Multiple Sclerosis and Related Disorders</i>	2015	(33)
2. Jarius <i>et al.</i>	<i>Journal of the Neurological Sciences</i>	2010	(34)
3. Wu <i>et al.</i>	<i>Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry</i>	2011	(35)
4. Kim <i>et al.</i>	<i>Journal of Clinical Laboratory Analysis</i>	2012	(36)
5. Kang <i>et al.</i>	<i>Annals of Laboratory Medicine</i>	2012	(37)
6. Isobe <i>et al.</i>	<i>Multiple Sclerosis Journal</i>	2012	(38)
7. Höftberger <i>et al.</i>	<i>PLOS ONE</i>	2013	(39)
8. Malignier <i>et al.</i>	<i>Neurology</i>	2013	(40)
9. Fryer <i>et al.</i>	<i>Neurology: Neuroimmunology and Neuroinflammation</i>	2014	(41)

10. Siritho <i>et al.</i>	<i>Neurology Asia</i>	2014	(42)
11. Waters <i>et al.</i>	<i>Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry</i>	2016	(43)
12. Long <i>et al.</i>	<i>International Journal of Neuroscience</i>	2017	(44)
13. Prain <i>et al.</i>	<i>Frontiers in Neurology</i>	2019	(45)

4.5.1 Descrição dos estudos selecionados

Revisões sistemáticas e meta-análises

Ruiz-Gaviria 2015 (33)

Os autores conduziram uma meta-análise com o objetivo de determinar a precisão diagnóstica de diferentes imunoensaios, com diferentes sensibilidades e especificidades, para detectar o anticorpo anti-AQP4 em pacientes com suspeita de NMO.

Inicialmente, foi realizada uma revisão sistemática da literatura em cinco diferentes bases de dados eletrônicas: Pubmed, Embase, *The Cochrane Library*, Scopus, *Database of Abstracts of Reviews of Effect* (DARE) e Lilacs. Foram incluídos estudos observacionais que avaliaram o desempenho dos imunoensaios em pacientes com suspeita de NMO em comparação com os critérios diagnósticos de Wingerchuk de 2006. Os artigos foram avaliados por dois revisores diferentes, que também extraíram os dados.

A presença de AQP4-IgG foi definida como a detecção deste anticorpo em soros de pacientes com as técnicas CBA, ensaio baseado em tecido (TBA) ou ensaio imunoenzimático (ELISA). Os outros imunoensaios foram excluídos por serem usados principalmente em pesquisa e não estarem disponíveis comercialmente.

Para estimar a sensibilidade e a especificidade globais como desfecho principal, foi realizado um modelo de regressão bivariada que preserva a natureza dicotômica de um teste diagnóstico. Para evitar a maior parte da heterogeneidade que pode ser encontrada em uma meta-análise de um teste de diagnóstico, os dados foram analisados separadamente para cada um dos diferentes sistemas de detecção de anticorpos.

A análise de subgrupos dos diferentes peptídeos usados na técnica CBA e dos diferentes tecidos usados na TBA foi planejada caso fossem encontrados estudos suficientes para fazê-la.

Os estudos foram submetidos à ferramenta QUADAS-2 para avaliação da qualidade e apenas estudos com baixo risco de viés foram incluídos na meta-análise.

Foram identificados 6.307 artigos com a estratégia de busca. Após remoção de duplicatas e artigos que não detectavam técnicas para AQP4-IgG, 105 títulos permaneceram. Um total de 71 artigos foram considerados relevantes para a revisão, mas apenas 30 foram incluídos na meta-análise por terem baixo risco de viés. Todos os estudos envolveram coleta prospectiva de pacientes e amostras, exceto um.

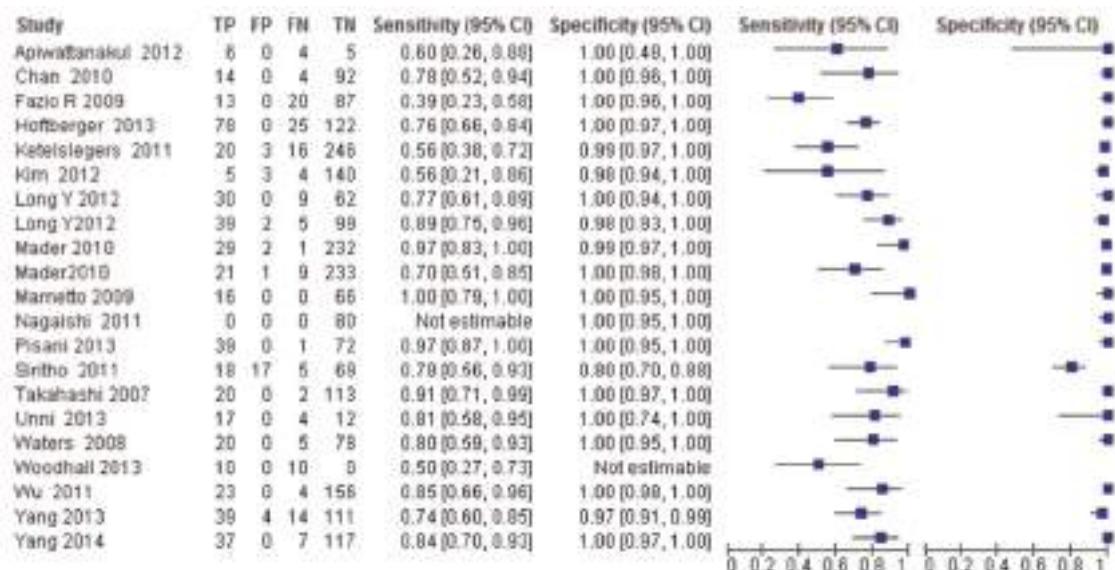
Entre os 30 estudos, 27 incluíram pacientes com EM como controle. Dez estudos incluíam controles saudáveis, 17 utilizaram outras doenças neurológicas (ODN), principalmente síndrome de Guillain-Barré, miastenia gravis, encefalomielite aguda disseminada e síndrome clínica isolada como grupos controle. Pacientes com outras doenças imunológicas e outras doenças infecciosas também foram utilizados como controles.

A análise de subgrupo foi realizada para três diferentes imunoensaios: a técnica CBA (que teve 21 estudos com 653 pacientes NMO e 2.224 controles), TBA (15 estudos com 555 pacientes NMO e 3.223 controles) e o teste ELISA (5 estudos com 138 pacientes NMO e 723 controles).

Os dados para o teste CBA são mostrados na Figura 2. A sensibilidade e a especificidade estimadas foram de 0,76 (IC95%: 0,67–0,82) e 0,99 (IC 95%: 0,97–0,99), respectivamente, representadas em uma curva ROC sumária (SROC; Figura 3). Para o TBA, 15 estudos foram utilizados no cálculo da sensibilidade e da especificidade que foram 0,59 (IC 95%: 0,50–0,67) e 0,98 (IC 95%: 0,97– 0,99), respectivamente. Dos 5 estudos para o teste ELISA, a sensibilidade e a especificidade foram 0,65 (IC 95%: 0,53–0,75) e 0,97 (IC 95%: 0,96–0,99), respectivamente.

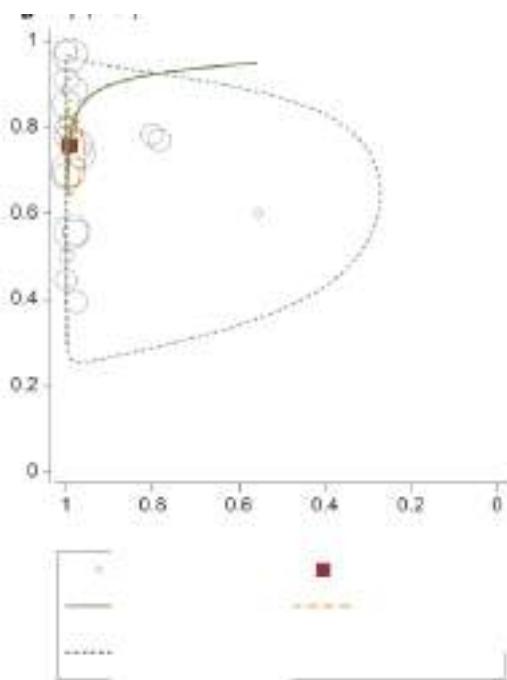
Os tamanhos das amostras não permitiram mais análises de subgrupos dos diferentes peptídeos (M1 e M23) ou tecidos (rato ou macaco) usados no CBA e TBA, respectivamente.

Figura 2. Forest plot para sensibilidade e especificidade agrupadas do imunoensaio baseado em células para o diagnóstico de NMO.



Fonte: Ruiz-Gaviria 2015 (33).

Figura 3. Gráficos resumidos da curva SROC de sensibilidade e especificidade de CBA para o diagnóstico de NMO.



Fonte: Ruiz-Gaviria 2015 (33). CBA: ensaio baseado em células; HSROC: curva ROC sumária hierárquica; NMO: neuromielite óptica; SROC: curva ROC sumária.

O imunoensaio que apresentou melhor desempenho diagnóstico foi o CBA. Outros imunoensaios foram específicos o suficiente para serem clinicamente úteis para um diagnóstico correto em pacientes com NMO, bem como para esclarecer os casos em que o resto dos estudos clínicos, paraclínicos e imanobiológicos não são suficientes para diagnosticar uma NMO definitiva.

O estudo concluiu que a detecção de AQP4 no soro com imunoensaio, especialmente CBA, é uma ótima ferramenta para o diagnóstico de pacientes com NMO, devido à alta especificidade, permitindo ao clínico diferenciar esta doença de outras condições neurológicas que se assemelham a NMO.

Estudos individuais

Jarius 2010 (34)

Um estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar um ensaio de imunofluorescência recombinante (rIFA) de fácil utilização, adequado para detecção padronizada e de alto rendimento para IgG anti-NMO e anticorpos anti-AQP4.

Cento e cinquenta e uma amostras de soro foram testadas quanto à presença de anticorpos anti-AQP4 através de ensaio de imuno-histoquímica (IHC) padrão e também por ensaio de imunofluorescência recombinante (rIFA), provenientes de pacientes DENMO. Entre eles, foram incluídos 32 pacientes com NMO, 12 com MTLE, cinco com NO recorrente isolada, dois com NO recorrente e mielite transversa não-extensa (MTNE). Também foram incluídos controles, compostos por 66 pacientes com EM, 23 com ODN (inflamatória em 21) e 11 doadores saudáveis.

Todos os pacientes com NMO atenderam aos critérios de Wingerchuk de 2006 (sem a necessidade de positividade para IgG anti-NMO). Todos os pacientes com MTLE tinham lesões na medula espinhal que se estendiam por três ou mais segmentos. O diagnóstico de EM foi estabelecido de acordo com os critérios de McDonald, com curso remitente-recorrente em 47 pacientes, progressivo secundário em 14 e progressivo primário em cinco. O teste foi realizado para fins de diagnóstico em todos os casos. Os achados epidemiológicos estão resumidos na Tabela 9.

NMO-IgG em ensaio por IHC

Vinte e um dos 32 pacientes com NMO, 8 entre 12 pacientes com MTLE, um de dois com MTNE e NO, e um com EM foram testados positivos para IgG anti-NMO no ensaio por IHC. Todas as amostras de pacientes com NO recorrente ou ODN e todas as amostras de controle saudáveis foram negativas.

Assim, o resultado de teste positivo mostrou uma sensibilidade de 65,6% (IC 95%: 0,47–0,81) e uma especificidade de 99,0% (IC 95%: 93,8–99,9), quando usado para distinguir NMO e controles (razão de verossimilhança para um resultado negativo [RV-]: 0,35 [IC 95%: 0,21–0,54]; razão de verossimilhança para um resultado positivo [RV+]: 65,63 [IC 95%: 10,03–430]).

Quando todos os pacientes com DENMO, ou seja, pacientes com NMO, MTLE, NO recorrente ou NO e MTNE, foram considerados, os resultados mostraram sensibilidade de 58,8% (IC 95%: 0,44–0,72), especificidade de 99,0% (IC 95%: 93,8–99,9), RV- de 0,42 (IC 95%: 0,3–0,58) e RV+ de 58,82 (IC 95%: 8,26–419). Os resultados detalhados são apresentados também na Tabela 9.

rIFA

Todos os pacientes positivos para IgG anti-NMO também foram positivos para anticorpos anti-AQP4 quando testados por rIFA. Além disso, quatro outros pacientes com NMO, um com NO recorrente e um com MTNE e NO, todos negativos para IgG anti-NMO de acordo com IHC, foram considerados positivos para anticorpos anti-AQP4 quando testados por rIFA. Nenhum dos soros de controle foi classificado como positivo quando avaliado por dois investigadores que desconheciam o diagnóstico dos pacientes.

Esses dados correspondem a uma sensibilidade e especificidade de 78,1% e 100%, respectivamente, se apenas pacientes com NMO fossem considerados (RV-: 0,22 [IC 95%: 0,11–0,42]; RV+: ∞), indicando uma sensibilidade 12,5% maior de rIFA em comparação com IHC.

Os resultados de sensibilidade e especificidade foram de 70,6% e 100%, respectivamente, se todos os pacientes com DENMO fossem levados em consideração (VR-: 0,29 [IC 95%: 0,19–0,45]; VR+: ∞). Pontuações positivas e negativas foram 100% concordantes entre os avaliadores. Os resultados estão também resumidos na Tabela 9.

Reprodutibilidade

Para avaliar a reproduzibilidade da rIFA, 30 amostras selecionadas aleatoriamente, 15 positivas para anticorpos anti-AQP4 em uma execução inicial, foram retestadas uma vez ($n = 14$), duas vezes ($n = 11$) ou três vezes ($n = 5$) usando dois lotes diferentes de biochips. No momento do

novo teste, um período com mediana de nove meses (≥ 18 meses em 19 casos) se passou desde a transfecção. Uma mediana de cinco meses (≥ 11 meses em 19 casos) se passou desde que os biochips contendo células transfectadas e não transfectadas com AQP4 foram montados em lâminas de microscopia.

Além disso, sete amostras de acompanhamento de pacientes com DENMO (mediana de acompanhamento de 5 meses), cinco das quais foram inicialmente positivas, foram testadas. Para avaliar a influência das condições de armazenamento, 18 amostras foram retestadas em lâminas que haviam sido armazenadas por nove meses a 4 °C em sacos lacrados contendo gel de sílica como dessecante após o teste inicial. Para avaliar a variabilidade interlaboratorial, 25 amostras, 15 das quais positivas, foram testadas paralelamente em dois laboratórios independentes. Não foram encontradas discrepâncias entre os resultados iniciais e os resultados dos testes repetidos ou de acompanhamento, nem entre os resultados dos dois laboratórios.

Os autores concluíram que o ensaio de rIFa é capaz de fornecer a médicos e cientistas uma ferramenta fácil de usar e reproduzível para testes de anticorpos anti- AQP4 de alto rendimento.

Tabela 9. Achados epidemiológicos, clínicos e sorológicos de 151 pacientes e controles estudados.

	DENMO					Controles			
	Total	NMO	MTLE	rNO	NO/MTNE	Total	EM	ODN	IHC
N	51	32	12	5	2	100	66	23	11
Gênero (masculino:feminino)	1:5,4	1:5,4	1:5	1:4	Feminino apenas	1:1,9	1:2,1	1:1,7	1:1,2
Idade mediana no momento da coleta de sangue (intervalo)	46 (13–70)	44 (13–63)	44 (23–63)	51 (46–70)	54,5 (50–59)	n.a.	41 (21–74)	n.d.	n.d.
NMO-IgG (IHC)									
Frequência (%)	30/51 (58,8)	21/32 (65,6)	8/12 (66,7)	0/5 (0)	1/2 (50)	1/100 (1)	1/66 (1,5)	0/23 (0)	0/11 (0)
RV+ (IC 95%)	58,82 (8,26–419)	65,63 (10,03–430)	66,67 (9,1–488)	-	-	-	-	-	-
RV- (IC 95%)	0,42 (0,3–0,58)	0,35 (0,21–0,54)	0,34 (0,15–0,75)	-	-	-	-	-	-
AQP4-Ac (rIFA)									
Frequência (%)	36/51 (70,6)	25/32 (78,1)	8/12 (66,7)	1/5 (20)	2/2 (100)	0/100 (0)	0/66 (0)	0/23 (0)	0/11 (0)
RV+ (IC 95%)	∞ (n.a.)	∞ (n.a.)	∞ (n.a.)	-	-	-	-	-	-
RV- (IC 95%)	0,29 (0,19–0,45)	0,22 (0,11–0,42)	0,33 (0,15–0,74)	-	-	-	-	-	-

Fonte: Jarius 2010 (34). AQP4-Ac: anticorpo anti-aquaporina-4; CS: controles saudáveis; EM: esclerose múltipla; IHC: imuno-histoquímica; MTLE: mielite transversa longitudinalmente extensa; n.a.: não aplicável; n.d.: não determinado; NMO: neuromielite óptica; NO/MTNE: neurite óptica com mielite transversa não-extensa; ODN: outras doenças neurológicas; rIFA: ensaio de imunofluorescência recombinante; rNO: neurite óptica recorrente; RV: razão de verossimilhança negativa; RV+: razão de verossimilhança positiva.

Wu 2011 (35)

Estudo também inserido na meta-análise de Ruiz-Gaviria 2015.

Um estudo de biologia molecular e análise clínica prospectiva foi conduzido no Hospital Xuanwu da *Capital Medical University*, Pequim, China, para testar um ensaio de imunofluorescência em CBA semiquantitativo e o ELISA quantitativo e analisar retrospectivamente as características clínicas relacionadas aos anticorpos anti-AQP4 em pacientes com NMO.

Cento e trinta e quatro pacientes foram recrutados do centro clínico para EM do Hospital Xuanwu de maio de 2004 a fevereiro de 2010, incluindo 68 indivíduos de um ensaio clínico de fase II para interferon 1 β entre maio de 2005 e maio de 2007. EM clinicamente definida foi diagnosticada de acordo com os critérios de 2005 revisados de McDonald. NMO foi diagnosticado se prenchesse todos os itens dos critérios de NMO de 2006, exceto para o status NMO-IgG. Pacientes com NO e mielite (abrangendo menos de três segmentos vertebrais) que preencheram quaisquer outros itens dos critérios de NMO de 2006, exceto o status NMO-IgG, foram registrados como tendo NMO atípica. MTA foi diagnosticada de acordo com as recomendações do grupo de trabalho do consórcio de mielite transversa. Lesões medulares longitudinalmente extensas (LMLE) foram definidas como lesões que se estendem por mais de três segmentos vertebrais na RNM. NO foi diagnosticada em pacientes que tiveram apenas um único episódio e não mostraram lesões cerebrais na RNM. Os resultados das imagens de RNM foram revisados por autores que desconheciam os resultados dos ensaios sorológicos. A gravidade clínica foi avaliada por EDSS.

Os 93 controles foram recrutados na comunidade de Pequim e excluídos se tivessem alguma doença neurológica.

Todas as amostras de sangue para análise foram coletadas durante um surto, previamente à utilização de interferon 1 β , corticosteroides ou imunossupressores e armazenadas a -80°C até o uso.

A CBA foi realizada utilizando células 293 de rim embrionário humano (HEK-293) transfetadas com AQP4. As amostras foram testadas com o examinador cego para a categoria clínica. O corte do título de anticorpo foi 1:4, e os soros positivos para anticorpos foram titulados em diluições seriadas de duas vezes para determinar a diluição máxima para coloração positiva.

O kit RSR AQP4 autoanticorpo ELISA foi utilizado para a determinação quantitativa de anticorpos anti-AQP4 em soro humano. Uma concentração de AQP4-Ac < 5,0 U/mL (unidades RSR arbitrárias) foi considerada negativa e $\geq 5,0$ U/mL foi considerada positiva. As amostras foram testadas com os examinadores cegos para a categoria clínica.

A consistência dos dois métodos foi analisada pelo teste Kappa e a relação entre os resultados pela análise de correlação de Spearman. As características clínicas, sorológicas e radiológicas foram analisadas com teste de Fisher, teste U de Mann-Whitney e análise de regressão linear múltipla com duração da doença como covariável. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

A coorte final foi composta por 134 pacientes, incluindo 34 com NMO, 12 com NMO atípica, 63 com EM, 12 com MTA e 13 com NO, além de 93 controles saudáveis. Suas características clínicas e de imagem estão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10. Comparação de características clínicas e de imagem entre os grupos.

	NMO	NMO atípica	EM	MTA	NO	CS	P-valor
n	34	12	63	12	13	93	-
Feminino, n (%)	29 (85)	11 (92)	39 (62 ^a)	9 (75)	8 (62)	8 (62)	0,016
Idade no início (média ± DP, anos)	34,0 ± 13,4	39,2 ± 8,5	35,0 ± 11,6	33,2 ± 11,6	29,6 ± 16,5	39,8 ± 13,8	0,192
Envolvimento do nervo óptico, n (%)	34 (100)	12 (100)	28 (44,4 ^a)	0	13 (100)	0	0,000
Envolvimento de membro, n (%)	27 (79)	9 (75)	32 (51 ^a)	8 (67)	0	0	0,006
EDSS (média ± DP, escore)	4,4 ± 1,5	3,1 ± 1,5	2,7 ± 1,3 ^a	2,3 ± 0,8	0	0	0,000
AQP4-Ac +, n (%)	26 (76)	8 (67)	4 (6 ^a)	3 (25)	3 (23)	0	0,014
Achados de RNM							
Lesões cerebrais de Barkhof, n (%)	0	0	59 (94 ^a)	0	0	0	0,000
Medula espinhal, n (%)	34 (100)	12 (100)	38 (60 ^a)	12 (100)	0	0	0,000
Número de segmentos vertebrais (média ± DP)	6,0 ± 2,7	1,6 ± 0,5	1,8 ± 2,4 ^a	5,6 ± 3,9	0	0	0,000
LMLE, n (%)	34 (100)	0	8 (13 ^a)	8 (67)	0	0	0,000

Fonte: Wu 2011 (35). ^a: p<0,05 vs. NMO. Os títulos de anticorpos anti-AQP4 foram detectados por ensaio imunossorvente ligado a enzima. NMO: neuromielite óptica; EM: esclerose múltipla; MTA: mielite transversa aguda; NO: neurite óptica; CS: controles saudáveis; DP: desvio padrão; EDSS: Escala Expandida do Estado de Incapacidade, do inglês, *Expanded Disability Status Scale* (quanto maior a pontuação, mais grave a doença); AQP4-Ac: anticorpo anti-aquaporina-4; RNM: ressonância nuclear magnética; LMLE: Lesões medulares longitudinalmente extensas. NMO atípico: pacientes com neurite óptica e mielite curta. As características clínicas, sorológicas e radiológicas foram analisadas por meio do teste de Fisher, teste U de Mann-Whitney e regressão linear múltipla tendo como covariável o tempo de doença.

Inicialmente, 66 amostras (27 casos com NMO, 26 com EM, 13 com NO) foram testadas para AQP4-Ac por CBA. Vinte e três casos de NMO (85,2%) apresentaram resultado positivo (níveis variando de 1: 4 a 1:1024), enquanto cinco casos de NO (38,5%) foram positivos (níveis variando de 1:20 a 1:320). Todos os 26 casos de EM foram negativos, gerando 100% de especificidade para o diagnóstico diferencial de NMO e EM.

Quando testados por ELISA, 17 dos casos de NMO (63%), três de NO (23,1%) e dois dos casos de EM (7,6%) apresentaram resultado positivo com uma concentração variando de 7,1-160 U/mL (média $85,6 \pm 64,6$ U/mL), levando a uma especificidade de 95,8% para o diagnóstico diferencial de NMO e EM.

Não houve diferença nas taxas de soropositividade da detecção de AQP4-Ac entre o ELISA e o CBA ($\chi^2 = 3,471$, $p=0,062$). Houve boa consistência na detecção de AQP4-Ac em pacientes NMO ($Kappa = 0,681$; $p=0,00$), e uma correlação significativa ($r = 0,689$, $p=0,000$) foi encontrada entre os resultados dos dois métodos.

Quanto à sensibilidade dos testes para detectarem AQP4-Ac, os resultados mostraram 76,5% para ELISA e 85,2% para CBA.

Foram ainda analisados mais 68 pacientes e 93 controles por ELISA, elevando o número total de amostras para 227. AQP4-Ac sérico elevado foi encontrado em 76,5% dos pacientes com NMO, 66,7% com NMO atípico, 25% com MTA, 23,1% com NO e 4% dos pacientes com EM, com concentrações variando de 6,2-160 U/mL (média de $92,4 \pm 62,6$ U/mL). Nenhum dos controles foi positivo, levando a uma especificidade de 97,4% para o diagnóstico de NMO entre controles saudáveis e pacientes com EM.

Entre os casos de NMO (incluindo os casos atípicos de NMO), apenas 33% (2/6) dos homens foram positivos para AQP4-Ac, enquanto 80% (32/40) das mulheres foram positivas ($p=0,033$). Nenhuma correlação significativa foi determinada entre a concentração de AQP4-Ac e idade de início ($r = 0,049$; $p=0,784$) ou duração da doença ($r = 0,316$; $p = 0,069$). Oito dos 34 pacientes com NMO típicos (23,5%) foram negativos para AQP4-Ac por ELISA. Pontuações altas de EDSS foram mais frequentes em pacientes NMO positivos para AQP4-Ac ($n = 26$) do que naqueles negativos para AQP4-Ac ($n = 8$) ($t = 2,28$, $p = 0,029$). A regressão linear multivariada revelou uma correlação positiva entre a concentração sérica de AQP4-Ac e o escore EDSS ($r = 0,269$; $p=0,003$). Houve também uma correlação positiva entre os escores EDSS e o número de segmentos lesionados da medula na RNM ($r = 0,359$, $p=0,014$). No entanto, nenhuma

correlação foi encontrada entre a concentração de AQP4-Ac e o número de segmentos com lesões medulares ($p=0,686$).

Kim 2012 (36)

Estudo também inserido na meta-análise de Ruiz-Gaviria 2015.

O estudo teve como objetivo avaliar anticorpos anti-AQP4 utilizando imunofluorescência indireta em CBA (IIF-AQP4), imunofluorescência indireta baseada em tecidos (IIF-tecidual) e ELISA, além de comparar os resultados de acordo com as características clínicas da doença neurológica em questão.

Foram incluídas 124 amostras consecutivas de soros nos quais foi solicitada a detecção de IgG para NMO. As amostras eram de 54 pacientes com DENMO, incluindo NMO ($n = 9$), NO ($n = 32$) e mielite transversa (MT; $n = 13$); 10 pacientes com EM, incluindo dois pacientes com EM óptico-espinal e 60 pacientes com outras doenças neurológicas. Todos foram admitidos e acompanhados no hospital entre 2008 e 2011.

Os prontuários dos 124 pacientes foram revisados para coletar informações sobre sexo, idade, manifestações clínicas, diagnóstico clinicamente definido, achados laboratoriais e resultados de RNM cerebral e/ou medula espinhal. NMO e EM foram diagnosticados com base nos critérios revisados de Wingerchuk, excluindo os critérios NMO-IgG, e McDonald, respectivamente. Para detectar NMO-IgG, todos os soros foram inicialmente testados por ensaios IFF-AQP4 e IIF-tecidual e, em seguida, armazenados a -80°C até serem testados por ELISA-AQP4.

IIF-tecidual e IIF-AQP4 foram realizados com o kit *Neurology Mosaics* (EUROIMMUN, AG, Luebeck, Alemanha). IIF-tecido usa seções de tecido de cerebelo de camundongo para detectar NMO-IgG. IIF-AQP4 usa células HEK293 transfetadas com AQP4 humana completa recombinante para detectar anticorpos anti-AQP4 e células HEK293 de tipo selvagem como um substrato de controle. Foram aplicados 25 μL de soro diluído 1:10 em lâminas nas quais tecido de camundongo ou células HEK foram anexadas. Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente, as lâminas foram lavadas e adicionada globulina anti-humana marcada com fluoresceína. A fluorescência foi observada com um microscópio após 30 minutos de incubação por dois avaliadores independentes.

Os resultados positivos e negativos de IIF-tecidual entre dois avaliadores foram concordantes. Os avaliadores desconheciam o diagnóstico clínico e pontuaram os resultados da IIF em

comparação direta com os soros controle. A positividade NMO-IgG era detectada quando os pequenos vasos cerebrais, pia, subpia e espaço de Virchow-Robin eram corados no teste IIF-tecido ou quando o citoplasma de células transfetadas com AQP4 mostrava uma coloração de fluorescência granular plana, lisa e de arquivo padrão no teste IIF-AQP4. A intensidade de fluorescência positiva foi graduada em uma escala de 4 pontos (+1 a +4).

Os autoanticorpos anti-AQP4 foram detectados usando um kit ELISA de autoanticorpo AQP4 (DLD Diagnostika GmbH, Hamburgo, Alemanha) que usa AQP4 humana recombinante produzida em um sistema de expressão de célula de baculovírus/inseto. Foram adicionados 50µL de soro e AQP4-biotina reconstituída aos poços da placa ELISA revestidos com antígeno AQP4 e incubados por 2 horas em temperatura ambiente com agitação. Após a lavagem, 100 µL de estreptavidina peroxidase foram adicionados a cada poço e a placa incubada por 20 minutos em temperatura ambiente. Após incubação com 100 µL de substrato TMB no escuro, a absorbância óptica de cada poço foi medida a 450 nm usando um leitor de ELISA. As concentrações do anticorpo AQP4 foram determinadas por uma curva de calibração em que 5 U/mL foi considerado o valor de corte.

Para as análises estatísticas, os resultados foram comparados por teste qui-quadrado para dados categóricos e teste U de Mann-Whitney para variáveis não normais. A concordância entre os resultados do NMO-IgG foi avaliada de acordo com os coeficientes Kappa (0,001 a 0,2 indicavam concordância leve, 0,201 a 0,4 concordância regular, 0,401 a 0,6 concordância moderada, 0,601 a 0,8 concordância substancial e 0,801 a 0,999 mostravam concordância excelente). Todos os valores de p foram bicaudais e aqueles <0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

As taxas de soropositividade para NMO-IgG determinadas por IIF-tecidual, IIF-AQP4 e ELISA-AQP4 estão apresentadas na Tabela 11 de acordo com os diagnósticos clínicos. Dos 124 soros, anticorpos NMO-IgG foram detectados em 19 amostras (15,3%) e eram específicos para DENMO ($p=0,017$). Resultados NMO-IgG-positivos de pelo menos um ensaio foram obtidos para 55,6% (5/9) dos pacientes com NMO clinicamente definida e 24,1% (13/54) dos pacientes com DENMO. Dos 13 pacientes com MT, dois NMO-IgG positivos apresentaram recaídas da MT.

Tabela 11. Taxas de soropositividade para anticorpos NMO-IgG e AQP4 dos três métodos para pacientes com diferentes grupos de doenças.

Grupos de doenças	N	NMO-IgG (+) ^a	IIF-tecidual (+)	IIF-AQP4 (+)	ELISA-AQP4 (+)
NMO	9	5 (55,6%)	4 (44,4%)	5 (55,6%)	5 (55,6%)
NO	32	6 (18,8%)	2 (6,3%)	0 (0,0%)	4 (12,5%)
MT	13	2 (15,4%)	1 (7,7%)	1 (7,7%)	2 (15,4%)
DENMO	54	13 (24,1%)	7 (13,0%)	6 (11,1%)	11 (20,4%)
EM	10	3 (30,0%)	1 (10,0%)	1 (10,0%)	3 (30,0%)
(EM óptico-espinal)	(2)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)
Outras doenças neurológicas	60	3 (5,0%)	1 (1,7%)	2 (3,3%)	0 (0,0%)
Controles	70	6 (8,6%)	2 (2,9%)	3 (4,3%)	3 (4,3%)

Fonte: Kim 2012 (36). ^a Resultado de NMO-IgG positivo para pelo menos um ensaio. AQP4: anti-aquaporina-4; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; EM: esclerose múltipla; IIF: imunofluorescência indireta; MT: mielite transversa; NMO: neuromielite óptica; NO: neurite óptica.

Ao comparar as taxas de soropositividade determinadas pelos diferentes métodos, apenas seis (31,6%) dos 19 soros foram identificados como positivos pelos três ensaios. Dos nove pacientes com NMO, quatro (44,4%) foram soropositivos de acordo com IIF-tecidual *versus* cinco pacientes (55,6%) que foram positivos com base em IIF-AQP e ELISA-AQP4 ($p=1,00$). Embora não estatisticamente significativo ($p>0,05$), os pacientes com DENMO mostraram taxa mais alta de soropositividade de acordo com o ELISA-AQP4 (20,4%, 11/54) do que aqueles determinados como positivos pelo IIF-tecidual (13,0%, 7 /54) ou IIF-AQP4 (11,1%, 5/54).

As especificidades para pacientes com NMO ou DENMO foram 87,0% a 97,1% para os três ensaios, sendo 87,0% e 97,1% pelo IIF-tecidual, 92,2% e 95,7% pelo IIF-AQP4 e 92,2% e 95,7% pelo ELISA-AQP4, respectivamente. No entanto, as sensibilidades e especificidades dos três métodos não foram significativamente diferentes para nenhum grupo de pacientes neste estudo.

A Tabela 12 mostra as co-negatividades, co-positividades e concordância dos resultados entre os três ensaios. O IIF-tecidual apresentou concordância de 95,2% ($\kappa=0,641$) e 91,1% ($\kappa=0,475$) com IIF-AQP4 e ELISA-AQP4, respectivamente. Embora o ensaio IIF-tecidual tenha cerca de 97% de co-negatividade com os outros dois métodos de detecção de anticorpos AQP4, as co-positividades foram inferiores a 67%. Os três soros positivos de acordo com

IIF-tecidual sozinho eram de dois pacientes com NO e um paciente com doença de Parkinson (Tabela 12). Uma amostra de soro de um paciente NMO foi positiva de acordo com IIF-AQP4 e ELISA-AQP4, mas foi negativa com base no ensaio IIF-tecidual.

Os resultados de IIF-AQP4 e ELISA-AQP4 mostraram concordância de 92,7% (kappa: 0,571) para a detecção de autoanticorpos AQP4; as taxas de co-negatividade e co-positividade foram de 77,4% e 75,0%, respectivamente. As duas amostras de soro IIFAQP4(+)/ELISA-AQP4(-) foram fracamente positivas (intensidade de fluorescência 1+) no IIF-AQP4 e foram obtidas de pacientes com ODN. As sete amostras de soro IIF-AQP4(-)/ELISA-AQP4(+) eram de cinco pacientes com DENMO (quatro com NO e um com MT) e dois pacientes com EM óptico-espinhal. Dos 14 soros ELISA-AQP4(+), sete também foram positivos no ensaio IIF-AQP4. Cinco (71,4%) dos sete soros ELISA-AQP4(+)/IIFAQP4(+) eram de pacientes com NMO, enquanto nenhuma das sete amostras ELISA-AQP4(+)/IIF-AQP4(-) eram de pacientes com NMO ($p=0,01$) (Tabela 13).

Tabela 12. Taxas de concordância para a detecção de NMO-IgG em 124 soros entre IIF-tecidual, IIF-AQP4 e ELISA-AQP4.

Métodos	Co-positividade	Co-negatividade	% concordância (coeficiente kappa)
IIF-tecidual vs. IIF-AQP4	97,4	66,7	95,2 (0,641)
IIF-tecidual vs. ELISA-AQP4	97,3	42,9	91,1 (0,475)
IIF-AQP4 vs. ELISA-AQP4	77,4	75,0	92,7 (0,571)

Fonte: Kim 2012 (36). AQP4: anti-aquaporina-4; IIF: imunofluorescência indireta.

Tabela 13. Diagnóstico clínico de acordo com os resultados dos três métodos de detecção de NMO-IgG.

IIF-tecidual	IIF-AQP4	ELISA-AQP4	N	Diagnóstico clínico (n)
-	-	-	105	NMO (4), NO (26), MT (11), EM (7), ODN (57)
+	-	-	3	NO (2), ODN (1)
-	+	-	2	ODN (2)
-	-	+	7	NO (4), MT (1), EM óptico-espinhal (2)

-	+	+	1	NMO (1)
+	+	+	6	NMO (4), MT (1), EM (1)

Fonte: Kim 2012 (36). AQP4: anti-aquaporina-4; EM: esclerose múltipla; IIF: imunofluorescência indireta; MT: mielite transversa; NMO: neuromielite óptica; NO: neurite óptica; ODN: outras doenças neurológicas.

Ao comparar as características clínicas e laboratoriais dos pacientes ELISA-AQP4 soronegativos e soropositivos, a positividade do ELISA-AQP4 foi associada a indivíduos do sexo feminino, NMO, DENMO, NO, MT e LMLE (Tabela 14). No entanto, entre 14 pacientes ELISA-AQP4(+), não houve diferença nas características demográficas e clínicas (sexo, idade média de início, NO, MT, banda oligoclonal do LCR, outra doença autoimune ou autoanticorpos) entre os sete pacientes que eram soropositivos e sete soronegativos com base no ensaio IIF-AQP4.

O estudo concluiu que há potencial utilidade clínica da detecção de NMO-IgG para diferenciar pacientes com NMO e DENMO de indivíduos com EM ou outras doenças neurológicas.

Tabela 14. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes soronegativos e soropositivos para anticorpos AQP4 com base no ELISA-AQP4.

	ELISA-AQP4 (-) (n = 110)	ELISA-AQP4 (+) (n = 14)	p-valor
Mulheres, n (%)	54 (49,1%) ^a	13 (92,9%)	0,002
Idade (média ± DP)	49 ± 17	44 ± 14	ns
NMO, n (%)	4 (3,6%)	5 (35,7%)	<0,001
DENMO, n (%)	43 (39,1%)	11 (78,6%)	0,008
EM, n (%)	7 (6,4%)	3 (21,4%)	ns
EM óptico-espinal, n (%)	0 (0%)	2 (100%)	0,012
NO, n (%)	34 (30,9%)	11 (78,6%)	0,001
MT, n (%)	20 (18,2%)	8 (57,1%)	0,001
LMLE, n (%)	6 (5,5%)	6 (42,9%)	<0,001
Lesão de RNM cerebral compatível com desmielinização inflamatória	11 (0,1%)	0 (0%)	ns
Banda oligoclonal do líquor	5 (4,5%)	0 (0%)	ns
Pacientes com outros autoanticorpos	19 (17,3%)	5 (35,7%)	ns

Fonte: Kim 2012 (36). AQP4: anti-aquaporina-4; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; DP: desvio padrão; EM: esclerose múltipla; LMLE: lesões medulares longitudinalmente extensas; MT: mielite transversa; NMO: neuromielite óptica; NO: neurite óptica; ns: não significativo; RNM: ressonância nuclear magnética.

Kang 2012 (37)

Um estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o desempenho diagnóstico de um ensaio de imunofluorescência indireta em CBA (CIIFA) em comparação com o ensaio de imunoprecipitação com fluorescência (FIPA) para a detecção de anticorpos AQP4 e avaliar a utilidade de CIIFA para o diagnóstico de NMO e NMO de alto risco na prática clínica, através de um kit CIIFA disponível comercialmente.

Foram incluídos 36 pacientes para a comparação inicial e outros 101 pacientes para os quais o teste AQP4 foi solicitado na clínica de neurologia entre junho de 2010 e março de 2011 para investigar o desempenho do teste de anticorpos AQP4 baseado em CIIFA. Para fins de diagnóstico, um estudo sistêmico incluindo características demográficas, manifestações neurológicas, achados sorológicos e exames de RNM do cérebro e da medula espinhal foram realizados em todos os pacientes. Eles foram inicialmente avaliados clinicamente, sem se considerar seu *status* de testes para NMO-IgG ou AQP4. O diagnóstico clínico de NMO, NO e mielite com lesões medulares estendendo-se por 3 ou mais segmentos vertebrais por RNM foi feito de acordo com os critérios diagnósticos revisados propostos por Wingerchuk em 2006, com exceção do status do ensaio NMO-IgG ou AQP4. O diagnóstico de NMO de alto risco incluiu EM óptico-espinhal asiática, MTLE (monofásica ou recidivante), NO bilateral simultânea ou recorrente isolada (bNO/rNO) e NO ou mielite/MTLE associada a doença autoimune sistêmica ou a lesões cerebrais típicas de NMO. Além disso, vários distúrbios neurológicos foram incluídos quando eram necessários diagnósticos diferenciais de DENMO, por exemplo, EM, encefalomielite aguda disseminada (ADEM) e síndromes clínicas isoladas, como síndrome do tronco cerebral, mielite aguda ou NO que não atendem aos critérios diagnósticos de NMO de alto risco.

No estudo de comparação, 14 pacientes com NMO, 11 pacientes com DENMO (6 MTLE, 3 rNO e 1 EM óptico-espinhal), 7 pacientes com EM e 4 pacientes com outras doenças neurológicas foram incluídos. Quarenta e seis amostras de soro de 36 pacientes foram coletadas no momento do diagnóstico inicial e/ou durante o tratamento.

As amostras foram armazenadas a -70°C para o estudo de comparação. Uma alíquota de cada paciente foi enviada ao Departamento de Neurologia Clínica da Universidade de Oxford,

Oxford, Reino Unido, para ser testada por FIPA e CIIFA; outra alíquota foi submetida a CIIFA no Samsung Medical Center. As amostras de soro de 101 pacientes inscritos consecutivamente para a investigação prospectiva foram analisadas quanto à presença de anticorpos AQP4 por CIIFA no Samsung Medical Center. Os diagnósticos dos 101 pacientes incluíram 6 NMO, 24 MTLE, 11 bNO/rNO, 31 síndromes clínicas isoladas (17 síndromes do tronco cerebral, 10 mielites, 4 NO monofásicas), 7 EM, 6 ADEM, 2 doenças neurológicas autoimunes e 14 diversas outras doenças neurológicas.

O CIIFA foi realizado com o kit comercialmente disponível da EUROIMMUN AG no Samsung Medical Center (CIIFA A). Os resultados foram comparados com os medidos no laboratório da Universidade de Oxford (CIIFA B). O FIPA foi realizado de acordo com o protocolo interno.

A sensibilidade e especificidade da detecção de autoanticorpos por cada ensaio, individualmente e em combinação, foram determinadas por referência aos diagnósticos clínicos. A positividade e os níveis de anticorpos entre os grupos foram analisados pelo teste exato de Fisher e pelo teste de Mann-Whitney, respectivamente. O teste de McNemar foi utilizado para analisar a concordância entre os resultados dos 2 CIIFA e entre CIIFA e FIPA, e também para comparar a significância das diferenças de sensibilidade e especificidade entre CIIFA e FIPA. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Comparação de FIPA e CIIFA para a detecção de anticorpos anti-AQP4

Os ensaios de detecção de anticorpos AQP4 foram realizados em 46 amostras de soro de 36 pacientes através de FIPA e 2 métodos CIIFA diferentes, o primeiro disponível comercialmente (CIIFA A) e o outro desenvolvido internamente (CIIFA B). A taxa de concordância entre os 2 métodos CIIFA foi de 76% (coeficiente Kappa (κ): 0,6522; IC 95%: 0,4331-0,8713; $p=0,2891$) e entre CIIFA A e FIPA B foi de 89% ($\kappa=0,781$; IC 95%: 0,5997-0,9623; $p=0,3750$). Houve 11 resultados discordantes entre CIIFA A e CIIFA B, onde apenas 3 eram verdadeiras discrepâncias e os outros 8 resultaram em discrepâncias principalmente devido à incapacidade do CIIFA B de fornecer dados sobre o padrão de fluorescência conclusivo, pois a preparação interna do substrato celular era de qualidade variável. Os resultados de cada teste estão resumidos na Tabela 15.

Tabela 15. Resultados dos ensaios de AQP4 em 46 amostras de soro.

	NMO (N=20)	NMO de alto risco* (N=14)	EM (N=8)	ODN (N=4)
CIIFA A†, N. de positivos (%)‡	17 (85)	9 (64)	1 (13)	0 (0)
CIIFA B† (%), N. de positivos (%)‡	15 (75)	5 (36)	1 (13)	1 (25)
FIPA B (%), N. de positivos (%)	17 (85)	7 (50)	0 (0)	0 (0)
Concordância entre CIIFA A vs. CIIFA B (%)‡	16/20 (80)	10/14 (71)	7/8 (88)	2/4 (50)
Concordância entre CIIFA A vs. FIPA B (%)	18/20 (90)	12/14 (86)	7/8 (88)	4/4 (100)

Fonte: Kang 2012 (37). *NMO de alto risco inclui neurite óptica bilateral ou recorrente e mielite transversal extensa longitudinal; †A e B representam as 2 instituições onde cada um dos testes foi realizado; ‡Entre 11 resultados discordantes entre CIIFA A e CIIFA B, 8 dos resultados realizados na instituição B usando o CIIFA interno não puderam fornecer um padrão de fluorescência conclusivo devido à má qualidade da preparação do substrato celular. EM: esclerose múltipla; NMO: neuromielite óptica; ODN: outras doenças neurológicas; AQP4: aquaporina-4; CIIFA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em células; FIPA: ensaio de imunoprecipitação com fluorescência.

As sensibilidades de CIIFA com o kit comercial (CIIFA A) e FIPA nesta comparação foram de 86% e 79% em pacientes com NMO, e 55% e 36% em pacientes com NMO de alto risco, respectivamente. A combinação de CIIFA e FIPA não aumentou a sensibilidade de detecção da presença de AQP4. Nem a sensibilidade nem a especificidade diferiram significativamente nos 2 ensaios (teste de McNemar; Tabela 15 e Tabela 16). O título semiquantitativo de CIIFA apresentou boa correlação com a quantidade arbitrária (FU) de FIPA ($r=0,66$; Figura 4). Os títulos de AQP4 medidos por CIIFA e FIPA foram elevados em pacientes com NMO em comparação com NMO de alto risco (1:240 vs. 1:180 e 8.390 FU vs. 4.059 FU, respectivamente).

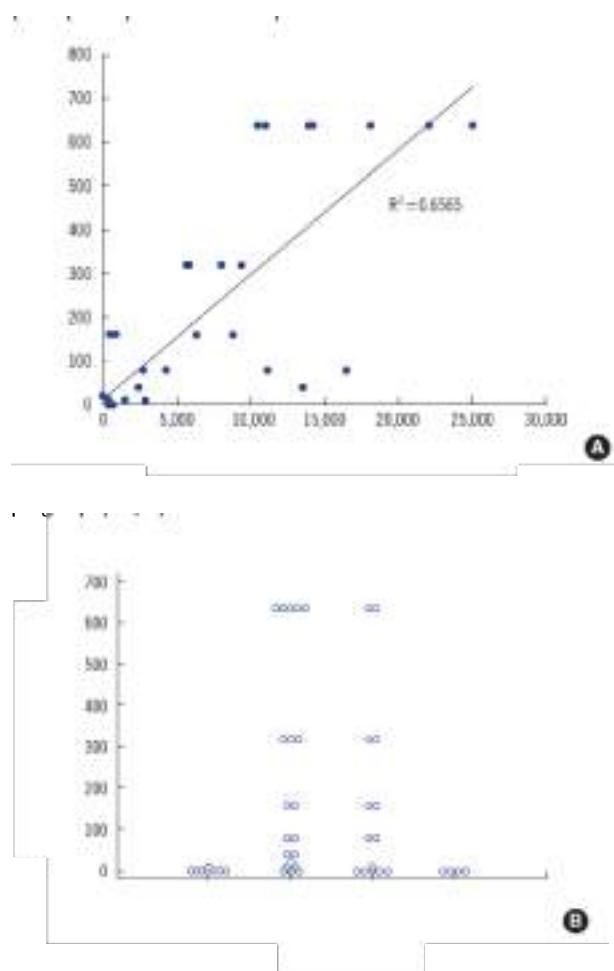
Tabela 16. Sensibilidade e especificidade de CIIFA e FIPA para o diagnóstico de NMO e NMO de alto risco.

	Sensibilidade estimada, % (IC 95%)			P-valor, CIIPA vs. FIPA	Especificidade estimada, % (IC 95%)			P-valor, CIIPA vs. FIPA
	CIIFA	FIPA	CIIFA + FIPA*		CIIFA	FIPA	CIIFA + FIPA*	
NMO (N=14)	86	79	86	1,0	91	100	100	1,0

NMO de alto risco (N=11)	55	36	55	0,5	91	100	100	1,0
---------------------------------	----	----	----	-----	----	-----	-----	-----

Fonte: Kang 2012 (37). *CIIFA+FIPA inclui pacientes positivos para CIIFA A ou FIPA. NMO: neuromielite óptica; AQP4: aquaporina-4; CIIFA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em células; FIPA: ensaio de imunoprecipitação com fluorescência; IC: intervalo de confiança.

Figura 4. Distribuição dos valores de anticorpos AQP4 em 46 amostras. (A) Correlação entre resultados do título semiquantitativo CIIFA e o valor quantitativo derivado do FIPA. (B) Títulos de anticorpo AQP4 medidos por CIIFA em soros de pacientes com diversas doenças.



Fonte: Kang 2012 (37). EM: esclerose múltipla; NMO: neuromielite óptica; ODN: outras doenças neurológicas; AQP4: aquaporina-4; CIIFA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em células; FIPA: ensaio de imunoprecipitação com fluorescência.

Frequência de anticorpos AQP4 detectados por CIIFA em populações de pacientes

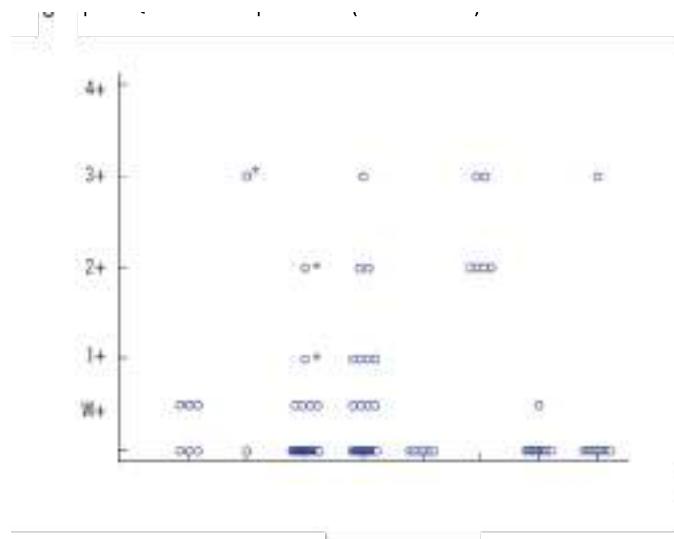
Para a detecção rotineira de anticorpos AQP4 como prática laboratorial clínica, foi utilizado o CIIFA disponível comercialmente. Anticorpos AQP4 foram detectados em 17 de 101 pacientes consecutivos nos quais o teste AQP4 foi solicitado na clínica de neurologia durante um período de 10 meses. As características clínicas e a presença de outros autoanticorpos estão resumidas na Tabela 17. Os pacientes com NMO positivos para anticorpos AQP4 eram predominantemente do sexo feminino (homens:mulheres = 1:5) e estavam associados a uma duração mais longa da doença do que outros pacientes. Autoanticorpos como anticorpos antinucleares (ANA), anticorpos anti-Ro (SSA) e anticorpos anti-La (SSB) foram encontrados em 1 (17%) paciente NMO. Anticorpos anti-AQP4 estavam presentes em 6/6 (100%) pacientes com NMO, em 7/24 (29%) pacientes com MTLE e 1/11 (9%) pacientes com rNO/bNO, mas apenas 3/65 (4,6%) em pacientes do grupo controle (2/31 em pacientes com síndrome clínica isolada, 1/2 em pacientes com doenças neurológicas autoimunes e nenhum em 51 com ODN desmielinizantes, como EM, ADEM e outras [teste qui-quadrado, $p<0,0001$; Figura 5]). Esses resultados correspondem a uma sensibilidade de 100% e especificidade de 95% para o teste em NMO, e a 39% e 94%, respectivamente, se NMO e pacientes NMO de alto risco (como MTLE e rNO/bNO forem considerados em conjunto). As intensidades de fluorescência do CIIFA em pacientes NMO foram significativamente maiores do que nos outros grupos de doenças (teste de Mann-Whitney, NMO vs. DENMO, $p = 0,0026$; NMO vs. ODN, $p<0,0001$).

Tabela 17. Características dos pacientes e soroprevalência para anticorpos anti-AQP4.

	NMO	rNO/bNO	MTLE	SCI	ADEM	EM	DNAI	ODN
Número de pacientes	6	11	24	31	6	7	2	14
Homens:mulheres	1:5	6:5	11:12	17:14	5:1	1:5	0:2	6:8
Idade (intervalo)	36 (27-55)	30 (24-67)	46 (17-71)	36 (19-70)	40 (21-70)	31 (22-44)	54 (48-60)	53 (33-62)
Duração da doença na amostra (intervalo)	9 (8-11)	2 (1-8)	1 (0,5-11)	1 (1-2)	2 (0,5-4)	4 (2-6)	4 (1-6)	-
Lesões medulares, número de segmentos (intervalo)	6 (2-8)	-	4 (3-10)	2 (1-2,5)	-	1 (1)	-	-
Número de surtos (intervalo)	2 (1-4)	2 (1-5)	2 (1-4)	1 (1-4)	-	3 (1-6)	1 (1-2)	-
ANA/SSA/SSB (%)	1 (17)	1 (9)	10 (42)	1 (3)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	1 (7)
Frequência de AQP4-Ac (%)*	6 (100)	1 (9)	7 (29)	2 (7)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)

Fonte: Kang 2012 (37). Os valores são descritos como medianas, a menos que especificado de outra forma. *Incluído apenas o resultado que teve intensidade maior que 1+ pela CIIFA. NMO: neuromielite óptica; rNO/bNO: neurite óptica recorrente/bilateral; MTLE: mielite transversal longitudinalmente extensa; ADEM: encefalomielite aguda disseminada; EM: esclerose múltipla; DNAI: doenças neurológicas autoimunes; SCI: síndrome clínica isolada; ODN: outras doenças neurológicas; ANA: anticorpos antinucleares; SSA: anticorpos anti-Ro; SSB: anticorpos anti-La; AQP4-Ac: anticorpo anti-aquaporina-4.

Figura 5. Intensidade de fluorescência dos anticorpos AQP4 medida por CIIFA em soros de 101 pacientes com diversas doenças.



Fonte: Kang 2012 (37). Havia apenas 3 pacientes positivos para anticorpo AQP4 (*) entre pacientes não NMO e não NMO de alto risco. A intensidade positiva fraca não foi considerada um resultado positivo significativo. CIIFA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em células; ADEM: encefalomielite aguda disseminada; DNAI: doenças neurológicas autoimunes; SCI: síndrome clínica isolada; MTLE: mielite transversal longitudinalmente extensa; EM: esclerose múltipla; NMO: neuromielite óptica; ODN: outras doenças neurológicas; rNO: neurite óptica recorrente; AQP4: aquaporina-4.

O estudo concluiu que a detecção de anticorpos AQP4 por CIIFA fornece informações de diagnóstico sensíveis e altamente específicas para pacientes NMO e NMO de alto risco, que podem ser utilizados para diferenciar essas condições de outras doenças desmielinizantes do sistema nervoso central.

Isobe 2012 (38)

O estudo foi conduzido para avaliar o desenvolvimento de um ensaio de citometria de fluxo (FCMA) quantitativo para análises específicas de subclasses de anticorpos anti-AQP4 IgG. O método ELISA foi utilizado como ponte para um estudo longitudinal sobre níveis de anticorpos anti-AQP4. Foram comparados quantitativamente os métodos de ensaio de imunofluorescência (IFA) baseado em células, FCMA e ELISA e foi avaliada a relevância clínica da titulação e de subclasse IgG de anticorpos anti-AQP4 na NMO.

Soros de 142 pacientes com EM, 29 com NMO, 19 com mielite recorrente e/ou LMEL, 86 com outras doenças neurológicas e 28 controles saudáveis foram estudados. Todos os pacientes foram examinados no Departamento de Neurologia do Hospital Universitário de Kyushu, Japão, entre abril de 1994 e março de 2010.

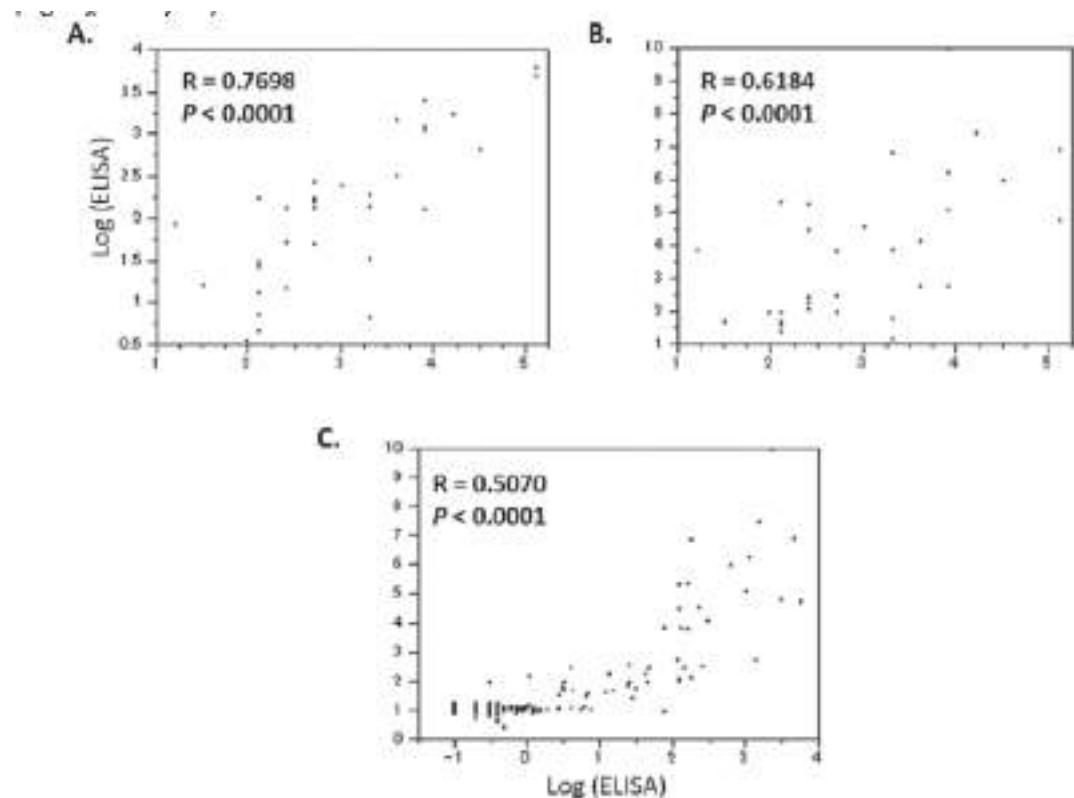
Para confirmar a especificidade do ELISA para anticorpos anti-AQP4, também foram avaliados 41 casos de ODN e 138 CHs por ELISA somente. Além disso, amostras de nove pacientes cujos soros foram positivos para anticorpos anti-AQP4 e dos quais foram coletadas amostras duas ou mais vezes durante surto ou remissão, conforme definido abaixo, também foram incluídas para estudar a relação entre os valores de ELISA e o estágio da doença. Para comparar os títulos de ELISA e o estágio da doença, foram utilizadas as primeiras amostras de sangue coletadas após o início do surto sempre que várias amostras eram coletadas durante uma fase de surto.

Todos os soros da fase de surto foram colhidos antes da administração de imunoterapias, dentro de um mês após o início do surto. Os soros de pacientes na fase de remissão foram coletados pelo menos 30 dias após o surto anterior e pelo menos 100 dias antes de qualquer surto subsequente com base em um relatório anterior de que os títulos de anticorpos anti-AQP4 aumentaram em 124 a 294% no período de 48 a 99 dias antes do surto. Dados demográficos dos pacientes com anticorpos anti-AQP4 foram coletados por revisão retrospectiva de prontuários.

As correlações entre os títulos de anticorpos anti-AQP4 determinados pelos três métodos diferentes e entre os níveis de anticorpos anti-AQP4 e os parâmetros clínicos foram analisadas pelo teste de correlação de Spearman. Para calcular a sensibilidade e a especificidade, foi considerado que todos os casos que preencheram os critérios diagnósticos de 1999 para NMO foram positivos para anticorpos anti-AQP4, enquanto todos os casos de outras doenças neurológicas, todos os controles e todos os casos de EM que não apresentaram MTLE foram negativos para os anticorpos. Para analisar as diferenças nas proporções de cada subclasse entre os participantes com anticorpo anti-AQP4 por FCMA, o teste do χ^2 ou teste de Fisher e a correção de Bonferroni-Dunn foram utilizados. Comparações de títulos de anticorpos anti-AQP4 por ELISA entre as fases de surto e remissão em amostras pareadas do mesmo paciente foram realizadas com o teste de postos sinalizados de Wilcoxon. Para analisar a associação entre o nível de anticorpo anti-AQP4 determinado por cada método e os parâmetros clínicos, o ajuste dos valores de p para comparações múltiplas foi feito pelo método de Benjamini-Hochberg. O limite para significância estatística foi estabelecido em $p < 0,05$ (bicaudal).

Foram observadas correlações positivas significativas entre os títulos de anticorpos anti-AQP4 determinados por IFA e os valores de ELISA, entre os títulos determinados por IFA e as razões FCMA-intensidade média da fluorescência (MFI) e entre os valores ELISA e as razões FCMA-MFI (Figura 6).

Figura 6. Correlações entre os títulos de anticorpos anti-AQP4 determinados por ensaio de imunofluorescência celular (IFA), ensaio por citometria de fluxo (FCMA) e ensaio imunoenzimático (ELISA).



Fonte: Isobe 2012 (38). (A) Correlação entre o logaritmo da titulação determinada por IFA e o logaritmo do valor ELISA. (B) Correlação entre o logaritmo da titulação determinada por IFA e a proporção da intensidade média de fluorescência (MFI). (C) Correlação entre o logaritmo do valor ELISA e a razão MFI.

Todas as amostras dos pacientes com outras doenças neurológicas e dos controles saudáveis foram negativas para anticorpos anti-AQP4 por IFA, FCMA e ELISA (Tabela 18). O ensaio ELISA foi estendido a mais 138 controles e 41 pacientes com outras doenças neurológicas, e nenhum foi positivo para anticorpos anti-AQP4. Em 95 casos de EM sem LMLE, seis casos foram positivos para o anticorpo por IFA e FCMA e sete casos foram positivos por ELISA. Finalmente,

50 casos (16,4%) de 304 participantes foram positivos para o anticorpo anti-AQP4 por pelo menos um método. Destes, 35 (70,0%) foram positivos por IFA, 46 (92,0%) foram positivos por FCMA e 41 (82,0%) foram positivos por ELISA. As sensibilidades dos três métodos foram as seguintes: 41,4% para IFA; 51,7% para FCMA; e 48,3% para ELISA. As especificidades foram 97,1%, 97,1% e 96,7%, respectivamente (Tabela 18).

Tabela 18. Soropositividade para anticorpos anti-AQP4 entre casos com doenças neurológicas e controles saudáveis.

		N	Idade (anos)	Sexo (M:F)	IFA+, n (%)	FCMA+, n (%)	ELISA+, n (%)
Grupo doença	NMO ^a	29	49,3±14,4	3:26	12 (41,4)	15 (51,7)	14 (48,3)
Grupo controle	EM sem LMLE ^b	95	38,3±11,1	33:62	6 (6,3)	6 (6,3)	7 (7,4)
	ODN inflamatórias ^c	57	46,0±17,7	22:35	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	ODN não inflamatórias ^d	29	54,9±14,6	14:15	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	CS	28	44,7±14,7	13:15	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Sensibilidade^e, % (IC 95%)	-	-	-	-	41,4 (25,5–59,3)	51,7 (34,4–68,6)	48,3 (31,4–65,6)
Especificidade^f, % (IC 95%)	-	-	-	-	97,1 (93,9–98,7)	97,1 (93,9–98,7)	96,7 (93,2–98,4)

Fonte: Isobe 2012 (38). ^aCasos que preencheram os critérios de 1999 para NMO. ^bEM sem LMLE foram diagnosticados de acordo com os critérios revisados de McDonald (2005) e os números de pacientes com EM remitente-recorrente, EM progressiva secundária e EM progressiva primária foram de 81, 7 e 7, respectivamente.

^cOs pacientes com ODN inflamatórias incluíram 13 com mielite atópica, oito com mielite parasitária, sete com síndrome de Sjögren (dois com neurite periférica, dois com mielite e neurite periférica, dois com mielite e um com ataxia cerebelar), seis com encefalite, seis com mielopatia associada ao HTLV-I, três com miastenia gravis, três com sarcoidose, dois com lúpus eritematoso sistêmico (encefalopatia), dois com doença de Behçet, dois com síndrome de Guillain-Barré e um com encefalomielite aguda disseminada, Churg-Strauss síndrome, meningite, síndrome paraneoplásica e mielite de causa desconhecida. ^dOs pacientes ODN não inflamatórias compreendiam 11 casos com degeneração espinocerebelar, cinco com esclerose lateral amiotrófica, três com atrofia de múltiplos sistemas, três com doença de Parkinson, dois com hidrocefalia de pressão normal e um com doença difusa de corpos de Lewy, epilepsia do lobo temporal, paraplegia espástica hereditária, mielopatia espondilótica cervical e infarto cerebral cardiológico. ^eA sensibilidade foi calculada assumindo que os casos com NMO possuem anticorpos anti-AQP4. ^fA especificidade foi calculada assumindo que CS, casos com ODN não inflamatórias ou ODN inflamatórias e casos de EM sem LMLE não possuem anticorpos anti-AQP4. AQP4: aquaporina-4; CS: controles saudáveis; EM: esclerose

múltipla; FCMA: ensaio de citometria de fluxo; IC: intervalo de confiança; IFA: ensaio de imunofluorescência; LMLE: lesões medulares longitudinalmente extensas; NMO: neuromielite óptica; ODN: outras doenças neurológicas.

Quando foram analisados os pacientes positivos para anticorpos anti-AQP4 que não receberam corticosteroides, não houve correlações significativas entre os títulos de anticorpos anti-AQP4 determinados por IFA ou por ELISA e qualquer um dos parâmetros clínicos examinados. As razões MFI para anticorpos anti-AQP4 das subclasses IgG1 ou IgG2 também não mostraram correlação significativa com qualquer parâmetro examinado após correção para comparações múltiplas, enquanto a proporção MFI de IgG total para AQP4 mostrou uma correlação negativa significativa com o Índice de Progressão.

Os valores de ELISA não diferiram significativamente entre surto e remissão ($606,3 \pm 525,1$ U/ml no surto vs. $1612,6 \pm 3112,4$ U/ml em remissão; $p=0,9530$, $n=79$). Mesmo quando apenas amostras pareadas foram comparadas, os valores de anticorpos anti-AQP4 não foram significativamente diferentes entre as fases de surto e remissão ($521,8 \pm 477,1$ U/ml no surto vs $713,5 \pm 1907,0$ U/ml na remissão, $p=0,1289$).

No total, 26 pacientes com EM (18,3%) cujo soro foi positivo para anticorpos anti-AQP4 por pelo menos um método, 17 casos preencheram os critérios revisados de NMO, enquanto outros cinco casos tinham LMLE e foram considerados como tendo um DENMO. Entre 47 casos de EM com LMLE, 20 (42,6%) casos preencheram os critérios NMO revisados. Entre os outros 95 casos de EM sem LMLE, sete (7,4%) foram positivos para anticorpo anti-AQP4 por pelo menos um método e três (3,2%) casos preencheram os critérios revisados de NMO. Entre os 92 pacientes restantes com EM que não atenderam aos critérios revisados de NMO nem tinham LMLE, quatro (4,3%) foram positivos para anticorpos anti-AQP4. Entre esses quatro pacientes, um paciente foi positivo apenas pelo ELISA e poderia ser um falso positivo.

Entre os casos com anticorpo anti-AQP4 detectado por FCMA, anticorpos anti-AQP4 IgG1, 2, 3 e 4 foram encontrados em 97,8%, 37,0%, 6,5% e 6,5%, respectivamente.

Não houve associação de positividade de anticorpo ou nível de subclasses de anticorpos IgG anti-AQP4 com parâmetros clínicos após o ajuste dos valores de p para comparações múltiplas.

Höftberger 2013 (39)

Estudo também inserido na meta-análise de Ruiz-Gaviria 2015.

O grupo de pesquisadores do estudo havia observado anteriormente que a técnica de imunohistoquímica otimizada (IHC-o) desenvolvida para a detecção de anticorpos contra抗ígenos de superfície celular/sinápticos também identificou o padrão de anticorpos IgG anti-NMO, que foi facilmente reconhecido em comparação com a imunohistoquímica convencional (IHC-c). Desta forma, um novo estudo foi desenvolvido com o objetivo de determinar a sensibilidade e a especificidade do IHC-o para detectar anticorpos anti-AQP4 e NMO-IgG, e compará-los aos ensaios baseados em tecidos convencionais, incluindo imunofluorescência indireta baseada em tecidos (IIF) e IHC-c, e dois CBA, um ensaio baseado em células desenvolvido internamente (CBA-ih, do inglês *in-house cell-based assay*) com a isoforma AQP4-M23 e um ensaio comercial (CBA-c).

Amostras de soro de 103 pacientes com NMO definida de acordo com os critérios diagnósticos revisados de 2006 (79% do sexo feminino, idade média na amostragem de 42,1 anos, com variação de 7 a 82 anos) e 122 com doenças neurológicas inflamatórias: 101 pacientes com EM, 30 deles com soro pareado e líquor (83 recidivantes e 18 primários progressivos) preenchendo os critérios de McDonalds e 21 com síndromes neurológicas associadas a anticorpos antineuronais (3 Hu, 2 Ri, 2 Yo, 3 CV2/CRMP5, 2 Ma2, 1 SOX, 3 GAD, 3 LGI1 e 2 CASPR2) foram testados por IHC-o, CBA-ih e CBA-c. As amostras de NMO foram fornecidas por 3 centros: Lyon Neuroscience Research Center, França; Grupo de Neuroimunologia, Hospital Clinic de Barcelona, Espanha; e o Departamento de Neurologia, SMZ-Ost Donauspital, Viena, Áustria. Trinta e nove amostras de NMO foram previamente analisadas por IIF e outras 43 amostras por IHC-c. Essas amostras foram posteriormente reanalisadas por IIF e IHC-c, respectivamente. Os soros foram codificados antes do teste e todos os estudos foram avaliados por dois investigadores, cegos para o diagnóstico neurológico ou resultados dos ensaios baseados em tecidos convencionais.

Para o IHC-o, o mesmo protocolo descrito para detectar anticorpos contra抗ígenos de superfície celular foi utilizado. CBA-ih utilizou células vivas transfectadas com a AQP4, isoforma M23. Para o CBA-c, foram seguidas as instruções do fabricante (Euroimmun, Luebeck, Alemanha).

A análise da curva ROC foi utilizada para avaliar a acurácia diagnóstica dos testes. O grau de concordância entre dois ensaios foi avaliado pela estatística kappa, que mede a concordância além do acaso. Kappa é igual a 1,0 para concordância perfeita e valores acima de 0,8 são considerados concordâncias muito boas.

A sensibilidade do IHC-o foi de 75% (77 de 103), do CBA-ih de 76% (78 de 103) e do CBA-c de 74% (76 de 103), conforme apresentado na Tabela 19. A concordância geral entre ensaios foi alta, 100 de 103 foram coincidentes em todas as técnicas. A especificidade dos três ensaios foi de 100%. Os valores kappa de concordância foram de 0,99 (IC 95%: 0,987-0,992) entre CBA-ih e IHC-o; entre CBA-ih e CBA-c de 0,980 (IC 95%: 0,975-0,985); e entre IHC-o e CBA-c foi de 0,970 (IC 95%: 0,962-0,977; $p < 0,0001$ para todos os valores).

Tabela 19. Sensibilidade e especificidade dos ensaios de anticorpos NMO-IgG/AQP4.

	NMO (n=103)	CS (n=122)	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	ROC-AUC (IC 95%)	RV+ (IC 95%)	RV- (IC 95%)
CBA-ih	78	0	75,7 (66,3-83,6)	100 (96,9-100)	0,879 (0,83-0,93)	∞ (n.a.)	0,24 (0,17-0,34)
IHC-o	77	0	74,8 (65,2-82,8)	100 (96,9-100)	0,874 (0,82-0,93)	∞ (n.a.)	0,25 (0,18-0,35)
CBA-c	76	0	73,8 (64,2-82)	100 (96,9-100)	0,869 (0,82-0,92)	∞ (n.a.)	0,26 (0,19-0,36)

Fonte: Höftberger 2013 (39). AUC: área sob a curva; CBA-c: ensaio baseado em células comerciais; CBA-ih: ensaio baseado em células desenvolvidas internamente, do inglês, *in-house cell-based assay*; CS: controles saudáveis; IC: intervalo de confiança; IHC-o: imuno-histoquímica otimizada; n.a.: não aplicável; NMO: neuromielite óptica; RV: razão de verossimilhança negativa; RV+: razão de verossimilhança positiva.

A variabilidade inter observador para o IHC-o foi baixa e discordante apenas em duas amostras, com valor kappa de concordância entre os dois investigadores de 0,980 (IC 95%: 0,974-0,985). A análise para IIF e IHC-c mostrou total concordância com os resultados anteriores. O IHC-o detectou 6 casos positivos a mais que o IIF (61,5% vs. 46%) e 5 a mais que o IHC-c (77% vs. 65%).

O estudo concluiu que o IHC-o é sensível para detectar anticorpos NMO-IgG/AQP4 e os achados se comparam bem com CBA. Este tipo de IHC expande as ferramentas disponíveis para detecção de anticorpos NMO-IgG/AQP4.

Marignier 2013 (40)

O estudo foi conduzido com os objetivos de avaliar a otimização de um CBA para detecção de AQP4-Ac e avaliar a influência do aumento da sensibilidade do ensaio nas características demográficas e relacionadas à doença em um grupo de pacientes negativos para AQP4-Ac.

Foram analisadas amostras de soro e dados clínicos de pacientes com NMO e controles. Foram selecionados os pacientes com NMO da coorte francesa NOMADMUS (NMO e distúrbios neurológicos relacionados) que incluía 253 pacientes no momento do estudo. Todos os casos incluídos no NOMADMUS foram avaliados por um comitê *ad hoc* de especialistas. Os dados foram registrados e anonimizados em um banco de dados. Foram analisados os seguintes dados: sexo, etnia, idade de início da doença, duração do acompanhamento, sintomas de início, tipo e frequência de recaída, deficiência visual irreversível (acuidade visual no melhor olho abaixo de 1/20 persistindo por mais de 6 meses), incapacidade motora irreversível (mais de 6 meses), RNM cerebral, RNM da medula espinhal e características do líquor.

O grupo NMO compreendeu 87 pacientes (71 mulheres e 16 homens, 55 caucasianos) que preencheram os critérios internacionais de NMO. A idade média de início foi de 34,9 anos, variando de 2 a 71 anos. A RNM da medula espinhal estava disponível para todos os pacientes e mostrou anormalidade de sinal estendendo-se por 3 ou mais segmentos vertebrais em 80 dos 87 casos. Para os 7 casos restantes, a RNM não foi realizada. Vinte e quatro pacientes possuíam RNM cerebral anormal no início e 6 preencheram os critérios de RNM para EM. Os resultados para bandas oligoclonais no líquor eram conhecidos para 76 pacientes e positivos para 19. Todos os pacientes apresentaram um curso recidivante. Dentre a população de NMO definida, foi selecionado um subgrupo de 12 pacientes para os experimentos preliminares. Eles foram positivos ($n=2$), negativos ($n=5$) ou duvidosos ($n=5$), conforme avaliado pelo método clássico de detecção baseada em células de AQP4-Ac. No grupo "equívoco", a coloração para AQP4-Ac foi muito baixa e pode ser considerada inespecífica.

Como controles, foram testados 54 soros, incluindo 31 pacientes consecutivos (25 mulheres e 6 homens) admitidos com EM clássica de acordo com os critérios de McDonald. Nove pacientes foram avaliados por ocasião de um primeiro episódio neurológico (síndrome clinicamente isolada), 20 seguiram um curso remitente-recorrente e 2 pacientes seguiram um curso secundário progressivo de acordo com as definições reconhecidas. A RNM cerebral inicial foi sugestiva de EM para todos e nenhum apresentou lesão medular que se estendesse por 3 ou mais segmentos vertebrais. Bandas oligoclonais do líquor foram detectadas em todos os pacientes. Também foram testados 9 pacientes com síndrome neurológica paraneoplásica, 3

com distúrbios neurológicos inflamatórios (sarcoidose, síndrome de Sjögren e neurolúpus) e 11 doadores saudáveis.

A sensibilidade, a especificidade e o valor preditivo positivo e negativo foram calculados e foi conduzida a análise da curva ROC para cada método de detecção. Análises comparativas descritivas usando o teste χ^2 foram feitas para variáveis categóricas e Wilcoxon-Mann-Whitney para variáveis contínuas. O corte de significância estatística ocorreu em $p < 0,05$.

CBA otimizado com a isoforma AQP4-M23 em células vivas mais sensível do que o clássico AQP4-M1 em células fixas

Análises preliminares sugeriram que o método usando células vivas cotransfetadas com plasmídeos AQP4-M23 não marcados e proteína fluorescente verde aprimorada (EGFP) e pós-fixados foi o teste mais confiável. Foram comparados, “um a um”, várias condições e diferentes plasmídeos, cada vez com o subgrupo de 12 soros de pacientes com NMO selecionados. Primeiro, foram comparados o CBA em células HEK que expressam a isoforma AQP4-M1 marcada com EGFP usando células fixas *versus* vivas e não foram encontradas diferenças entre essas as técnicas. Em seguida, foi comparado o CBA com células fixas expressando AQP4-M1-EGFP com células vivas expressando a isoforma AQP4-M23. Uma diferença significativa foi identificada, com 3 amostras duvidosas consideradas positivas apenas com o ensaio AQP4-M23. Para investigar esse ganho de sensibilidade, foram comparados CBAs usando células fixas *versus* células vivas, ambas expressando proteína AQP4-M23 não marcada. O método permaneceu mais sensível usando células vivas. A cotransfecção de EGFP e AQP4-M23 não alterou a sensibilidade do método. Finalmente, foram comparados protocolos usando células vivas cotransfetadas por EGFP e AQP4-M23 não marcadas com células vivas transfetadas com AQP4-M23 marcadas no N-terminal por EGFP. Esta última abordagem foi menos sensível, sem soros duvidosos positivos.

O “teste otimizado” (células vivas cotransfetadas com AQP4-M23 e EGFP) foi então comparado ao método clássico (células fixadas transfetadas com AQP4-M1-EGFP) no grupo total de 87 pacientes com NMO e 54 controles. Usando o CBA clássico, 50 das 87 amostras de pacientes foram positivas e 37 negativas para AQP4-Ab. Nenhuma das 54 amostras de controle foi positiva. Portanto, a sensibilidade do método de referência foi de 57,4%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo de 100% e valor preditivo negativo de 59,3%. Usando o CBA otimizado, 65 das 87 amostras de pacientes foram positivas e 22 negativas. Nenhuma das amostras positivas com o método clássico foi negativa com o CBA otimizado. Nenhuma das 54 amostras de controle foi positiva. Assim, para CBA otimizado, a sensibilidade foi de 74,4%, a

especificidade de 100%, valor preditivo positivo de 100% e valor preditivo negativo de 71%. Esses resultados mostram um aumento significativo tanto na sensibilidade quanto no valor preditivo negativo do CBA otimizado em comparação com o CBA clássico (17% e 11,7%, respectivamente). Eles também confirmam a especificidade muito alta do método. Todas as amostras de NMO foram previamente testadas por imunofluorescência indireta e 47 foram positivas. A sensibilidade foi de 54%.

Tabela 20. Pacientes soropositivos de acordo com o ensaio baseado em células entre 87 pacientes com NMO e 54 controles^a.

	NMO	EM	SPN	CS	ODN
Número de pacientes	87	31	9	11	3
AQP4-M1-/AQP4-M23-	22 (25,2)	31 (100)	9 (100)	11 (100)	3 (100)
AQP4-M1+/AQP4-M23-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AQP4-M1-/AQP4-M23+	15 (17,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AQP4-M1+/AQP4-M23+	50 (57,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AQP4-M1+	50 (57,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AQP4-M23+	65 (74,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Fonte: Maignier 2013 (40). ^aDados expressos em números (%). AQP4: aquaporina-4; CS: controles saudáveis; EM: esclerose múltipla; NMO: neuromielite óptica; ODN: outras doenças neurológicas; SPN: síndromes paraneoplásicas.

Comparação entre pacientes NMO soronegativos e soropositivos de acordo com o método de detecção utilizado

Usando o método clássico de imunofluorescência indireta, não houve diferença de acordo com o estado sorológico, além de um resultado ruim de acuidade visual menos frequente no grupo negativo para AQP4-Ac.

Com o clássico AQP4-M1CBA, também foi encontrado um resultado de acuidade visual ruim menos frequente no grupo soronegativo (19,2% vs. 62,5%, p=0,009) e uma diferença em relação à etnia caucasiana, com uma super-representação no grupo soronegativo (92,6% vs. 71,4 %, p=0,03).

Por outro lado, com o AQP4-M23 CBA otimizado, houve várias diferenças estatisticamente significativas de acordo com o *status* do AQP4-Ac. Essas diferenças incluíram sexo e etnia, com uma super-representação de homens caucasianos no grupo soronegativo (M/F: 1,2 vs. 9,8, $p=0,0002$; etnia caucasiana: 100% vs. 73,6%, $p=0,0291$). Os pacientes também diferiram nas características do primeiro sintoma, com NO e MT simultâneas muito mais frequentes no grupo soronegativo (27% vs. 6%, $p=0,01$). Para incapacidade, novamente houve um resultado de acuidade visual ruim menos frequente no último acompanhamento no grupo soronegativo (12% vs. 54%, $p = 0,006$). Para as demais características clínicas e paraclínicas, incluindo RNM cerebral, de medula espinhal e análise do líquor, não houve diferenças (Tabela 21).

Os autores concluíram que os achados do estudo levantam a questão de uma fisiopatologia distinta para pacientes com NMO negativos para AQP4-Ac e de seu lugar no espectro da doença.

Tabela 21. Comparação de características demográficas e relacionadas à doença entre pacientes NMO soronegativos e soropositivos, de acordo com o método de detecção utilizado.

	IFF			CBA M1			CBA M23		
	Positivo (n=47)	Negativo (n=40)	Valor de p	Positivo (n=50)	Negativo (n=37)	Valor de p	Positivo (n=65)	Negativo (n=22)	Valor de p
Idade de início em anos									
Média ± DP	35 ± 18	34 ± 12	0,870	34 ± 17	35 ± 12	0,713	34 ± 17	36 ± 10	0,693
Variação	2-71	7-54	-	2-71	14-60	-	2-71	14-52	-
Sexo, n (%)									
Masculino	5 (11)	11 (28)	0,055	4 (8)	12 (32)	0,055	6 (9)	10 (45)	<0,001 ^a
Feminino	42 (89)	29 (72)	-	46 (92)	25 (68)	-	59 (91)	12 (55)	-
Razão, F/M	8,4	2,6	-	11,5	2,1	-	9,8	1,2	-
Caucasianos, n (%)^b									
Sim	30 (77)	25 (83)	0,561	30 (71)	25 (93)	0,037a	39 (74)	16 (100)	0,029 ^a
Não	9 (23)	5 (17)	-	12 (29)	2 (7)	-	14 (26)	-	-
Duração da doença em anos									
Média ± DP	9,5 ± 7,4	8,1 ± 7,7	0,211	9,2 ± 7,5	8,6 ± 7,8	0,614	9,0 ± 8,0	8,6 ± 6,2	0,909
Variação	0,5-33	0,5-39	-	0,5-33	0,5-39	-	0,5-39	1-24	-
NO + MT na primeira apresentação, n (%)									
Sim	4 (9)	6 (15)	0,502	3 (6)	7 (19)	0,090	4 (6)	6 (27)	0,015 ^a
Não	43 (91)	34 (85)	-	47 (94)	30 (81)	-	61 (94)	16 (73)	-

Envolvimento do tronco cerebral, n (%)									
Sim	12 (25)	10 (25)	0,955	13 (26)	9 (24)	0,859	16 (25)	6 (27)	0,784
Não	35 (75)	30 (75)	-	37 (74)	28 (76)	-	49 (75)	16 (73)	-
Taxa anual de surtos									
Média ± DP	1,2 ± 1,1	1 ± 0,8	0,534	1,2 ± 1,1	1,1 ± 0,8	0,602	1,2 6±1,1	0,9 ± 0,6	0,230
Variação	0,1–6	0,2–4	-	0,1–6	0,2–4	-	0,1–6	0,2–2	-
EDSS no último acompanhamento									
Média ± DP	5,4 ± 2,8	4,2 ± 2,3	0,078	5,2 ± 2,9	4,3 ± 2,2	0,106	5 ± 2,8	4,6 ± 2,1	0,618
Variação	0–10	0–10	-	0–10	1–10	-	0–10	1–8	-
Perda grave de AV no último acompanhamento, n (%)^b									
Sim	20 (69)	5 (17)	<0,001 ^a	20 (63)	5 (19)	0,001 ^a	23 (55)	2 (12)	0,007 ^a
Não	9 (31)	24 (83)	-	12 (37)	21 (81)	-	19 (45)	14 (88)	-

Fonte: Marignier 2013 (40). ^aValor estatisticamente significativo. ^bNão há dados disponíveis para todos os pacientes. AV: acuidade visual; CBA: ensaio baseado em células; DP: desvio padrão; EDSS: Escala Expandida do Estado de Incapacidade; IIF: imunofluorescência indireta; MT: mielite transversa; NO: neurite óptica.

Fryer 2014 (41)

O estudo conduzido foi motivado pelo grande número de resultados falso-positivos e falso-negativos encontrados em consultas médicas realizados através de um kit ELISA clinicamente validado. O teste ELISA foi então comparado com 3 CBAs transfectados com AQP4 alternativos por microscopia de imunofluorescência pontuada pelo observador e separador celular ativado por fluorescência (FACS), adequados para testes clínicos de alto rendimento usando soros de pacientes submetidos consecutivamente para testes de AQP4-IgG, entre 2011 e 2013.

Os soros de pacientes com quadros neurológicos foram testados inicialmente por ELISA já presente no serviço (AQP4 recombinante, isoforma M1) e depois por ensaios de fluorescência CBA: tipo fixo (CBA, M1-AQP4, pontuado pelo observador) e em células vivas (FACS, isoformas M1 e M23 de AQP4). A influência da transfeção de células com uma mistura de M1 e M23 no desempenho do FACS também foi analisada.

A sensibilidade e a especificidade foram determinadas para cada ensaio por referência aos diagnósticos pré-teste para pacientes do grupo 1. McNemar ou testes binomiais exatos foram usados conforme apropriado para comparar a sensibilidade entre ensaios e as diferenças de especificidade. Curvas ROC não foram geradas para dados M1-ELISA ou M1-CBA devido à baixa variabilidade. A partir das curvas ROC geradas para os resultados FACS, as áreas sob as curvas foram calculadas para os resultados M1 e M23 FACS vs. acaso (0,50) e entre si. Razões de verossimilhança positivas e intervalos de confiança foram calculados para os pacientes do grupo 1 e 2 combinados. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Para garantir a qualidade, os testes foram repetidos pelo menos uma vez para todos os soros com resultado positivo. Todos os testes foram realizados de forma cega para os dados clínicos.

O grupo controle foi formado por 338 indivíduos e todos foram negativos por M1-ELISA e M1-CBA. Quatro soros produziram resultados positivos ≥ 1 em ensaios FACS: 2 no grupo de hipergamaglobulinemia (somente ensaio M23-FACS; índices de ligação de IgG: 6,86 e 4,96) e 2 no grupo autoimune órgão- inespecífico ANA-positivo (M23-FACS; índices de ligação de IgG: 4,99 e 4,30; 1 foi positivo também por M1-FACS; índice de ligação de IgG: 2,74).

Para pacientes cujo diagnóstico diferencial incluiu DENMO, foi investigado o soro enviado de um total de 1.075 pacientes para o teste M1-ELISA durante a avaliação neurológica. Informações clínicas estavam disponíveis para todos os pacientes do grupo 1 e para pacientes soropositivos nos grupos 2–4. Os resultados do teste AQP4-IgG foram analisados com referência aos diagnósticos pré-teste atribuídos pelo médico. Os resultados positivos produzidos por soros de pacientes com e sem diagnóstico de DENMO são mostrados na Tabela 22 e na Tabela 23. Múltiplos ensaios produziram positividade para todos, exceto 6 de 45 pacientes com DENMO (Tabela 22). Um único ensaio foi positivo em todos, exceto 3 de 65 pacientes sem DENMO (Tabela 23).

Tabela 22. Frequência e distribuição de resultados positivos produzidos por diferentes ensaios AQP4-IgG em pacientes com diagnóstico clínico de DENMO.

	Tipo de ensaio	Resultados					
		-	-	-	+	+	+
	M1-ELISA	-	-	-	+	+	+
	M1-CBA	-	-	+	+	-	-
	M1-FACS	+	+	+	+	-	-
	M23-FACS	-	+	+	+	+	-
Grupo 1	Pacientes	1	0	3	10	0	2
N testados	388						
Positivos	16 (4%)						
Grupo 2	Pacientes	0	3	3	17	1	0
N testados	615						
Positivos	24 (4%)						
Grupo 3	Pacientes	2	1	2	0	0	0
N testados	31						
Positivos	5 (14%)						

Fonte: Fryer 2014 (41). Os pacientes com DENMO foram positivos em vários ensaios em todos, exceto 6 dos 45 casos; FACS e CBA foram os mais sensíveis. AQP4: aquaporina-4; CBA: ensaio baseado em células; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; FACS: separador celular ativado por fluorescência.

Tabela 23. Frequência e distribuição de resultados positivos produzidos por diferentes ensaios AQP4-IgG entre pacientes sem evidência clínica de diagnóstico de DENMO.

	Tipo de ensaio	Resultados			
		-	+	+	-
	M1-ELISA	-	+	+	-
	M1-CBA	-	-	+	+
	M1-FACS	-	-	-	+
	M23-FACS	+	-	-	+
Grupo 1	Pacientes	15	3	0	0
N testados	388				
Positivos	18 (5%)				
Grupo 2	Pacientes	2	2	0	2
N testados	615				
Positivos	6 (1%)				
Grupo 4	Pacientes	0	40	1	0
N testados	41				
Positivos	41 (100%)				

Fonte: Fryer 2014 (41). Os pacientes sem DENMO foram positivos em apenas um ensaio (ELISA ou M23-FACS) em todos, exceto 3 de 65 casos. AQP4: aquaporina-4; CBA: ensaio baseado em células; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; FACS: separador celular ativado por fluorescência.

O grupo 1 foi formado por pacientes consecutivos da Mayo Clinic testados de 1º de janeiro a 31 de maio de 2012 ($n = 388$) que tinham (1) NMO clinicamente definida (atendendo aos critérios de Wingerchuk 2006, 16 excluindo soropositividade AQP4-IgG), (2) primeira apresentação potencial de um DENMO (episódio monofásico ou recorrente apenas de NO; episódio monofásico ou recorrente apenas de MT [lesões de segmento longo ou curto]) ou (3) um diagnóstico neurológico alternativo. NMO ou DENMO foi o diagnóstico pré-teste suspeito para 50 pacientes: NMO (12); NO (10; monofásico unilateral, 7; monofásico bilateral, 2; recorrente, 1); MT (28; monofásico, 21; recorrente, 7). Outros diagnósticos neurológicos foram considerados pré-teste mais prováveis para os 338 pacientes restantes.

Entre 388 soros testados, 34 apresentaram resultados positivos. Dezesseis pacientes soropositivos tiveram diagnóstico de DENMO: 10 NMO; 4 MT; 2 NO.

AQP4-IgG foi detectada por M1-FACS em 14 (mediana: 40,9; intervalo: 2,77–138); M23-FACS em 13 (mediana: 42,1; intervalo: 10,4–85,0); M1-CBA em 13 e M1-ELISA em 12 (mediana: 70,7; intervalo: 5,2 a >160 U/mL).

Os 18 soros restantes com resultados positivos eram de pacientes sem diagnóstico de DENMO. AQP4-IgG foi detectado por: apenas M23-FACS em 15 (mediana: 4,04; intervalo: 3,01–9,74) e apenas M1-ELISA em 3 (mediana: 5,4; intervalo: 5,20–46,4 U/mL).

Para NMO clinicamente definido, as sensibilidades do ensaio foram de 83% para M1-FACS, 75% para M23-FACS, 75% para M1-CBA e 58% para M1-ELISA (diferenças não estatisticamente significativas para todas as comparações de M1-FACS versus outros ensaios; $p>0,05$).

As especificidades do ensaio para o diagnóstico de NMO foram as seguintes (Tabela 24): 100% para M1-FACS, 100% para M1-CBA; 99% para M1-ELISA e 95% para M23-FACS. M23-FACS foi menos específico do que M1-FACS ($p<0,001$), M1-CBA ($p<0,001$) e M1-ELISA ($p=0,004$). A análise ROC de ensaios FACS usando dados para todos os 50 pacientes com apresentação clínica compatível com DENMO (NMO, NO ou MT) revelou uma área significativamente maior sob a curva para M1-FACS (0,64) do que para M23-FACS (0,57), $p = 0,02$.

Tabela 24. Dados de sensibilidade e especificidade para pacientes do grupo 1 com NMO clinicamente definida e 338 controles.

	Número de testes positivos	Número de casos	Sensibilidade	IC 95%	
M1-FACS	10	12	0,83	0,55	0,95
M23-FACS	9	12	0,75	0,47	0,91
M1-ELISA	7	12	0,58	0,32	0,81
M1-CBA	9	12	0,75	0,47	0,91
	Número de testes negativos	Número de controles	Especificidade	IC 95%	
M1-FACS	338	338	1,00	0,99	1,00
M23-FACS	322	338	0,95	0,92	0,97

M1-ELISA	335	338	0,99	0,97	0,99
M1-CBA	338	338	1,00	0,99	1,00

Fonte: Fryer 2014 (41). AQP4: aquaporina-4; CBA: ensaio baseado em células; NMO: neuromielite óptica; FACS: separador celular ativado por fluorescência; IC: intervalo de confiança.

O grupo 2 consistia em pacientes soropositivos consecutivos da Mayo Clinic e não da Mayo Clinic (n = 30) entre 615 soros enviados para teste de AQP4-IgG em setembro de 2011.

Trinta soros entre 615 testados produziram resultados positivos. Para os 24 pacientes com diagnóstico clínico compatível com DENMO, AQP4-IgG foi detectado por: M23-FACS em 24 (índice mediano de ligação de IgG: 24,9; intervalo: 4,84–52,8); M1-FACS em 23 (índice mediano de ligação de IgG: 40,5; intervalo: 3,73–88,3); M1-CBA em 20; e M1-ELISA em 18 (valor mediano 40,4; intervalo: 8,5 a >160 U/mL).

Seis soros com resultado positivo eram de pacientes não considerados com diagnóstico de DENMO. No entanto, 2 pacientes que foram positivos em 3 ensaios (M1-CBA, M1-FACS e M23-FACS) se encaixaram no espectro DENMO estendido. Ambas eram do sexo feminino e tinham encefalite autoimune.

Dois outros (EM clássico e mielopatia de causa desconhecida) foram positivos apenas por M23-FACS (índices de ligação de IgG: 3,97 e 4,95), e outros 2 (distúrbio de dor miofascial e EM clássica) foram positivos apenas por M1-ELISA (valores: 5,2 e 107 U/mL).

As razões de verossimilhança positivas produzidas pelos 4 ensaios para os grupos 1 e 2 combinados foram M1-FACS: 65,9 (IC 95%: 16,7–267,9); M1-CBA: 54,8 (IC 95%: 13,4–224); M1-ELISA: 18,8 (IC 95%: 7,5–47-3); e M23-FACS: 6,6 (IC 95%: 3,9–10,8).

Os grupos 3 e 4 consistiam em pacientes não pertencentes ao grupo 1 ou 2 que chegaram ao conhecimento do estudo por meio de consulta laboratorial de serviço clínico iniciada por neurologistas de referência (período de 2011 a 2013).

O grupo 3 compreendeu potenciais falso-negativos: 31 pacientes M1-ELISA-negativos para os quais a suspeita clínica de DENMO era alta. Os soros de 31 pacientes com apresentação compatível com DENMO produziram resultados negativos por M1-ELISA. Cinco foram positivos por M1-FACS (índice mediano de ligação de IgG: 4,8; intervalo: 2,77–6,53); 3 de 5 também foram positivos por M23-FACS (mediana: 10,4; intervalo: 6,60–12,1) e 2 também foram

positivos por M1-CBA. Os 26 restantes, negativos em todos os ensaios, foram considerados provavelmente verdadeiros soronegativos.

O grupo 4 compreendeu potenciais falsos positivos: 41 pacientes positivos para M1-ELISA sem evidência clínica de DENMO. Entre 21.788 pacientes individuais testados, 1.261 apresentaram resultados M1-ELISA positivos. Os médicos que cuidaram de 41 deles notificaram a suspeita de resultados falso-positivos porque as apresentações clínicas não eram compatíveis com DENMO. O valor mediano para M1-ELISA foi de 18,6 UI/mL (intervalo: 5,10 a 0,160 UI/mL). Apenas um destes 41 soros mostrou resultado positivo quando testado pelos 3 CBAs (M1 CBA). O paciente apresentava sintomas optoespinhais sem anormalidades clínicas ou radiológicas objetivas. Os 40 restantes foram considerados falsos positivos.

O estudo concluiu que os CBAs transfetados com AQP4, particularmente M1-FACS, têm um desempenho ideal para auxiliar no diagnóstico sorológico de DENMO. Ensaios M23-AQP4 podem produzir resultados falso-positivos por ligação não específica de IgG.

Siritho 2014 (42)

Um estudo observacional retrospectivo foi conduzido, incluindo pacientes tailandeses com suspeita de doenças inflamatórias desmielinizantes idiopáticas do SNC em uma clínica de EM entre 1º de maio de 2009 e 28 de fevereiro de 2010, no Siriraj Hospital, Mahidol University, Tailândia. O objetivo principal do estudo foi avaliar a precisão do kit comercialmente disponível para diagnosticar pacientes tailandeses com NMO/DENMO a partir de uma grande coorte tailandesa com alta prevalência de NMO/DENMO.

Cento e doze pacientes foram testados para anticorpos anti-AQP4 por CBA com o método Sendai (*post-fixed-CBA*; CBA-Sendai), um kit comercial (*pre-fixed-CBA*; Euroimmun® - CBA-Kit) e um ensaio de imunofluorescência indireta baseado em tecidos (IIF-TBA). Os pacientes foram classificados em NMO, DENMO soropositivo (AQP4-pos DENMO), DENMO soronegativo (AQP4-neg DENMO), EM clássica, EM atípica e síndrome clínica isolada.

Para comparar os dois testes diagnósticos com CBA pós-fixada para sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e acurácia, foram considerados apenas pacientes nas categorias 1 e 2 (NMO e AQP-pos DENMO). A concordância entre os resultados de anticorpos AQP4 foi avaliada de acordo com os coeficientes Kappa. Todos os valores de p foram bicaudais e considerados estatisticamente significativos se $<0,05$.

De 135 pacientes com suspeita de doenças inflamatórias desmielinizantes idiopáticas do SNC, 122 pacientes (92 mulheres e 30 homens) foram avaliados por todos os 3 testes.

Com base no *post-fixed*-CBA, havia 26 NMO, 25 AQP4-pos DENMO, 19 AQP4-neg DENMO, 34 EM clássicas, 4 EM atípicas e 14 síndromes clínicas isoladas.

Cinco (1 NMO, 2 AQP4-neg DENMO, 2 EM clássica), sete (1 NMO, 6 AQP4-pos DENMO) e dois pacientes (1 AQP4-neg DENMO, 1 síndrome clínica isolada) foram soropositivos apenas por CBA-kit, CBA-Sendai e IIF-TBA, respectivamente. Dezesseis pacientes foram soropositivos por ambos CBA, mas negativos por IIF-TBA. Os dados de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia para IIF-TBA e CBA-kit estão apresentados na Tabela 25. Ambos CBA mostraram forte correlação (Kappa: 0,758; Tabela 26).

Tabela 25. Comparação entre testes para diagnóstico de NMO.*

	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	VPP	VPN	Acurácia
IIF-TBA	52,1 (37,2-66,7)	100,0 (29,2-100)	100 (86,3 -100)	11,5 (2,4 -30,2)	54,90
<i>Pre-fixed</i> CBA	83,3 (69,8-92,5)	66,7 (9,4-99,2)	97,6 (87,1-99,9)	20,0 (2,5-55,6)	82,35

Fonte: Siritho 2014 (42).*Apenas pacientes que foram diagnosticados com NMO e DENMO positivo para AQP4. VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; IC: intervalo de confiança; CBA: ensaio baseado em células; IIF-TBA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em tecidos.

Tabela 26. Taxas de concordância para a detecção de anticorpo AQP4 em 122 soros entre IIF-TBA, CBA-kit e CBA-Sendai.

	Co-negatividade (%)	Co-positividade (%)	% concordância (valor de kappa)
IIF-TBA vs. <i>pre-fixed</i> CBA	75,3	49	0,546
IIF-TBA vs. <i>post-fixed</i> CBA	73,2	49	0,518
<i>Pre-fixed</i> CBA vs. <i>post-fixed</i> CBA	82,9	74,1	0,758

Fonte: Siritho 2014 (42). CBA: ensaio baseado em células; IIF-TBA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em tecidos; AQP4: aquaporina-4; Pre-fixed CBA: teste de anticorpo AQP4 por imunofluorescência indireta baseado em células com kit comercial da Euroimmun; Post-fixed CBA: teste de anticorpo AQP4 por imunofluorescência indireta baseado em células com métodos Sendai.

De acordo com os autores, o estudo mostrou que o CBA pré-fixado é relativamente mais sensível do que o IIF-TBA e é comparável em sensibilidade ao CBA pós-fixado na detecção de anticorpos AQP4 em casos de suspeita de NMO/DENMO na Tailândia.

Waters 2016 (43)

Um estudo multicêntrico envolvendo testes de anticorpo anti-AQP4 em pacientes com DENMO foi conduzido. Amostras codificadas de pacientes com NMO ou DENMO (n=101) e controles (n=92) foram testadas em 15 centros de diagnóstico europeus usando 21 ensaios, incluindo ensaios vivos (n=3) ou baseados em células fixas (n=10), citometria de fluxo (n=4), imuno-histoquímica (n=3) e ELISA (n=1).

A sensibilidade, especificidade, razões de verossimilhança positiva e negativa e seus IC de 95% foram calculados. A precisão do ensaio foi calculada como $((\text{verdadeiros positivos} + \text{verdadeiros negativos})/\text{total de amostras}) \times 100$. A correlação intraclasse da pontuação semiquantitativa para todos os ensaios foi usada como uma medida de concordância entre os 21 ensaios em pacientes com NMO clinicamente definida, excluindo os critérios menores de soropositividade do anticorpo AQP4 e em toda a coorte.

Noventa e duas amostras de controle codificadas (37 com EM, 39 com cefaleia e 16 outras com doenças inflamatórias) foram enviadas aleatoriamente e intercaladas com as amostras de teste. No geral, 16 dos 21 ensaios foram >95% negativos nos controles. Doze ensaios foram altamente específicos (resultados de teste falso-positivo de 0–1) e incluíram os três CBAs comerciais realizados internamente (CBA-EI, n=3), cinco dos sete realizados em centros diferentes (CBA-EO, n=5), dois dos três CBAs ao vivo, um dos quatro ensaios FACS e um dos três TBA.

Com base nos dados de controle, qualquer amostra de pacientes com NMO clínica, NO ou MT positiva em dois ou mais desses ensaios altamente específicos foi considerada NMO/DENMO soropositiva. Pelo menos seis dos ensaios altamente específicos identificaram 32/50 soros NMO (64%) como positivos (todos submetidos como soropositivos) e estes foram classificados como NMO positivos para anticorpos AQP4, com os 18 restantes como NMO soronegativo para anticorpos AQP4.

Resultados muito semelhantes foram encontrados nas 51 amostras de pacientes com DENMO (9 NO, 31 TM e 11 com NO e TM) que não preencheram os critérios para NMO independente

do status de anticorpos. Trinta e uma amostras (61%) foram positivas em pelo menos 4/12 ensaios altamente específicos. No geral, as pontuações médias de ligação do anticorpo não diferiram entre os pacientes com NMO e DENMO (Figura 7). Trinta e duas amostras de 50 (64%) soros NMO e 34 de 51 (67%) soros DENMO foram positivas em pelo menos dois dos 12 testes altamente específicos, deixando 35 pacientes com DENMO/NMO soronegativo.

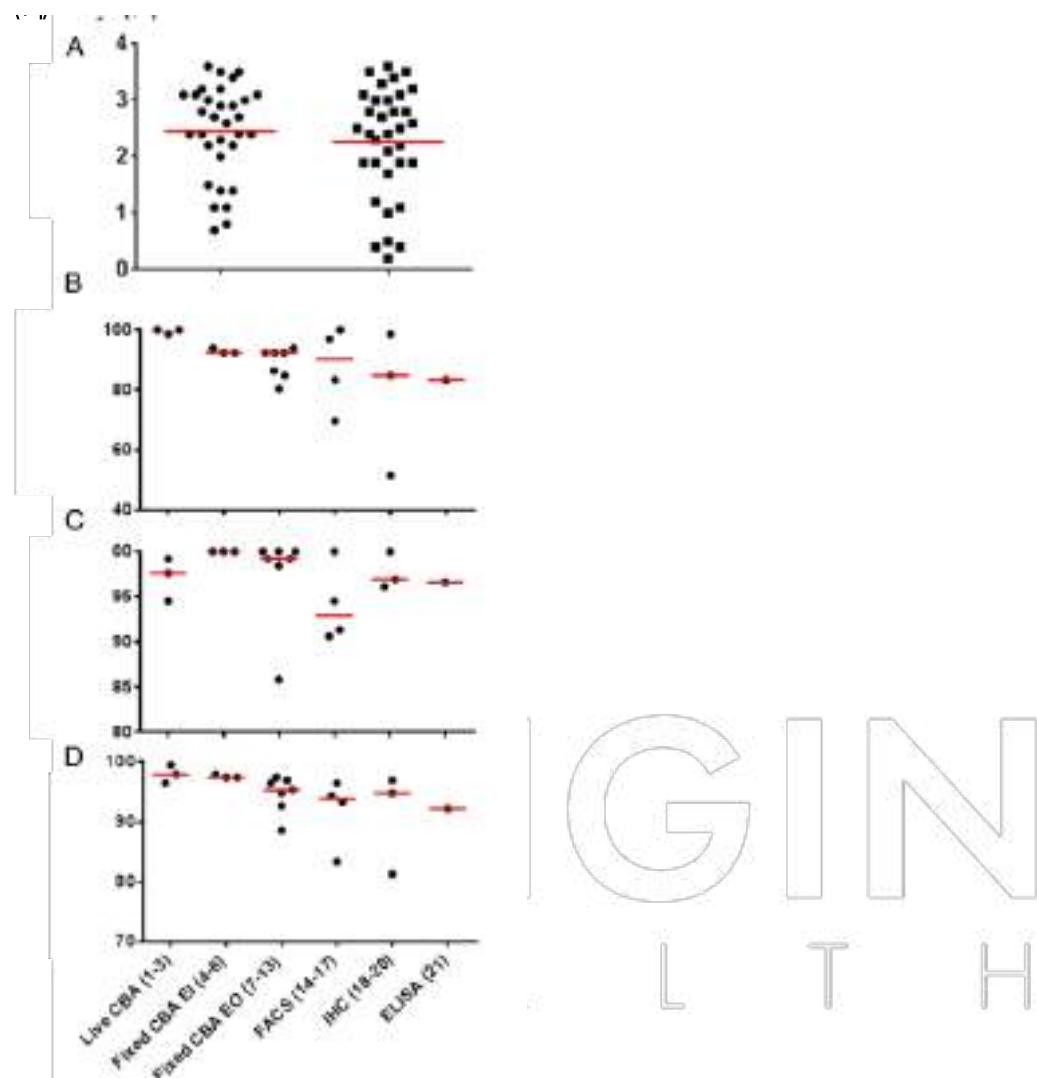
O cálculo da sensibilidade foi baseado nas 66 amostras definidas como soropositivas (32 NMO, 34 DENMO) e a especificidade baseada nas 92 amostras de controle e nas 35 amostras NMO (n=18) e DENMO (n=17) definidas como soronegativas. As especificidades, sensibilidades e acurácia para os diferentes tipos de ensaios são apresentadas na Figura 7. Três ensaios foram 100% sensíveis: 2/3 CBAs vivos e 1/4 FACS; todos os três foram baseados na expressão transiente da isoforma humana AQP4-M23. Outros 10 ensaios mostraram mais de 92% de sensibilidade: o terceiro CBA vivo (98,5%), um ensaio FACS (97,0%), um TBA que usou imuno-histoquímica otimizada em vez de imunofluorescência (TBA-IHC; 98,5%) e sete CBAs fixos (92,4–93,9%). Os ensaios restantes tiveram entre 51,5% e 86,4% de sensibilidade, incluindo três CBAs fixos (80,3–86,4%), dois ensaios FACS (69,7%, 83,3%), dois TBA-IIF (51,5%, 84,8%) e o ELISA (83,3%); 4/6 desses ensaios que empregam antígeno recombinante usaram a isoforma AQP4-M1. Desta forma, as sensibilidades variaram de 51,5% a 100% em todos os 21 testes. As especificidades variaram de 85,8% a 100%.

Os resultados das amostras NMO/DENMO soronegativas foram combinados com os resultados dos soros de controle para medir a especificidade do ensaio e a acurácia foi definida como $((\text{verdadeiros positivos} + \text{verdadeiros negativos}) / \text{total de testes}) \times 100$. Um resultado verdadeiro positivo inclui qualquer resultado positivo nos 66 pacientes com NMO/DENMO definidos como soropositivos e um resultado verdadeiro negativo é qualquer resultado negativo na coorte de controle ou nas amostras de pacientes NMO/DENMO soronegativos (Figura 7). A diferença de acurácia entre esses dois grupos se mostrou mais clara (99,3% vs. 93,4%). No geral, os ensaios mais precisos são os CBAs em células vivas ou CBA fixo pontuado internamente (*in-house*).

Os pesquisadores concluíram que os ensaios baseados em células foram mais sensíveis e específicos em geral, mas que a imuno-histoquímica ou a citometria de fluxo podem ser igualmente precisas em centros especializados. Como os pacientes com NMO/DENMO negativo para AQP4-Ab requerem tratamento diferente, o uso de amostras de controle apropriadas e amostras de DENMO soronegativas definidas é essencial para avaliar esses ensaios de maneira clinicamente significativa.

ORIGIN
H E A L T H

Figura 7. Métricas gerais dos ensaios AQP4.



Fonte: Waters 2016 (43). Sessenta e seis amostras foram consideradas soropositivas: 32 NMO e 34 DENMO. Usando as pontuações semiquantitativas de 0–4 para cada resultado do ensaio, não houve diferença na pontuação média do ensaio em 21 ensaios entre os grupos NMO e DENMO (A). (B–D) Os testes são agrupados por tipo de ensaio no eixo x com o número do ensaio do estudo entre parênteses. A sensibilidade (B) foi baseada nas amostras classificadas como NMO ou DENMO positivo para anticorpo AQP4 (66 no total). A especificidade (C) é baseada nas 92 amostras de controle e nas 35 amostras NMO/DENMO soronegativas. O cálculo da acurácia (D) foi baseado nas categorias descritas acima: $((\text{verdadeiro positivo} + \text{verdadeiro negativo}) / \text{total de testes}) \times 100$. CBA: ensaio baseado em células; IHC: imuno-histoquímica; NMO: neuromielite óptica; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; FACS: separador celular ativado por fluorescência. Live CBA: CBA em células vivas; FIXED CBA EI: CBA fixo pontuado internamente (*in house*); FIXED CBA EO: CBA fixo em outros centros diagnósticos.

Long 2017 (44)

O estudo conduziu uma análise retrospectiva em que os anticorpos AQP4 foram detectados por CBA comercial, M23-CBA *in-house* e M1-CBA *in-house*. De junho de 2013 a julho de 2015, 1.011 amostras de soro e 171 amostras de líquor de 1.011 participantes chineses consecutivos que foram recrutados em 22 hospitais na China foram examinados para anticorpos AQP4. Os dados dos participantes foram avaliados retrospectivamente por revisões de prontuários médicos. Um total de 1.011 participantes foram divididos em oito grupos de acordo com os perfis clínicos após o teste de anticorpos AQP4 pelo primeiro CBA comercial. Os revisores conheciam os resultados do teste comercial e os diagnósticos dos pacientes ao usar os testes internos.

Grupo 1 (grupo NMO). O Grupo 1 consistia em participantes consecutivos ($n = 160$, exacerbação = 116, remissão = 44) com NMO clinicamente definida (ou seja, aqueles que atenderam aos critérios de Wingerchuk de 2006, excluindo a soropositividade do anticorpo AQP4).

Grupo 2 (provável grupo NMO, pNMO). O Grupo 2 consistia em participantes consecutivos ($n = 33$, exacerbação = 25, remissão = 8) que tinham NO e MT clinicamente definidos (ou seja, aqueles que não atenderam aos critérios de Wingerchuk de 2006 excluindo soropositividade AQP4-IgG).

Grupo 3 (grupo EM). O grupo 3 consistiu em participantes consecutivos ($n = 183$, exacerbação = 133, remissão = 50) com EM remitente-recorrente (ou seja, aqueles que atenderam aos critérios de EM de 2010). Como os diagnósticos no presente estudo foram feitos após CBA comercial, o diagnóstico de EM só foi feito se nenhum anticorpo AQP4 positivo estivesse presente e se os critérios de Wingerchuk não fossem atendidos. Alguns pacientes com MT e lesões cerebrais foram incluídos no Grupo 4.

Grupo 4 (grupo MT). O grupo 4 consistiu em participantes consecutivos ($n = 156$, exacerbação = 83, remissão = 73) que tiveram MT. Eles foram divididos em subgrupos MTLE ($n = 128$) e não-MTLE ($n = 28$) de acordo com as características da RNM. Os participantes MTLE que experimentaram dois ou mais ataques foram definidos como MTLE recorrente ($n = 54$) e os participantes que experimentaram apenas um ataque foram definidos como MTLE monofásico ($n = 74$).

Grupo 5 (grupo NO). Grupo 5 contou com participantes consecutivos ($n = 46$, exacerbação = 25, remissão = 21) que tiveram NO. Eles foram divididos em subgrupos NO monofásico ($n = 18$) e NO recorrente ($n = 28$).

Grupo 6 (grupo de lesões cerebrais NMO). O grupo 6 consistia em participantes consecutivos ($n = 27$, exacerbação = 20, remissão = 7) que apresentavam lesões cerebrais típicas de NMO sem NO ou MT. As lesões foram localizadas em locais de alta expressão de AQP4, como hipotálamo, superfície ependimária ao redor do terceiro ventrículo, aqueduto, quarto ventrículo e área postrema.

Grupo 7 (Controle 1). O grupo 7 consistia em participantes consecutivos ($n = 74$) que apresentavam outros distúrbios neuroimunes.

Grupo 8 (Controle 2). O grupo 8 consistia em participantes consecutivos ($n = 332$) que apresentavam outros distúrbios do SNC ou distúrbios imunológicos sem envolvimento do SNC.

Os dados adquiridos do registro anterior de cada participante e uma entrevista recente incluíram o seguinte: idade, sexo, medicação, número de eventos desmielinizantes e características clínicas.

Das 1.011 amostras de soro, 206 (20,4%) foram soropositivas por CBA comercial primário, 124 (12,2%) foram soropositivas por M1-CBA *in-house* e 277 (27,4%) foram soropositivas por M23-CBA *in-house*. Houve diferenças significativas entre os três ensaios ($p < 0,0001$).

No reteste, todos os 206 participantes positivos por CBA comercial primário também produziram resultados positivos por M23-CBA *in-house* e o segundo CBA comercial novamente, mas apenas 124 foram positivos em M1-CBA *in-house*.

Entre os 805 participantes negativos pelo CBA comercial primário, 71 participantes foram positivos para M23-CBA *in-house*, dos quais 20 participantes foram positivos para o segundo CBA comercial e nenhum foi positivo para M1-CBA *in-house*.

Das 171 amostras de líquor, 75 (43,9%) foram positivas pela CBA comercial primária, 49 (28,7%) foram positivos pelo M1-CBA *in-house* e 90 (52,6%) foram positivos pelo M23-CBA *in-house*. Houve diferenças significativas entre os três ensaios ($p < 0,0001$). Todos os 75 participantes positivos por CBA comercial primário também produziram resultados positivos por M23-CBA *in-house* e o segundo CBA comercial. Quarenta e nove (65,3%) desses 75 participantes foram positivos por M1-CBA *in-house*. Entre os 96 participantes negativos pela CBA comercial

primária, 15 foram positivos para M23-CBA *in-house* e nenhum foi positivo para M1-CBA *in-house* e o segundo CBA comercial.

Os autores pontuaram como as principais conclusões do estudo: (1) diferentes isoformas de AQP4 em CBA resultam em diferentes efeitos de detecção e o AQP4–M23 CBA transfectado é o método mais sensível com base nos dados multicêntricos e de amostras grande; (2) NMO negativo para anticorpo AQP4 pode encontrar incerteza diagnóstica e desafios devido a limitações de testes de baixa sensibilidade.

Prain 2019 (45)

Com o objetivo de comparar cinco testes diferentes para a detecção de anticorpos anti-AQP-4, 181 pacientes com suspeita de DENMO e 253 controles foram avaliados, advindos de 23 centros na Austrália e na Nova Zelândia.

Os pacientes foram excluídos se nenhuma amostra de soro fosse fornecida, se os resultados de testes anteriores de anticorpos AQP4 não estivessem disponíveis, se os dados clínicos fornecidos fossem insuficientes para o diagnóstico ou se um diagnóstico alternativo se tornasse aparente. Os dados foram coletados entre 1º de janeiro de 2011 e 31 de dezembro de 2013. Os critérios de diagnóstico para DENMO do Painel Internacional para Diagnóstico de NMO (IPND) de 2015 foram aplicados retrospectivamente.

Também foram recrutados pacientes com EM, pareados por idade e sexo, que não apresentassem nenhuma das características sugestivas de DENMO. Controles adicionais consistiram em pacientes com outras doenças inflamatórias (varicela, CMV sistêmico, mononucleose infecciosa, síndrome de Sjögren e lúpus eritematoso sistêmico) e doadores de sangue saudáveis.

Resultados anteriores de testes de anticorpos AQP4 foram coletados através de um questionário. Amostras de soro foram obtidas e testadas para anticorpos AQP4 com técnicas de coloração de imunofluorescência indireta em tecido cerebral de camundongo, rato ou macaco e seções de rim de rato ou camundongo.

Um subconjunto de amostras também foi testado usando um kit ELISA, bem como dois kits de lâminas com células fixas da Euroimmun® e um ensaio com células vivas. Cada uma das duas lâminas consistia em dois chips de células HEK transfectadas com isoformas M1 e M23 de AQP4 em uma e M23 AQP4 e MOG na outra (Euroimmun®, Alemanha). O teste de

imunofluorescência indireta baseado em tecido foi realizado em 4 centros na Austrália. Os ensaios ELISA e baseados em células fixas foram realizados pela seção de Autoimunidade da Divisão de Imunologia, Patologia *Queensland Central Laboratory, Brisbane*, Austrália, de acordo com as instruções do fabricante. O ensaio baseado em células vivas foi realizado no *Nuffield Department of Clinical Neurosciences, Oxford*, Reino Unido. Todos os ensaios foram realizados por pesquisadores cegos para o status diagnóstico final dos casos e os resultados de Brisbane e Oxford foram coletados por terceiros cegos com sede em Cambridge, Reino Unido, que então distribuíram os resultados finais combinados para todas as partes. Os anticorpos MOG foram detectados por três testes diferentes: um ensaio comercial baseado em células fixas (Euroimmun®, Alemanha), um ensaio baseado em células vivas, e um ensaio de seleção de células ativadas por fluorescência (FACS) baseado em células vivas. A soropositividade para anticorpos AQP4 ou MOG foi definida como um resultado positivo em qualquer um dos ensaios de imunofluorescência indireta baseada em tecidos (T-IIF) ou um resultado positivo em pelo menos 2 ensaios baseados em células (incluindo ensaios FACS repetidos para anticorpos MOG).

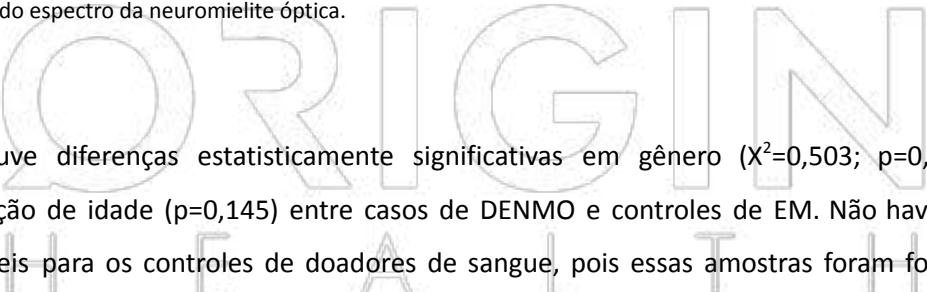
Estatísticas não paramétricas foram usadas para avaliar diferenças na distribuição demográfica de casos e controles. O ponto de corte ideal para o nível de anticorpo ELISA foi avaliado usando a análise da curva ROC. Sensibilidade e especificidade com intervalos de confiança de 95% foram calculados e o grau de concordância entre os ensaios foi avaliado por meio do coeficiente kappa de Cohen.

No total, foram encaminhados 189 casos suspeitos de DENMO. Destes, 8/189 (4%) foram excluídos devido à falta de uma amostra de soro disponível. Dos 181 casos suspeitos de DENMO, 80 preencheram os critérios de diagnóstico IPND de 2015 para DENMO, 73/80 (91%) eram soropositivos para anticorpos AQP4 e 7/80 (9%) eram soronegativos, permanecendo 101 casos suspeitos de DENMO. Nem todos os casos de DENMO soronegativos foram testados com todos os ensaios. Foram encaminhados 108 casos de EM, dos quais 7/108 (6%) não tinham soro disponível, restando 101 controles de EM incluídos. O soro estava disponível para 49 doenças inflamatórias e 103 controles de doadores de sangue. Os controles da doença inflamatória incluíram: lúpus eritematoso sistêmico (15), síndrome de Sjögren (8), infecção por citomegalovírus (9), infecção pelo vírus Epstein-Barr (7) e infecção por varicela zoster (6). Os detalhes demográficos para casos e controles são fornecidos na Tabela 27.

Tabela 27. Detalhes demográficos dos casos e controles.

Grupo testado	N	Gênero feminino, n/N (%)	Idade em anos, mediana (intervalo)
CASOS			
DENMO	80	71/80 (89)	47 (19-85)
DENMO suspeitos	101	68/101 (67)*	40 (15 – 72)*
CONTROLES			
EM	101	86/101 (85)	46 (16 – 73)
Doença inflamatória	49	30/49 (61)*	59 (21 – 97)*
Doadores de sangue	103	N/A	N/A
Geral	253	116/150 (77)*	49.5 (16 – 97)

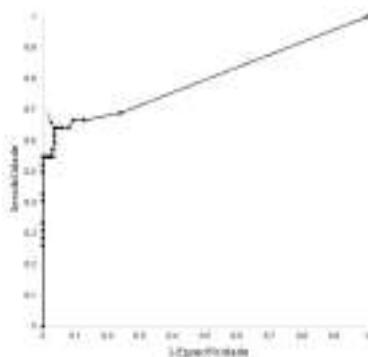
Fonte: Prain 2019 (45). *Estatisticamente diferente dos casos de DENMO de forma significativa ($p < 0,05$). DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica.



Não houve diferenças estatisticamente significativas em gênero ($\chi^2=0,503$; $p=0,478$) ou distribuição de idade ($p=0,145$) entre casos de DENMO e controles de EM. Não havia dados disponíveis para os controles de doadores de sangue, pois essas amostras foram fornecidas anonimamente, conforme exigido pela Cruz Vermelha Australiana. Os controles de doença inflamatória eram mais velhos, mas quando combinados com os controles de EM não foram significativamente diferentes dos casos de DENMO. A proporção de mulheres em controles de doenças inflamatórias (61%) em comparação com casos de DENMO (89%) foi significativamente menor ($\chi^2=13,548$; $p<0,001$). Quando os controles de EM e doença inflamatória foram combinados, a proporção de mulheres aumentou (77%), mas permaneceu significativamente diferente ($\chi^2=4,474$; $p=0,034$).

A análise da curva ROC (Figura 8) dos resultados do kit de teste ELISA mostrou um corte ideal de igual ou superior a 10 (unidades arbitrárias), com uma sensibilidade de 60% (IC 95%: 45%-98%) e especificidade de 97% (IC 95%: 93%-98%). Este nível foi utilizado para determinar a positividade no ensaio ELISA.

Figura 8. Análise da curva ROC para o corte mais apropriado (seta) para ensaio ELISA AQP4.



Fonte: Prain 2019 (45).

O T-IIF foi realizado em 424/434 (98%) dos casos e controles. Um ensaio AQP4 baseado em células foi realizado em 307/434 (71%) dos casos e controles. A sensibilidade para vários ensaios em DENMO e suspeita de DENMO, juntamente com sua especificidade nos vários grupos de controle e controles gerais, é fornecida na Tabela 28. Os resultados dos biochips Euroimmun® M1 e M23 em uma lâmina compartilhada provaram ser idênticos e, portanto, esses resultados foram considerados em conjunto. Os ensaios mais sensíveis foram os baseados em células vivas e fixas, que mostraram resultados muito semelhantes (Tabela 28). A sensibilidade geral do ensaio baseado em células vivas foi de 92% (IC 95%: 78-97%) e a especificidade foi de 100% (IC 95%: 98-100%). Embora menos sensível (78% [IC 95%: 69-87%]), o ensaio de imunofluorescência indireta baseado em tecido também provou ser muito específico (99,6% [IC 95%: 98-100%]). O teste ELISA foi positivo em 6 controles de doenças inflamatórias, mas nenhum dos doadores de sangue ou controles de EM. O ensaio ELISA provou ser o menos sensível (60% [IC 95%: 45-98%]) e menos específico (97% [IC 95%: 93-98%]).

Tabela 28. Sensibilidade e especificidade dos ensaios de autoanticorpos.

Grupo testado	N	T-IIF	ELISA	EI-M1/M 23	EI-CBA	Ox-CBA	MOG
SENSIBILIDADE DO CASO (%)							
DENMO [IC95% para sensibilidade]	80	62/78 (78) [69-87]	25/42 (60) [45-73]	38/42 (90) [78-96]	34/36 (94) [82-99]	33/36 (92) [78-97]	0/48 (0) [0-7]

DENMO suspeito	101	-	-	-	-	-	8/79 (10)
ESPECIFICIDADE DO CONTROLE (%)							
DENMO suspeito	101	99/99 (100)	62/64 (97)	61/64 (95)	42/43 (98)	49/49 (100)	
EM	101	98/98 (100)	48/48 (100)	48/48 (100)	20/20 (100)	21/21 (100)	52/52 (100)
Doença inflamatória	49	49/49 (100)	43/49 (88)	49/49 (100)	49/49 (100)	49/49 (100)	48/49 (98)
Doadores de sangue	103	99/100 (99)	102/103 (99)	103/103 (100)	103/103 (100)	82/82 (100)	89/90 (99)
Geral [IC95% para especificidade]	354	346/346 (99,7) [98–100]	255/264 (97) [94–98]	242/245 (99) [97–100]	214/215 (99,5) [97–100]	201/201 (100) [98–100]	189/191 (99) [96–100]

Fonte: Prain 2019 (45). Todos os dados apresentados como Concordância n/N (%). Valores em negrito representam o coeficiente kappa de Cohen. O valor em itálico representa o valor de p. DENMO: doenças do espectro da neuromielite óptica; EI M1/M23: lámina de biochip Euroimmun® M1/M23; EI-CBA: ensaio baseado em células fixas Euroimmun® AQP4; ELISA: ensaio imunoenzimático; IC: intervalo de confiança; n/a: não aplicável; Ox-CBA: ensaio Oxford AQP4 baseado em células vivas; T-IIF: imunofluorescência indireta baseada em tecido.

O grau de concordância entre os testes, em geral, foi alto, particularmente para os ensaios baseados em células (Tabela 29). Nos casos suspeitos de DENMO, 5 casos foram positivos apenas no ensaio Euroimmun® M1/M23 ou no ELISA. Como esses casos foram negativos em todos os outros ensaios baseados em células, eles não foram incluídos nos casos de DENMO e permaneceram como suspeitos de DENMO. A inclusão dos casos suspeitos de DENMO como controles para o cálculo da especificidade não alterou significativamente os resultados.

Entre os casos suspeitos de DENMO, 8 foram positivos para anticorpos MOG. Um deles também foi positivo para os biochips AQP4 e MOG no mesmo ensaio baseado em células fixas. Este caso foi negativo para todos os outros ensaios baseados em células para anticorpos AQP4 e foi confirmado como positivo para anticorpos MOG pelo ensaio FACS e, portanto, não foi considerado um caso de DENMO, mas sim como um caso de doença desmielinizante relacionada a anticorpos MOG. Assim, não foi identificado nenhum caso duplo positivo de anticorpos AQP4 e MOG. Um caso positivo de anticorpo MOG atendeu aos critérios clínicos e radiográficos para diagnóstico de DENMO, mas foi considerado um caso de doença

desmielinizante relacionada a anticorpo MOG. Quando a análise de sensibilidade e especificidade foi restrita aos casos com testes disponíveis para todos os ensaios (AQP4 e MOG), os resultados não foram significativamente diferentes. Foi observada uma clara correlação entre o número de testes positivos (ensaios baseados em tecidos e células) e o nível de anticorpos ELISA. No entanto, níveis de anticorpos >100 foram observados em algumas amostras com apenas um resultado positivo nos outros ensaios.

Tabela 29. Concordância para ensaios de anticorpos AQP4.

Teste	T-IIF	ELISA	EI M1/M23	EI AQP4
ELISA	121/141 (86) 0,556 <0,001	n/a	-	-
EI M1/M23	131/141 (93) 0,790 <0,001	121/141 (86) 0,605 <0,001	n/a	-
EI AQP4	132/141 (94) 0,808 <0,001	122/141 (87) 0,620 <0,001	136/141 (96) 0,904 <0,001	n/a
Ox AQP4	134/141 (95) 0,847 <0,001	122/141 (87) 0,612 <0,001	136/141 (96) 0,902 <0,001	139/141 (99) 0,960 <0,001

Fonte: Prain 2019 (45). Todos os dados apresentados como Concordância n/N (%). Valores em negrito representam o coeficiente kappa de Cohen. O valor em itálico representa o valor de p. n/a: não aplicável; T-IIF: imunofluorescência indireta baseada em tecido; ELISA: ensaio imunoenzimático; EI M1/M23: lâmina de biochip Euroimmun® M1/M23; EI-CBA: ensaio baseado em células fixas Euroimmun® AQP4; Ox-CBA: ensaio Oxford AQP4 baseado em células vivas.

O estudo concluiu, após comparação de 5 testes para anticorpos anti-AQP4 em uma população de casos com suspeita de DENMO e controles, que de acordo com os critérios de diagnóstico do IPND de 2015 para DENMO, os ensaios baseados em células para AQP4 são sensíveis e altamente específicos, com desempenho melhor do que os ensaios baseados em tecido e ELISA.

4.5.2 Análise da qualidade da evidência

A classificação da qualidade da evidência foi feita por desfecho conforme apresentado nas Tabela 30 a Tabela 33. A tabela completa conforme a metodologia GRADE encontra-se no Anexo 6.

Tabela 30. Classificação da qualidade das evidências (versus ELISA)

Desfecho	Classificação
Sensibilidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Especificidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Acurácia	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Concordância	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa

Fonte: elaboração própria.

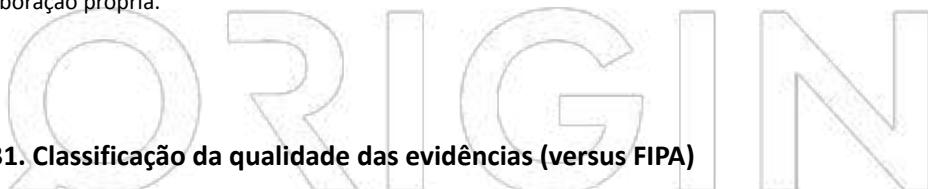


Tabela 31. Classificação da qualidade das evidências (versus FIPA)

Desfecho	Classificação
Sensibilidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Especificidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Concordância	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa

Fonte: elaboração própria.

Tabela 32. Classificação da qualidade das evidências (versus IHC)

Desfecho	Classificação
Sensibilidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Especificidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Concordância	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa

Fonte: elaboração própria.

Tabela 33. Classificação da qualidade das evidências (versus T-IIF)

Desfecho	Classificação
Sensibilidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Especificidade	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Acurácia	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa
Concordância	() Alta () Moderada () Baixa (x) Muito baixa

Fonte: elaboração própria.



4.5.3 Resumo das principais características, relevância e limitações dos estudos incluídos

Tabela 34. Estudos clínicos incluídos para análise.

Autor, data	Jarius 2010 (34)	Wu 2011 (35)	Kim 2012 (36)	Kang 2012 (37)
País onde estudo foi realizado	Alemanha	China	Coreia do Sul	Reino Unido
Desenho	Estudo de caso-controle diagnóstico	Estudo observacional prospectivo	Estudo de caso-controle diagnóstico	Estudo observacional prospectivo
População	151 amostras de soro de pacientes com DENMO (n=51) e controles (n=100).	134 pacientes (NMO=34; NMO atípica=12; EM=63; MTA=12; NO=13) e 93 controles. 66 amostras (27 com NMO, 26 com EM e 13 com NO) testadas.	124 amostras de soro (DENMO=54 [NMO=9; NO=32; MT=13]; EM=10; ODN=60).	46 amostras de soro de 36 pacientes como um conjunto de comparação (NMO=14; DENMO=11; EM=7; ODN=4) e outros 101 pacientes inscritos consecutivamente (NMO=6; MTLE=24; bNO/rNO=11; SCI=31; EM=7; ADEM=6; DNAI=2; ODN=14).
Intervenção e comparadores	Ensaio de rIFA vs. ensaio de IHC padrão para detecção de IgG anti-NMO e anticorpos anti-AQP4.	CBA vs. ELISA para detecção de anticorpos anti-AQP4.	IIF-tecidual vs. IIF baseado em células (IIF-AQP4) vs. ELISA-AQP4 para detecção de anticorpos anti-AQP4.	CIIFA, realizado em 2 instituições diferentes, vs. FIPA para detecção de anticorpos anti-AQP4.
Desfechos	Sensibilidade, especificidade, RV+ e RV-.	Sensibilidade e especificidade.	Concordância, taxas de soropositividade e especificidade.	Sensibilidade, especificidade e concordância.

Resultados	<p>Sensibilidade para NMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 65,6% • rIFA: 78,1% <p>Sensibilidade para DENMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 58,8% • rIFA: 70,6% <p>Especificidade para NMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 99,0% • rIFA: 100% <p>Especificidade para DENMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 99,0% • rIFA: 100% <p>RV- para NMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 0,35 • rIFA: 0,22 <p>RV- para DENMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 0,42 • rIFA: 0,29 <p>RV+ para NMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 65,63 • rIFA: ∞ <p>RV+ para DENMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC: 58,82 • rIFA: ∞ 	<p>Sensibilidade</p> <ul style="list-style-type: none"> • ELISA: 76,5% • CBA: 85,2% <p>Especificidade (para diagnóstico diferencial entre NMO e EM)</p> <ul style="list-style-type: none"> • ELISA: 95,8% • CBA: 100% <p>Consistência na detecção de AQP4-Ac em pacientes NMO: Kappa = 0,681; p=0,00</p> <p>Correlação significativa: $r = 0,689$; $p=0,000$ entre os resultados dos dois métodos.</p>	<p>Concordância</p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF-tecidual vs. IIF-AQP4: 95,2% (kappa: 0,641 = concordância substancial) • IIF-tecidual vs. ELISA-AQP4: 91,1% (kappa: 0,475 = concordância moderada) • IIF-AQP4 vs. ELISA-AQP4: 92,7% (kappa: 0,571 = concordância moderada) <p>Especificidade para NMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF tecidual: 87,0% • IIF-AQP4: 92,2% • ELISA-AQP4: 92,2% <p>Especificidade para DENMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF tecidual: 97,1% • IIF-AQP4: 95,7% • ELISA-AQP4: 95,7% 	<p>Sensibilidade para NMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • CIIFA: 86% • FIPA: 79% <p>Sensibilidade para NMO alto risco</p> <ul style="list-style-type: none"> • CIIFA: 55% • FIPA: 36% <p>Especificidade para NMO</p> <ul style="list-style-type: none"> • CIIFA: 91% • FIPA: 100% <p>Especificidade para NMO alto risco</p> <ul style="list-style-type: none"> • CIIFA: 91% • FIPA: 100% <p>Concordância CIIFA A e CIIFA B</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concordância: 76% • Kappa: 0,6522 <p>Concordância CIIFA A e FIPA</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concordância: 89% • Kappa: 0,781

Limitações	<p>IHC e rIFA representam ensaios semiquantitativos, uma vez que os resultados são dados como títulos de anticorpos ou pontuações de intensidade. Esta é uma desvantagem quando as duas abordagens são comparadas aos ensaios de imunoprecipitação, que fornecem dados quantitativos sobre os níveis séricos de anticorpos.</p> <p>O desenho do estudo (caso-controle diagnóstico) é considerado um fator para introdução de potenciais vieses nos resultados.</p>	<p>A sensibilidade dos testes pode variar significativamente entre raças e o estudo incluiu apenas população asiática.</p>	<p>Número relativamente pequeno de pacientes com NMO incluídos. O valor prognóstico dos anticorpos AQP4 para prever o curso clínico do paciente ou a resposta ao tratamento não foram avaliados.</p> <p>O desenho do estudo (caso-controle diagnóstico) é considerado um fator para introdução de potenciais vieses nos resultados.</p> <p>A sensibilidade dos testes pode variar significativamente entre raças e o estudo incluiu apenas população asiática.</p>	<p>Na comparação CIIFA interno vs. CIIFA disponível comercialmente, resultados discordantes decorreram de um padrão de fluorescência inconclusivo no CIIFA interno, derivado principalmente da má qualidade da preparação do substrato celular. No FIPA interno, diversas etapas podem causar variabilidade durante o procedimento.</p> <p>Considerando diferenças nos critérios diagnósticos, desenho do estudo e método de teste, comparações diretas dos valores diagnósticos de AQP4-Ac relatados em outros estudos podem não ser aplicáveis.</p>
------------	--	--	--	---

ADEM: encefalomielite aguda disseminada; AQP4-Ac: anticorpo anti-aquaporina-4; bNO/rNO: neurite óptica bilateral simultânea/neurite óptica recorrente; CBA: ensaio baseado em células; CIIFA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em células; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; DNAI: doenças neurológicas autoimunes; ELISA: ensaio imunoenzimático; EM: esclerose múltipla; FIPA: ensaio de imunoprecipitação com fluorescência; IHC: imuno-histoquímica; IIF: imunofluorescência indireta; MT: mielite transversa; MTA: mielite transversa aguda; NMO: neuromielite óptica; NO: neurite óptica; ODN: outras doenças neurológicas; rIFA: ensaio de imunofluorescência recombinante; RV-: razão de verossimilhança negativa; RV+: razão de verossimilhança positiva; SCI: síndrome clínica isolada.

Tabela 35. Estudos clínicos incluídos para análise (continuação).

Autor, data	Isobe 2012 (38)	Höftberger 2013 (39)	Marignier 2013 (40)	Fryer 2014 (41)
País onde estudo foi realizado	Japão	França, Espanha e Áustria	França	Estados Unidos da América
Desenho	Estudo de caso-controle diagnóstico	Estudo de caso-controle diagnóstico	Estudo de caso-controle diagnóstico	Estudo de caso-controle diagnóstico
População	Soros de 142 pacientes com EM, 29 com NMO, 19 com mielite recorrente e/ou MTLE, 86 com outras doenças neurológicas e 28 controles saudáveis.	Soros de 103 pacientes com NMO e 122 controles.	Soros de pacientes com NMO e DENMO (n=87, provenientes da coorte francesa NOMADMUS) e 54 controles (31 EM, 9 SPN, 11 CS e 3 ODN).	Soros de pacientes neurológicos (4 grupos) e controles (n=338). Grupo 1 (n=388): todos os pacientes da Mayo Clinic testados de janeiro a maio de 2012; grupo 2 (n=30): pacientes consecutivos positivos para AQP4-IgG desde setembro de 2011 (Mayo e não-Mayo); grupo 3 (n=31): suspeitos falso-negativos por ELISA de 2011 a 2013 (alta probabilidade de DENMO clinicamente); grupo 4 (n=41): suspeitos falso-positivos por ELISA (não DENMO clinicamente).
Intervenção e comparadores	IFA (CBA), FCMA e ELISA para detecção de anticorpos anti-AQP4.	IHC otimizada (IHC-o) vs. CBA <i>in house</i> (CBA-ih) vs. CBA comercial (CBA-c) para detecção de anticorpos anti-AQP4.	CBA otimizado com a isoforma AQP4-M23 em células vivas vs. CBA clássico AQP4-M1 em células fixas vs. IIF tecidual.	ELISA, isoforma M1 vs. ensaios de fluorescência baseados em células: tipo fixo (CBA, M1-AQP4) vs. células vivas (FACS, isoformas M1 e M23).

Desfechos	Sensibilidade e especificidade	Sensibilidade, especificidade e concordância	Sensibilidade, especificidade, VPP e VPN	Sensibilidade, especificidade, RV+
Resultados	<p><u>Sensibilidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IFA: 41,4% • FCMA: 51,7% • ELISA: 48,3% <p><u>Especificidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IFA: 97,1% • FCMA: 97,1% • ELISA: 96,7% 	<p><u>Sensibilidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC-o: 75% • CBA-ih: 76% • CBA-c: 74% <p><u>Especificidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IHC-o: 100% • CBA-ih: 100% • CBA-c: 100% <p><u>Concordância</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • CBA-ih vs. IHC-o: kappa= 0,99; $p <0,0001$ • CBA-ih vs. CBA-c: kappa= 0,98; $p <0,0001$ • IHC-o vs. CBA-c: kappa= 0,97; $p <0,0001$ 	<p><u>Sensibilidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • CBA clássico: 57,4% • CBA-otimizado: 74,4% • IIF tecidual: 54% <p><u>Especificidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • CBA clássico: 100% • CBA-otimizado: 100% <p><u>VPP</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • CBA clássico: 100% • CBA-otimizado: 100% <p><u>VPN</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • CBA clássico: 59,3% • CBA-otimizado: 71% 	<p><u>Sensibilidade (Grupo 1)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • M1-FACS: 83% • M23-FACS: 75% • M1-ELISA: 58% • M1-CBA: 75% <p><u>Especificidade (Grupo 1)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • M1-FACS: 100% • M23-FACS: 95% • M1-ELISA: 99% • M1-CBA: 100% <p><u>RV+ (Grupos 1 e 2)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • M1-FACS: 65,9 (IC 95%: 16,7–267,9) • M23-FACS: 6,6 (3,9–10,8) • M1-ELISA: 18,8 (7,5–47-3) • M1-CBA: 54,8 (13,4–224)
Limitações	<p>O desenho do estudo pode introduzir vieses nos resultados.</p> <p>A sensibilidade dos testes pode variar significativamente entre raças e o estudo incluiu apenas população asiática (japoneses).</p>	<p>O desenho do estudo pode introduzir vieses nos resultados.</p> <p>O objetivo foi comparar sensibilidade e especificidade, mas não abordar seu valor no diagnóstico, limitado pelo viés na seleção das amostras.</p>	<p>O desenho do estudo (caso-controle diagnóstico) é considerado um fator para introdução de potenciais vieses nos resultados.</p> <p>Comparação apenas entre diferentes testes CBA. Não compara CBA vs. outros métodos.</p>	<p>O desenho do estudo (caso-controle diagnóstico) é considerado um fator para introdução de potenciais vieses nos resultados.</p>

AQP4: aquaporina-4; CBA: ensaio baseado em células; CBA-c: ensaio baseado em células comercial; CBA-ih: ensaio baseado em células desenvolvido internamente, do inglês, *in-house cell-based assay*; CS: controles saudáveis; ELISA: ensaio imunoenzimático; EM: esclerose múltipla; FACS: separador celular ativado por fluorescência; FCMA: ensaio de citometria de fluxo; IC: intervalo de confiança; IC: intervalo de confiança; IFA: ensaio de imunofluorescência; IHC-o: imuno-histoquímica otimizada; IIF: imunofluorescência indireta; MTLE: mielite transversa longitudinalmente extensa; NMO: neuromielite óptica; ODN: outras doenças neurológicas; RV+: razão de verossimilhança positiva; SPN: síndromes paraneoplásicas; VPN: valor preditivo negativo; VPP: valor preditivo positivo.

ORIGIN
HEALTH

CDD

Tabela 36. Estudos clínicos incluídos para análise (continuação).

Autor, data	Siritho 2014 (42)	Ruiz-Gaviria 2015 (33)	Waters 2016 (43)
País onde estudo foi realizado	Tailândia	-	Dinamarca, França, Alemanha, Hungria, Reino Unido e Noruega.
Desenho	Estudo observacional retrospectivo	Revisão sistemática e meta-análise	Estudo de caso-controle diagnóstico
População	Soros de 122 pacientes tailandeses com suspeita de doenças inflamatórias desmielinizantes idiopáticas do SNC.	30 estudos de caso-controle e de inscrição consecutiva que avaliaram o desempenho dos imunoensaios em pacientes com suspeita de NMO em comparação com os critérios diagnósticos de Wingerchuk de 2006.	Amostras codificadas de pacientes com NMO ou DENMO (n=101) e controles (n=92).
Intervenção e comparadores	CBA com o método Sendai (<i>Post-fixed-CBA</i>) vs. um kit comercial (<i>Pre-fixed-CBA</i>) vs. IIF baseada em tecidos (IIF-TBA).	CBA (21 estudos com 653 pacientes NMO e 2.224 controles) vs. TBA (15 estudos com 555 pacientes NMO e 3.223 controles) vs. ELISA (5 estudos com 138 pacientes NMO e 723 controles).	21 testes, incluindo ensaios em células vivas (n=3) ou baseados em células fixas (n=10), citometria de fluxo (n=4), IHC (n=3) e ELISA (n=1).
Desfechos	Sensibilidade, especificidade, VPP, VPN, acurácia e concordância	Sensibilidade e especificidade	Sensibilidade, especificidade, RV+, RV- e acurácia.

Resultados	<p><u>Sensibilidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF-TBA: 52,1% • <i>Pre-fixed</i> CBA: 83,3% <p><u>Especificidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF-TBA: 100% • <i>Pre-fixed</i> CBA: 66,7% <p><u>VPP</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF-TBA: 100% • <i>Pre-fixed</i> CBA: 97,6% <p><u>VPN</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF-TBA: 11,5% • <i>Pre-fixed</i> CBA: 20,0% <p><u>Acurácia</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF-TBA: 54,90 • <i>Pre-fixed</i> CBA: 82,35 <p><u>Concordância</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • IIF-TBA vs. <i>Pre-fixed</i> CBA: kappa= 0,546 • IIF-TBA vs. <i>Post-fixed</i> CBA: kappa= 0,518 • <i>Pre-fixed</i> CBA vs. <i>Post-fixed</i> CBA: kappa= 0,758 	<p><u>Sensibilidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • CBA: 0,76 (IC95%: 0,67–0,82) • TBA: 0,59 (0,50–0,67) • ELISA: 0,65 (0,53–0,75) <p><u>Especificidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • CBA: 0,99 (IC 95%: 0,97–0,99) • TBA: 0,98 (0,97–0,99) • ELISA: 0,97 (0,96–0,99) 	<p>As sensibilidades variaram de 51,5% a 100% nos 21 testes.</p> <p>As especificidades variaram de 85,8% a 100%.</p> <p>3 testes foram 100% sensíveis: 2 CBAs vivos e 1 FACS, todos baseados em AQP4-M23.</p> <p>Outros 10 mostraram sensibilidade >92%: o terceiro CBA em células vivas (98,5%), um ensaio FACS (97,0%), um TBA-IHC (98,5%) e 7 CBAs fixos (92,4–93,9%).</p>
------------	--	---	--

Limitações	<p>A sensibilidade dos testes pode variar significativamente entre raças e o estudo incluiu apenas população tailandesa.</p> <p>Pequeno tamanho amostral; título de anticorpo AQP4 não disponível para prever o curso clínico ou a resposta aos tratamentos.</p>	<p>Inclusão de diferentes desenhos de estudo.</p> <p>Exclusão de população classificada como DENMO nos estudos individuais.</p> <p>Potenciais diferenças técnicas entre os métodos utilizados nos estudos individuais.</p>	<p>O desenho do estudo (caso-controle diagnóstico) é considerado um fator para introdução de potenciais vieses nos resultados.</p> <p>Variações de sensibilidade e especificidade podem ocorrer por diferenças na metodologia dos testes, processamento da amostra e pontos de corte entre diferentes locais.</p>
-------------------	--	--	---

AQP4: aquaporina-4; IC: intervalo de confiança; CBA: ensaio baseado em células; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; ELISA: ensaio imunoenzimático; EM: esclerose múltipla; FACS: separador celular ativado por fluorescência; IHC: imuno-histoquímica; IIF-TBA: ensaio de imunofluorescência indireta baseado em tecidos; NMO: neuromielite óptica; RV-: razão de verossimilhança negativa; RV+: razão de verossimilhança positiva; SNC: sistema nervoso central; TBA: ensaio baseado em tecidos; VPN: valor preditivo negativo; VPP: valor preditivo positivo.



Tabela 37. Estudos clínicos incluídos para análise (continuação).

Autor, data	Long 2017 (44)	Prain 2019 (45)
País onde estudo foi realizado	China	Austrália e Nova Zelândia
Desenho	Estudo de caso-controle diagnóstico	Estudo de caso-controle diagnóstico
População	1.011 amostras de soro e 171 amostras de líquor de 1.011 participantes consecutivos, recrutados em 22 hospitais. 1.011 participantes foram divididos em oito grupos de acordo com os perfis clínicos após o teste de anticorpos AQP4 pelo primeiro CBA comercial. Os revisores conheciam os resultados do teste comercial e os diagnósticos dos pacientes ao usar os testes internos.	Pacientes com suspeita de DENMO (n=181) e controles (n=253)
Intervenção e comparadores	CBA comercial, M23-CBA <i>in-house</i> e M1-CBA <i>in-house</i>	CBA (EI-M1/M23, EI-CBA, Ox-CBA) vs. IIF-TBA vs. ELISA
Desfechos	Soropositividade	Sensibilidade, especificidade, concordância

Resultados	<p><u>Soropositividade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● CBA comercial: 20,4% ● M1-CBA <i>in-house</i>: 12,2% ● M23-CBA <i>in-house</i>: 27,4% ● Houve diferenças significativas entre os três ensaios ($p < 0,0001$). <p>No reteste, todos os 206 participantes positivos por CBA comercial também produziram resultados positivos por M23-CBA <i>in-house</i> e o segundo CBA comercial, mas apenas 124 foram positivos em M1-CBA <i>in-house</i>.</p>	<p><u>Sensibilidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● EI-CBA: 94% (IC 95%: 82-99%) ● IIF-TBA: 78% (IC 95%: 69-87%) ● ELISA: 60% (IC 95%: 45-98%) <p><u>Especificidade</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ● EI-CBA: 99,5% (IC 95%: 98-100%) ● IIF-TBA: 99,7% (IC 95%: 98-100%) ● ELISA: 97% (IC 95%: 93-98%) <p>O grau de concordância entre os testes foi alto, particularmente para os CBA.</p>
Limitações	<p>Comparação apenas entre diferentes testes CBA. Não compara CBA vs. outros métodos.</p> <p>O desenho do estudo (caso-controle diagnóstico) é considerado um fator para introdução de potenciais vieses nos resultados.</p> <p>Devido à natureza retrospectiva do estudo, o diagnóstico dos pacientes foi feito após o teste de anticorpos AQP4. Portanto, não é possível calcular a sensibilidade e especificidade dos três testes atuais.</p> <p>Os revisores do estudo conheciam os resultados do teste comercial e os diagnósticos dos pacientes ao usar os ensaios internos.</p>	<p>O desenho do estudo (caso-controle diagnóstico) é considerado um fator para introdução de potenciais vieses nos resultados.</p> <p>O fato de nem todos os casos terem sido avaliados usando todos os ensaios é uma limitação, mas quando a análise foi restrita apenas aos casos testados para todos os ensaios de anticorpos AQP4, os resultados não foram significativamente diferentes.</p> <p>A falta de critérios de inclusão clínica para apresentações mais raras (por exemplo, área de lesão postrema) é outra fraqueza do estudo. Casos com essas características foram incluídos e o número de casos perdidos provavelmente foi pequeno. No entanto, dependendo da frequência relativa de anticorpos AQP4 positivos nesses casos, isso pode ter afetado a sensibilidade relatada. Não há dados que sugiram que a taxa de soropositividade nesses casos seja diferente.</p>

AQP4: aquaporina-4; ELISA: ensaio imunoenzimático; DENMO: distúrbios do espectro da neuromielite óptica; T-IIF: imunofluorescência indireta baseada em tecido; ELISA: ensaio imunoenzimático; EI M1/M23: lâmina de biochip Euroimmun® M1/M23; EI-CBA: ensaio baseado em células fixas Euroimmun® AQP4; Ox-CBA: ensaio Oxford AQP4 baseado em células vivas.

5. Avaliação Econômica

5.1 Introdução

Foi realizada uma avaliação econômica para estimar os custos incrementais do teste de detecção de AQP4 por imunofluorescência indireta em CBA para o diagnóstico do distúrbio do espectro da neuromielite óptica.

Como apresentado anteriormente, os estudos demonstram que o ensaio CBA apresenta valores superiores em termos de sensibilidade e, demonstra valores elevados de especificidade em pacientes com DENMO, dessa forma, uma análise de custo-efetividade foi desenvolvida.

Além disso, com o objetivo de aumentar a transparência do estudo proposto, os principais aspectos da análise foram sumarizados conforme o *checklist* da *Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards 2022* (CHEERS 2022) (Tabela 38). (46)

Tabela 38. Características do estudo desenvolvido.

População-alvo	Pacientes com suspeita de DENMO.
Perspectiva da análise	Sistema Único de Saúde.
Intervenção	Teste de detecção em soro de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em células transfectadas (CBA).
Comparadores	Diagnóstico sem teste específico.
Horizonte temporal	1 ano.
Medidas de efetividade	Diagnósticos corretos.
Taxa de desconto	Não se aplica devido ao curto horizonte temporal.
Estimativa de custos	Custo de aquisição do teste e custos para diagnóstico convencional.
Moeda	Real (R\$)
Tipo de modelo	Análise de Custo-Efetividade
Tipo de modelagem	Árvore de decisão.
Análise de sensibilidade	Determinística univariada – Diagrama de Tornado Probabilística – Método de Monte Carlo

5.2 População alvo

Pacientes com suspeita de DENMO.

5.3 Intervenção

Teste de detecção em soro de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em células transfectadas (CBA).

5.4 Comparadores

Como comparador da análise, foi utilizado o diagnóstico de DENMO segundo os critérios diagnósticos de 2015 (20), que permite o diagnóstico de DENMO para pessoas com síndromes clínicas compatíveis.

5.5 Perspectiva

A avaliação foi conduzida sob a perspectiva do SUS.



5.6 Horizonte de tempo

O horizonte de tempo para a presente análise foi de 1 ano.

5.7 Taxa de desconto

Para o presente modelo, não foi aplicada taxa de desconto para custos e desfechos devido ao horizonte temporal inferior a um ano, seguindo as recomendações das Diretrizes Metodológicas para Estudos de Avaliação Econômica de Tecnologias em Saúde, publicado pelo Ministério da Saúde. (47)

5.8 Estrutura do modelo

Foi construído um modelo de árvore de decisão utilizando o Microsoft Office Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA) para comparar os custos, efetividade e a relação de custo-efetividade entre utilizar o teste anti-AQP4 e o diagnóstico convencional, sem teste específico.

Os pacientes com suspeita de DENMO iniciam o modelo e podem seguir o fluxo de diagnóstico utilizando o teste anti-AQP4 ou sem utilizar teste específico. Os pacientes que utilizam o teste anti-AQP4 podem apresentar os resultados: verdadeiro positivo, falso positivo, falso negativo e verdadeiro negativo. Já os pacientes que seguirão o fluxo sem teste específico, poderão ser diagnosticados incorretamente ou até mesmo podem ter um diagnóstico inconclusivo. O modelo está apresentado na Figura 9.

Figura 9. Modelo econômico desenvolvido.



Fonte: Elaboração própria. AQP4: Aquaporina-4; DENMO: Distúrbio do espectro da neuromielite óptica.

5.9 Estrutura do modelo

5.9.1 Parâmetros de eficácia do teste CBA Anti-AQP4

Para os parâmetros de sensibilidade e especificidade, foram usados os dados do estudo de Ruiz-Gaviria et al., 2015 (33), mais especificamente os dados do teste pela metodologia de CBA. Os valores utilizados são apresentados na Tabela 39.

Tabela 39. Parâmetros de eficácia do teste anti-AQP4.

Sensibilidade	0,76 (0,67 – 0,82)
Especificidade	0,99 (0,97 – 0,99)

Fonte: Elaboração própria.

5.9.2 Parâmetros de eficácia do diagnóstico convencional

McCreary et al., 2018 (48), compararam os resultados de pacientes positivos para AQP4 que atenderam os critérios diagnósticos de neuromielite óptica de 2006 com pacientes que atenderam os critérios de diagnóstico de NMO de 2015. De 129 pacientes incluídos no estudo, somente sete (5,4%) preencheram os critérios de diagnósticos de 2006.

Com base na evidência acima, foi assumido, na ausência de testes, que 5,4% dos pacientes atenderão aos critérios clínicos na apresentação inicial e serão diagnosticados corretamente com DENMO. Além disso, 64,77% dos pacientes receberão inicialmente um diagnóstico incorreto e os demais pacientes (29,83%), receberão um diagnóstico inconclusivo. (Tabela 40) (48)

Tabela 40. Parâmetros de eficácia do diagnóstico convencional.

Pacientes corretamente diagnosticados	5,40%
Pacientes diagnosticados incorretamente	64,77%
Pacientes com diagnóstico inconclusivo	29,83%

Fonte: Elaboração própria.

5.10 Uso de recursos de custo

Os custos considerados na análise são relacionados ao teste diagnóstico anti-AQP4 e ao uso de recursos relacionados aos exames necessários para o diagnóstico atual. O custo proposto por teste anti-AQP4 é de R\$ 122,33. Já para o diagnóstico convencional, o custo estimado seria de R\$ 913,45. Os recursos considerados, bem como o valor unitário considerado, estão apresentados na Tabela 41.



Tabela 41. Uso de recursos para diagnóstico de DENMO.

Parâmetro	% em uso	Quantidade	Custo	Custo total	Fonte	Código
Consulta	100%	2	R\$ 10,00	R\$ 20,00	SIGTAP – 11/2023 (6)	03.01.01.007-2
Hemograma completo	100%	1	R\$ 4,11	R\$ 4,11	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.02.038-0
Glicose	100%	1	R\$ 1,85	R\$ 1,85	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.047-3
Sódio	100%	1	R\$ 1,85	R\$ 1,85	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.063-5
Potássio	100%	1	R\$ 1,85	R\$ 1,85	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.060-0
Cálcio	100%	1	R\$ 1,85	R\$ 1,85	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.021-0
Creatinina	100%	1	R\$ 1,85	R\$ 1,85	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.031-7
Ácido Úrico	100%	1	R\$ 1,85	R\$ 1,85	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.012-0
Proteínas Totais	100%	1	R\$ 1,40	R\$ 1,40	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.061-9
Ureia	100%	1	R\$ 1,85	R\$ 1,85	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.069-4
Gama-GT	100%	1	R\$ 3,51	R\$ 3,51	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.046-5
RM - Crânio	100%	1	R\$ 268,75	R\$ 268,75	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.07.01.006-4
RM - Cervical	100%	1	R\$ 268,75	R\$ 268,75	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.07.01.003-0
RM - Torácica	100%	1	R\$ 268,75	R\$ 268,75	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.07.01.005-6
Punção do líquor	100%	1	R\$ 7,04	R\$ 7,04	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.01.01.063-1
Exame líquor - contagem específica de células	100%	1	R\$ 1,89	R\$ 1,89	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.09.005-1
Exame líquor - contagem global de células	100%	1	R\$ 1,89	R\$ 1,89	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.09.006-0
Exame líquor - eletroforese proteínas	100%	1	R\$ 5,23	R\$ 5,23	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.09.015-9
Exame líquor - pesquisa de caractres físicos	100%	1	R\$ 1,89	R\$ 1,89	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.09.023-0
Cultura Líquor	100%	1	R\$ 5,62	R\$ 5,62	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.08.008-0
Dosagem de vitamina B12	100%	1	R\$ 15,24	R\$ 15,24	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.070-8
Dosagem de vitamina D	100%	1	R\$ 15,24	R\$ 15,24	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.02.01.076-7
Consulta oftalmo	67%	1	R\$ 10,00	R\$ 6,70	SIGTAP – 11/2023 (6)	03.01.01.007-2
Acuidade visual	67%	1	R\$ 3,37	R\$ 2,25	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.11.06.015-1
Fundoscopia	67%	1	R\$ 3,37	R\$ 2,25	SIGTAP – 11/2023 (6)	02.11.06.010-0
Total				R\$ 913,45		

ORIGIN
H E A L T H

COD

5.11 Resultados

Os resultados comparativos das estratégias alternativas de diagnóstico foram medidos através do custo incremental. Esta é definida, para duas ou mais alternativas de diagnósticos específicas, como o custo adicional proporcionado pela tecnologia em análise.

Os resultados da análise de custo-efetividade estão apresentados na Tabela 42.

Tabela 42. Resultados da análise de custo-efetividade.

Desfechos	Com Anti-AQP4	Sem teste	Incremental
Custo total	R\$ 1.035,78	R\$ 913,45	R\$ 122,33
Diagnósticos corretos	89%	67%	22%
RCEI	-	-	R\$ 561,22

Fonte: Elaboração própria. AQP4: Aquaporina 4; RCEI: Razão de custo-efetividade incremental.

A análise de custo-efetividade apresentou um resultado em que, a incorporação do teste anti-AQP4, resultaria em um aumento de custos de R\$ 122,33 por paciente quando comparado à conduta atual. Considerando os resultados de diagnósticos corretos, o uso do teste proporcionou um incremento de 22% na capacidade de diagnosticar um paciente corretamente, dessa forma, a RCEI calculada foi de R\$ 561,22.

Com base nos resultados descritos, seria necessário um investimento de R\$ 561,22 para cada diagnóstico correto adicional. Vale ressaltar que a RCEI está bem abaixo de 1 PIB per capita, além disso, os resultados apresentados são conservadores, uma vez que outros custos relacionados ao diagnóstico e consequentemente tratamento equivocado não foram considerados.

Uma parcela importante dos pacientes diagnosticados de forma incorreta, recebem o diagnóstico de EM (48), e além do tratamento da esclerose múltipla ser mais caro do que de DENMO, pacientes com DENMO tratados para EM podem evoluir para pior prognóstico, a depender da droga modificadora de doença prescrita.

5.12 Análise de sensibilidade

Um importante elemento em um estudo econômico para a tomada de decisão é a quantificação da incerteza envolvida nos seus resultados e a identificação das variáveis que mais afetam esta incerteza.

Na análise de sensibilidade univariada, cada parâmetro é avaliado separadamente na sua faixa de variação, enquanto os outros permanecem constantes. O seu objetivo é verificar a influência do parâmetro analisado no resultado a fim de determinar se é ou não sensível a suas mudanças. Quanto maior o impacto nos resultados da variação de um parâmetro, maior deve ser a precaução a ser tomada na interpretação dos resultados e na avaliação sobre a precisão de estimativa deste parâmetro específico no modelo.

A análise de sensibilidade probabilística representa um elemento importante na avaliação de um modelo econômico. É usada como forma de se representar as variações entre pacientes encontradas na prática clínica. Neste tipo de análise, os diversos parâmetros do modelo são variados simultaneamente. A cada nova iteração, uma coorte simulada de pacientes é criada, cada qual com suas características próprias, de forma a refletir a variação entre pacientes vista na prática clínica. Cada um destes pacientes que integram a coorte simulada tem sua própria variação de custo e utilidade, gerando, assim, uma RCUI/RCEI própria.

A partir destes dados é possível avaliar, através da análise de quadrantes, qual a probabilidade média do procedimento ser custo-efetivo e estar dentro de um limite de disposição a pagar, podendo, assim, ser chamado de custo-efetivo.

Todos os parâmetros da análise foram variados de acordo com a distribuição apropriada para cada item. A análise de sensibilidade probabilística foi calculada com 1.000 iterações.

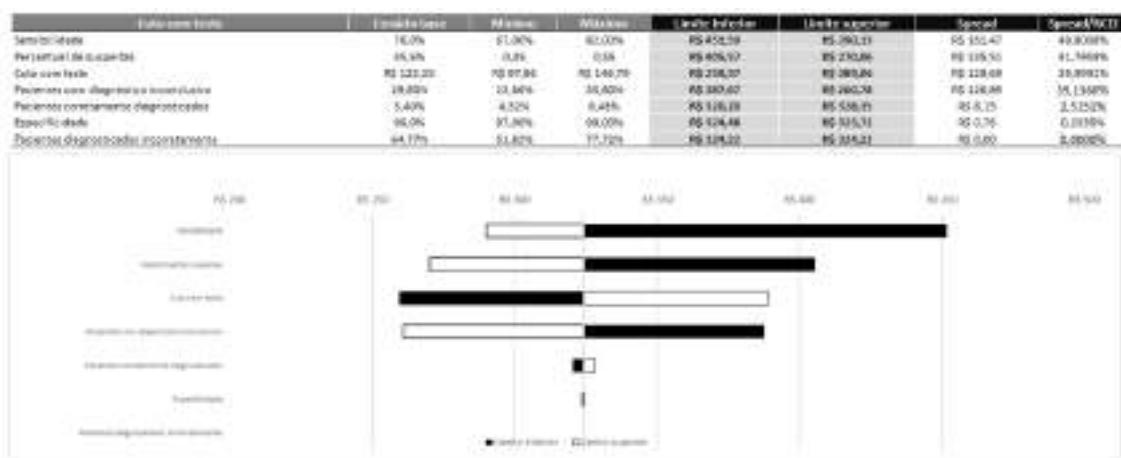
Os resultados foram avaliados e classificados em: Quadrante 1 (efetividade incremental > 0 e custo incremental > 0); Quadrante 2 (efetividade incremental < 0 e custo incremental > 0); Quadrante 3 (efetividade incremental < 0 e custo incremental < 0) e Quadrante 4 (efetividade incremental > 0 e custo incremental < 0).

5.12.1 Análise de sensibilidade univariada

Os parâmetros sujeitos a incerteza no modelo econômico foram variados em análise de sensibilidade univariada de acordo com seus respectivos desvios padrão, quando disponíveis, ou em um intervalo arbitrário de $\pm 20\%$, em caso contrário.

Os resultados foram expressos de acordo com um diagrama de tornado representando a variação da RCEI decorrente da variação dos valores de cada parâmetro conforme os intervalos de propostos.

Figura 10. Resultados da análise de sensibilidade univariada.



Fonte: Elaboração própria.

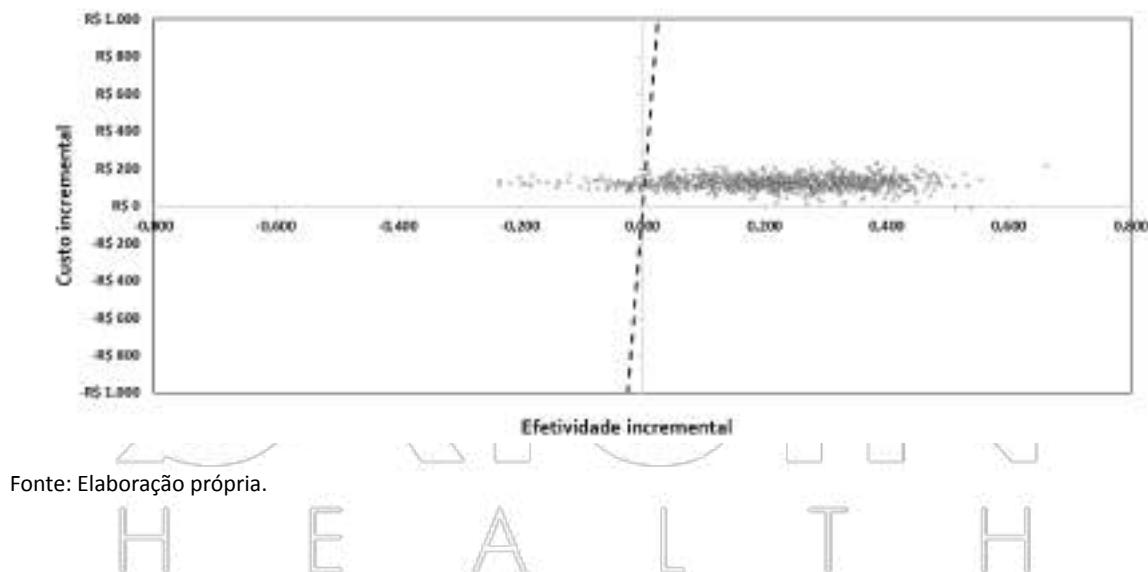
Os resultados da análise de sensibilidade univariada mostram que o parâmetro mais sensível da análise é a sensibilidade do teste anti-AQP4, seguido pelo percentual de suspeitas, custo com teste, pacientes com diagnóstico inconclusivo, pacientes corretamente diagnosticados e especificidade. O fato de a sensibilidade ter sido o parâmetro mais sensível da análise faz sentido, uma vez que estamos avaliando pacientes corretamente diagnosticados.

5.12.1 Análise de sensibilidade probabilística

Os parâmetros sujeitos a incerteza no modelo econômico foram variados em análise de sensibilidade probabilística de acordo com seus respectivos desvios padrão, quando disponíveis, ou em um intervalo arbitrário de $\pm 20\%$, em caso contrário.

A Figura 11 apresenta os resultados da análise de sensibilidade probabilística.

Figura 11. Resultado da análise de sensibilidade probabilística.



Fonte: Elaboração própria.

O resultado da análise de sensibilidade probabilística sugere que 92,6% dos resultados estariam no quadrante I, o que significa melhor eficácia, mas com maior custo. Além disso, 7,2% dos resultados ficaram no quadrante II e 0,2% no quadrante IV. Vale pontuar que a RCEI ficou bem inferior a um PIB per capita e isso se manteve nas 1.000 iterações.

6. Impacto orçamentário

A análise de impacto orçamentário é uma parte essencial da avaliação econômica de uma tecnologia. A finalidade da análise é estimar as consequências financeiras da adoção e difusão de uma nova intervenção dentro de um contexto de saúde específico. A análise permite prever como uma mudança no cenário de medicamentos e outras intervenções usadas para tratar uma determinada condição de saúde terá impacto sobre o orçamento reservado para esta finalidade.

O presente modelo de impacto orçamentário foi desenvolvido com o intuito de simular o impacto financeiro do uso de anti-AQP4 no diagnóstico de pacientes com suspeita de DENMO, sob a perspectiva do SUS.

6.1 Perspectiva

Foi adotada a perspectiva do SUS como fonte pagadora de serviços de saúde.

6.2 Intervenção e comparador

Assim como na análise de custo-efetividade, a intervenção adotada neste estudo foi o teste de detecção em soro de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em células transfetadas (CBA). O comparador adotado foi o diagnóstico convencional, de observação clínica, sem teste específico.

6.3 Horizonte temporal

Foi considerado um horizonte temporal de cinco anos, conforme as recomendações das Diretrizes Metodológicas de Análise de Impacto Orçamentário do Ministério da Saúde. (49)

6.4 Definição da população de interesse

O método epidemiológico foi utilizado para a definição da população elegível ao uso do teste anti-AQP4. Para isso, os seguintes parâmetros foram utilizados:

População brasileira projetada (2024): determina a população brasileira, projetada pelo IBGE, para o ano de 2024; (50)

Prevalência da DENMO: a prevalência da DENMO (2,30 por 100.000) foi utilizada para estimar, a partir da população brasileira, o número provável de pacientes prevalentes com DENMO. Esta prevalência representa o valor médio das prevalências apresentadas na revisão sistemática de incidência e prevalência de Papp *et al.*, 2021. (51) Esse valor se aproxima do estimado em estudo de Silva *et al.*, 2023 (2,1 por 100.000) (52) localizando-se no ponto central da prevalência estimada no Brasil, que pode variar entre 0,39-4,52 por 100.000, de acordo com estudos conduzidos no país.

Incidência da DENMO: a incidência da DENMO (0,18 por 100.000), estimada a partir das médias de incidência apresentadas em Papp *et al.*, 2021, (51) foi utilizada para determinar, a partir da população brasileira, o número de novos pacientes diagnosticados, ano a ano, ao longo do segmento de 5 anos após a incorporação. A revisão sistemática foi utilizada por não existirem dados de incidência da doença no país;

Fator de correção – Suspeita de DENMO: para o cálculo do fator de correção, foram utilizados dados coletados através de uma enquete realizada pela Academia Brasileira de Neurologia com neurologistas associados ao Departamento científico de Neuroimunologia que, em sua maioria, atendem frequentemente pessoas com DENMO. A partir das respostas dos neurologistas, o número total de testes realizados no Brasil no período de 2022, totalizando 2.526 exames. Destes exames solicitados, 805 pacientes eram AQP4 positivo. (53) Assumindo que 58,20% (54) dos pacientes com NMO são AQP4 positivo, calculou-se que seria possível 1.386 pacientes serem AQP4 positivo. Por fim, ao dividir 2.526 por 1.386, o fator de correção de 1,8263 foi obtido.

6.5 Participação de mercado

Assumi-se que a utilização do teste seria total após a incorporação com o objetivo de avaliar qual seria o impacto total para o SUS.

6.6 Utilização de recursos e custos

Como detalhado anteriormente, os custos considerados na análise são relacionados ao teste diagnóstico anti-AQP4 e ao uso de recursos relacionados aos exames necessários para o diagnóstico atual. O custo proposto por teste anti-AQP4 é de R\$ 122,33. Já para o diagnóstico convencional, o custo estimado seria de R\$ 913,45. Como o diagnóstico convencional seria considerado em ambos os braços, a análise de impacto orçamentário considera somente o custo do teste.

6.7 Resultados

A partir do total de pacientes elegíveis e dos custos totais de diagnóstico de cada comparador, pode-se calcular o impacto orçamentário resultante da incorporação do teste anti-AQP4 ao SUS, conforme a Tabela 43.

Tabela 43. Resultado do impacto orçamentário.

Cenários	2024	2025	2026	2027	2028	Total
Diagnóstico com anti-AQP4	R\$ 1.112.363	R\$ 87.836	R\$ 88.602	R\$ 89.341	R\$ 90.040	R\$ 1.468.183
Diagnóstico convencional	R\$ 0	R\$ 0	R\$ 0	R\$ 0	R\$ 0	R\$ 0
Incremental	R\$ 1.112.363	R\$ 87.836	R\$ 88.602	R\$ 89.341	R\$ 90.040	R\$ 1.468.183

Fonte: Elaboração própria. AQP4: Aquaporina-4.

De forma conservadora, foi considerado que todos os pacientes prevalentes seriam testados no primeiro ano, consequentemente é possível notar o incremento maior no primeiro ano da análise. De toda forma, vale pontuar que os resultados sugerem um incremento discreto ao SUS.

6.8 Análise de cenários

Análises de cenário foram realizadas para avaliar a sensibilidade do impacto orçamentário em relação a parâmetros chave da análise.

Os seguintes parâmetros foram avaliados:

- **Prevalência:** a prevalência foi avaliada nos extremos definidos para o cenário nacional, de acordo com a literatura (0,39-4,52 por 100 mil);
- **Incidência:** a incidência foi avaliada de acordo com os valores mínimo e máximo apresentado em Papp *et al.*, 2021 (0,037-0,73 por 100 mil);

A influência dos parâmetros foi avaliada sobre o impacto incremental acumulado em 5 anos.

A Tabela 44 apresenta o impacto orçamentário incremental, acumulado em 5 anos, para os limites inferior e superior de cada parâmetro avaliado.

Tabela 44. Análise de Cenários – Impacto incremental acumulado em 5 anos.

Prevalência (0,39-4,52 por 100 mil)	A	R\$ 544.832	R\$ 2.546.427
Incidência (0,037-0,73 por 100 mil)	A	R\$ 1.185.667	R\$ 2.558.622

Fonte: Elaboração própria.

Considerando os diferentes cenários propostos, o impacto orçamentário incremental variou entre R\$ 544 mil e R\$ 2,5 milhões acumulados em 5 anos.

7. Considerações finais

O DENMO é uma doença imunomedida grave que acomete o sistema nervoso central (SNC), caracterizado, principalmente, por ataques predominantes de NO e MTLE. (1,2) Até poucos anos atrás, o DENMO (especialmente a NMO), para alguns autores, não era classificado como um distúrbio desmielinizante inflamatório independente, e sim uma variante da EM. Apenas após a identificação, em 2004, do autoanticorpo IgG contra a AQP4, uma proteína do canal de água dos astrócitos, foi feita a correlação entre AQP4-IgG e NMO, o que alterou definitivamente a compreensão da doença, e a absoluta separação do DENMO como uma entidade nosológica distinta da EM.

A diferenciação entre DENMO e EM continua sendo desafiadora. No entanto, desde a descoberta do anticorpo anti-AQP4, muitos estudos vêm sendo conduzidos com base em diferentes técnicas, que incluem imunofluorescência baseadas em tecidos, ensaios baseados em células (CBA), ensaios de imunoprecipitação com fluorescência, imuno-histoquímica e ensaios imunoenzimáticos, e o advento da testagem do anticorpo facilita enormemente a identificação precoce do diagnóstico nas pessoas com as síndromes típicas de DENMO ou com dúvida diagnóstica em relação a outras condições.

A acurácia e outros desfechos relacionados à avaliação de testes diagnósticos foram avaliadas neste parecer por meio de uma revisão sistemática da literatura para o teste de detecção de anticorpos anti-AQP4 por imunofluorescência indireta em CBA (único teste registrado no Brasil para essa avaliação). Após a aplicação dos critérios e elegibilidade pré-definidos, foram incluídos uma meta-análise (33) e 12 estudos individuais na revisão (34–40,42–45). Entre os 12 estudos individuais descritos, três (35,36,39) também foram incluídos na meta-análise publicada.

A meta-análise (33) conduzida por Ruiz-Gaviria e colaboradores e publicada em 2015 avaliou o CBA e também TBA e ELISA, especificamente para NMO. A sensibilidade e a especificidade estimadas foram de 0,76 (IC95%: 0,67–0,82) e 0,99 (IC 95%: 0,97–0,99) para o CBA. Para o TBA, a sensibilidade e a especificidade foram de 0,59 (IC 95%: 0,50–0,67) e 0,98 (IC 95%: 0,97–0,99), respectivamente. Para o teste ELISA, a sensibilidade e a especificidade foram 0,65 (IC 95%: 0,53–0,75) e 0,97 (IC 95%: 0,96–0,99). Outras análises de subgrupos para diferentes peptídeos (M1 e M23) ou tecidos (rato ou macaco) usados no CBA e TBA, respectivamente, não foram possíveis devido ao tamanho da amostra. O imunoensaio que apresentou melhor desempenho, portanto, foi o CBA.

Os estudos individuais selecionados continham pelo menos um braço com CBA e diferentes comparadores.

A avaliação do ensaio de imunofluorescência recombinante (rIFA) comparado à IHC padrão indicou que rIFA apresentou uma sensibilidade 12,5% e 11,8% maior em pacientes com NMO e DENMO, respectivamente. Os dados de especificidade foram semelhantes. (34) Já comparado à FIPA, a imunofluorescência indireta em CBA apresentou maiores valores de sensibilidade (86% e 79% em pacientes com NMO, e 55% e 36% em pacientes com NMO de alto risco, respectivamente) e menor especificidade (91% e 100%, respectivamente, para as duas populações). (37) Ainda para pacientes com NMO, a comparação do ensaio de imunofluorescência baseada em células, ensaio de citometria de fluxo e ELISA indicou uma sensibilidade de 41,4%, 51,7% e 48,3%, respectivamente. Os valores para especificidade foram semelhantes entre os métodos. (38) Outra comparação específica com ELISA em NMO, indicou sensibilidade de 75% para CBA *versus* 58% com ELISA e especificidade de 95% a 100% (a depender da isoforma M1 ou M23) *versus* 99%. (41) A avaliação de NMO/DENMO *versus* imunofluorescência indireta baseado em tecidos (42), ELISA, citometria de fluxo ou ICH, indicou que, de modo geral, ensaios CBA foram mais sensíveis. (43) Por fim, em estudo recente considerando pacientes com DENMO (de acordo com os critérios IPND de 2015, atualmente utilizados), CBA (ensaio comercial baseado em células fixas) apresentou sensibilidade de 94% (ELISA 60% e imunofluorescência indireta baseada em tecido 78%) e especificidade geral de 99,5% (97% e 99,7%, respectivamente). (45)

De modo geral, nota-se então que o ensaio CBA apresentou informações mais sensíveis e altos valores de especificidade para pacientes com DENMO (incluindo análise específica de NMO) sendo uma importante ferramenta diagnóstica.

Os critérios de Wingerchuk, de 2015, recomendam, preferencialmente, os testes baseados em células, pela alta sensibilidade sem comprometimento da especificidade, mas reconhece que a ausência de disponibilidade destes testes pode levar ao uso de ensaios de imunofluorescência indireta ou ELISA, ainda que nos casos duvidosos, um novo teste com ensaio baseado em célula possa se fazer necessário, não havendo, portanto, padrão-ouro para o diagnóstico do DENMO definitiva, e sim seus parâmetros clínicos e radiográficos. Este cenário faz com que os estudos utilizem diferentes testes comparadores. Além disso, apenas o estudo de Prain *et al.*, 2019 (45), considera os critérios diagnósticos do 2015 IPND (20), que permitiram unificar os termos NMO e DENMO. Até 2006 (24,25) o comprometimento do nervo óptico e medula óssea eram

mandatórios para o diagnóstico de NMO (de acordo com os critérios da época), na ausência de sintomas cerebrais, o que justifica a avaliação apenas de NMO por parte dos estudos incluídos.

Com relação à avaliação econômica conduzida no contexto do SUS, os resultados indicam que a incorporação do teste anti-AQP4 resultaria em um aumento de custos de R\$ 122,33 por paciente quando comparado à conduta atual. Considerando os resultados de diagnósticos corretos, o uso do teste proporcionou um incremento de 38% na capacidade de diagnosticar um paciente corretamente resultando em uma RCEI calculada de R\$ 324,22.

Com base nos resultados apresentados, seria necessário um investimento de R\$ 324,22 para cada diagnóstico correto adicional. Vale ressaltar que a RCEI está muito abaixo de 1 PIB per capita, além disso, os resultados apresentados são conservadores, uma vez que outros custos adicionais relacionados ao diagnóstico e consequentemente tratamento equivocado não foram considerados.

Em relação ao impacto ao orçamento, a incorporação do teste trará um impacto incremental de aproximadamente R\$ 1,1 milhões no primeiro ano após incorporação, e um total acumulado em 5 anos de aproximadamente R\$ 1,4 milhões. Os resultados das análises de cenário conduzidas demonstram que o impacto incremental total em 5 anos pode variar de R\$ 544 mil a R\$ 2,5 milhões.

Vale ressaltar que os resultados incrementais apresentados são conservadores, uma vez que foram considerados que todos os pacientes prevalentes seriam testados no primeiro ano da análise e outros custos relacionados ao diagnóstico incorreto e consequentemente tratamento equivocado dos pacientes não foram considerados. A maior parte das pessoas diagnosticadas de forma incorreta, acabam recebendo diagnóstico de esclerose múltipla (48), o que, em alguns casos, pacientes com DENMO tratados para esclerose múltipla apresentam pior prognóstico, principalmente se receberem betainterferonas.

Considerando uma epidemiologia da condição muito relacionada às condições demográficas da população brasileira: não-branca, em sua maioria mulheres adultas jovens ao diagnóstico; é de se pensar, que apesar do nosso esforço para calcular a população o mais adequadamente possível, é de se supor que haja um grande grupo de pessoas com risco de , ou, ainda, já gravemente acometidas com sequelas neurológicas, cujos diagnósticos foram, são e ainda serão atrasados pela ausência de ferramentas diagnósticas e terapêuticas largamente disponíveis no sistema único de saúde.

Além das sequelas, trata-se de uma condição com alta mortalidade associada, que varia entre 7 a 32%, (72) e mesmo considerando os dados mais recentes, e os índices de mortalidade parecem estar associados à descendência africana, ao maior tempo do primeiro sintoma até o diagnóstico, e à baixa disponibilidade de tratamento, (72) Os dados brasileiros apontam para situação ainda mais grave, com cerca de 23% de mortalidade(73), sendo que pessoas com DENMO têm 12 vezes mais chances de morrer em comparação com aquelas com EM(74).

Assim, considerando o baixo custo incremental, o RCEI abaixo do PIB, e ainda que consideremos nossos dados e cálculos conservadores, ainda que estressemos os dados, o custo financeiro da incorporação do teste diagnóstico é baixo, sendo imperativa a incorporação do teste, considerados o alto custo social, o alto risco de incapacidade neurológica que a DENMO pode ter e o alto impacto na vida das pessoas, a disponibilidade do anti-aquaopoina 4 pode prover, além do impacto positivo de um diagnóstico precoce em reduzir todos estes riscos, também proporcionar intervenções precoces que mudem os rumos das vidas das pessoas que possam ter este diagnóstico.



8. Referências bibliográficas

1. National Organization for Rare Disorders (NORD). Neuromyelitis optica spectrum disorder. 2018;1–10.
2. Weinshenker BG, Wingerchuk DM. Neuromyelitis Spectrum Disorders. Mayo Clin Proc. 2017;92(4):663–79.
3. Jarius S, Paul F, Weinshenker BG, Levy M, Kim HJ, Wildemann B. Neuromyelitis optica. Vol. 6, *Nature Reviews Disease Primers*. Springer US; 2020.
4. Alvarenga M, Schimidt S, Alvarenga RP. Epidemiology of neuromyelitis optica in Latin America. *Mult Scler J Exp Transl Clin*. 2017;3(3):2055217317730098.
5. Lana-Peixoto MA, Talim NC, Pedrosa D, Macedo JM, Santiago-Amaral J. Prevalence of neuromyelitis optica spectrum disorder in Belo Horizonte, Southeast Brazil. *Mult Scler Relat Disord*. 2021 May;50:102807.
6. Pereira FFCC, Pereira ABC, Alvarenga RMP, Vasconcelos CCF. The prevalence of Neuromyelitis optica in a Brazilian City. *J Neurol Sci*. 2015 Oct;357:e207.
7. Smith AD, Moog TM, Burgess KW, McCreary M, Okuda DT. Factors associated with the misdiagnosis of neuromyelitis optica spectrum disorder. *Mult Scler Relat Disord*. 2023 Feb;70:104498.
8. Beekman J, Keisler A, Pedraza O, Haramura M, Gianella-Borradori A, Katz E, et al. Neuromyelitis optica spectrum disorder: Patient experience and quality of life. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2019;6(4):1–13.
9. Paolilo RB. Espectro da neuromielite óptica associada ao anticorpo anti-aquaporina 4 em pacientes pediátricos. [São Paulo]: Universidade de São Paulo; 2021.
10. Jarius S, Ruprecht K, Wildemann B, Kuempfel T, Ringelstein M, Geis C, et al. Contrasting disease patterns in seropositive and seronegative neuromyelitis optica: A multicentre study of 175 patients. *J Neuroinflammation*. 2012 Dec;9(1):14.
11. Verkman AS. Aquaporins in Clinical Medicine. *Annu Rev Med*. 2012;63(1):303–16.
12. Patterson SL, Goglin SE. Neuromyelitis Optica. *Rheum Dis Clin North Am*. 2017;43(4):579–91.
13. Huda S, Whittam D, Bhojak M, Chamberlain J, Noonan C, Jacob A, et al. Neuromyelitis optica spectrum disorders. *Clin Med (Northfield IL)*. 2019 Mar;19(2):169–76.
14. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, et al. Interleukin 6 signaling promotes anti-aquaporin 4 autoantibody production from plasmablasts in neuromyelitis optica. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(9):3701–6.
15. Jasiak-Zatonska M, Kalinowska-Lyszczarz A, Michalak S, Kozubski W. The Immunology of Neuromyelitis Optica—Current Knowledge, Clinical Implications, Controversies and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2016 Mar 2;17(3):273.
16. Frota ERC, Mendes MF, Vasconcelos CCF. Recomendações no Tratamento da Esclerose Múltipla e Neuromielite Óptica - Academia Brasileira de Neurologia. São Paulo: Omniafarma; 2016. 236 p.
17. Fukuda TG, Silva ITF, dos Santos TSS, Filho MBP, de Abreu FF, Oliveira-Filho J. Clinical and prognostic aspects of patients with the Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder

- (NMOSD) from a cohort in Northeast Brazil. *BMC Neurol.* 2022 Dec;22(1):95.
- 18. Chan KH, Lee CY. Treatment of Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug;22(16):8638.
 - 19. Sellner J, Boggild M, Clanet M, Hintzen RQ, Illes Z, Montalban X, et al. EFNS guidelines on diagnosis and management of neuromyelitis optica. *Eur J Neurol.* 2010;17(8):1019–32.
 - 20. Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, Cabre P, Carroll W, Chitnis T, et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology.* 2015 Jul 14;85(2):177–89.
 - 21. National Multiple Sclerosis Society. Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD) [Internet]. 2022. Available from: [https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Related-Conditions/Neuromyelitis-Optica-\(NMO\)](https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Related-Conditions/Neuromyelitis-Optica-(NMO))
 - 22. Carnero Contentti E, Rojas JL, Cristiano E, Marques VD, Flores-Rivera J, Lana-Peixoto M, et al. Latin American consensus recommendations for management and treatment of neuromyelitis optica spectrum disorders in clinical practice. *Mult Scler Relat Disord.* 2020;45(July).
 - 23. Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Fujihara K, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet.* 2004;364:2106–12.
 - 24. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology.* 2006;66(10):1485–9.
 - 25. Wingerchuk DM, Lennon VA, Lucchinetti CF, Pittock SJ, Weinshenker BG. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 2007;6(9):805–15.
 - 26. Wallach AI, Tremblay M, Kister I. Advances in the Treatment of Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder. *Neurol Clin.* 2021 Feb;39(1):35–49.
 - 27. Waters PJ, Pittock SJ, Bennett JL, Jarius S, Weinshenker BG, Wingerchuk DM. Evaluation of aquaporin-4 antibody assays. *Clin Exp Neuroimmunol.* 2014 Oct;5(3):290–303.
 - 28. Ministério da Saúde (Brasil). Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS). Rol de Procedimentos e Eventos em Saúde - Anexo II - Diretrizes de utilização para cobertura de procedimentos na saúde suplementar (RN 465/2021 e suas alterações) [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2021. p. 186. Available from: https://www.gov.br/ans/pt-br/arquivos/assuntos/consumidor/o-que-seu-plano-deve-co-brir/Anexo_II_DUT_2021_RN_465.2021_tea.br_RN473_RN477_RN478_RN480_RN513_RN536.pdf
 - 29. Anti-Aquaporina-4 IIFT: instruções para o teste de imunofluorescência indireta. São Caetano do Sul: EUROIMMUN Brasil Medicina Diagnóstica Ltda; 2021.
 - 30. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria da Ciência-Tecnologia e Insumos Estratégicos. Diretrizes metodológicas: elaboração de pareceres técnico-científicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2021. 122 p.
 - 31. Higgins P, Savovic H, Page M, Sterne J. Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials (RoB 2) short version (CRIBSHEET). RoB 2.0 Development Group. 2019. 68 p.
 - 32. Whiting PF. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic

- Accuracy Studies. *Ann Intern Med.* 2011 Oct 18;155(8):529.
33. Ruiz-Gaviria R, Baracaldo I, Castañeda C, Ruiz-Patiño A, Acosta-Hernandez A, Rosselli D. Specificity and sensitivity of aquaporin 4 antibody detection tests in patients with neuromyelitis optica: A meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord.* 2015;4(4):345–9.
 34. Jarius S, Probst C, Borowski K, Franciotta D, Wildemann B, Stoecker W, et al. Standardized method for the detection of antibodies to aquaporin-4 based on a highly sensitive immunofluorescence assay employing recombinant target antigen. *J Neurol Sci.* 2010;291(1–2):52–6.
 35. Wu X, Liao Z, Ye J, Dong H, Wang C, Chan P. Seropositivity rates of water channel protein 4 antibodies compared between a cell-based immunofluorescence assay and an enzyme-linked immunosorbent assay in neuromyelitis optica patients. *Neural Regen Res.* 2011;6(32):2490–4.
 36. Kim YJ, Jung SW, Kim Y, Park YJ, Han K, Oh EJ. Detection of Anti-Aquaporin-4 Antibodies in Neuromyelitis Optica: Comparison of Tissue-Based and Cell-Based Indirect Immunofluorescence Assays and ELISA. *J Clin Lab Anal.* 2012;26(3):184–9.
 37. Kang ES, Min JH, Lee KH, Kim BJ. Clinical usefulness of cell-based indirect immunofluorescence assay for the detection of aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica spectrum disorder. *Ann Lab Med.* 2012;32(5):331–8.
 38. Isobe N, Yonekawa T, Matsushita T, Kawano Y, Masaki K, Yoshimura S, et al. Quantitative assays for anti-aquaporin-4 antibody with subclass analysis in neuromyelitis optica. *Mult Scler J.* 2012;18(11):1541–51.
 39. Höftberger R, Sabater L, Marignier R, Aboul-Enein F, Bernard-Valnet R, Rauschka H, et al. An optimized immunohistochemistry technique improves NMO-IgG detection: Study comparison with cell-based assays. *PLoS One.* 2013;8(11):6–11.
 40. Marignier R, Bernard-Valnet R, Giraudon P, Collongues N, Papeix C, Zéphir H, et al. Aquaporin-4 antibody – negative neuromyelitis optica: distinct assay sensitivity-dependent entity. *Neurology.* 2013;80(24):2194–200.
 41. Fryer JP, Lennon VA, Pittock SJ, Jenkins SM, Fallier-Becker P, Clardy SL, et al. AQP4 autoantibody assay performance in clinical laboratory service. *Neurol Neuroimmunol NeuroInflammation.* 2014;1(1):1–8.
 42. Siritho S, Apiwattanakul M, Prayoonwiwat N. The use of AQP4-antibody testing in diagnosis Thai patients with neuromyelitis optica. *Neurol Asia.* 2014;19(4):375–85.
 43. Waters P, Reindl M, Saiz A, Schanda K, Tuller F, Kral V, et al. Multicentre comparison of a diagnostic assay: Aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2016;87(9):1005–15.
 44. Long Y, Liang J, Zhong R, Wu L, Qiu W, Lin S, et al. Aquaporin-4 antibody in neuromyelitis optica: re-testing study in a large population from China. *Int J Neurosci.* 2017;127(9):790–9.
 45. Prain K, Woodhall M, Vincent A, Ramanathan S, Barnett MH, Bundell CS, et al. AQP4 Antibody Assay Sensitivity Comparison in the Era of the 2015 Diagnostic Criteria for NMOSD. *Front Neurol.* 2019;10(October):1–7.
 46. Husereau D, Drummond M, Augustovski F, de Bekker-Grob E, Briggs AH, Carswell C, et al. Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards (CHEERS) 2022

- Explanation and Elaboration: A Report of the ISPOR CHEERS II Good Practices Task Force. *Value Heal J Int Soc Pharmacoeconomics Outcomes Res.* 2022 Jan;25(1):10–31.
- 47. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Ciência-Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: estudos de avaliação econômica de tecnologias em saúde. 2nd ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. 132 p.
 - 48. McCreary M, Mealy MA, Wingerchuk DM, Levy M, DeSena A, Greenberg BM. Updated diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorder: Similar outcomes of previously separate cohorts. *Mult Scler J - Exp Transl Clin.* 2018;4(4).
 - 49. Ministério da Saúde. (Brasil). Secretaria de Ciência- Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. Diretrizes metodológicas: análise de impacto orçamentário: manual para o Sistema de Saúde do Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2012. p. 76.
 - 50. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Projeção populacional 2018: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [Internet]. 2018. Available from: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9103-estimativas-de-populacao.html?edicao=22367&t=resultados>
 - 51. Papp V, Magyari M, Aktas O, Berger T, Broadley SA, Cabre P, et al. Worldwide incidence and prevalence of NMO: A systematic review. *Neurology.* 2020 Dec 11;96(2):59–77.
 - 52. Silva GD, Apóstolos-Pereira SL, Callegaro D. Estimated prevalence of AQP4 positive neuromyelitis optica spectrum disorder and MOG antibody associated disease in São Paulo, Brazil. *Mult Scler Relat Disord.* 2023 Feb;70:104488.
 - 53. Crônicos do Dia a Dia (CDD). Neuromielite óptica e anti-aquaporina 4 [Internet]. São Paulo: CDD; 2023. Available from: <https://cdd.org.br/noticias/neuromielite-optica-e-anti-aquaporina-4/>
 - 54. Rivera VM, Hamuy F, Rivas V, Gracia F, Rojas JI, Bichuetti DB, et al. Status of the neuromyelitis optica spectrum disorder in Latin America. *Mult Scler Relat Disord.* 2021 Aug;53:103083.
 - 55. Davis S, Simpson E, Hamilton J, James MMS, Rawdin A, Wong R, et al. Denosumab, raloxifene, romosozumab and teriparatide to prevent osteoporotic fragility fractures: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess (Rockv).* 2020 Jun;24(29):1–314.
 - 56. University of Bristol. Quadas: resources [Internet]. Bristol, UK: University of Bristol; 2023. Available from: <https://www.bristol.ac.uk/population-health-sciences/projects/quadas/resources/>
 - 57. Takahashi T, Fujihara K, Nakashima I, Misu T, Miyazawa I, Nakamura M, et al. Establishment of a New Sensitive Assay for Anti-Human Aquaporin-4 Antibody in Neuromyelitis Optica. *Tohoku J Exp Med.* 2006 Dec;210(4):307–13.
 - 58. De Vidi I, Delouche N, LastNamePortalè P, Mettling C, Lin YL, Boursier G, et al. Development of a new cell-based assay for anti-aquaporin-4 auto-antibody identification and quantification by flowcytometry. *Mult Scler J.* 2009 Sep;15(9 suppl):S151.
 - 59. De Vidi I, Boursier G, Delouche N, Portalès P, Cadars E, Bouthier M, et al. Strategy for anti-aquaporin-4 auto-antibody identification and quantification using a new cell-based assay. *Clin Immunol.* 2010 Mar;138(3):239–46.

60. Kim B, Han S, Kang E, Kim M, Min J, Vincent A, et al. Cell-based assay for anti-AQP4 antibody in Korean patients with neuromyelitis optica. *Mult Scler J.* 2010 Oct;16(10):1289–90.
61. Bernard-Valnet R, Cavillon G, Rogemond V, Vukusic S, Confavreux C, Honnorat J, et al. Improvement of the cell-based assay to detect anti-aquaporin 4 antibodies in Devic's neuromyelitis optica. *Mult Scler J.* 2011 Oct;17(10 suppl):S497.
62. Yang H, Kim S, Kim Y, Lee K, Jung K, Ahn S, et al. Diagnostic efficacy of the flow cytometric aquaporin-4 autoantibody assay: comparison with conventional cell-based assay. *Mult Scler J.* 2012 Oct;18(4 suppl):63–4.
63. Kim S, Kim Y, Ahn S, Yoon B, Sung J, Lee K, et al. How to increase diagnostic yield of the aquaporin-4 autoantibody assay? Utility of complementary tests, use of positive controls and follow up testing. *Mult Scler J.* 2013 Oct;19(11 suppl):75–6.
64. Sato D, Nakashima I, Takahashi T, Misu T, Waters P, Kuroda H, et al. The Importance of Aquaporin-4 Antibody Assays in Patients beyond the Diagnostic Criteria for Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders (P02.156). *Neurology.* 2013 Feb 12;80(7 Supplement).
65. Sato DK, Nakashima I, Takahashi T, Misu T, Waters P, Kuroda H, et al. Aquaporin-4 antibody-positive cases beyond current diagnostic criteria for NMO spectrum disorders. *Neurology.* 2013 Jun 11;80(24):2210–6.
66. Yang C, Yang L. Detection of anti-aquaporin 4 antibodies in the neuromyelitis optica spectrum diseases. *Mult Scler J.* 2013 Apr;19(5):658.
67. Waters P, Reindl M, Schanda K, Tuller F, Kral V, Nytrova P, et al. Assessment of aquaporin-4 (AQP4) antibody assays in European diagnostic centres. *J Neuroimmunol.* 2014 Oct 15;275(1–2):15.
68. Tortorella C, Ruggieri M, Direnzo V, Mastrapasqua M, Luciannatelli E, D'Onghia M, et al. Targeting AQP4 in neuromyelitis optica spectrum disorders in clinical practice. Comparison of different assays. *Mult Scler J.* 2015 Sep;21(11 suppl):656.
69. Díaz Sánchez M, García Miranda P, Morón Civanto F, Lebrato Hernández L, Martínez Olivo M, Lamas Pérez R, et al. Validating the presence in serum of other biomarkers apart from anti-AQP4 antibodies for diagnosis of neuromyelitis optica spectrum disorders. *Mult Scler J.* 2019 Sep;25(2 suppl):508.
70. Sun X, Wang S, Xiong L, Long Y, Yan Y, Peng L, et al. Establishment and application of a new immunodot assay for detection of aquaporin 4 antibody (AQP4-Ab). *Mult Scler J.* 2020 Aug;26(9):NP76.
71. Montalvo M, Pittock S, Sechi E, Fryer J, McKeon A, Mills J, et al. The Positive Predictive Value of Aquaporin-4 Antibody Live Cell-based Assay in a Tertiary Referral Center (1648). *Neurology.* 2021;96(15 Supplement).
72. Mealy MA, Kessler RA, Rimler Z, et al. Mortality in neuromyelitis optica is strongly associated with African ancestry. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2018;5(4):e468. Published 2018
73. Papais-Alvarenga RM, Carellos SC, Alvarenga MP, Holander C, Bichara RP, Thuler LC. Clinical course of optic neuritis in patients with relapsing neuromyelitis optica. *Arch Ophthalmol.* 2008;126(1):12–16. doi:10.1001/archophthalmol.2007.26

74. Bichuetti DB, Oliveira EM, Souza NA, Tintoré M, Gabbai AA. Patients with neuromyelitis optica have a more severe disease than patients with relapsingremitting multiple sclerosis, including higher risk of dying of a demyelinating disease. Arq Neuropsiquiatr. 2013;71(5):275-279.

ORIGIN
H E A L T H

ANEXO 1. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO - PUBLICAÇÃO REGISTRO – TESTE ANTI-AQP4

3º 107, versão 1.0, 2 de junho de 2014

CLASE: 3U 3585640399
1002 - Registro de Produtos para Diagnóstico de uso in vivo -
período
TETRASODIUM CHLORIDE 1000.74074-0103-00
LIAISON DEL SILEXON Council Chems
FABRICANTE: DIAZONAR SRL - ITALIA
CONTROLE: 00000000000000000000000000000000
CLASE: 3U 3585640400
1002 - Registro de Produtos para Diagnóstico de uso in vivo. In-
sumo
SERAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA 1.0106-3
Análise: Microbiologia 2103-47000-003-30
QUINTIL: SERAM
FABRICANTE: SEROL MEDICAL AB - SUECIA
DISTRIBUIDOR: SEROL MEDICAL AB - SUECIA
SERI
CLASE: 3U 3585640399
1004 - Registro de Equipamento IMPORTADO, de Medicina e Recupera-
ção

Este documento pode ser verificado no endereço eletrônico <http://www.lajurisprudencia.com.br>, caso o código seja: 110-2001-4000000000.

Diário Oficial da União - Suplemento

JANUARY 1977

38

Documento assinado digitalmente conforme MP nº 2.300-2 da 2001 e 34/01/2001, que revoga a Decreto-lei de Crimes Políticos Brasileiros - DCP-Brasil.

ANEXO 2. PREÇO – TESTE ANTI-AQP4

<https://drive.google.com/file/d/1EbIRJd8Mc195G-s8a8VqCBcCWxtDgJh2/view?usp=sharing>

ANEXO 3. BASES DE DADOS PARA BUSCA DE EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS

Bases de Dados	Endereço	Acesso
<i>Cochrane Library</i>	www.thecochranelibrary.com	LIVRE
PubMed	www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed	LIVRE
LILACS	www.bireme.br	LIVRE
EMBASE	www.embase.com	RESTRITO

LILACS: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde



ANEXO 4. FICHAS DE AVALIAÇÃO DOS ESTUDOS ANALISADOS

A qualidade metodológica das revisões sistemáticas com meta-análise foi avaliada através do AMSTAR-2 para avaliações críticas de revisões sistemáticas. Essa ferramenta possui 16 questões, com respostas mais simples que a versão anterior (AMSTAR) e inclui um guia de resposta e uma pontuação da confiança nos resultados baseada na fraqueza dos domínios críticos (questões dois, quatro, sete, nove, onze, treze e quinze). Apesar disso, o AMSTAR-2 não se propõe a gerar um escore global. (55)

Assim, na avaliação da revisão sistemática incluída, o artigo publicado por Ruiz-Gaviria *et al.*, 2015 (33) foi considerado com confiança baixa por apresentar uma falha crítica acompanhada de fraquezas não críticas. Contudo, a pergunta nove, que avalia uma falha crítica, foi desconsiderada, uma vez que o questionário não reflete o instrumento de risco de viés utilizado para avaliação de desfechos e estudos específicos para testes diagnósticos.

O QUADAS-2 é a ferramenta recomendada para avaliar o risco de viés em estudos primários de acurácia diagnóstica. O risco de viés dos estudos de acurácia diagnóstica foi avaliado por meio da ferramenta QUADAS-2. (32) A ferramenta compreende quatro domínios: 1) Seleção de pacientes, 2) Teste-índice, 3) Teste de padrão de referência e 4) Fluxo e temporalidade. Todos eles são avaliados em termos de risco de viés (baixo, incerto e alto) e os três primeiros domínios também são avaliados em termos de preocupações em relação à aplicabilidade viés (baixa, incerta e alta). Se um estudo é julgado com risco alto ou incerto, um ou mais domínios devem ser julgados como apresentando risco de viés ou com limitações relacionadas a sua aplicabilidade.

Os principais motivos para a maior incerteza no QUADAS-2 foram: falta de clareza sobre a interpretação dos resultados do teste-índice sem conhecimento sobre os resultados do teste referência, e pontualmente, questões relacionadas ao teste de padrão de referência e ao fluxo e temporalidade (Figura 12).

Formulário de avaliação de qualidade de revisões sistemáticas.

Ruiz-Gaviria 2015			
1- As perguntas de pesquisa e os critérios de inclusão para a revisão incluiriam os componentes da PICO?		Para Sim: () População () Intervenção () Grupo comparador () Desfecho	
		Opcional (recomendado): () Tempo de seguimento	
2- O relatório da revisão continha uma declaração explícita de que os métodos de revisão foram estabelecidos antes da condução da revisão e o relatório justificou qualquer alteração significante do protocolo?*		Para Sim parcial: Os autores afirmam que eles escreveram um protocolo ou guia que incluía TODOS os seguintes? () Pergunta de pesquisa da revisão (X) Estratégia de busca (X) Avaliação do risco de viés () Sim (x) Sim parcial () Não	
		Para sim? Assim como para o sim parcial, adicionalmente o protocolo deve ser registrado e deve ter especificado: () Uma meta-análise/plano de síntese, se apropriado, e () Um plano para investigar causas de heterogeneidade () Justificativa para qualquer alteração do protocolo	
3- Os autores da revisão explicaram sua seleção dos desenhos de estudos para inclusão na revisão?		Para Sim, a revisão deve satisfazer UM dos seguintes: () Explicação para incluir somente um ECR (X) ou explicação para incluir somente ensaios clínicos não randomizados () ou explicação para incluir ambos ECR e ensaios clínicos não randomizados (x) Sim () Não	

			Para Sim parcial (todos os seguintes): (x) Pesquisaram pelo menos 2 bases de dados (relevante para pergunta de pesquisa) (x) Forneceram palavra-chave e/ou estratégia de busca (x) Justificaram limitações nas publicações (ex: idioma)
4- Os autores da revisão utilizaram uma estratégia abrangente da literatura?*	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Sim parcial <input type="checkbox"/> Não		Para Sim, deter também (todos os seguintes)? (x) Buscaram em listas de referências/bibliografia dos estudos incluídos () Buscaram estudos/ registros de estudos incluídos/ Consultou especialistas na área () Onde relevante, buscaram por literatura cinzenta () Conduziram busca dentro de 24 meses da conclusão da revisão
5- Os autores da revisão realizaram a seleção dos estudos em duplicata?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não		Se sim, um dos seguintes: (x) pelo menos dois revisores independentemente concordaram na seleção dos estudos elegíveis e obtiveram consenso de quais estudos incluir () OU dois revisores selecionaram uma amostra de estudos e elegíveis e obtiveram uma boa concordância (pelo menos 80%) com o restante selecionado por um revisor
6- Os autores da revisão realizaram a extração de dados em duplicata?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não		Se sim, um dos seguintes: (x) Pelo menos dois revisores obtiveram consenso sobre qual dado extraír dos estudos incluídos () OU revisores extraíram dados de uma amostra de estudos elegíveis E obtiveram uma boa concordância (pelo menos 80%) com o restante selecionado por um revisor
7- Os autores da revisão forneceram uma lista dos	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Sim parcial		Para Sim parcial: () Forneceram uma lista de todos os estudos potencialmente

<p>estudos excluídos e justificaram as exclusões?*</p>	<p>(x) Não relevantes que foram lidos no formato de texto completo, mas excluídos da revisão</p>
	<p>Para Sim, deve ter também:</p> <p>() Justificaram a exclusão da revisão de cada estudo potencialmente relevante</p> <p>Para Sim parcial (TODOS os seguintes):</p> <p>() Descreveram população</p> <p>() Descreveram intervenções</p> <p>() Descreveram comparadores</p> <p>() Descreveram desfechos</p> <p>() Descreveram os desenhos de estudos</p>
<p>8- Os autores da revisão descreveram os estudos incluídos em detalhes quando adequados?</p>	<p>() Sim</p> <p>() Sim parcial</p> <p>(x) Não</p>
	<p>Para Sim, deve ter também TODOS os seguintes:</p>
	<p>() Descreveram população em detalhes</p>
	<p>() Descreveram intervenções em detalhes (incluindo doses onde relevante)</p>
	<p>() Descreveram comparadores em detalhes (incluindo doses onde relevante)</p>
	<p>() Descreveram o cenário do estudo</p>
	<p>() Tempo de seguimento</p>
<p>9- Os autores da revisão utilizaram uma técnica satisfatória para avaliar o risco de viés (RoB) nos estudos individuais que foram incluídos na revisão?*</p>	<p>ECR</p> <p>() Sim</p> <p>() Sim parcial</p> <p>() Não</p> <p>(x) Incluído somente ensaios clínicos não randomizados</p> <p>Ensaios clínicos não-randomizados</p> <p>() Sim</p> <p>() Sim Parcial</p>
	<p>ECR</p> <p>Para Sim Parcial, deve ser avaliado RoB de:</p>
	<p>() Alocação não oculta, e</p>
	<p>() Falta de seguimento de pacientes e avaliadores quando avaliaram desfechos (desnecessário para desfechos objetivos como todas as causas de mortalidade)</p>
	<p>Para Sim, deve ter também TODOS os seguintes:</p>

	<p>(x) Não</p> <p>() Incluído somente Ensaios Clínicos randomizados</p>	<p>() Sequência de alocação que não foi verdadeiramente randomizada, e</p> <p>() Seleção de resultados relatados entre múltiplas mensurações ou análises de um desfecho específico</p>
		<p>Ensaios Clínicos não-randomizados</p> <p>Para Sim Parcial, deve ser avaliado RoB de:</p> <p>() De confusão, e</p> <p>() De viés de seleção</p>
		<p>Para Sim, deve ser avaliado também RoB:</p> <p>() Métodos utilizados para verificar exposição e desfechos, e</p> <p>() Seleção de resultado relatado entre várias mensurações e análises de um desfecho específico</p>
10- Os autores da revisão relataram as fontes de financiamento para os estudos incluídos na revisão?	<p>() Sim</p> <p>(x) Não</p>	<p>Para Sim:</p> <p>() Deve ter relatado as fontes de financiamento para estudos individuais incluídos na revisão. Nota: Relatando que os revisores procuraram essas informações mas não foi relatada pelos autores do estudo também qualifica.</p>
11- Se a meta-análise foi realizada, os autores da revisão utilizaram métodos apropriados para combinação de resultados?	<p>(x) Sim</p> <p>() Não</p> <p>() Não foi conduzida meta-análise</p>	<p>ECR</p> <p>Para Sim:</p> <p>() Os autores justificaram a combinação dos dados na meta-análise</p> <p>() Eles utilizaram uma técnica ponderada apropriada para combinar resultados do estudo, ajustando para heterogeneidade, se presentes.</p> <p>() E investigou as causas de qualquer heterogeneidade.</p> <p>Ensaios clínicos não-randomizados</p> <p>Para Sim:</p>

		(X) Os autores justificaram a combinação dos dados na meta-análise
		(X) E eles utilizaram uma técnica ponderada apropriada para combinar resultados do estudo, ajustando para heterogeneidade, se presentes.
		(X) E eles combinaram estatisticamente as estimativas de efeitos de ensaios clínicos não-randomizados que foram ajustados para confundidores, em vez de combinar dados brutos, ou justificado combinando dados brutos quando estimativas de efeitos ajustados não estavam disponíveis
		() E eles relataram estimativas sumárias separadas para ECRs e ensaios clínicos não-randomizados quando ambos foram incluídos na revisão.

12- Se a meta-análise foi realizada os autores da revisão avaliaram o impacto potencial do risco de viés dos estudos individuais sobre os resultados da meta-análise ou outra síntese de evidências?

- (x) Sim
() Não
() Não foi conduzida meta-análise

Para Sim:

- (x) incluíram apenas ECR com baixo risco de viés.
() OU, se a estimativa combinada for baseada em ECRs e/ou Ensaios clínicos não-randomizados na variável risco de viés, os autores realizaram análises para investigar o possível impacto de risco de viés em estimativas sumárias de efeito.

13- Os autores da revisão levaram em conta o risco de viés dos estudos individuais ao interpretar/discutir os resultados da revisão?

- (x) Sim
() Não

Para Sim:

- () incluíram apenas ECRs com baixo risco de viés
(x) OU, se ECRs com risco de viés moderado ou alto, ou ensaios clínicos não- randomizados foram incluídos, a revisão forneceu uma discussão sobre o provável impacto do Risco de viés aos resultados.

14- Os autores da revisão forneceram na discussão uma explicação satisfatória de

- (x) Sim
() Não

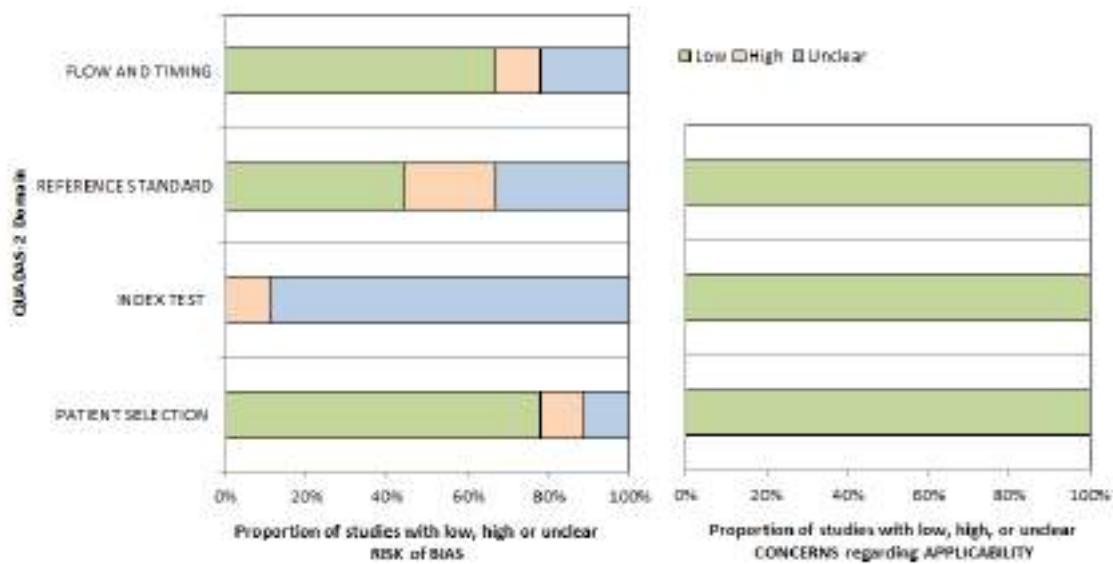
Para Sim:

- (x) Não houve heterogeneidade significativa nos resultados

<p>qualquer heterogeneidade observada nos resultados da revisão?</p>	<p>() OU se a heterogeneidade estava presente, os autores realizaram uma investigação de fontes de qualquer heterogeneidade nos resultados e discutiram o impacto dessa nos resultados da revisão.</p>
<p>15- Se eles realizaram síntese quantitativa, os autores da revisão realizaram uma adequada investigação do viés de publicação (viés de pequeno estudo) e discutiram seu provável impacto nos resultados da revisão?</p>	<p>Para Sim:</p> <p>() Sim (x) Não () Não foi conduzida meta-análise</p> <p>(x) realizaram testes gráficos ou estatístico para viés de publicação e discutiram a probabilidade e magnitude do impacto do viés de publicação.</p>
<p>16- Os autores da revisão relataram qualquer potencial fonte de conflito de interesse, incluindo qualquer financiamento que eles receberam para condução da revisão?</p>	<p>Para SIM:</p> <p>() Sim (x) Não</p> <p>() Os autores relataram não conflitos de interesse OU (x) Os autores descreveram as fontes de financiamento e como lidaram com potenciais conflitos de interesse.</p>

Fonte: Shea *et al.*, 2017 (55)

Figura 12. Análise do risco de viés pela ferramenta QUADAS-2 dos estudos incluídos.



Fonte: <https://www.bristol.ac.uk/population-health-sciences/projects/quadas/resources/> (56)



ANEXO 5. ESTUDOS EXCLUÍDOS

Durante leitura do título ou resumo, todos os estudos que não se enquadram nos critérios de elegibilidade foram excluídos.

Os motivos para exclusão dos estudos lidos na íntegra estão apresentados na tabela abaixo.

Autor	Ano	Referência	Motivo da exclusão
1. Takahashi <i>et al.</i>	2006	(57)	Intervenção. Não avalia teste comercial.
2. De Vidi <i>et al.</i>	2009	(58)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
3. De Vidi <i>et al.</i>	2010	(59)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
4. Kim <i>et al.</i>	2010	(60)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
5. Bernard-Valnet <i>et al.</i>	2011	(61)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
6. Yang <i>et al.</i>	2012	(62)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
7. Kim <i>et al.</i>	2013	(63)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
8. Sato <i>et al.</i>	2013	(64)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
9. Sato <i>et al.</i>	2013	(65)	Intervenção. Não avalia teste comercial.
10. Yang <i>et al.</i>	2013	(66)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
11. Waters <i>et al.</i>	2014	(67)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
12. Tortorella <i>et al.</i>	2015	(68)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
13. Diaz <i>et al.</i>	2019	(69)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
14. Sun <i>et al.</i>	2020	(70)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.
15. Montalvo <i>et al.</i>	2021	(71)	Resultados de estudos não foram publicados em artigo na íntegra e sim resumo de congresso.

ORIGIN
H E A L T H

COD

ANEXO 6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA EVIDÊNCIA – GRADE

Certainty assessment – versus ELISA							Certainty
Nº dos estudos	Delineamento do estudo	Risco de viés	Inconsistência	Evidência indireta	Imprecisão	Outras considerações	
Sensibilidade							
5	estudo observacional	grave	não grave	não grave	grave ^a	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Especificidade							
5	estudo observacional	grave	não grave	não grave	grave ^a	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Acurácia							
1	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Concordância							
1	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa

Fonte: elaboração própria. a. Sobreposição de intervalos de confiança.

							Certainty
Nº dos estudos	Delineamento do estudo	Risco de viés	Inconsistência	Evidência indireta	Imprecisão	Outras considerações	
Sensibilidade							
1	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Especificidade							
1	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Concordância							
1	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa

Fonte: elaboração própria.

Certainty assessment – versus IHC							Certainty
Nº dos estudos	Delineamento do estudo	Risco de viés	Inconsistência	Evidência indireta	Imprecisão	Outras considerações	
Sensibilidade							
2	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Especificidade							
2	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Acurácia							
1	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa

Fonte: elaboração própria.

Certainty assessment – versus T-IIF							Certainty
Nº dos estudos	Delineamento do estudo	Risco de viés	Inconsistência	Evidência indireta	Imprecisão	Outras considerações	
Sensibilidade							
4	estudo observacional	grave	não grave	não grave	grave ^a	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Especificidade							
5	estudo observacional	grave	não grave	não grave	grave ^a	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Concordância							
3	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa
Acurácia							
1	estudo observacional	grave	não grave	não grave	não grave	nenhum	⊕○○○ Muito baixa

Fonte: elaboração própria. a. Sobreposição de intervalos de confiança.

ANEXO 7. DECLARAÇÃO DE POTENCIAIS CONFLITOS DE INTERESSE

Declaração de conflitos de interesses

Para que se assegure a integridade técnica e a imparcialidade na construção do(a) *título do parecer técnico-científico*, solicitamos que os participantes divulguem quaisquer situações que constituam potencial conflito de interesse relacionado com o tema da atividade. Sendo assim, por favor, complete este questionário e submeta-o ao grupo coordenador deste documento.

Definições e termos-chave sobre conflitos de interesse

- **Conflito de interesse** é uma divergência entre os interesses de um indivíduo e as suas obrigações, de modo que um observador possa questionar se suas ações ou decisões são motivadas por benefícios explícitos, latentes ou potenciais, ou influenciadas por suas convicções ou crenças, comprometendo a imparcialidade do desempenho das funções que lhe foram atribuídas.
- **Conflito de interesse financeiro** consiste em situação potencialmente associada a ganho financeiro, de cunho monetário ou não, de modo que um observador possa questionar se as ações ou decisões de um indivíduo são motivadas por benefícios explícitos, latentes ou potenciais, comprometendo a imparcialidade do desempenho das funções que lhe foram atribuídas.
- **Conflito de interesse financeiro direto** consiste em situação na qual o indivíduo é o beneficiário dos ganhos financeiros, de cunho monetário ou não.
- **Conflito de interesse financeiro indireto** consiste em situação na qual instituições ou pessoas ligadas ao indivíduo são os beneficiários de ganhos financeiros, sejam estes de cunho monetário ou não.
- **Conflito de interesse não financeiro** consiste em situação na qual um observador possa questionar se as ações ou decisões do indivíduo são influenciadas por suas convicções ou crenças ou por atividades acadêmicas ou intelectuais, comprometendo a imparcialidade o desempenho das funções que lhe foram atribuídas.

- **Conflito de interesse indireto** consiste em recebimento de benefícios por pessoas próximas* ao indivíduo, em especial cônjuge, familiares de primeiro grau e dependentes financeiros.

Por favor, responda a cada uma das perguntas a seguir. Todos os potenciais conflitos de interesse que venham a influenciar sua capacidade de julgamento devem ser declarados. Caso você tenha respondido “SIM” para alguma das questões, descreva as circunstâncias na próxima página deste formulário.

Nome: Laura Murta Amaral	
Instituição: ORIGIN Health	
1. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* possuíram vínculo empregatício ou participação no conselho de administração de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
2. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam benefício financeiro monetário de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento (como honorários por palestras, atividades de ensino, consultorias, pareceres técnicos ou perícias judiciais), equivalente a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais (por atividade ou por entidade, instituição ou organização)?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
3. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento benefícios financeiros não monetários (como pagamento de participação em congressos, despesas de viagem, presentes, participação em eventos recreativos tais como shows, jantares, etc.) equivalentes a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
4. Atualmente, você, pessoas próximas a você* ou a instituição a que você está vinculado possui propriedade intelectual ou interesse financeiro conflitante que possa ser afetado pelos resultados deste documento, tais como ações, royalties ou patente, independentemente do valor?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
5. Nos últimos três anos, você, pessoas próximas a você* ou a instituição à qual você está vinculado recebeu algum apoio de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento (como financiamento para fomento de projetos de pesquisa, de extensão ou de ensino, equipamentos e insumos, tais como reagentes, livros, equipamentos específicos, apoio para publicação ou editoração de artigo, tradução, pagamento de taxas de publicação, etc.) com valor superior a R\$ 5.000,00?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
6. A sua expertise ou convicção acadêmica/profissional em algum aspecto relacionado ao escopo deste documento poderia comprometer sua imparcialidade de julgamento (como ter publicações sobre determinado	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>

assunto que o tornaria mais propenso a dar recomendações favoráveis a determinada intervenção)?	
7. Você possui vínculo com alguém ou alguma instituição cujos interesses acadêmicos possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
8. Você participa, direta ou indiretamente, de algum grupo, como organizações governamentais ou não governamentais, sociedades de profissionais ou especialistas, associação de pacientes, cujos interesses possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
9. Você considera que as recomendações decorrentes deste documento podem gerar benefícios acadêmicos futuros a você, pessoas próximas a você* ou à instituição a que você está ligado (como aumento de publicações ou citações em trabalhos científicos, participação em congresso, etc.)?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
10.1. Você possui convicção religiosa, política, étnica ou outras crenças que podem comprometer sua capacidade de julgamento neste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
10.2. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.1, você concorda em declarar essa informação ao demandante deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
10.3. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.2, você concorda em tornar pública essa informação?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
11. Há algum outro fato ou situação que possa interferir na sua imparcialidade de julgamento neste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>

Por favor, caso você tenha respondido “SIM” para alguma das questões anteriores, preencha os campos a seguir com as seguintes informações:

- Especifique quem possui o potencial conflito de interesse é você, alguma pessoa próxima e/ou sua instituição (especificando qual a empresa ou a relação familiar). Pode haver mais de um beneficiário com conflitos de interesse para cada pergunta.
- Especifique o período em que o conflito de interesse se iniciou e cessou (mês/ano).
- Em caso de conflito de interesse de cunho monetário, especifique o valor envolvido.
- Em caso de benefício financeiro de cunho não monetário, por favor, estime um valor aproximado.
- Em relação a benefícios monetários pessoais, não serão publicados os valores, apenas a descrição do conflito. Caso haja alguma outra informação que o está impedido de declarar ou que não gostaria que fosse levada a público, informe nas questões subsequentes.

- Não serão publicados conflitos referentes a pessoas próximas a você.

Há alguma informação que, devido à cláusula de confidencialidade, não pode ser declarada neste documento? Descreva a natureza da informação e o motivo de sua não declaração.

R: Não

Há alguma informação que, devido à preservação da sua privacidade, você não deseja que seja divulgada publicamente? Descreva a natureza da informação e o motivo para não ser levada a público.

R: Não

DECLARAÇÃO:

- Eu declaro ciência das definições e dos termos-chave sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro ciência das questões sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro a veracidade de todas as informações por mim fornecidas neste documento.
- Eu concordo em atualizar todas as informações declaradas ao longo do período de desenvolvimento deste parecer.
- Eu estou ciente de que poderá haver busca ativa por meus potenciais conflitos de interesse, e a não declaração de conflitos relevantes pode resultar em minha exclusão como participante deste parecer.
- Eu concordo com a divulgação das informações aqui contidas, exceto nas situações em que declarei desejo de sigilo.

01/02/2024

Fauna Flora Amazônia

Assinatura

Nome: Leticia Lucia dos Santos Dias	
Instituição: ORIGIN Health	
1. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* possuíram vínculo empregatício ou participação no conselho de administração de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
2. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam benefício financeiro monetário de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento (como honorários por palestras, atividades de ensino, consultorias, pareceres técnicos ou perícias judiciais), equivalente a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais (por atividade ou por entidade, instituição ou organização)?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
3. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento benefícios financeiros não monetários (como pagamento de participação em congressos, despesas de viagem, presentes, participação em eventos recreativos tais como shows, jantares, etc.) equivalentes a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
4. Atualmente, você, pessoas próximas a você* ou a instituição a que você está vinculado possui propriedade intelectual ou interesse financeiro conflitante que possa ser afetado pelos resultados deste documento, tais como ações, royalties ou patente, independentemente do valor?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
5. Nos últimos três anos, você, pessoas próximas a você* ou a instituição à qual você está vinculado recebeu algum apoio de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento (como financiamento para fomento de projetos de pesquisa, de extensão ou de ensino, equipamentos e insumos, tais como reagentes, livros, equipamentos específicos, apoio para publicação ou editoração de artigo, tradução, pagamento de taxas de publicação, etc.) com valor superior a R\$ 5.000,00?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
6. A sua expertise ou convicção acadêmica/profissional em algum aspecto relacionado ao escopo deste documento poderia comprometer sua imparcialidade de julgamento (como ter publicações sobre determinado assunto que o tornaria mais propenso a dar recomendações favoráveis a determinada intervenção)?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
7. Você possui vínculo com alguém ou alguma instituição cujos interesses acadêmicos possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
8. Você participa, direta ou indiretamente, de algum grupo, como organizações governamentais ou não governamentais, sociedades de profissionais ou especialistas, associação de pacientes, cujos interesses possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
9. Você considera que as recomendações decorrentes deste documento podem gerar benefícios acadêmicos futuros a você, pessoas próximas a você* ou à	Sim <input type="checkbox"/>

instituição a que você está ligado (como aumento de publicações ou citações em trabalhos científicos, participação em congresso, etc.)?	<input checked="" type="checkbox"/> Não
10.1. Você possui convicção religiosa, política, étnica ou outras crenças que podem comprometer sua capacidade de julgamento neste documento?	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não
10.2. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.1, você concorda em declarar essa informação ao demandante deste documento?	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não
10.3. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.2, você concorda em tornar pública essa informação?	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não
11. Há algum outro fato ou situação que possa interferir na sua imparcialidade de julgamento neste documento?	<input type="checkbox"/> Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não

Por favor, caso você tenha respondido “SIM” para alguma das questões anteriores, preencha os campos a seguir com as seguintes informações:

- Especifique quem possui o potencial conflito de interesse é você, alguma pessoa próxima e/ou sua instituição (especificando qual a empresa ou a relação familiar). Pode haver mais de um beneficiário com conflitos de interesse para cada pergunta.
- Especifique o período em que o conflito de interesse se iniciou e cessou (mês/ano).
- Em caso de conflito de interesse de cunho monetário, especifique o valor envolvido.
- Em caso de benefício financeiro de cunho não monetário, por favor, estime um valor aproximado.
- Em relação a benefícios monetários pessoais, não serão publicados os valores, apenas a descrição do conflito. Caso haja alguma outra informação que o está impedido de declarar ou que não gostaria que fosse levada a público, informe nas questões subsequentes.
- Não serão publicados conflitos referentes a pessoas próximas a você.

Há alguma informação que, devido à cláusula de confidencialidade, não pode ser declarada neste documento? Descreva a natureza da informação e o motivo de sua não declaração.

R: Não

Há alguma informação que, devido à preservação da sua privacidade, você não deseja que seja divulgada publicamente? Descreva a natureza da informação e o motivo para não ser levada a público.

R: Não

DECLARAÇÃO:

- Eu declaro ciência das definições e dos termos-chave sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro ciência das questões sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro a veracidade de todas as informações por mim fornecidas neste documento.
- Eu concordo em atualizar todas as informações declaradas ao longo do período de desenvolvimento deste parecer.
- Eu estou ciente de que poderá haver busca ativa por meus potenciais conflitos de interesse, e a não declaração de conflitos relevantes pode resultar em minha exclusão como participante deste parecer.
- Eu concordo com a divulgação das informações aqui contidas, exceto nas situações em que declarei desejo de sigilo.

01/02/2024

Assinatura

Nome: Gabriel Leonel Marasco	
Instituição: ORIGIN Health	
1. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* possuíram vínculo empregatício ou participação no conselho de administração de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
2. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam benefício financeiro monetário de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento (como honorários por palestras, atividades de ensino, consultorias, pareceres técnicos ou perícias judiciais), equivalente a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais (por atividade ou por entidade, instituição ou organização)?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
3. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste	Sim <input type="checkbox"/>

documento benefícios financeiros não monetários (como pagamento de participação em congressos, despesas de viagem, presentes, participação em eventos recreativos tais como shows, jantares, etc.) equivalentes a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais?	Não <input checked="" type="checkbox"/>
4. Atualmente, você, pessoas próximas a você* ou a instituição a que você está vinculado possui propriedade intelectual ou interesse financeiro conflitante que possa ser afetado pelos resultados deste documento, tais como ações, royalties ou patente, independentemente do valor?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
5. Nos últimos três anos, você, pessoas próximas a você* ou a instituição à qual você está vinculado recebeu algum apoio de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento (como financiamento para fomento de projetos de pesquisa, de extensão ou de ensino, equipamentos e insumos, tais como reagentes, livros, equipamentos específicos, apoio para publicação ou editoração de artigo, tradução, pagamento de taxas de publicação, etc.) com valor superior a R\$ 5.000,00?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
6. A sua expertise ou convicção acadêmica/profissional em algum aspecto relacionado ao escopo deste documento poderia comprometer sua imparcialidade de julgamento (como ter publicações sobre determinado assunto que o tornaria mais propenso a dar recomendações favoráveis a determinada intervenção)?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
7. Você possui vínculo com alguém ou alguma instituição cujos interesses acadêmicos possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
8. Você participa, direta ou indiretamente, de algum grupo, como organizações governamentais ou não governamentais, sociedades de profissionais ou especialistas, associação de pacientes, cujos interesses possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
9. Você considera que as recomendações decorrentes deste documento podem gerar benefícios acadêmicos futuros a você, pessoas próximas a você* ou à instituição a que você está ligado (como aumento de publicações ou citações em trabalhos científicos, participação em congresso, etc.)?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
10.1. Você possui convicção religiosa, política, étnica ou outras crenças que podem comprometer sua capacidade de julgamento neste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
10.2. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.1, você concorda em declarar essa informação ao demandante deste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
10.3. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.2, você concorda em tornar pública essa informação?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
11. Há algum outro fato ou situação que possa interferir na sua imparcialidade de julgamento neste documento?	Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>

Por favor, caso você tenha respondido “SIM” para alguma das questões anteriores, preencha os campos a seguir com as seguintes informações:

- Especifique quem possui o potencial conflito de interesse é você, alguma pessoa próxima e/ou sua instituição (especificando qual a empresa ou a relação familiar). Pode haver mais de um beneficiário com conflitos de interesse para cada pergunta.
- Especifique o período em que o conflito de interesse se iniciou e cessou (mês/ano).
- Em caso de conflito de interesse de cunho monetário, especifique o valor envolvido.
- Em caso de benefício financeiro de cunho não monetário, por favor, estime um valor aproximado.
- Em relação a benefícios monetários pessoais, não serão publicados os valores, apenas a descrição do conflito. Caso haja alguma outra informação que o está impedido de declarar ou que não gostaria que fosse levada a público, informe nas questões subsequentes.
- Não serão publicados conflitos referentes a pessoas próximas a você.

Há alguma informação que, devido à cláusula de confidencialidade, não pode ser declarada neste documento? Descreva a natureza da informação e o motivo de sua não declaração.

R: Não

Há alguma informação que, devido à preservação da sua privacidade, você não deseja que seja divulgada publicamente? Descreva a natureza da informação e o motivo para não ser levada a público.

R: Não

DECLARAÇÃO:

- Eu declaro ciência das definições e dos termos-chave sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro ciência das questões sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro a veracidade de todas as informações por mim fornecidas neste documento.
- Eu concordo em atualizar todas as informações declaradas ao longo do período de desenvolvimento deste parecer.
- Eu estou ciente de que poderá haver busca ativa por meus potenciais conflitos de interesse, e a não declaração de conflitos relevantes pode resultar em minha exclusão como participante deste parecer.

- Eu concordo com a divulgação das informações aqui contidas, exceto nas situações em que declarei desejo de sigilo.

01/02/2024

Gabriel L. Manasco.

Assinatura

Nome: Roberta Arinelli		
Instituição: ORIGIN Health		
1. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* possuíram vínculo empregatício ou participação no conselho de administração de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
2. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam benefício financeiro monetário de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento (como honorários por palestras, atividades de ensino, consultorias, pareceres técnicos ou perícias judiciais), equivalente a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais (por atividade ou por entidade, instituição ou organização)?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
3. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento benefícios financeiros não monetários (como pagamento de participação em congressos, despesas de viagem, presentes, participação em eventos recreativos		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>

tais como shows, jantares, etc.) equivalentes a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais?		
4. Atualmente, você, pessoas próximas a você* ou a instituição a que você está vinculado possui propriedade intelectual ou interesse financeiro conflitante que possa ser afetado pelos resultados deste documento, tais como ações, royalties ou patente, independentemente do valor?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
5. Nos últimos três anos, você, pessoas próximas a você* ou a instituição à qual você está vinculado recebeu algum apoio de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento (como financiamento para fomento de projetos de pesquisa, de extensão ou de ensino, equipamentos e insumos, tais como reagentes, livros, equipamentos específicos, apoio para publicação ou editoração de artigo, tradução, pagamento de taxas de publicação, etc.) com valor superior a R\$ 5.000,00?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
6. A sua expertise ou convicção acadêmica/profissional em algum aspecto relacionado ao escopo deste documento poderia comprometer sua imparcialidade de julgamento (como ter publicações sobre determinado assunto que o tornaria mais propenso a dar recomendações favoráveis a determinada intervenção)?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
7. Você possui vínculo com alguém ou alguma instituição cujos interesses acadêmicos possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
8. Você participa, direta ou indiretamente, de algum grupo, como organizações governamentais ou não governamentais, sociedades de profissionais ou especialistas, associação de pacientes, cujos interesses possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>

9. Você considera que as recomendações decorrentes deste documento podem gerar benefícios acadêmicos futuros a você, pessoas próximas a você* ou à instituição a que você está ligado (como aumento de publicações ou citações em trabalhos científicos, participação em congresso, etc.)?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
10.1. Você possui convicção religiosa, política, étnica ou outras crenças que podem comprometer sua capacidade de julgamento neste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
10.2. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.1, você concorda em declarar essa informação ao demandante deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
10.3. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.2, você concorda em tornar pública essa informação?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
11. Há algum outro fato ou situação que possa interferir na sua imparcialidade de julgamento neste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>

Por favor, caso você tenha respondido “SIM” para alguma das questões anteriores, preencha os campos a seguir com as seguintes informações:

- Especifique quem possui o potencial conflito de interesse é você, alguma pessoa próxima e/ou sua instituição (especificando qual a empresa ou a relação familiar). Pode haver mais de um beneficiário com conflitos de interesse para cada pergunta.
- Especifique o período em que o conflito de interesse se iniciou e cessou (mês/ano).
- Em caso de conflito de interesse de cunho monetário, especifique o valor envolvido.
- Em caso de benefício financeiro de cunho não monetário, por favor, estime um valor aproximado.
- Em relação a benefícios monetários pessoais, não serão publicados os valores, apenas a descrição do conflito. Caso haja alguma outra informação que o está impedido de declarar ou que não gostaria que fosse levada a público, informe nas questões subsequentes.
- Não serão publicados conflitos referentes a pessoas próximas a você.

Há alguma informação que, devido à cláusula de confidencialidade, não pode ser declarada neste documento? Descreva a natureza da informação e o motivo de sua não declaração.

R: Não

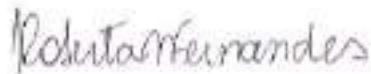
Há alguma informação que, devido à preservação da sua privacidade, você não deseja que seja divulgada publicamente? Descreva a natureza da informação e o motivo para não ser levada a público.

R: Não

DECLARAÇÃO:

- Eu declaro ciência das definições e dos termos-chave sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro ciência das questões sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro a veracidade de todas as informações por mim fornecidas neste documento.
- Eu concordo em atualizar todas as informações declaradas ao longo do período de desenvolvimento deste parecer.
- Eu estou ciente de que poderá haver busca ativa por meus potenciais conflitos de interesse, e a não declaração de conflitos relevantes pode resultar em minha exclusão como participante deste parecer.
- Eu concordo com a divulgação das informações aqui contidas, exceto nas situações em que declarei desejo de sigilo.

01/02/2024



Assinatura

Nome: Raquel Vassão Araujo		
Instituição: Associação Crônicos do Dia a Dia		
1. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* possuíram vínculo empregatício ou participação no conselho de administração de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
2. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam benefício financeiro monetário de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento (como honorários por palestras, atividades de ensino, consultorias, pareceres técnicos ou perícias judiciais), equivalente a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais (por atividade ou por entidade, instituição ou organização)?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
3. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento benefícios financeiros não monetários (como pagamento de participação em congressos, despesas de viagem, presentes, participação em eventos recreativos tais como shows, jantares, etc.) equivalentes a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
4. Atualmente, você, pessoas próximas a você* ou a instituição a que você está vinculado possui propriedade intelectual ou interesse financeiro conflitante que possa ser afetado pelos resultados deste documento, tais como ações, royalties ou patente, independentemente do valor?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
5. Nos últimos três anos, você, pessoas próximas a você* ou a instituição à qual você está vinculado recebeu algum apoio de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>

documento (como financiamento para fomento de projetos de pesquisa, de extensão ou de ensino, equipamentos e insumos, tais como reagentes, livros, equipamentos específicos, apoio para publicação ou editoração de artigo, tradução, pagamento de taxas de publicação, etc.) com valor superior a R\$ 5.000,00?		
6. A sua expertise ou convicção acadêmica/profissional em algum aspecto relacionado ao escopo deste documento poderia comprometer sua imparcialidade de julgamento (como ter publicações sobre determinado assunto que o tornaria mais propenso a dar recomendações favoráveis a determinada intervenção)?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
7. Você possui vínculo com alguém ou alguma instituição cujos interesses acadêmicos possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
8. Você participa, direta ou indiretamente, de algum grupo, como organizações governamentais ou não governamentais, sociedades de profissionais ou especialistas, associação de pacientes, cujos interesses possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?		Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
9. Você considera que as recomendações decorrentes deste documento podem gerar benefícios acadêmicos futuros a você, pessoas próximas a você* ou à instituição a que você está ligado (como aumento de publicações ou citações em trabalhos científicos, participação em congresso, etc.)?		Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>
10.1. Você possui convicção religiosa, política, étnica ou outras crenças que podem comprometer sua capacidade de julgamento neste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
10.2. Caso tenha respondido "SIM" para a questão 10.1, você concorda em		Sim <input type="checkbox"/>

declarar essa informação ao demandante deste documento?		Não
10.3. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.2, você concorda em tornar pública essa informação?		Sim <input type="checkbox"/> Não
11. Há algum outro fato ou situação que possa interferir na sua imparcialidade de julgamento neste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não

Por favor, caso você tenha respondido “SIM” para alguma das questões anteriores, preencha os campos a seguir com as seguintes informações:

- Especifique quem possui o potencial conflito de interesse é você, alguma pessoa próxima e/ou sua instituição (especificando qual a empresa ou a relação familiar). Pode haver mais de um beneficiário com conflitos de interesse para cada pergunta.
- Especifique o período em que o conflito de interesse se iniciou e cessou (mês/ano).
- Em caso de conflito de interesse de cunho monetário, especifique o valor envolvido.
- Em caso de benefício financeiro de cunho não monetário, por favor, estime um valor aproximado.
- Em relação a benefícios monetários pessoais, não serão publicados os valores, apenas a descrição do conflito. Caso haja alguma outra informação que o está impedido de declarar ou que não gostaria que fosse levada a público, informe nas questões subsequentes.
- Não serão publicados conflitos referentes a pessoas próximas a você.

Questão	Descrição do conflito	Beneficiário	Valor	Período
8	Participo da associação Crônicos do Dia a Dia e trabalho no Centro de referência da Santa Casa de Belo Horizonte, com atendimento direto a pessoas com suspeita e com NEUROMIELITE ÓPTICA. A disponibilização do teste pelo SUS certamente aumentará o número de pacientes diagnosticados e aumentar o números e pacientes cadastrados	Eu	impossível calcular	a partir da disponibilização do teste

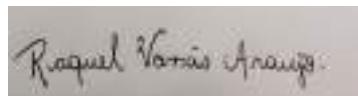
	na associação e atendidos no centro de referência			
9	tanto no meu trabalho da associação de pacientes Crônicos do Dia a Dia quanto na Santa Casa de Belo Horizonte, ao ter maior número de pacientes testados e potencialmente diagnosticados com DENMO, pode haver maior facilidade de publicação de dados e números, com aumento de publicações e citações em potencial, para ambas instituições.	Eu`	impossível calcular	a partir da disponibilização do teste

Há alguma informação que, devido à cláusula de confidencialidade, não pode ser declarada neste documento? Descreva a natureza da informação e o motivo de sua não declaração.
Não.
Há alguma informação que, devido à preservação da sua privacidade, você não deseja que seja divulgada publicamente? Descreva a natureza da informação e o motivo para não ser levada a público.
Não.

DECLARAÇÃO:

- Eu declaro ciência das definições e dos termos-chave sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro ciência das questões sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro a veracidade de todas as informações por mim fornecidas neste documento.
- Eu concordo em atualizar todas as informações declaradas ao longo do período de desenvolvimento deste parecer.
- Eu estou ciente de que poderá haver busca ativa por meus potenciais conflitos de interesse, e a não declaração de conflitos relevantes pode resultar em minha exclusão como participante deste parecer.
- Eu concordo com a divulgação das informações aqui contidas, exceto nas situações em que declarei desejo de sigilo.

27 de agosto de 2024.



Assinatura

Nome: Gustavo San Martin Elexpe Cardoso		
Instituição: Associação Crônicos do Dia a Dia		
1. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* possuíram vínculo empregatício ou participação no conselho de administração de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
2. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam benefício financeiro monetário de alguma entidade, instituição comercial ou outra organização que tenha interesse no escopo deste documento (como honorários por palestras, atividades de ensino, consultorias, pareceres técnicos ou perícias judiciais), equivalente a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais (por atividade ou por entidade, instituição ou organização)?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
3. Nos últimos três anos, você ou pessoas próximas a você* receberam de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento benefícios financeiros não monetários (como pagamento de participação em congressos, despesas de viagem, presentes, participação em eventos recreativos tais como shows, jantares, etc.) equivalentes a um valor de R\$ 1.000,00 ou mais?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
4. Atualmente, você, pessoas próximas a você* ou a instituição a que você está vinculado possui propriedade intelectual ou interesse financeiro conflitante que possa ser afetado pelos resultados deste documento, tais como ações, royalties ou patente, independentemente do valor?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>

<p>5. Nos últimos três anos, você, pessoas próximas a você* ou a instituição à qual você está vinculado recebeu algum apoio de uma entidade, instituição ou outro órgão com interesse no escopo deste documento (como financiamento para fomento de projetos de pesquisa, de extensão ou de ensino, equipamentos e insumos, tais como reagentes, livros, equipamentos específicos, apoio para publicação ou editoração de artigo, tradução, pagamento de taxas de publicação, etc.) com valor superior a R\$ 5.000,00?</p>		<p>Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/></p>
<p>6. A sua expertise ou convicção acadêmica/profissional em algum aspecto relacionado ao escopo deste documento poderia comprometer sua imparcialidade de julgamento (como ter publicações sobre determinado assunto que o tornaria mais propenso a dar recomendações favoráveis a determinada intervenção)?</p>		<p>Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/></p>
<p>7. Você possui vínculo com alguém ou alguma instituição cujos interesses acadêmicos possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?</p>		<p>Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/></p>
<p>8. Você participa, direta ou indiretamente, de algum grupo, como organizações governamentais ou não governamentais, sociedades de profissionais ou especialistas, associação de pacientes, cujos interesses possam ser afetados pelas recomendações resultantes deste documento?</p>		<p>Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/></p>
<p>9. Você considera que as recomendações decorrentes deste documento podem gerar benefícios acadêmicos futuros a você, pessoas próximas a você* ou à instituição a que você está ligado (como aumento de publicações ou citações em trabalhos científicos, participação em congresso, etc.)?</p>		<p>Sim <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/></p>
<p>10.1. Você possui convicção religiosa, política, étnica ou outras crenças que</p>		<p>Sim <input type="checkbox"/></p>

podem comprometer sua capacidade de julgamento neste documento?		Não <input checked="" type="checkbox"/>
10.2. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.1, você concorda em declarar essa informação ao demandante deste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
10.3. Caso tenha respondido “SIM” para a questão 10.2, você concorda em tornar pública essa informação?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>
11. Há algum outro fato ou situação que possa interferir na sua imparcialidade de julgamento neste documento?		Sim <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/>

Por favor, caso você tenha respondido “SIM” para alguma das questões anteriores, preencha os campos a seguir com as seguintes informações:

- Especifique quem possui o potencial conflito de interesse é você, alguma pessoa próxima e/ou sua instituição (especificando qual a empresa ou a relação familiar). Pode haver mais de um beneficiário com conflitos de interesse para cada pergunta.
- Especifique o período em que o conflito de interesse se iniciou e cessou (mês/ano).
- Em caso de conflito de interesse de cunho monetário, especifique o valor envolvido.
- Em caso de benefício financeiro de cunho não monetário, por favor, estime um valor aproximado.
- Em relação a benefícios monetários pessoais, não serão publicados os valores, apenas a descrição do conflito. Caso haja alguma outra informação que o está impedido de declarar ou que não gostaria que fosse levada a público, informe nas questões subsequentes.
- Não serão publicados conflitos referentes a pessoas próximas a você.

Questão	Descrição do conflito	Beneficiário	Valor	Período
8	Participo da associação Crônicos do Dia a Dia que também representar os interesses de pessoas com NEUROMIELITE ÓPTICA. A disponibilização do teste pelo SUS certamente aumentará o número de pacientes diagnosticados e aumentar	Eu	impossível calcular	a partir da disponibilização do teste

	o números e pacientes cadastrados na associação			
9	No meu trabalho da associação de pacientes Crônicos do Dia a Dia, ao ter maior número de pacientes testados e potencialmente diagnosticados com DENMO, pode haver maior facilidade de publicação de dados e números, com aumento de publicações e citações em potencial.	Eu`	impossível calcular	a partir da disponibilização do teste

Há alguma informação que, devido à cláusula de confidencialidade, não pode ser declarada neste documento? Descreva a natureza da informação e o motivo de sua não declaração.
Não.
Há alguma informação que, devido à preservação da sua privacidade, você não deseja que seja divulgada publicamente? Descreva a natureza da informação e o motivo para não ser levada a público.
Não.

DECLARAÇÃO:

- Eu declaro ciência das definições e dos termos-chave sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro ciência das questões sobre conflitos de interesse.
- Eu declaro a veracidade de todas as informações por mim fornecidas neste documento.
- Eu concordo em atualizar todas as informações declaradas ao longo do período de desenvolvimento deste parecer.
- Eu estou ciente de que poderá haver busca ativa por meus potenciais conflitos de interesse, e a não declaração de conflitos relevantes pode resultar em minha exclusão como participante deste parecer.
- Eu concordo com a divulgação das informações aqui contidas, exceto nas situações em que declarei desejo de sigilo.

27/08/2024.

Geffetti

ORIGIN
H E A L T H

COD